



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
MARMARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YÜKSEK YAĞLI DİYETLE BESLENEN SIÇANLARDA *MYRTUS  
COMMUNIS L.*'NİN PANKREAS ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
HİSTOLOJİK VE BİYOKİMYASAL YÖNTEMLERLE  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

GÜL SİNEMCAN ÖZCAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

DOÇ. DR. DİLEK AKAKIN

İSTANBUL-2018

## 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 çalışmayla 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 olmadığı beyan ederim.

Gül Sinemcan Özcan

## TEŞEKKÜR

Tüm eğitimim boyunca akademik uygulama anlayışında tecrübe ve bilgisini aktaran, bu yolda bitmez fedakârlıklarını karşılıksız sunan ve çalışmamın bütünlüğe ulaşması için yardımlarını esirgemeyen başta sevgili ve değerli danışman hocam

Doç. Dr. Dilek Akakın'a,

Anabilim dalımızda bizleri her zaman bir bütün halinde organize ederek birlik ve beraberlik içerisinde nezih ve disiplinli bir çalışma ortamı sağlayan Anabilim Dalı başkanımız

Prof. Dr. Feriha Ercan'a,

Yine aynı bilgelik, incelik ve dostça yaklaşımları ile değerli bilgilerimi benden esirgemeyen histolojinin esaslarını araştırma teknikleri ile geliştirmemi sağlayan değerli hocalarım;

Prof. Dr. Serap Şirvancı, Prof. Dr. Şule Çetinel ve Dr. Öğr. Üyesi Özlem Tuğçe Çilingir'e,

Tez deneylerimde bilgi ve tecrübesini esirgemeyen, takıldığım her aşamada yardımlarını esirgemeyen değerli hocam

Prof. Dr. Göksel Şener'e,

Aynı zamanda dostluğunu ve samimiyetini benden esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan

Arş. Gör. Büşra Ertaş'a

Bitmez fedakârlıklarıyla çalışmamda en başından beri her zaman desteklerini gördüğüm iyi niyet ve hoşgörülerıyla hep hatırlayacağım sevgili arkadaşlarım,

Dr. Hilal Nişva Levent, Nurdan Bülbül, Damla Kayalı ve

Fatma Bedia Karakaya ve Dr. Ekin Kuntsal Derstsiz ve beraber çalışmaktan keyif aldığım değerli Histoloji ve Embriyoloji asistan arkadaşlarıma,

Teknikerlerimiz Yücel Öztürk ve Belgin Terzi'ye

Tüm eğitimim boyunca maddi, manevi her türlü destek ve anlayışları için aileme, özellikle her zaman yanımda olan ve desteğini hep hissettiğim annem Müzeyyen Melik'e çok teşekkür ederim.

Bu tez projesi, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi (SAG-C-YLP-090518-0229) tarafından desteklenmiştir.

# İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI .....	i
BEYAN .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
ŞEKİLLERİN LİSTESİ .....	vi
RESİMLER LİSTESİ .....	vii
TABLolar LİSTESİ .....	vii
KISALTMALAR .....	viii
1.ÖZET .....	10
2.SUMMARY .....	11
3.GİRİŞ ve AMAÇ .....	12
4.GENEL BİLGİLER .....	13
4.1. Pankreas .....	13
4.1.1. Ekzokrin Pankreas .....	14
4.1.2. Endokrin Pankreas .....	18
4.2. Metabolik Sendrom .....	23
4.2.1. MS ile İlişkili Klinik Durumlar .....	25
4.2.1.1. Hiperlipidemi .....	25
4.2.1.2. Obezite .....	26
4.2.1.3. İnsülin Direnci .....	26
4.2.1.4. Diyabetes Mellitus .....	28
4.2.2. Metabolik Sendromda Tedavi Yaklaşımları .....	31
4.2.3. YYD ile Beslenen Hayvan Modelleri .....	32
4.3. YYD'le Beslenen Hayvan Modellerinde Pankreas Dokusu .....	33
4.3.1. YYD Maruziyetine Bağlı Oksidatif Stres ve $\beta$ Hücre Yanıtı .....	36
4.3.2. YYD Maruziyetine Bağlı İnflamasyon .....	38
4.3.3. YYD Maruziyetine Bağlı PYH'lerinin aktivasyonu .....	39
4.4. <i>Myrtus Communis L.</i> Ekstraktı .....	42
5.GEREÇ VE YÖNTEM .....	46
5.1. Deney Hayvanları .....	46
5.2. Oral Glukoz Tolerans Testi .....	47

5.3. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması.....	47
5.4. Biyokimyasal Parametreler .....	48
5.4.1. Kan serumunda ölçülen biyokimyasal parametreler.....	48
5.4.2. Pankreas doku örneklerinde ölçülen biyokimyasal parametreler .....	49
5.5. Işık Mikroskopi ve Histolojik İnceleme .....	49
5.5.1. Morfolojik Değerlendirme .....	49
5.5.2. TUNEL Yöntemi .....	50
5.5.3. İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi.....	51
5.6. İstatistiksel Analiz .....	52
6. BULGULAR .....	52
6.1. Kilo takibi .....	52
6.2. Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT).....	52
6.3. Açlık Kan Glukoz Seviyeleri .....	53
6.4. Biyokimyasal Parametreler .....	54
6.4.1. Kan örneklerinde ölçülen biyokimyasal parametreler .....	54
6.4.2. Pankreas doku örneğinde ölçülen biyokimyasal parametreler .....	57
6.5. Işık Mikroskopik Bulgular .....	58
6.6. TUNEL Bulguları.....	63
6.7. İmmünohistokimyasal Bulgular .....	66
6.7.1. İnsülin İmmünohistokimyası.....	66
6.7.2. $\alpha$ -SMA İmmünohistokimyası.....	66
6.7.3. NF- $\kappa$ B İmmünohistokimyası.....	66
7. TARTIŞMA ve SONUÇ .....	73
8. KAYNAK.....	87
9. ÖZGEÇMİŞ.....	101
ETİK KURUL ONAYI.....	105

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil 1: Pankreasın anatomik yapısı ve pankreas hücreleri .....	13
Şekil 2: Ekzokrin pankreasın kanal sistemi (Ross, 2011).....	16
Şekil 3. Pankreasın genel kanal sistemi .....	17
Şekil 4: Glukoz homeostazının şeması .....	21
Şekil 5: Tip 1 diyabete neden olan beta hücre harabiyetinin olası mekanizmaları (HLA; human leukocytes antigen, insan lökosit antijeni) .....	28
Şekil 6: Tip 2 diyabetes mellitus'un patogenezi .....	30
Şekil 7: Pozitif net enerji dengesinin glukolipotoksositeye öncülük eden adipoz dokunun taşıma kapasitesini aşması .....	35
Şekil 8: Besin alımındaki artış ile ROS oluşumu ve inflamasyonun tetiklenmesi .....	36
Şekil 9: Normal glukoz toleransını koruyan ve T2D geliştiren bireylerde çevrenin ve genlerin etkileşimi.....	38
Şekil 10. Ekzokrin pankreasta PYH'nin periasiner dağılımı. ....	40
Şekil 11. Pankreatik yıldız hücrelerinin aktivasyon şeması (Masamune ve ark., 2009) .....	42
Şekil 12: <i>Myrtus Communis</i> L'nin yaprakları (A), çiçekleri ve olgunlaşmamış meyveleri (B), olgunlaşmış meyveleri (C) ve tohumları (D). ....	42
Şekil 13. Deney gruplarında haftalık kilo takibi .....	52
Şekil 14. Deney grupları arasında 120 dakikalık OGTT. ....	53
Şekil 15. Deney grupları arasında açlık glukoz seviyesi grafiği .....	54
Şekil 16. Deney gruplarının serum leptin (A), HDL (B), insülin (C) ve trigliserit (D) değerleri.....	55
Şekil 17. Deney gruplarının serum kolesterol (A), VLDL (B) ve LDL (C) değerleri. ....	56
Şekil 18. Deney gruplarının HOMA-IR indeksleri.....	56
Şekil 19. Deney gruplarının pankreas MDA, GSH değerleri ve MPO, OHdG aktivitesi. ....	57
Şekil 20. Deney gruplarında pankreatik hasar içeriklerinin yarı-kantitatif skoru. ....	61
Şekil 21. Deney gruplarında toplam pankreatik hasarın yarı-kantitatif skoru. ....	61
Şekil 22. TUNEL yarı-kantitatif skorlama grafiği.....	65
Şekil 23. Ortalama adacıklarda hormonal alan yüzde grafiği. ....	68
Şekil 24. Deney gruplarında $\alpha$ -SMA boyanma şiddeti grafiği.....	70
Şekil 25. Deney gruplarında NF- $\kappa$ B alan yüzde grafiği .....	72

## RESİMLER LİSTESİ

<b>Resim 1:</b> Pankreasın mikroskopik görünümü.....	15
<b>Resim 2.</b> Kontrol grubuna ait pankreas dokusu.....	59
<b>Resim 3.</b> YYD grubuna ait pankreas dokusu.....	59
<b>Resim 4.</b> YYD grubuna ait pankreas dokusu.....	60
<b>Resim 5.</b> YYD+MC grubuna ait pankreas dokusu.....	60
<b>Resim 6.</b> Deney gruplarında pankreatik Langerhans adacık alanları.....	62
<b>Resim 7.</b> Deney gruplarına ait pankreas dokusunda kolajen dağılımı.....	63
<b>Resim 8.</b> Kontrol grubuna ait TUNEL immunohistokimyası.....	64
<b>Resim 9.</b> YYD grubuna ait TUNEL immunohistokimyası.....	64
<b>Resim 10.</b> YYD+MC grubuna ait TUNEL immunohistokimyası.....	65
<b>Resim 11.</b> Kontrol grubunun insülin immunohistokimyası.....	67
<b>Resim 12.</b> YYD grubunun insülin immunohistokimyası.....	67
<b>Resim 13.</b> YYD grubunun insülin immunohistokimyası.....	68
<b>Resim 14.</b> Kontrol grubuna ait $\alpha$ -SMA immünohistokimyası.....	69
<b>Resim 15.</b> YYD grubuna ait $\alpha$ -SMA immünohistokimyası.....	70
<b>Resim 16.</b> YYD+MC grubuna ait $\alpha$ -SMA immünohistokimyası.....	70
<b>Resim 17.</b> Kontrol grubuna ait NF- $\kappa$ B immünohistokimyası.....	71
<b>Resim 18.</b> YYD grubuna ait NF- $\kappa$ B immünohistokimyası.....	71
<b>Resim 19.</b> YYD+MC grubuna ait NF- $\kappa$ B immünohistokimyası.....	72

## TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Derneği, Metabolik Sendrom Çalışma Grubunun önerdiği, Metabolik Sendrom Tanı Kriterleri (2005) (Balkan, 2013).....	24
Tablo 2. Metabolik sendrom ile ilişkili bozukluklar.....	25
Tablo 3. <i>Myrtus Communis L.</i> 'nin etki mekanizma örnekleri (Alipour ve ark., 2014). .....	45

## KISALTMALAR

T2D, Tip 2 Diyabet

İD, İnsülin direnci

YYD, Yüksek Yağlı Diyet

MC, *Myrtus Communis*

YYD+MC, Yüksek Yağlı Diyet+*Myrtus Communis L.*

CCK: Kolesistokinin

OGTT, Oral Glukoz Tolerans Testi

HDL, Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein

LDL, Low Density Lipoprotein

VLDL, Very Low Density Lipoprotein

TG, Trigliserit

TK, Total kolesterol

MDA, Malondialdehit

MPO, Miyeloperoksidaz

GSH, Glutatyon

8-OHdG, 8-Hidroksideoksiguanozin

gER, Granüler Endoplazmik Retikulum

TEM, Geçirimli Elektron Mikroskopi

TNF- $\alpha$ , Tümör Nekroz Faktörü-Alfa

IL, İnterlökin

PCNA, Proliferating Cell Nuclear Antigen

PP, Pankreatik Polipeptit

ROS, Reaktif Oksijen Türleri

ZDF, Zucker Diabetic Fatty

VIP, Vazoaktif İntestinal Peptit

$\alpha$ -SMA, alpha-smooth muscle actin

NF- $\kappa$ B, Nükleer Faktör Kappa B

TUNEL, Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling

SYA, Serbest yağ asitleri

PYH, Pankreatik yıldız hücreleri

H&E, Hematoksilen ve Eozin

GFAP, Glial fibrilar asidik protein

ESM, Eksrtaselüler matriks

## 1.ÖZET

### Yüksek Yağlı Diyetle Beslenen Sıçanlarda *Myrtus Communis L.*'Nin Pankreas Üzerine Etkilerinin Histolojik Ve Biyokimyasal Yöntemlerle Değerlendirilmesi

Gül Sinemcan ÖZCAN

Doç. Dr. Dilek AKAKIN

#### Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

**Amaç:** Son yıllarda yapılan çalışmalar *Myrtus Communis L.* (MC) ekstraktının antioksidan ve antidiyabetik özelliklerini ortaya koymaktadır. Bu çalışmadaki hedefimiz bu ekstraktın yüksek yağlı diyet (YYD) ile beslenen sıçanların pankreası üzerinde etkilerini ortaya koyabilmektir.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmamızda erkek Wistar Albino sıçanlar 3 deney grubuna ayrıldı. YYD grubu (n=8) ve YYD+MC grubuna (n=8) %45 yüksek yağlı sıçan yemi verildi ve YYD+MC grubuna orogastrik gavaj ile MC ekstraktı (100mg/kg) uygulandı. Standart yemle beslenen grup Kontrol grubu (n=8) olarak ayrıldı. YYD ve YYD+MC gruplarında hayvanlar 4 ay boyunca YYD ile beslendi, YYD+MC grubuna 3. aydan itibaren 1 ay süre ile MC ekstraktı verildi. Deney sonunda dekapitasyon ile sıçanlar sakrifiye edildikten sonra kan ve pankreas örnekleri alındı. Kan serumunda insülin, leptin ve lipid profil düzeylerine bakıldı. Histolojik olarak pankreas hasarı ile insülin, NF- $\kappa$ B,  $\alpha$ -SMA ve TUNEL immünohistokimyası değerlendirildi. Biyokimyasal olarak ayrıca pankreas dokusunda oksidan/antioksidan aktiviteler incelendi. **Bulgular:** Kontrol ile karşılaştırıldığında YYD grubunda artan vücut ağırlığı, kan glukoz seviyesi, serum total kolesterol, insülin, TG, LDL, VLDL ve leptin seviyeleri, doku MPO ve 8-OHdG aktiviteleri ve MDA seviyesi MC uygulaması ile azalmış olarak izlendi. YYD grubunda, serum HDL ve doku GSH seviyelerinde gözlenen azalmış MC uygulaması ile artmıştı. Kontrole göre YYD grubunda artmış histopatolojik hasar skoru, pankreatik adacık alanı, insülin, TUNEL, NF- $\kappa$ B ve  $\alpha$ -SMA immünoreaktivitesinin MC uygulaması ile gerilediği gözlemlendi. **Sonuçlar:** Çalışmamızın verileri, MC'in antiinflamatuvar ve antioksidan mekanizmalar üzerinden obezite tedavisi için potansiyel bir yaklaşım sunabileceğini düşündürmekte ve ileriki deneysel ve klinik çalışmalar ile desteklenmelidir. **Anahtar Sözcükler:** Yüksek Yağlı Diyet, Pankreas, *Myrtus Communis L.*, Oksidatif Stres

## 2.SUMMARY

### **Morphological and Biochemical Evaluation of the Effects of *Myrtus Communis L.* Extract on Pancreas in High Fat Diet Fed Rats**

**Gül Sinemcan ÖZCAN**

**Assoc. Prof. Dilek AKAKIN**

#### **Department of Histology and Embryology**

**Aim:** Recent studies show the antioxidant and antidiabetic properties of *Myrtus Communis L.* (MC) extract. The aim of this study is to demonstrate the effects of this extract on the pancreas of rats fed with high fat diet (HFD). **Materials and Methods:** Wistar albino male rats were divided into 3 experimental groups. HFD group (n=8) and HFD+MC group (n=8) were fed with 45% HFD for 4 months and MC (100mg/kg) extract was given by orogastric gavage to the rats in HFD+MC group for the last month. Control group (n=8) was fed with standart lab chow. At the end of the study, blood and pancreas samples were taken from the rats after decapitation. Insulin, leptin and lipid profile levels were analysed in blood serum. Histologically, pancreas injury, insulin, NF- $\kappa$ B,  $\alpha$ -SMA and TUNEL immunohistochemistry were evaluated. Also, oxidant/antioksidant activity was analysed by biochemical methods. **Results:** Increased body weight, serum total cholesterol, insulin, TG, LDL, VLDL, and leptin levels, blood glucose level and tissue MPO and 8-OHdG activities and MDA levels in HFD animals compared to controls were decreased with MC treatment. Decreased serum HDL and tissue GSH levels in the HFD group were increased with MC treatment. Increased histopathological damage score, pancreatic islet area, insülin, TUNEL, NF- $\kappa$ B and  $\alpha$ -SMA immunoreactivity in HFD animals compared to controls was reversed with MC treatment. **Conclusions:** The data from our study suggest that MC may offer a potential approach to obesity treatment via antiinflammatory and antioxidant mechanisms and further experimental anc clinical studies are needed. **Key words:** High Fat Diet, Pancreas, *Myrtus Communis L.*, Oxidative Stress

### 3. GİRİŞ ve AMAÇ

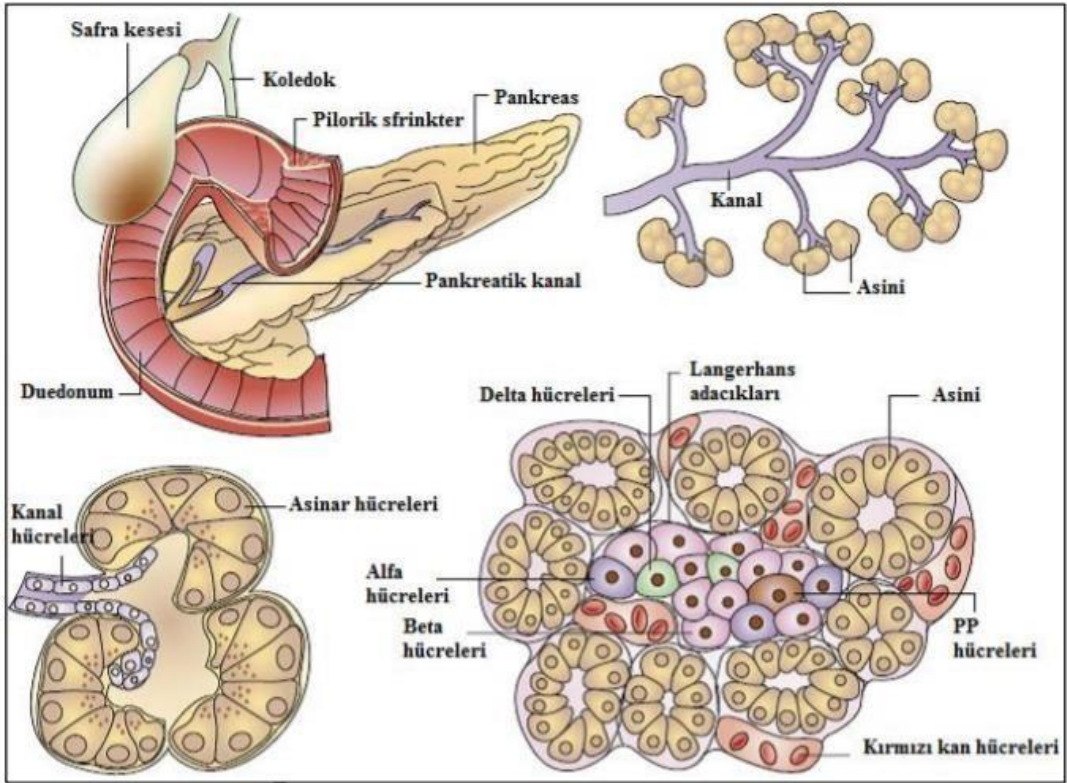
Obezite prevalansında son yıllarda gözlenen hızlı artış, kötü beslenme ve azalmış fiziksel aktivite ile karakterize yaşam tarzıyla ilişkilendirilmektedir (Hariri ve Thibault, 2010). Obezite, metabolik sendromun ana bileşenleri olan hiperlipidemi, tip 2 diyabet (T2D) ve insülin direncinde (İD) artışa neden olmaktadır (Lingohr ve ark., 2002). Mevcut kanıtlar, obeziteye bağlı insülin direncinin, kronik sistemik düşük dereceli inflamasyon ile ilişkili olduğunu ve bunun da makrofajların pankreatik adacıklara ve proinflamatuvar sinyal yollarına infiltrasyonuna neden olduğunu göstermektedir. Uzun süreli yüksek yağlı diyetin (YYD), özellikle yağ dokusunda, lipotoksisiteye karşı periferik doku inflamasyonunu indüklediği uzun zamandan beri bilinmesine rağmen, yüksek yağlı beslenmenin erken aşamalarında adacıklarda meydana gelen potansiyel patolojik değişiklikler henüz çok net değildir. Erken obezitede  $\beta$ -hücre kitlesindeki ve fonksiyonundaki artışın periferik insülin direncini önleyebileceği öne sürülmektedir (Lingohr ve ark., 2002; Stamateris ve ark., 2013). Bununla birlikte, obezitenin zaman ve/veya şiddeti devam ettikçe, bu adaptasyonda bozulma ile birlikte  $\beta$ -hücre kitlesi yetersiz kalabilir. Bu durum,  $\beta$  hücre disfonksiyonu ile birlikte, T2D'in başlamasına öncülük eder (Masini ve ark., 2009). Reaktif oksijen türleri (ROS), İD ve  $\beta$ -hücre fonksiyon bozukluğu ile sonuçlanabilen en önemli faktörlerden biridir (Sano ve ark., 2010). YYD'in farklı sürelerde ve farklı içeriklerle uygulandığı deneysel modellerde, hiperlipidemiyi tetikleyerek pankreatik endokrin ve ekzokrin hasara neden olabildiği, NF- $\kappa$ B aktivasyonu ile oksidatif stres üzerinden pro-inflamatuvar sitokinlerin salınımı arttırabildiği ve sonrasında pankreatik yıldız hücrelerinin (PYH) aktivasyonu ve fibrojeniz ile sonuçlanabildiği kanıtlanmıştır (Yan ve ark., 2012; Zhang ve ark., 2008). *Myrtus communis* L. (Myrtle, MC) geleneksel olarak anti-inflamatuvar, antioksidan, antiseptik, antihipertansif ve dezenfekte edici özellikleri nedeniyle uzun zamandan beri çok dikkat çekmiştir. Özellikle rosmarinik asit içeriği nedeniyle deneysel diyabet ve hiperlipidemide yararlı etkilere sahip olduğu bilinmektedir (Hennia ve ark., 2018). Dolayısıyla, bu çalışmada, farklı deneysel modellerde anti-oksidan aktivitesi kanıtlanan MC ekstraktının YYD maruziyetine karşı etkilerini araştırılmıştır. Bu konuda incelenen kaynaklar ışığında, çalışmamızda YYD maruziyetine karşı oluşan pankreatik hasar belirtileri, oksidatif stres ve inflamatuvar yanıt üzerinde anti-oksidan bir ajan kullanımını ile meydana gelebilecek etkileri incelemeyi amaçlamaktayız. MC'nin YYD'e karşı oksidatif stres ve pro-inflamatuvar mekanizmalarda anahtar rol oynayabileceğini ve elde edeceğimiz çeşitli biyokimyasal ve histolojik sonuçlar doğrultusunda konuyla ilgili kaynaklara iletilebilir bir çalışma alanı sunabileceğimizi düşünmekteyiz. Bu bağlamda amacımız, YYD'e bağlı obez bireylerde

oluşan metabolik bozuklukların tedavisi için potansiyel bir antioksidan ajan olabilecek MC ile ilgili yapılacak ileriki çalışmalara yön vermek ve bu alanda yeni ilerlemeler kaydedilmesine olanak sağlamaktır.

## 4. GENEL BİLGİLER

### 4.1. Pankreas

Pankreas, anatomik olarak baş, gövde ve kuyruktan oluşan uzun bir bezdir. Baş, duodonuma C-şekilli kıvrımında yer alan geniş parçadır (Şekil 1). Baş, duodonuma bağ dokusu ile tutunmaktadır. Pankreasın merkezi yerleşimli gövdesi, insan vücudunun orta hattını kateder ve kuyruk dalağın hilusuna uzanmaktadır. Pankreatik kanal (Wirsung) bez boyunca uzanır ve hepatopankreatik ampulladan (Ampulla Vateri) duodonuma boşalır. Aynı zamanda, ampulla Vateri karaciğer ve safra kesesinden gelen ortak safra kanalının duodonuma giriş yaptığı yerdir. Hepatopankreatik sfinkter (Oddi), ampullayı çevreler ve hem safranin ve pankreatik sıvının duodonuma akışını düzenler, hem de bağırsak içeriğinin pankreatik kanala reflüsünü engeller. Bazı bireylerde aksesuar pankreatik kanal (Santorini) bulunmaktadır. Bu kanal önbağırsaktan iki embriyonik endodermal çıkıntı şeklinde invajine olan pankreas kökeninin kalıntısıdır (Ross, 2011).



Şekil 1: Pankreasın anatomik yapısı ve pankreas hücreleri (Bardeesy ve DePinho, 2002).

Bezin çevresinde ince bir gevşek bağ doku tabakası bir kapsül oluştururken bu kapsülden çıkan septumlar da bez içine ilerleyerek organı belirgin olmayan lobüllere ayırır. Gevşek bağ dokusundan oluşan stroma parankimal birimleri çevreler. Her bir lobül tek başına tüm pankreas işlevlerini yerine getirebilen mikroskobik oluşumlar içerir. Lobüllerin arasında büyük kanallar, kan damarları ve sinirler daha fazla miktarda bağ dokusu ile sarılır. Aynı zamanda, pankreatik kanalı saran bağ dokusunda kanala boşalan küçük müköz bezler bulunmaktadır.

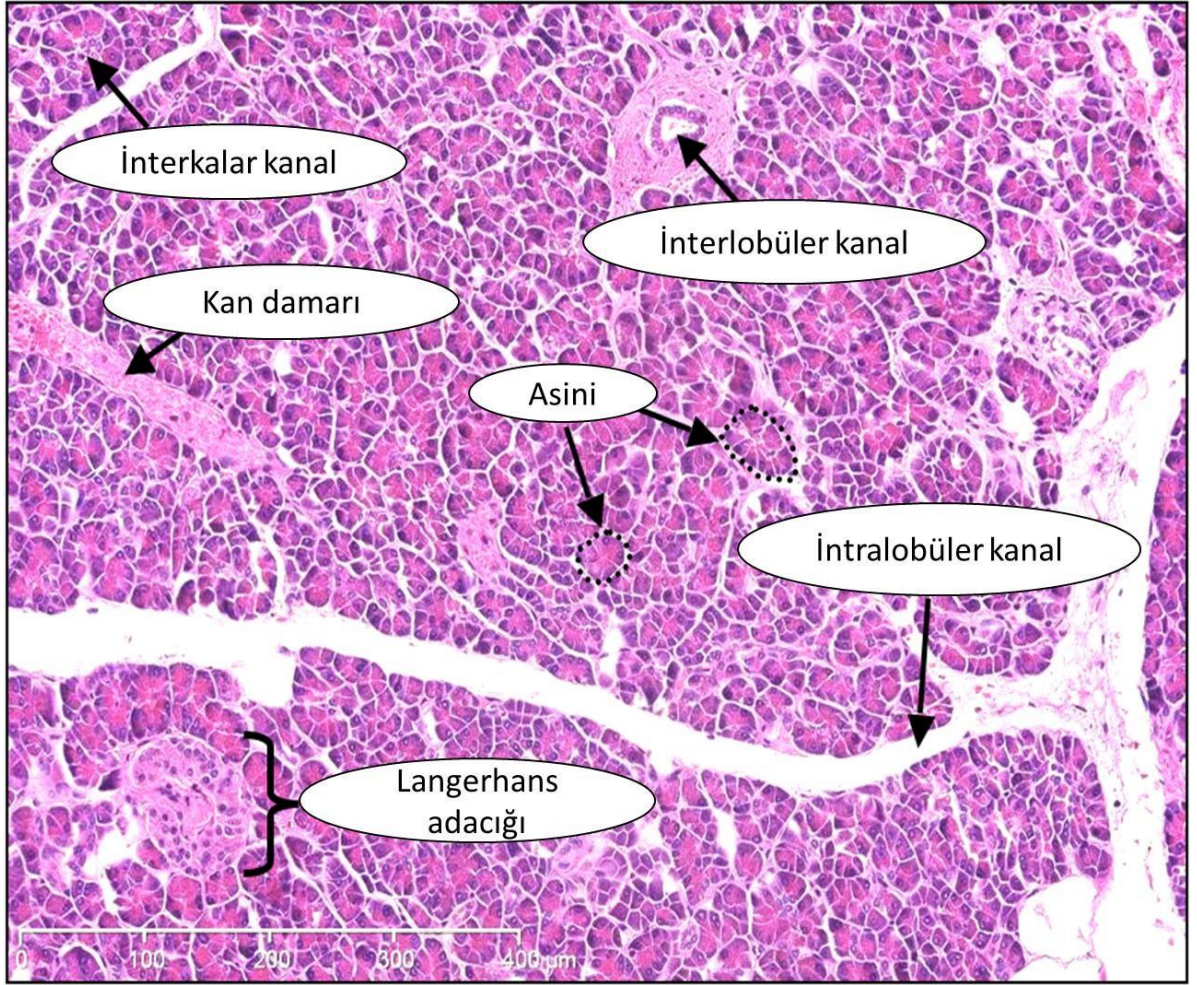
Pankreasın histolojisi endokrin ve ekzokrin salgı yapan bölümlerin iç içe konumlanmasından oluşur. Karaciğer dokusunda aynı hücrede gerçekleşen ekzokrin ve endokrin fonksiyonların aksine, pankreasın iki fonksiyonu yapısal olarak farklı iki bölüm ile yerine getirilmektedir. Ekzokrin bölüm bileşik tübüloalveoler salgı bezi yapısında olup milyonlarca asinüsün kanallarla birbirine bağlandığı ve sonunda bir kanal üzerinden duodona açıldığı bölümlerden oluşur ve pankreasın toplam hacminin yaklaşık %98'ini meydana getirir. Endokrin bölümden salgılanan ve kana salınan hormonlar vücutta glukoz, lipid ve protein metabolizmasının düzenlenmesini sağlamaktadır. Ekzokrin pankreas organ boyunca bulunurken, endokrin pankreası oluşturan ayrı hücre kitleleri şeklinde olan Langerhans adacıkları ekzokrin pankreasın içinde dağınık halde bulunur (Junqueira, 2003).

#### **4.1.1. Ekzokrin Pankreas**

Pankreasın ekzokrin bölümü protein içerikli seröz sekresyon yapan piramidal şekilli, yuvarlak nükleuslu hücrelerden oluşmaktadır. Bu hücrelerin bazal sitoplazmaları granüler endoplazma retikulumu (gER) içeriği nedeniyle bazofilik boyanırken apikal sitoplazmaları protein yapısında madde içeren granülleri nedeniyle asidofilik boyanır (Resim 1). Hücreler bir araya gelip bazal lamina ile çevrelenerek asinüsleri meydana getirirler. Salgı birimleri asiner ya da tübüloasiner şekillidir ve aynı zamanda piramidal seröz hücrelerden oluşan tek katlı epitelden oluşmaktadır. Hücreler dar bir luminal ve geniş bir bazal yüzeye sahiptir. Periasiner bağ dokusu çok azdır. Asiner hücreler aktif olarak sentez ve sekresyon yaptıkları için organelden zengin hücrelerdir.

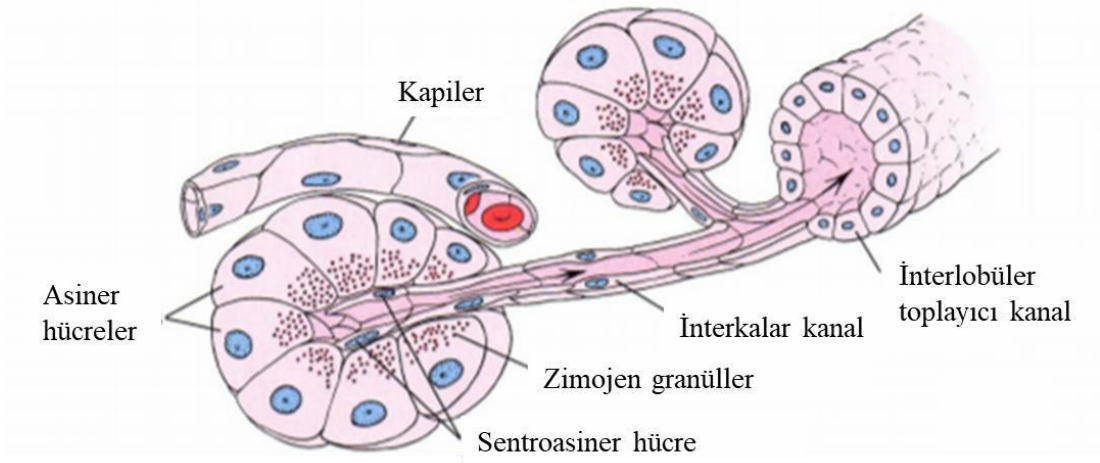
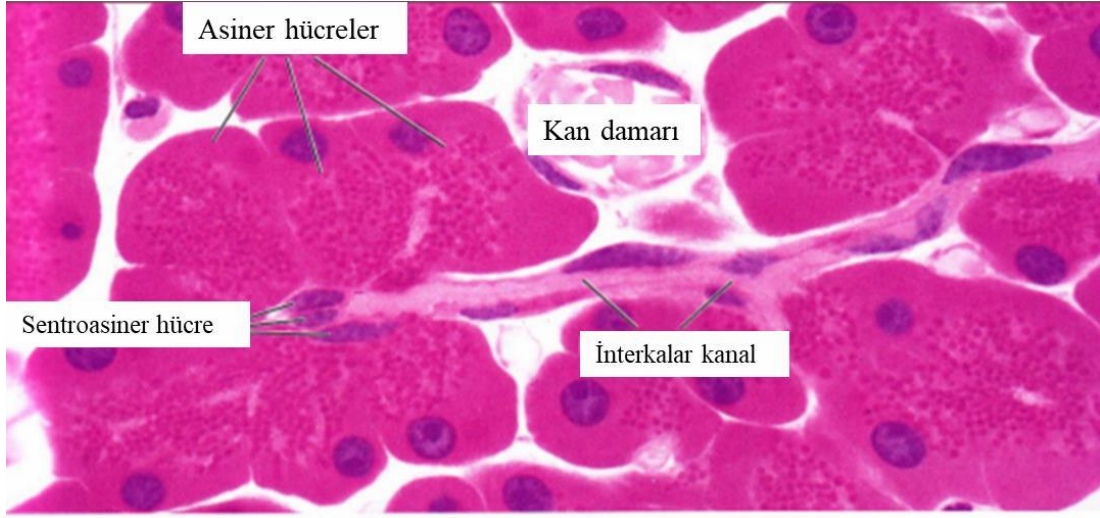
Yassı sentroasiner hücreler, ergastoplazmadan ve salgı granüllerinden yoksundur. Böylece, eozin ile çok açık boyanırlar, bu özelliklerinden dolayı rutin histolojik kesitlerde kolay tanımlarlar. TEM (geçirimli elektron mikroskopu) ile incelendiğinde, pankreatik asiner hücrelerin en belirgin özelliği, sitoplazmalarında çok sayıda yoğun granüller (zimojen granülleri), yaygın gER ve serbest ribozomlar dizisi bulunmasıdır. Apikal sitoplazmada yer

alan bu granüller inaktif durumda olan öncü enzimlerdir. Apikal sitoplazmada salgı ürünlerinin konsantre edilmesinde ve paketlenmesinde görevli iyi gelişmiş bir Golgi aygıtı bulunmaktadır. Aynı zamanda, sitoplazmalarında enerji gereksinimini sağlayan çok sayıda mitokondri bulunmakta ve özellikle gER sisternaları arasında yoğun olarak bulunmaktadır. Asiner hücreler birbirine apikal kutuplarındaki bağlantı kompleksleriyle bağlanarak izole bir lümen oluştururlar ve bu lümen asiner hücrelerin apikal yüzeyinden az sayıda küçük mikrovilluslar uzanmaktadır ve ekzositozla zimojen granülleri salıverilmektedir.



**Resim 1:** Pankreasın mikroskopik görünümü (<https://histologyblog.com/2011/10/22/histoquarterly-pancreas/>, Erişim tarihi: 20 Aralık 2018).

Asinüsün seröz salgı yapan hücreleri, pankreas tarafından salgılanan sindirim enzimi öncüllerini üretir. Asinüsten çıkan ilk kanal olan interkalar kanal aslında asinüsün içinde başlamaktadır ve içinde yer alan kanal hücreleri sentroasiner hücreler olarak adlandırılmaktadır (Şekil 2) (Esrefoglu, 2004).

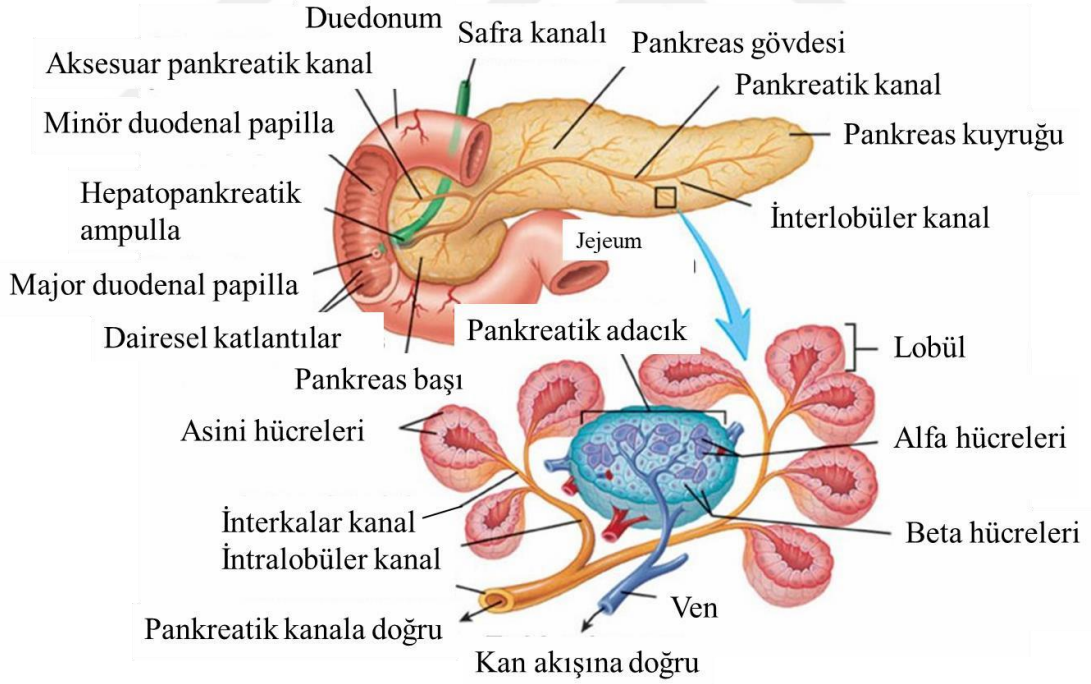


**Şekil 2:** Ekzokrin pankreasın kanal sistemi (Ross, 2011)

Zimojen granüller, inaktif durumdaki çeşitli sindirim enzimlerini içermektedir. Yiyecek maddelerinin çoğu pankreatik enzimler tarafından sindirilebilirler. Pankreatik zimojen granüllerinde bulunan inaktif enzimler ya da proenzimler burada, aktifleştikleri zaman sindirdikleri spesifik maddelere göre sınıflandırılmaktadır. Proteolitik endopeptidazlar (tripsinojen, kimotripsinojen) ve proteolitik ekzopeptidazlar (prokarboksipeptidaz, proaminopeptidaz), proteinleri, internal peptit bağlarını parçalayarak (endopeptidazlar) ya da peptidin karboksil ya da amino uçlarından aminoasitleri ayırarak sindirirler. Amilolitik enzimler ( $\alpha$ -amilaz), karbonhidratları, glukoz polimerlerini glikozidik bağlarını ayırarak sindirirler. Lipazlar, lipidleri, trigliseritlerin ester bağlarını ayırarak sindirirler ve serbest yağ asitleri ortaya çıkar. Nükleolitik enzimler (deoksiribonükleaz ve ribonükleaz), nükleik asitleri sindirirler ve mononükleotidler ortaya çıkar.

Pankreatik sindirim enzimleri sadece ince bağırsak lümenine ulaştıkları zaman aktifleşirler ve ilk olarak, intestinal emilim yapan hücrelerin mikrovilluslarının glikokaliksindeki enterokinaz enzimlerinin proteolitik aktivitesi tarafından tripsinojen, güçlü bir proteolitik enzim olan tripsine dönüştürülür. Daha sonra tripsin diğer inaktif enzimlerin dönüşümünü kolaylaştırması yanında kimustaki proteinleri sindirimini de sağlar (Junqueira, 2003).

Ekzokrin pankreasın kanal sisteminin başlangıcı olan sentroasiner hücrelerin merkezi yerleşimli, yassılaştırmış nükleusları ve az miktarda sitoplazmaları vardır. Sentroasiner hücreler, asinüste yer alan interkalar hücreleridir. İnterkalar kanallar kısadırlar ve intralobüler toplama kanallarına açılırlar. Pankreasta çizgili kanal (salgı kanalı) yoktur. İnterlobüler kanalların oluşturduğu kompleks ve dallı ağ, prizmatik epitel ile döşeli olan daha geniş interlobüler kanallara drene olur. Bu epitelde enteroendokrin hücreler ve seyrek goblet hücreleri bulunabilir. İnterlobüler kanallar doğrudan ana pankreatik kanala açılır ve ikinci büyük kanal olan aksesuar pankreatik kanal pankreasın baş kısmından oluşur.



**Şekil 3.** Pankreasın genel kanal sistemi (<https://slideplayer.com/slide/8465444/>, Erişim tarihi: 06 Aralık 2018)

Pankreas, günde yaklaşık 1 litre kadar sıvı salgılamaktadır ve pankreatik salgı hacminin tamamı duodonuma iletilmektedir. Asinüsler, az miktarda protein bakımından

zengin sıvı salgılamalarına rağmen interkalar kanal hücreleri yüksek hacimli sodyum ve bikarbonat bakımından zengin sıvı salgılamaktadırlar. Bikarbonat, mideden duodona giren kimusun asiditesini nötralize eder ve böylece ana pankreatik enzimlerin aktivitesi için optimum pH'ı sağlar.

Pankreatik ekzokrin sekresyonu hormonal ve nöral kontrol altındadır. Duodenumun enteroendokrin hücreleri tarafından salgılanan sekretin ve kolesistokinin (CCK), ekzokrin pankreasın iki temel düzenleyici hormonudur. Asidik kimusun duodona girişi, bu hormonların kana serbest salınımını uyarır. Sekretin, polipeptit bir hormondur (27 amino asit kalıntısı) ve kanal hücrelerini büyük miktarda, enzim içeriği olmayan, fakat yüksek bikarbonat konsantrasyonlu sıvı salgılamaları için uyarır. CCK, polipeptit bir hormondur (33 amino asit kalıntısı) ve asiner hücrelerin proenzimlerini salgılamalarına neden olur. Bu iki hormonun karşılıklı etkileri ile duodona enzim bakımından zengin yüksek miktarda alkali sıvı salgılanmasını sağlar. Hormonal etkilerin yanı sıra pankreas otonomik innervasyon da almaktadır. Sempatik sinir lifleri pankreatik kan akımının düzenlenmesinde, parasempatik lifler ise asiner ve sentroasiner hücrelerin aktivitelerini uyarılmasında görevlidirler. Aynı zamanda, pankreasta az görülen nöron hücre gövdeleri parasempatik postgangliyonik nöronlara aittirler (Ross, 2011).

#### **4.1.2. Endokrin Pankreas**

Endokrin pankreas, vücutta metabolik fonksiyonların düzenlenmesinde görevli hormonları salgılayan ve organ boyunca değişken boyutlardaki hücre grupları halinde dağılmış olan Langerhans adacıklarından oluşmuştur. Adacıkların sayısı en fazla oldukları yer kuyruktur ve yaklaşık 1-3 milyon arasındaki adacıklar pankreas hacminin yaklaşık %1-2'sini oluşturmaktadır. Her bir adacık kısa ve düzensiz kordonlar oluşturan poliglona hücreler ve bu kordonların çevresinde pencere kapiller ağı içermektedir. Hematoksilin ve eosin ile boyanmış kesitlerde Langerhans adacıkları, yoğun boyanmış pankreatik asinüsler tarafından çevrelenmiş soluk boyanmış hücre kümeleri halinde görünürler ve rutin yöntemler ile hazırlanmış numunelerde, adacıklarda bulunan hücre tiplerinin ayırt edilmesi mümkün değildir.

Langerhans adacığının üç ana hücre tipi (alfa, beta ve delta hücreleri) ayrı ayrı spesifik bir hormonla ilişkilendirilebilmektedir ve her birinin adacıklarda spesifik yerleşimi vardır.  $\beta$  hücreleri insanlarda toplam adacık hücrelerinin yaklaşık %70'ini oluşturmaktadır. İnsülin sentezleyen ve salgılayan beta hücreleri genellikle adacığın orta bölümlerinde

yerleşme eğilimi gösterirler ve kan glikoz konsantrasyonundaki değişikliklere kolayca cevap oluşturabilir. Bu hücreler,  $\alpha$  hücrelerinin granüllerine oranla biraz daha büyük ve yaklaşık 300 nm çapında, yoğun polihedral merkezi kısım içeren soluk matriksli çok sayıda salgı granülleri içermektedir. Polihedral merkezi kısmın kristalize insülin olduğuna inanılmaktadır. İnsülin, kas gibi dokuların hücrelerine, temel enerji kaynağı olan glukozun alınımını kolaylaştırır.

Adacığın yaklaşık %15-20'sini oluşturan  $\alpha$  hücreleri genellikle periferik yerleşim göstermektedir. Alfa ( $\alpha$ ) hücrelerinden salınan glukagon, kan glikoz seviyesini yükseltir. Bu hücrelerin sitoplazmalarında,  $\beta$  hücrelerinde bulunan granüllerden daha yoğun paketlenmiş 250 nm çapında ve boyut olarak benzer salgı granülleri bulunmaktadır ve bu granüllerde glukagon depolanmaktadır.

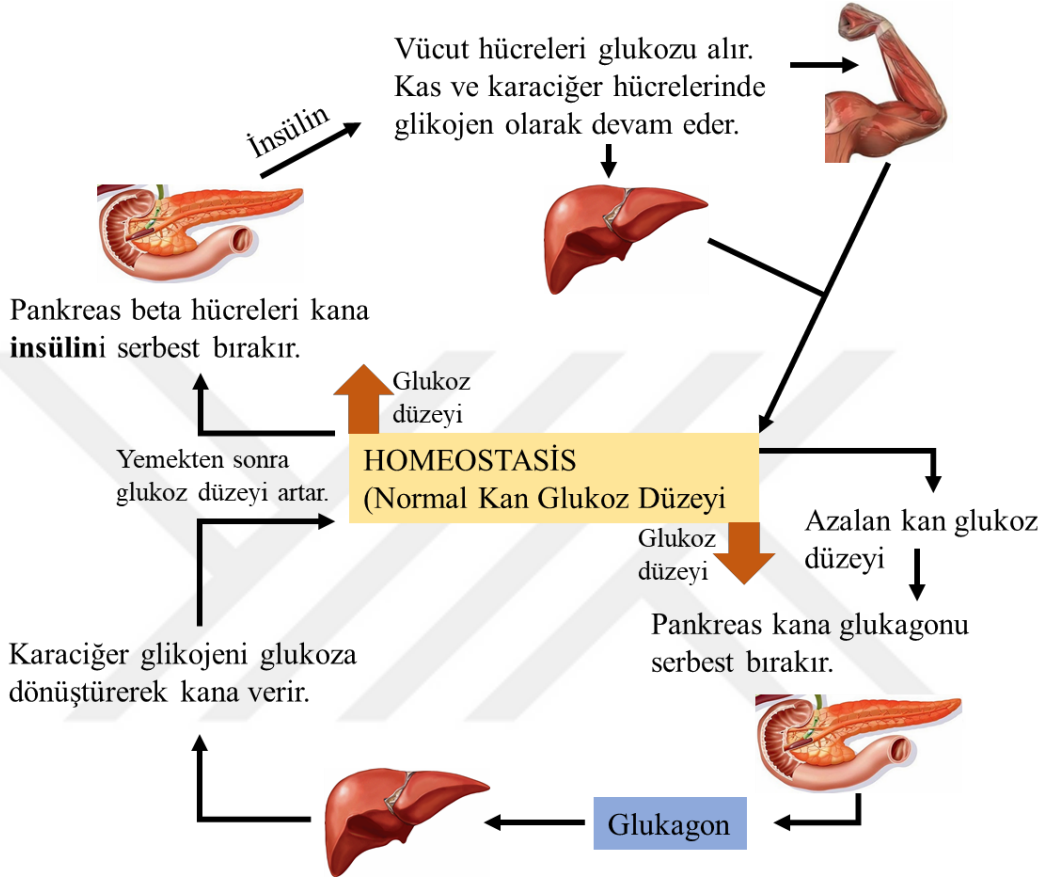
Pankreatik endokrin dokunun yaklaşık %5-10'unu oluşturan  $\delta$  (delta) hücreleri, adacıklarda periferik yerleşime sahiptir ve bu hücreler tarafından salgılanan somatostatin genellikle inhibitör etkili bir hormondur. Somatostatin,  $\alpha$  ve  $\beta$  hücrelerinin salgı granülleri ile kıyaslandığında daha büyük, yaklaşık 300-350 nm çapında ve düşükten orta dereceye kadar elektron-yoğun materyal içeren salgı granüllerinde yer almaktadır (Esrefoglu, 2004).

<b>Tablo 1. Pankreas Adacıklarında Bulunan Ana Hücre Tipleri (Ross, 2011)</b>			
<b>Hücre Tipi</b>	<b>%</b>	<b>Ürün</b>	<b>Granüller (TEM)</b>
<b>Alfa (<math>\alpha</math>)</b>	15-20	Glukagon	Yaklaşık 250 nm; açık renkli bir madde ile çevrelenmiş yoğun eksantrik merkez.
<b>Beta (<math>\beta</math>)</b>	60-70	İnsülin	Yaklaşık 300 nm; çoğunda açık renkli bir madde ile çevrelenmiş yoğun, kristal benzeri merkezi kısım.
<b>Delta (<math>\delta</math>)</b>	5-10	Somatostatin	Yaklaşık 325 nm; homojen matriks.

TEM ve immunohistokimyanın birlikte uygulanmasıyla adacıkta bulunan üç minör hücre tipi (PP-pankreatik polipeptit- hücresi, D-1 hücresi ve EC hücresi) daha tanımlanmıştır (Tablo 2). PP hücrelerinden serbest bırakılan pankreatik polipeptid mide esas hücrelerini uyarır, safra salgısını ve bağırsak motilitesini artırır. D-1 hücrelerinden glukagon etkisine sahip VIP (vazoaktif intestinal peptid) salgılanır. VIP ayrıca bağırsakların salgı aktivitesini ve mobilitesini artırır. EC hücreleri pankreastan enzim sekresyonunu arttıran sekretin, mide ve bağırsak mobilitesini arttıran motilin ve bir nörotransmitter olan substans P'yi salgılar.

Adacık beta hücrelerinden salgılanan insülin, kan glukoz seviyesini düşürür. Ana etkilerini karaciğer, iskelet kası ve adipoz doku üzerinde gösteren insülin, endokrin salgıların en bol olanıdır. İnsülin spesifik hücre membran glukoz taşıyıcılarının görev aldığı dolaşımdan hücrelere glukozun alınmasını, glikojen sentaz enziminin aktivasyonunu ve hücrelerde glukolizin arttırılmasıyla glukozun fosforilasyonu ve kullanımını uyarır. İnsülinin yokluğu ya da yeterli olmaması, kan glukoz seviyesinin yükselmesine ve idrarda glukoz bulunmasına sebep olur. Bu durum “diyabetes mellitus” olarak adlandırılmaktadır. Son zamanlarda,

merkezi sinir sisteminde insülinin ve insülin büyüme faktörlerinin ekspresyonundaki azalma ile Alzheimer hastalığı arasında ilişki kurulmuştur. Glukoz metabolizması üzerindeki etkilerinin yanı sıra, insülin adipoz hücrelerde gliserol sentezlenmesini stimüle eder ve lipaz aktivitesini inhibe eder (Junqueira, 2003).



**Şekil 4:** Glukoz homeostazının şeması (<http://www.biyolojiportali.com/belgeler>, Erişim tarihi: 23 Aralık 2018)

Adacık  $\alpha$  hücrelerinden salgılanan glukagon, insülinin tam tersi olarak kan glukoz seviyesini arttıran bir hormondur. Glukagon, glukozun kana serbest bırakılmasını, karaciğerde glukoneogenezi ve glikojenolizi stimüle eder. Glukagon glukoneogenezi arttırmak için proteolizi uyarır, adipositlerden yağları harekete geçirir ve hepatik lipazı indükler.

Delta ( $\delta$ ) hücreleri tarafından salgılanan somatostatin, hipotalamustan salgılanan ve ön hipofiz bezinden somatotropin (büyüme hormonu) salıverilmesini düzenleyen hormonun aynısıdır. Somatostatinin, adacıktaki kesin rolü tam olarak belli olmamasına rağmen insülin ve glukagon salgılanmasını inhibe ettiği gösterilmiştir.

Adacık hücrelerinin salgılarının asiner hücreler üzerinde de düzenleyici etkileri vardır. İnsülin, VIP ve CCK ekzokrin sekresyonu uyarken, glukagon, PP ve somatostatin ekzokrin sekresyonu inhibe eder.

Kan glukoz seviyesinin yüksek ( $>70\text{mg}/100\text{mL}$ ) olması beta hücrelerinden insülin salıverilmesini uyararak glukozun karaciğer ve kas tarafından alınması ve depolanması ile sonuçlanır ve kan glukoz seviyesinin düşmesi insülin salgılanması durdurur. Ayrıca, kandaki yağ asiti seviyesindeki artış ve dolaşımdaki gastrin, CCK ve sekretin de insülin salıverilmesini stimüle etmektedir. Adacıktaki  $\alpha$  hücrelerinden salıverilen CCK ve glukagon,  $\beta$  hücrelerinden insülin salgılanmasını stimüle eder.

Kan glukoz seviyesi düşük ( $<70\text{ mg}/100\text{ mL}$ ) olduğunda glukagon salgılanması uyarılırken, bu değerin belirgin düzeyde üstüne çıktığı zaman glukagon salgılanması inhibe olur. Kanda düşük yağ asiti seviyesine yanıt olarak da glukagon salıverilmektedir. İnsülin,  $\alpha$  hücreleri tarafından glukagon salıverilmesini inhibe eder, fakat adacıktaki kademeli dolaşım nedeniyle bu inhibisyon genel dolaşımda taşınan insülinin hormonal etkisinden etkilenmektedir (Ross, 2011).

Adacıkların hem sempatik hem de parasempatik innervasyonu vardır. Adacık hücrelerinin yaklaşık %10'unun plazma membranlarında direkt olarak sinir sonlanmaları bulunmaktadır. Adacık hücreleri arasında bulunan iyi gelişmiş oluklu bağlantılar sayesinde sinir sonlanmalarında sinaptik transmitterler tarafından tetiklenen iyonik olaylar hücreden hücreye aktarılır. Parasempatik (kolinerjik) stimülasyon hem insülinin hem de glukagonun salgılanmasını artırırken, sempatik (adrenerjik) stimülasyon glukagon salıverilmesini artırır, fakat insülin salıverilmesini inhibe eder. İnsülin ve glukagon üzerindeki bu nöronal kontrol, stres reaksiyonlarında dolaşımdaki glukozun kullanılabilirliğine katkıda bulunuyor olabilir.

Pankreasın kan desteği adacıkların ve asinüsün kademeli perfüzyonunu sağlamaktadır. Adacıkların periferinden birkaç arteriyol girerek pencere kapillerlere dallanır, bu kapillerler kan merkezdeki  $\beta$  hücrelerine ulaşmadan önce ilk olarak periferdeki  $\alpha$  ve D hücrelerinin perfüzyonunu sağlamaktadır. Septumlarda ilerleyen ve adacığın merkezi kısmını penetre eden daha büyük damarlara da  $\alpha$  ve D hücreleri eşlik etmektedir; böylece  $\beta$  hücrelerine ulaşan kan her zaman ilk önce  $\alpha$  ve D hücrelerinin perfüzyonunu sağlamış olur.

Adacığı terkeden büyük efferent kapillerler dallanarak ekzokrin pankreasın asinüslerini saran kapiller ağı oluşturan dallar verirler. Bu kademeli akış diğer endokrin organların (pitüiter, adrenal) portal sistemlere benzemektedir (Junqueira, 2003).

#### 4.2. Metabolik Sendrom

Metabolik sendrom (MS), insülin direnciyle başlayan abdominal obezite, glukoz intoleransı, dislipidemi, hipertansiyon ve koroner arter hastalığı gibi sistemik bozuklukların birbirini izlediği ölümcül olabilen bir endokrinopatidir. MS yerine insülin direnci sendromu, sendrom X, polimetabolik sendrom gibi farklı terimler de kullanılmaktadır. İlk kez 1988'de Reaven, çeşitli risk faktörlerinin sıklıkla birlikte bulunduğuna dikkat çekmiş ve sendrom X olarak adlandırdığı bu kombinasyonun kardiyovasküler hastalıkların gelişme riskini arttırdığını belirtmiştir (Reaven, 1988).

Hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde önemli bir halk sağlığı problemi olarak bilinen MS'un sıklığı farklı coğrafi ve etnik özelliklere, popülasyonların yaş ve cinsiyet özelliklerine göre değişmekle birlikte, küresel bir artış göstererek birçok ülkede erişkin popülasyonun %20-30'unu etkileyen pandemik bir hastalık olduğu bilinmektedir. MS prevalansı erişkinlerde ortalama %22'dir. Yaş ile artmasının bir sonucu prevalans, 20-29 yaş grubunda %6,7, 60-69 yaş gurubunda ise %43,5 oranında görölmektedir. TEKHARF (Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri Sıklığı) çalışmasına göre, 2000 yılı ve sonrasında Türkiye genelinde 30 yaş ve üzerindeki 9,2 milyon kişide MS görölmektedir ve koroner arter hastalığına sahip bireylerin %53'ü beraberinde MS de gözlenir. Ülkemizde MS görölme sıklığı, erkeklerde %28 iken kadınlarda %40'tır.

MS'nin tüm bileşenlerinin etyopatogenezini açıklamak için tek bir genetik, enfeksiyöz ya da çevresel faktör henüz tanımlanmamıştır. Ancak MS'nin etyolojisi üç kategoride değerlendirilebilir: Obezite/yağ dokusu bozuklukları, insülin direnci ve bağımsız faktörler (vasküler, hepatik ve immünolojik kökenli moleküller gibi). Poligenik yatkınlık söz konusu olsa da modern kent hayatının sunduğu sedanter yaşam ve yüksek kalorili beslenme, sendromun seyrini tetiklemektedir. MS sıklığını arttıran diğer nedenler olarak post-menapozal dönem, sigara kullanımı, düşük gelir düzeyi, yüksek karbonhidrat diyeti ve fiziksel inaktivite gösterilebilir.

Dünya Sağlık Örgütü 1998 yılında metabolik sendromu tanımı için diyabet, artmış açlık glukozu, glukoz intoleransı veya insülin direnciyle birlikte hipertansiyon (>160/90

mmHg), hiperlipidemi, santral obezite ve mikroalbuminüriden en az ikisinin olması gerekliliğini belirtmiştir. Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Erişkin Tedavi Paneli'nde (National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel; NCEP-ATP III) 2001 yılında yetişkinlerde MS tanısında abdominal obezite (erkeklerde >102 cm, kadınlarda >88 cm), hipertrigliseridemi (>150 mg/dl), düşük HDL (erkeklerde <50 mg/dl), hipertansiyon (kan basıncı>130-85 mm-Hg), hiperglisemi (açlık kan şekeri>110 mg/dl) kriterlerinden üçünün varlığının yeterli olduğunu bildirilmiştir. 2005 yılında Uluslararası Diyabet Federasyonu'nda ise metabolik sendrom tanısı koyabilmek için santral obeziteye ek olarak yüksek trigliserid, düşük HDL, yüksek kan basıncı, yüksek açlık glukozundan en az ikisinin bulunması gerektiği bildirilmiştir. Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Derneği'nin 2005 yılında hazırladığı metabolik sendrom tanı kılavuzunda ayrıca proinflamasyon, protrombotik durum, CRP, IL-6, PAI-1 artışı gibi diğer tanımlayıcı belirteçler vurgulanmıştır. Tanı için kullanılmamakla birlikte bu belirteçlerin artması kardiyovasküler hastalık riskini artırmaktadır (Balkan ve ark., 2014).

Aşağıdakilerden en az biri:

- Diabetes mellitus veya
- Glukoz intoleransı veya
- İnsülin direnci ve

Aşağıdakilerden en az ikisi:

- Hipertansiyon (sistolik KB >130, diyastolik KB >85 mmHg veya antihipertansif kullanıyor olmak)
- Dislipidemi (trigliserid düzeyi >150 mg/dl veya HDL düzeyi erkekte <40 mg/dl, kadında <50 mg/dl)
- Abdominal obezite (VKİ >30 kg/m<sup>2</sup> veya bel çevresi: erkeklerde >94 cm, kadınlarda 80 cm)

**Tablo 1.** Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Derneği, Metabolik Sendrom Çalışma Grubunun önerdiği, Metabolik Sendrom Tanı Kriterleri (2005) (Balkan ve ark., 2014).

#### 4.2.1. MS ile İlişkili Klinik Durumlar

MS ile ilişkili olarak sıklıkla gözlenen hiperlipidemi, obezite, insülin direnci, hipertansiyon ve diyabete ek olarak kardiyovasküler hastalıklar, yağlı karaciğer hastalığı, steatohepatitis, karaciğer fibrozu, sirozun da MS’de arttığı bilinmektedir. Kronik böbrek hastalığı MS durumunda daha sık görülür ve hastalığın riski metabolik sendrom bileşenlerinin artışına paralel olarak artmaktadır. Ayrıca, demans ve kognitif fonksiyonlarda azalma metabolik sendromda daha sık gözlenmektedir.

METABOLİK SENDROM İLE İLİŞKİLİ BOZUKLUKLAR
İnsülin Direnci
Hiperinsülinemi
Abdominal Obezite
Dislipidemi; yüksek trigliserid, düşük HDL
Yağlı karaciğer; alkolik olmayan steatohepatoz, steatohepatit
Tip 2 diyabet
Hipertansiyon
Adiposit disfonksiyonu
Endotel disfonksiyonu
Uyku-apne sendromu
Kronik inflamasyon
Polikistik over sendromu
Hiperkoagülabilité

**Tablo 2. Metabolik sendrom ile ilişkili bozukluklar**

##### 4.2.1.1. Hiperlipidemi

MS’lu bireylerde obezite ve insülin direnci etkisi ile gelişen dislipidemi, HDL düşüklüğü ve TG yüksekliği ile karakterize edilmiştir. LDL sıklıkla normal düzeylerde olmasına rağmen VLDL alt gruplarında artış bulunmaktadır. Hipertrigliseridemi ve HDL düşüklüğü kardiyovasküler hastalık riskinde artışa sebep olur. Ülkemizde MS sıklığını ortaya koymak için yapılan bir çalışmada yüksek TK, TG, LDL ve VLDL düzeyleri ve düşük HDL düzeyi bildirilmiştir (Kozan ve ark., 2007).

#### 4.2.1.2. Obezite

Obezite, besinler ile alınan enerjinin, harcanan enerjiden fazla olmasından kaynaklanan anormal veya aşırı yağ birikimi olarak tanımlanır. Obezite başta kardiovasküler ve endokrin sistem olmak üzere tüm organ ve sistemleri etkileyerek çeşitli bozukluklara ve hatta ölümlere yol açabilen önemli bir sağlık problemidir. Dünya Sağlık Örgütü tarafından en riskli 10 hastalıktan biri olarak kabul edilen obezitenin son araştırmalarda kanserle yakın ilgisi olduğu da belirtilmiştir.

Bir halk sağlığı problemi olan obezite vücutta yağ birikmesiyle ortaya çıkan fizyolojik bir bozukluktur. Günümüzde obezite, kalp-damar hastalıkları ve T2D gibi komplikasyonlarıyla birlikte yaygın olarak görülmektedir. “Fazla kilolu (overweight)” ve “obez (obese)” tanımları erişkinlerde vücut kitle indeksi (kilo/boy<sup>2</sup>) ile belirlenir. Vücut kitle indeksi (VKİ) 25-29,9 arasında olanlar “fazla kilolu” ve  $\geq 30$  olanlar da “obez” olarak değerlendirilir. ABD'de 2000'li yılların başında vücut kitle indeksi  $\geq 30$  olan kişi sayısının %30'ları aştığı ve fazla kilolu ve obez kişilerin de %66'lara ulaştığı bilinmektedir.

Obezite ve fazla kilo enerji dengesizliğinden kaynaklanır ve bu duruma yüksek kalorili besin alımı, yetersiz fiziksel aktivite ve genetik faktörler katkıda bulunur. Tedavide davranışsal, fiziksel ve çevresel faktörler önem taşımaktadır (Alberti ve Zimmet, 1998; Grundy ve ark., 2004; Liu ve ark., 2006; Matsuzawa, 2006).

#### 4.2.1.3. İnsülin Direnci

Tip 2 diyabetin gelişiminde en önemli faktörün insülin direnci olduğu bilinmektedir. Ancak, insüline direnci sadece diyabet ile sınırlı olmayan kompleks bir olaydır. Obezite ve gebelikte hedef dokularda insüline karşı duyarlılık azalmakta, insülin direncini dengelemek için serum insülin düzeyi yükselmektedir. Dolayısıyla, insüline karşı direnç, insülin üretimi artışı ile dengelenemediğinde subklinik tip 2 diyabet ortaya çıkabilir.

İnsüline direncin hücresel ve moleküler temelleri henüz tam olarak netlik kazanmamıştır. İnsülin etkisinin üç ana hedefi vardır. Bunlar, glukoz alımını sağladığı yağ ve kas dokusu ile glukoz üretimini baskıladığı karaciğerdir. İnsülin bu hedeflerde ilk olarak insülin reseptörüne bağlanarak etkisini gösterir, insülin reseptörünün aktifleşmesi de metabolik yolları etkileyen hücre içi cevaplar dizisini tetikler. Böylece, glukoz alımını kolaylaştıran glukoz transport ünitelerinin hücre zarına translokasyonu sağlanır. Tip 2 diyabette bazı olgularda insülin reseptörlerinde yapısal ve sayısal defektler vardır ve bundan

dolayı, temel olarak insülin direncinin postreseptör iletimi ile ilişkili olduğuna inanılmaktadır.

İnsülin direncinin temel sebebini anlamak için tip 2 diyabet ile obezite arasındaki ilişkinin üzerinde durulması oldukça önemlidir. Tip 2 diyabet patogeneğinde önemli bir çevresel risk faktörü olan obezitenin çocuklarda artan tip 2 diyabet insidansında önemli bir rolü vardır. Birçok obez kişide erken dönemde, kilo kaybı ve fiziksel egzersiz, insülin direncini ve glukoz intoleransını geriye döndürebilmektedir.

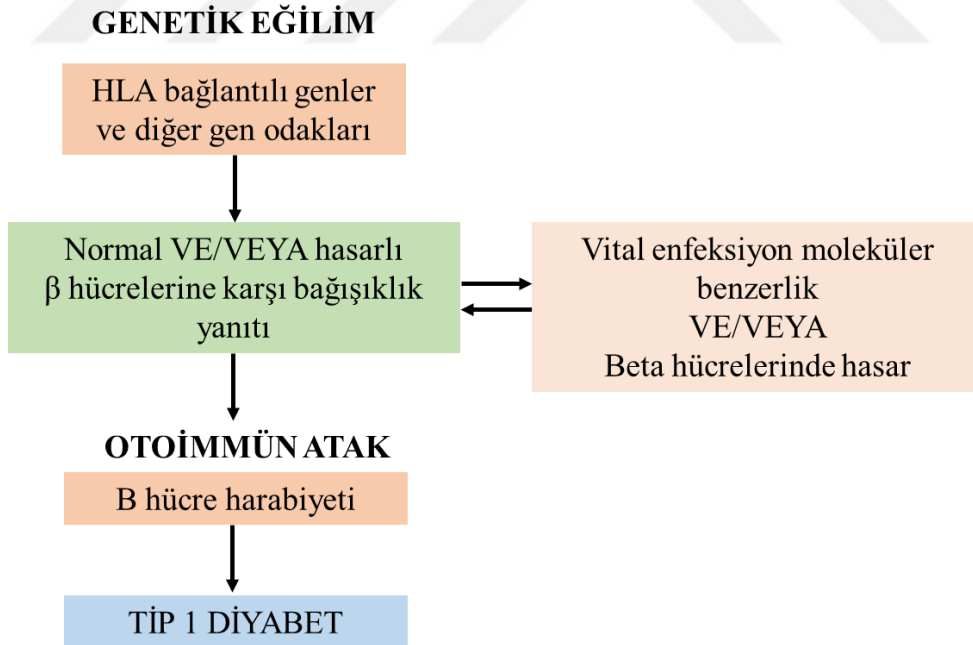
Yapılan çalışmalar, yağ dokusunun sadece trigliseritlerin depolanma bölgesi değil aynı zamanda insülinin önemli hedefleri olan kas dokusu ve karaciğer ile etkileşimde, çok yönlü bir endokrin doku olduğuna işaret etmektedir. Adipositlerin diğer dokular üzerindeki etkileri yağ hücreleri tarafından meydana getirilen tümör nekrozis faktör (TNF), yağ asitleri, leptin ve yeni tanımlanmış bir faktör olan rezistin kapsayan moleküler araçlar yolu ile olur. İnflamasyonda ve immünitede etkileri olan TNF'in obez kişilerin yağ hücrelerinde ekspresyonu artar. Postreseptör ileti yollarını etkileyerek insülin direncine neden olur. Obezitede artmış serbest yağ asitlerinin (SYA) insülin direncini tam olarak açıklanamayan mekanizmalar ile arttırdığı bilinmektedir. Bir adiposit hormonu olan leptinin kemirgenlerde genetik yokluğu belirgin obezite ve insülin direnci oluşturur. Bu hayvanlarda leptin verilmesi ile obezite ve insülin direncinin azaldığı gözlenmiştir. Böylece leptin, TNF'e zıt olarak insülin direncini düzeltir. Yağ dokusunda keşfedilen ve insülin direncini arttıran rezistin molekülünün kemirgenlerde oluşturulmuş deneysel obezite modellerinde düzeyleri yüksek bulunmuştur. İnsanlarda, tip 2 diyabetin tedavisinde kullanılan bazı oral antidiyabetik ajanların terapötik etkilerinin, rezistin üretimini düzenleme kapasiteleri ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Tiazolidinedion sınıfı antidiyabetik ajanlar yağ hücrelerinde eksprese edilen reseptörlerine bağlanarak rezistin veya insülin direncini etkileyen diğer yağ hücresi genlerinin transkripsiyonunu kontrol ederler. Reseptör agonisti ilaçların rezistin üretimini azaltarak insülin duyarlılığını arttırdığı düşünülmektedir. Dolayısıyla, tip 2 diyabetin tedavisi için reseptör aktivasyonu yeni bir hedef olarak ortaya çıkmaktadır.

T2D hem bozulmuş insülin salımının hem de organ duyarsızlığının sonucu oluşan kompleks ve multifaktöryel bir hastalıktır. İnsülin direnci sıklıkla obezite ile ilişkilidir ve beta hücrelerinde şiddetli bir strese neden olur, bunun sonucunda beta hücreleri uzun süreli artan insülin ihtiyacına yanıt veremez. Bu olayda, genetik faktörlerin de varlığının üzerinde durulmaktadır (Ross, 2011).

#### 4.2.1.4. Diyabetes Mellitus

Diyabetes Mellitus (diyabet), karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasının kronik bir hastalığı olarak bilinir. Hatalı karbonhidrat (glukoz) kullanımına sebep olan, defektif ya da yetersiz insülin sekresyonu, diyabetes mellitusun karakteristik özelliğidir ve hiperglisemi ile sonuçlanır. Diyabetin iki temel tipi, kalıtım şekilleri, insüline yanıtları ve kaynaklarına göre farklılık gösterir. Farklı patojenik mekanizmaları ve metabolik karakteristik özellikleri olmasına rağmen, kan damarları, böbrek, göz ve sinirlerdeki komplikasyonlar her iki tipte de meydana çıkabilir ve bunlar diyabet morbiditesinin ve ölümünün en önemli nedenleridir.

Tip 1 diyabet (T1D) beta hücrelerinin otoimmün olarak harabiyeti ile ortaya çıkar. T1D, en sık Kuzey Avrupa soyundan genel kişilerde rastlanır. Genetik eğilim, otoimmünite ve çevresel faktörleri içeren birbirine bağlı üç mekanizma adacık hücre harabiyetinden sorumludur (Şekil 5). T1D'in insülin bağımlı formu genelde çocukluk çağında ve ergenlikte gelişirken, latent otoimmün diyabet olarak adlandırılan (LADA) hafif seyirli insülin bağımlı olmayan bir form olarak erişkinde de kendini gösterebilir. Tip 1 olarak adlandırılan insüline bağımlı diyabet hastaları hayatlarını sürdürebilmek için insüline gereksinim duyarlar. İnsülin yokluğunda ise hastalarda akut ketosidoz ya da koma gibi metabolik komplikasyonlar gelişir.

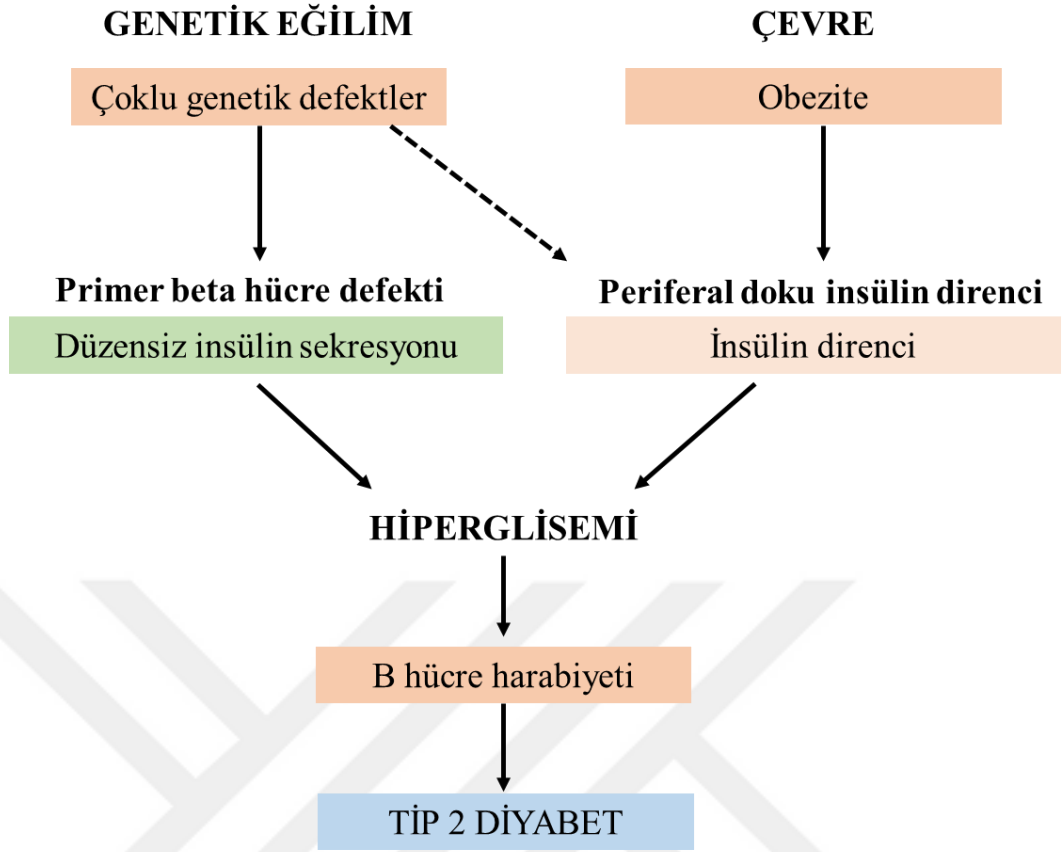


**Şekil 5:** Tip 1 diyabete neden olan beta hücre harabiyetinin olası mekanizmaları (HLA; human leukocytes antigen, insan lökosit antijeni) (Ross, 2011)

Daha sık görülen Tip 2 diyabet (T2D) patogenezinde otoimmün mekanizmaların etkisi olduğuna dair bir kanıt rastlanmamıştır. Özellikle obezite göz önüne alındığında, yaşam

biçiminin önemli rol oynadığı görülmektedir. T2D esas olarak erişkin hastalığı olarak kabul edilse de özellikle Amerikan yerlisi, İspanyol ve Asyalı obez çocuklarda, insidansında epidemik bir artış da mevcuttur. Genetik faktörler, T1D'te olduğundan daha büyük önem taşımaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar, T2D'in, birden fazla defektin toplam bir sonucu olduğunu göstermektedir ve bu genetik defektlerin her biri kendine ait zemin hazırlayan riskleri ortaya koymakta, aynı zamanda da çevresel faktörler tarafından etkilenmektedir.

T2D'te karakterize olan iki metabolik defekt, insülinin beta hücrelerinden düzensiz sekresyonu ve periferdeki dokuların insüline yanıtının eksikliğidir (insülin direnci). İnsülinin beta hücrelerinden düzensiz sekresyonu T1D'ten daha hafiftir. T2D'in erken dönemlerinde, insülin sekresyonu normal görünmektedir ve plazma insülin düzeyleri düşük değildir. Ancak normal pulsatil, dalgalanan insülin sekresyon patterni kaybolmuş ve insülinin glukoz tarafından tetiklenen hızlı ilk dönem sekresyonu azalmıştır. Bunlar ve diğer gözlemlerin sonucu; T2D'in erken dönemlerinde, hiperglisemiye karşı beta hücre yanıtındaki düzensizliklerin, insülin sentezi yetersizliğinden daha etkin olduğunu göstermektedir. T2D'teki insülin eksikliğinin nedeni henüz tam olarak açıklık kazanmamıştır. T2D modeli ile yapılan deneysel çalışmaların sonuçlarına göre, beta hücre kitlesinde ve insülin üretimindeki dengeleyici artışın temel nedeni insülin direncidir. Hastalığın geç dönemlerinde, beta hücrelerinin %20-50'si kaybolur. Bu durum glukoz ile uyarılan insülin sekresyonunun bozulması için yeterli değildir. Bunun yerine, beta hücreleri tarafından glukozun tanınmasında bir defekt var gibi gözükmektedir. Glukoz aracılıklı insülin sekresyonunun bu şekilde bozulmasının moleküler temeli tam olarak açıklanamamıştır.



**Şekil 6:** Tip 2 diyabetes mellitus'un patogenezi (Ross, 2011).

Diyabetin en önemli özelliği azalmış glukoz toleransı olup oral glukoz tolerans testi ile ortaya çıkarılabilir. Bu test, bir gecelik açlık sonrası oral olarak glukoz alımını takiben belli aralıklarla kan glukoz seviyeleri ölçülerek yapılır. Normal kişilerde, kan glukoz düzeyi hafif bir yükselme gösterir ve belirgin bir pankreatik insülin yanıtı ile bir saat içerisinde normoglisemik düzeye döner. Diyabetik kişilerde ve prelinik evredeki hastalarda, kan glukozu, uzun süreli olarak normalden daha yüksek seviyelere ulaşır. Bunun nedeni pankreatik insülin salgısının tamamen eksik olması ve/veya hedef dokularda azalan insülin yanıtıdır. Son yıllarda, diyabetin laboratuvar tanısında aşağıdaki kriterler de kullanılmaktadır:

1. Açlık (bir gecelik) sırasında venöz plazma glukoz konsantrasyonlarının, birden fazla 126 mg/dl ya da daha yüksek seviyelerde bulunması,
2. Diyabetin klinik bulguları ve rastgele alınan glukoz seviyesinin 200 mg/dl ya da daha yüksek seviyelerde bulunması,

3. 75g glukoz alımından sonraki ikinci saatteki venöz plazma glukoz konsantrasyonunun 200 mg/dl ya da daha yüksek bulunması.

#### **4.2.2. Metabolik Sendromda Tedavi Yaklaşımları**

Genetik özelliklerin aksine çevresel faktörlerin etkisiyle ortaya çıkan bir hastalık olan metabolik sendrom tedavisinde amaç diyabet ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesidir. Dolayısıyla, öncelikli yaklaşım yaşam tarzının düzenlenmesi olmalıdır. Beslenmede uygun düzen ve egzersiz programıyla sağlanan kilo kaybı, metabolik sendromda gözlenen tüm bozukluklar üzerinde olumlu etki sağlar.

Metabolik sendromun tedaviye yaklaşımında abdominal obezitenin önlenmesi öncelikli hedef gibi görünmektedir. Bunun için 6-12 aylık sürede toplam vücut ağırlığında %7-10'luk bir düşüş sağlayacak ve bunu devam ettirecek bir yaşam tarzı için kalori alımının kısıtlanması, fiziksel aktivitenin artırılması ve kişilerin bu konuda motive edilmesi gerektiği bildirilmiştir. Güncel klinik kanıtlar, haftalık fiziksel aktivitede 100-150 dakikaya varan, tercihen de 150-300 dakikayı bulan ve vücut ağırlığında yalnızca %5-7'lik bir azalma sağlayan yaklaşımların bile metabolik sendromu engellemek için yeterli olduğunu, lipid bozuklukları, glukoz intoleransı ve hipertansiyon üzerinde olumlu bir etki oluşturduğunu ve tip 2 diabetes mellitus başlangıcını üç yıllık bir dönemde bile %58 azalttığını ortaya koymaktadır. Diyet düzenlenmesinin obezite kontrolünün yanında kan basıncı, glisemi ve lipid düzeylerinde olumlu etkisi vardır. Metabolik sendromlu kişiler için genelde doymuş yağlardan ve kolesterolden kısıtlı, kompleks karbonhidratlardan zengin, bol meyve ve sebze tüketimini ve hipertansiyonu olanlarda tuz kısıtlamasını kapsayan diyet tipleri tavsiye edilir. Yavaş bir şekilde sindirilen düşük glisemik indekse sahip gıdalar lipid metabolizmasında olumlu etkilere sahip olduğu gibi insülin direncini de düşürebilir ve metabolik sendromu iyileştirebilir. Metabolik sendromlu hastalarda sigara ve alkol kullanımı kardiyovasküler, metabolik ve hepatik komplikasyonların riskini artırır; bu nedenle, yaşam tarzı değişiklikleri içerisinde sigara ve alkol konusu da önemle vurgulanmalıdır.

T2D önlenmesinde farmakolojik tedavi olarak metformin kullanımı diyabet riskini %31 oranında azalmıştır. Metformin ve thiazolidinler insülin direnci mekanizmasını düzenleyerek glukoz intoleransını düzeltebilirler.

Diyabet hastalarında serum kolesterolünün düşürülmesi, kan şeker regülasyonu, sigaranın kesilmesi ve hipertansiyona yönelik tedavi gerekir. Metabolik sendroma sahip hastaların her yıl kan lipidleri takip edilmedir. Normal bireylerde, LDL'nin 100 mg/dL'den

düşük, HDL'nin 40 mg/dL'den yüksek, trigliserid seviyesinin 150 mg/dL'den düşük olması beklenir. Metabolik sendrom olan kişilerde yüksek koroner arter hastalığı riski göz önünde bulundurularak LDL'nin 100 mg/dL altında tutulması için diyet ve ilaç (statin, fibrat atenolol ve kandesertan gibi) tedavisine gidilmelidir.

Sonuç olarak metabolik sendromun tedavisine yönelik yapılan çalışmalarda obezitenin önlenmesi en önemli strateji olarak görülmektedir. Artan kalori alımı ile oluşan obezite, metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalıklar ve alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalığı gibi birçok diyet kaynaklı komplikasyon ile ilişkilendirilmektedir. MS'nin dokularda histolojik, fonksiyonel ve biyokimyasal etkilerini inceleyebilmek ve farklı açılardan tedavi yaklaşımları sağlayabilmek için hayvan modellerinin kullanımı avantaj sağlamaktadır. Normal kemirgenler tarafından yüksek karbonhidratlı, yüksek yağlı bir diyetin kronik tüketimi, insan metabolik sendromunu taklit etmek ve potansiyel terapötik yaklaşımları test etmek için yeterli bir deney modeli sağlar. Kemirgenlerde, insan MetS ile ilişkili obezite ve diğer metabolik bozukluklara sebep olan birçok farklı gen hedefli ve doğal olarak bulunan mutasyon bulunmaktadır (Downs ve ark., 1998; Jacob ve Henriksen, 2004).

#### **4.2.3. YYD ile Beslenen Hayvan Modelleri**

İnsanda yapılan epidemiyolojik ve klinik çalışmalar yağlı diyet miktarı ile vücut ağırlığı artışı arasında pozitif ilişki olduğunu göstermekte ve ayrıca diyetle yağın azaltılması ile kilo kaybı arasında da benzer ilişki göstermektedir. Bu durum, YYD ile beslenmenin metabolizma ve hastalıklar üzerinde etkilerini araştırmak amacıyla yapılan hayvan modelleri ile desteklenmektedir. YYD ile indüklenen hayvan modelleri insülin direnci, dislipidemi ve obezite oluşturmak için kullanılan en etkili yöntemdir (Huang ve ark., 2004).

YYD ile beslenme sonucunda vücut ağırlığı, plazma insülin miktarı, plazma trigliserid ve SYA konsantrasyonunda artış gözlenir ve buna bağlı olarak artmış sistolik KB, kardiyak hipertrofi, miyokardiyal nekroz, endotel fonksiyon bozukluğu, albüminüri, böbreklerde lipid depolanması ve renal medullada makrofaj infiltrasyonunda artış gözlenmektedir (Ghibaudi ve ark., 2002; Panchal ve Brown, 2011). Deney hayvanlarında metabolik sendrom oluşturmak için kullanılan farklı YYD kompozisyonları bulunmaktadır. Bu farklı tipteki protokollerde enerjinin %20-60'ı hayvansal veya bitkisel yağlardan elde edilir. Kemirgen modellerde yağ oranı %45-60 olan diyetin 8 hafta ve daha fazla kullanımı literatürde kronik uygulama olarak geçmektedir (Hariri ve Thibault, 2010).

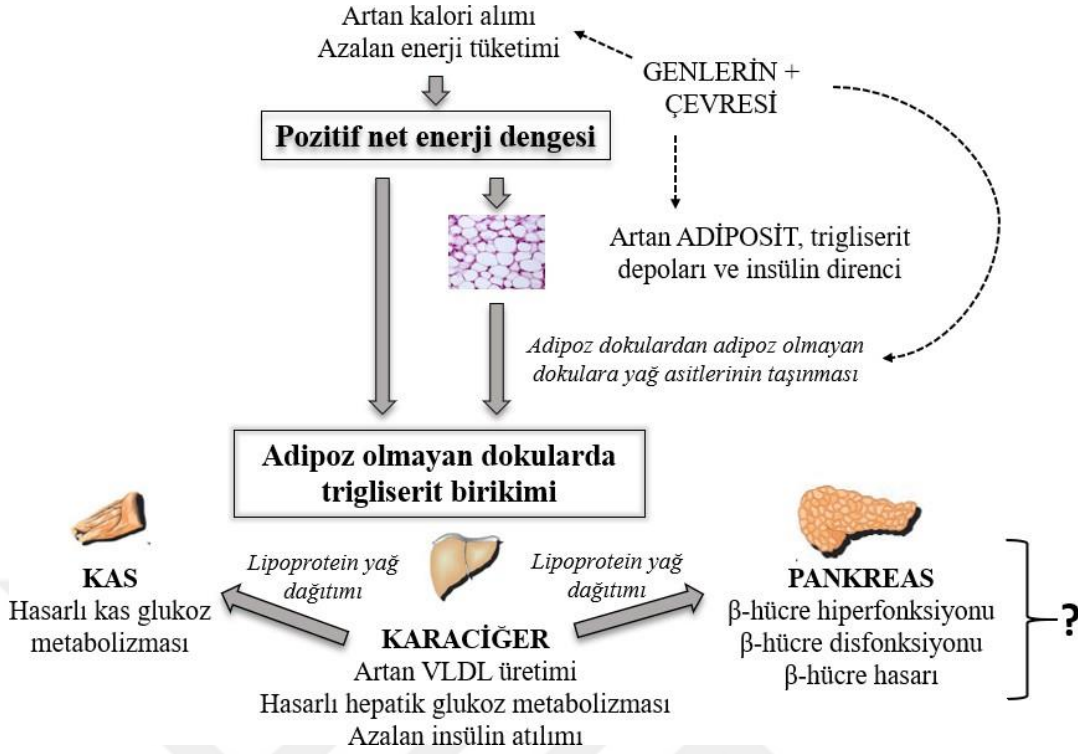
Kemirgenlerde %40'tan fazla enerji içeren bir yağlı diyetle 16 hafta maruz bırakıldığında, obezite, hiperglisemi, hipertrigliseridemi ve hiperleptinemi olduğu gösterilmiştir. Wistar ve Sprague Dawley cinsi sıçanlar diyet ile oluşturulan obezite ve insülin direncine yatkın oldukları için bu deneylerde standart kemirgenler olarak kullanılmaktadır. Daha önce yapılan bir çalışmada, YYD ile indüklenen obezite modeli olarak Wistar ve Sprague Dawley sıçanlar karşılaştırıldığında, her iki türde de YYD'nin enerji sindirimi, kilo alımı, vücut yağ kitlesi, mezenterik adipositlerin boyutu, adiponektin ve leptin plazma seviyelerinin arttığı, oral glukoz toleransının azalttığı gösterilmiştir. Bununla beraber, bu etkilerin çoğunluğunun Wistar sıçanlarda daha belirgin olduğu ve daha erken saptandığı vurgulanmıştır (Marques ve ark., 2016). C57BL/6 fare modellerinde ise %45-60 arasında yağ içeren diyetlerin MS'un kriterleri olan hiperglisemi ve obezite oluşturabildiği ve hiperglisemi geliştirmek için yaklaşık 4 haftalık sürecin gerekli olduğu belirtilmiştir (Fraulob ve ark., 2010). Başka bir modelde, erkek Sprague Dawley cinsi sıçanlara 10 hafta boyunca %32 yağlı diyet uygulanması sonucunda sistolik KB ve plazma renin aktivitesinin iki kat arttığı, beraberinde arteriyal hipertrofi geliştiği gösterilmiştir. Ayrıca obezite gelişen sıçanlarda obeziteye dirençli sıçanlara göre LDL düzeyinin, aort duvarında yağ birikiminin ve lipid peroksidasyonun arttığı gözlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, hipertansiyon ve renin-angiotensin sistem aktivasyonunun obezite ile ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır. Diyabetik Zucker (Zucker diabetic fatty, ZDF) sıçan modelinde yapılan bir çalışmada ise, gruplara kalorinin yağ oranları (%12,3, %16,7, %25,9 ve %48) farklı karşılanacak şekilde diyet uygulandığında erkeklerde %25,9 ve %48 yağlı diyet gruplarında, dişilerde ise yalnız %48 yağlı diyetle beslenenlerde hiperglisemide artış izlenmiştir. Bu veriler, dişi sıçanlar ile karşılaştırıldığında, erkek ZDF sıçanlarda daha düşük yağlı diyet ile diyabet gelişimine yatkınlık olduğunu göstermektedir (Cakar ve ark., 2013).

#### **4.3. YYD'le Beslenen Hayvan Modellerinde Pankreas Dokusu**

Kronik YYD ile beslenmenin patolojik sonuçlarının akut pankreatit, ateroskleroz, obezite, insüline bağlı olmayan diabetes mellitus ve diğer bozukluklar olan hiperlipidemi ile ilişkili olduğu kanıtlanmıştır (Sumiyoshi ve ark., 2006). Yağ sindiriminin çoğunluğu, üst bağırsakta, ekzokrin pankreastan salgılanan lipaz ile sağlanır. Fazla diyet yağının sindirimi sonucunda kan lipid düzeylerinin yükselmesi çeşitli bozuklukların gelişmesine yol açabilmektedir.

Pankreatik amilaz, lipaz ve proteaz seviyelerinin, ilgili substratların diyet içerikleriyle orantılı olarak değiştiği bildirilmiştir (Brannon, 1990; Kern ve ark., 1987). Diyetlerdeki yaę bileşeninin artması karbonhidrat bileşeninin azalmasına neden olduğundan, pankreatik amilazın da azaltılmış karbonhidrat bileşeninden etkilenebildiğini gsterilmiştir. Artan yaę alımı fare, sıčan ve domuz ekzokrin pankreasında lipaz aktivitesini arttırmaktadır. Buna ek olarak, ekzokrin pankreastan lipazların sentezi, mRNA içeriği ve transkripsiyonu diyet yağları tarafından dzenlenmektedir (Rippe ve ark., 2003). Lokal pankreatik lipaz tarafından pankreatik dokunun iğersinde ve etrafında TG'lerin hidrolizi, yksek konsantrasyonlarda SYA birikmesine öncülük eder (Zhang ve ark., 2008). Kısa süreli oral/intraduodenal yaę verilmesinin, pankreatik adaptasyonda güçlü araçlardan biri olan CCK salgılanmasına yol ağtığı iyi biliniyor olmasına rağmen (Hildebrand ve ark., 1998; Spannagel ve ark., 1996), ekzokrin pankreasın diyetle kronik yaę alımına adaptasyonu hakkında çok az bilgi mevcuttur.

Obezite, özellikle iskelet kası, karaciğer, kalp ve pankreas gibi adipoz olmayan dokularda lipidlerin aşırı birikmesine yol açar (şekil 8). YYD ile beslenme sonucunda lipogenez ve yağ asitlerinin oksidasyonu arasındaki dengesizlik lipid birikimi için sınırlı bir kapasiteye sahip olan bu hücreleri hasara karşı daha eğilimli yapar. Bu tür aşırı yağ birikimi hücrenel düzensizlik ve fonksiyonel doku bozukluğuna yol açabilen organa özgü toksik reaksiyonları tetikler. Adipoz olmayan dokularda reaktif lipid parçalarının ektopik aşırı birikimine neden olan bu eğilim yaygın olarak 'lipotoksisite' olarak adlandırılmaktadır (Kusminski ve ark., 2009; Nolan ve ark., 2006). Karaciğer, pankreatik  $\beta$ -hücreleri, miyokard ve iskelet kasında lipotoksisite, sonuç olarak insülin direncine, kardiyomiyopatiye ve T2D'e yol açar; bu patofizyolojik değişiklikler Reaven tarafından tanımlanmış olan MS olarak adlandırılır. Sonuç olarak, adipoz olmayan bölgelerdeki lipid birikimi, adipoz doku dağılımı ve metabolik sendrom arasındaki ilişkiyi daha net açıklamaktadır.



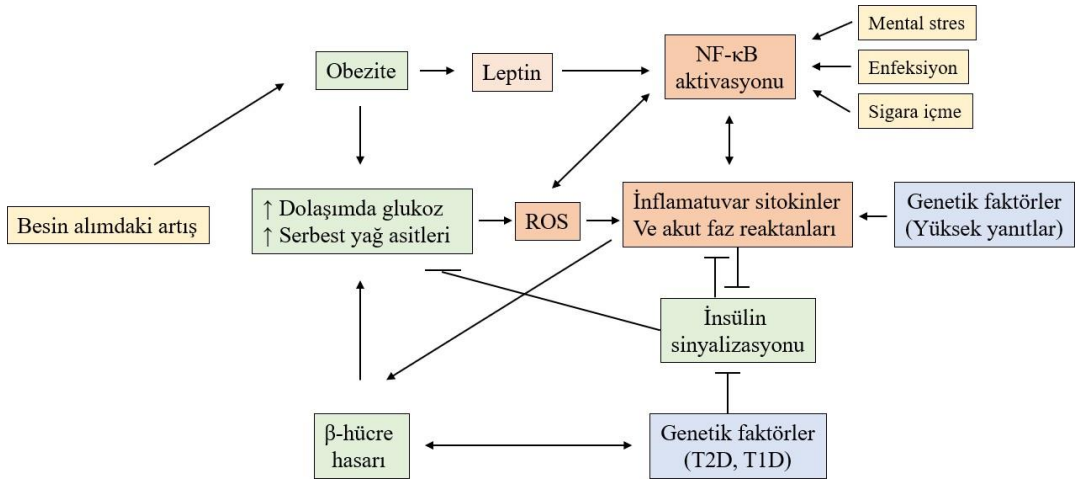
**Şekil 7:** Pozitif net enerji dengesinin glukolipotoksisiteye öncülük eden adipoz dokunun taşıma kapasitesini aşması (Lewis ve ark., 2002).

Deneysel çalışmalar, YYD maruziyetinin hiperlipidemiye tetiklediğini göstermektedir (Chowdhury ve ark., 2000). Doymamış SYA kolayca perokside olabilir ve sonrasında hücre membran fosfolipidleri gibi lipidlerin çeşitli tiplerinin peroksidasyonunu başlatır (Sanfey ve ark., 1984). Önceki çalışmalar, izole edilen pankreatik asiner hücre bileşenlerinin lipid peroksidasyonunun yüksek seviyelerde SYA nedeniyle olduğunu göstermiştir. Bu durum, hücreler lipid metabolizma kapasitesini aştığında oluşan hiperlipideminin, hücresel disfonksiyonu ve hücre ölümünü indükleyebildiğini düşündürmektedir. Pankreatik beta hücrelerinde artan lipid seviyesinin, beta hücre apoptozuna ve insülin sekresyonunda düzensizliğe öncülük etmesi lipotoksisitenin pankreatik hasarında önemli bir aracı olduğu göstermektedir (Haber ve ark., 2006). Hiperlipidemi, mikrodolaşım üzerinden lipid birikimi ve oksidatif stres ile birlikte endotel hücre aktivasyonunu artırır (Yan ve ark., 2006) (Oh ve ark., 2006). Dahası, hiperlipidemi hasarlı endotelyuma bağlı vazodilatör yanıtları indükler, endotel hücrelerine bağlı nötrofilleri artırır ve mikrodolaşımın kan akışı düzensizliğine sebep olur (Davies ve ark., 2001). Azalan kan perfüzyonu da pankreatik endotelial, asiner ve adacık hücre fonksiyonlarında hasar oluşmasına katkıda

bulunuyor olabilir (Yan ve ark., 2006). Fakat, pankreatik kan akışının YYD ile ilişkili mekanizması tam olarak açıklanamamıştır.

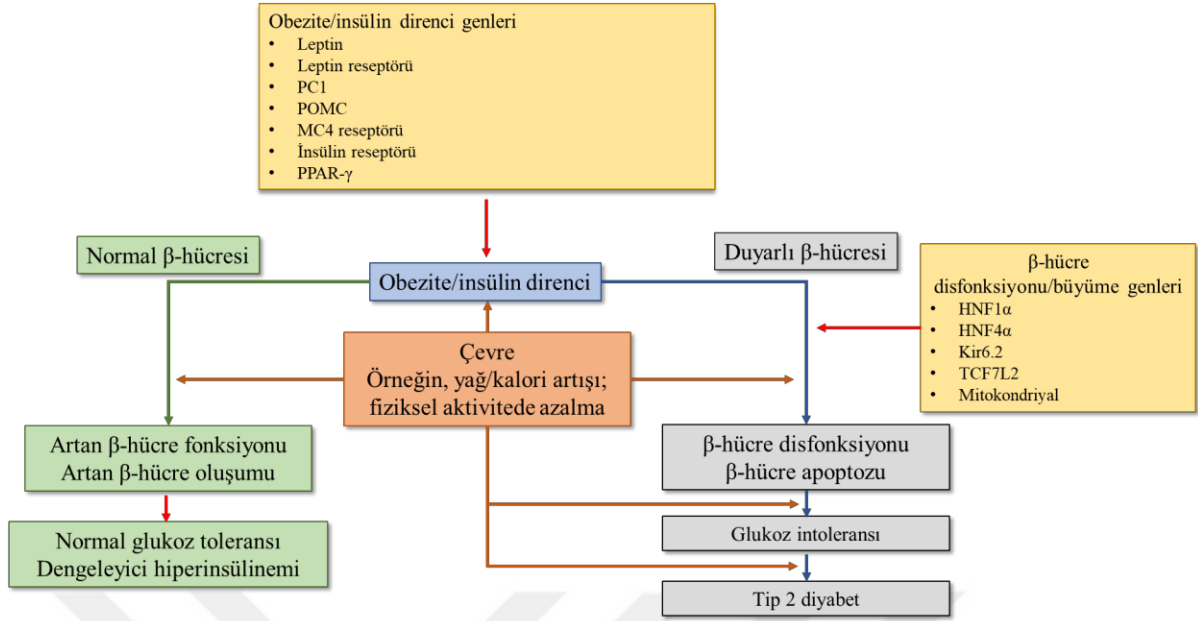
#### 4.3.1. YYD Maruziyetine Bağlı Oksidatif Stres ve $\beta$ Hücre Yanıtı

Klinik ve deneysel çalışmalar, oksidatif stresin akut pankreatit ve kronik pankreatik asiner ve adacık hücre hasarları dahil olmak üzere birçok hastalığın patogenezinde katkıda bulunduğunu göstermektedir (Sudhakara ve ark., 2018). Obezite, NADPH (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) oksidazlardan (NOX) süperoksit üretimi, oksidatif fosforilasyon, gliseraldehid oksidasyonu, protein kinaz C aktivasyonu ve polioll ve hekzosamin yolları gibi çoklu biyokimyasal mekanizmalar yoluyla sistemik oksidatif stres oluşturabilir (Patel ve ark., 2007). Son yıllardaki araştırmalar, NOX'un reaktif oksijen türlerinin (reactive oxygen species, ROS) esas kaynağı olduğunu göstermektedir. NOX, çok çeşitli uyarılara yanıt olarak ROS üreten çok bileşenli bir enzim kompleksidir ve üretilen ROS, sayısız indirgenme ve inflamasyon sinyal yollarında önemli ikincil haberciler olarak rol oynamaktadır. Obezite nedeniyle ortaya çıkan bu oksidatif stres pankreatik hasarla sonuçlanır ve özellikle pankreas adacıklarında insülin düzeylerinde artışla birlikte beta hücrelerinin disfonksiyonuna da neden olmakta ve böylece glikoz-insülin etkileşimini olumsuz etkilemektedir (Şekil 8) (Carillon ve ark., 2013).



Şekil 8: Besin alımındaki artış ile ROS oluşumu ve inflamasyonun tetiklenmesi (Dandona ve ark., 2004).

Obeziteye bağlı T2D’te hatalı insülin salınımı,  $\beta$  hücre disfonksiyonu ve azalmış  $\beta$  hücre kitlesinden kaynaklanmaktadır.  $\beta$  hücre disfonksiyonu kronik hiperglisemi/hiperlipidemiden kaynaklanır (Sone ve Kagawa, 2005). Normal  $\beta$  hücreleri kitlesini/insülin salgısını artırarak insülin direncini kompanse edebilir (Li ve ark., 2012). Beta hücre kitlesinin uzun süreli regülasyonu, replikasyon ve neogenezi içeren beta hücre büyümesi ile apoptoz, nekroz ve yaşlanma sonucu meydana gelen beta hücre kaybı arasındaki denge ile sağlanır (Lingohr ve ark., 2002; Sone ve Kagawa, 2005). YYD ile oluşan diyabet, insülin direnci ve salınım disfonksiyonu üzerinde yapılan geniş çaplı araştırmalar, obezite sonucunda beta hücrelerinin iki şekilde yanıt verdiğini göstermektedir. Birincisi, insülin direncini kompanse etmek için insülin üretiminin artması; ikincisi, tekrarlayan lipotoksisite durumunda beta hücre canlılığının azalmasıdır (Masek ve Fabry, 1959; McPherson ve Jones, 2003; Oakes ve ark., 1997; Stamateris ve ark., 2013; Unger, 2003). Periferik insülin direnciyle başa çıkabilmek için, azalmış  $\beta$ -hücre apoptoz ve  $\beta$  hücre kitlesinde, adacık  $\beta$ -hücre neogenezi, replikasyonu ve hipertrofisinde artış ile dengelemeye çalışmaktadır. YYD alımı ile SYA arttıka beta hücre proliferasyonu ve hücrelerde ROS üretimi indüklenir (Hirose ve ark., 1996; Surwit ve ark., 1995; Surwit ve ark., 1988). Beta hücrelerinin SYA’ne uzun süre maruz kalması, mitogenezin inhibisyonu ile birlikte hücre proliferasyonu ve ROS üretiminin bir sonucu olan  $\beta$ -hücre apoptozunu indükler, hücresel yaşlanmayı hızlandırır ve diyabete öncülük eder (Cousin ve ark., 2001; Sone ve Kagawa, 2005). Sonuç olarak, obezitenin erken evresinde hiperglisemi  $\beta$ -hücre proliferasyonunun artmasına katkıda bulursa da kronik hipergliseminin  $\beta$ -hücre fonksiyonu ve kitlesi üzerinde zararlı etkilerinin var olduğu kanıtlanmaktadır (Leahy ve ark., 1992).



**Şekil 9:** Normal glukoz toleransını koruyan ve T2D geliştiren bireylerde çevrenin ve genlerin etkileşimi (Kahn ve ark., 2006).

#### 4.3.2. YYD Maruziyetine Bağlı İnflamasyon

Kronik sistemik inflamasyon, obezite, insülin direnci ve T2D dahil olmak üzere çoklu metabolik bozuklukların patogeneğinde önemli bir rol oynar (Yan ve ark., 2012). Obezite ile adipoz doku depolarının artması, interlökin 6 (IL-6), serum amiloid A, C-reaktif protein ve tümör nekroz faktörü  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) gibi dolaşımdaki inflamatuvar sitokinlerin yüksek seviyelere ulaşmasına yol açar (Hotamisligil, 2006). Etiyolojik faktörler farklı olsa da altta yatan önemli nedenlerden biri, inflamatuvar hücrelerin aktivasyonunu uyuracak, proinflamatuvar sitokin salınımını artıracak ve dolayısıyla pankreatik hasara yol açacak olan oksidatif streştir (Wang ve ark., 2016). NF- $\kappa$ B (Nüklear faktör kappa B, NF- $\kappa$ B), proinflamatuvar sitokinleri (TNF- $\alpha$  gibi) ve adezyon moleküllerini (ICAM-1 gibi) içeren çeşitli genleri modüle eden oksidatif strese duyarlı bir transkripsiyon faktörüdür (Yan ve ark., 2012). NF- $\kappa$ B'nin iyi bilinen görevlerinden biri, inflamatuvar yanıtların düzenlenmesidir. Doğuştan gelen immün hücrelerde çeşitli proinflamatuvar genlerin uyarılmasına aracılık etmenin yanı sıra NF- $\kappa$ B, inflamatuvar T hücrelerinin aktivasyonunu, farklılaşmasını ve fonksiyonunu düzenler. Dolayısıyla, düzensiz NF- $\kappa$ B aktivasyonu, kronik inflamatuvar hastalıklar için önemli bir belirteçdir (Chen ve ark., 1999).

Çeşitli hücre tiplerinde NF- $\kappa$ B ekspresyonu, metabolik bozuklukların patolojisine katkıda bulunur. Vasküler endotel, kan dolaşımındaki okside lipidlere yanıt olarak NF- $\kappa$ B'yi

indükler. Hepatositler, adipositler ve hipotalamusta nöronlar dahil olmak üzere metabolik sistemin özelleşmiş hücreleri oksidatif strese yanıt olarak NF- $\kappa$ B'yi indükler. Artan metabolik bozukluklar, NF- $\kappa$ B aktivasyonunun da sonucu olarak diğer pro-inflamatuar sinyallerle aracılı olan nekrotik hücre ölümüne neden olabilir. Sıçanlarda YYD alımı ile aşırı miktarda SYA'ne yanıt olarak doğuştan gelen bağışıklık reseptörleri yolu ile NF- $\kappa$ B'nin aktive olduğu bildirilmektedir (Baker ve ark., 2011).

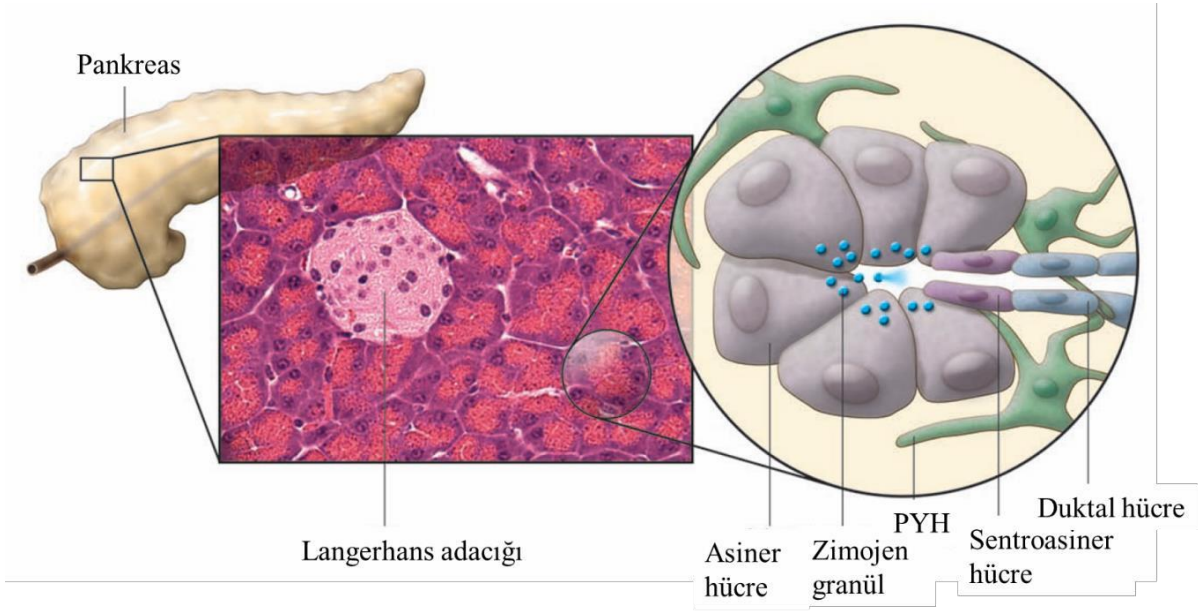
Oksidatif strese bağlı NF- $\kappa$ B aktivasyonu sadece pankreatik inflamasyon ile değil, aynı zamanda fibröz ile de ilişkilendirilmektedir (Yan ve ark., 2012). Daha önce yapılan deneysel çalışmalar, tekrarlayan/kronik inflamasyonda oksidatif hasar ve NF- $\kappa$ B aktivasyonu arasındaki yakın ilişkiyi göstermektedir; artan NF- $\kappa$ B sinyal aktivitesi, TGF- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ ) gibi bir dizi inflamatuvar molekülün ve pankreatik yıldız hücrelerin (PYH) aktivasyonunun upregülasyonunu tetikler ve daha sonra pankreatik lezyonların gelişimine katkıda bulunur (Hisada ve ark., 2005; Parola ve Robino, 2001; Shinozaki ve ark., 2010). NF- $\kappa$ B aktivitesinin blokajı, ekstrasellüler matriks sentezinin ve pro-inflamatuar üretiminin inhibisyonu üzerinden kronik pankreatitin progresyonunu önleyebilir. Bu nedenle, NF- $\kappa$ B sinyali pankreas dokularında inflamasyon ve fibrogenezi iyileştirmek için terapötik bir hedef olabileceği düşünülmektedir (He ve ark., 2009; Wang ve ark., 2016).

#### **4.3.3. YYD Maruziyetine Bağlı PYH'lerinin aktivasyonu**

Alfa-düz kas aktin (alpha-smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA), vasküler düz kas hücreleri içinde baskın olan ve fibrogenezde önemli rol oynayan aktin izoformudur. Miyofibroblastlar, normal yara onarımı ve anormal doku fibrogenezi için aktive edilmiş önemli fibrojenik hücrelerdir. Alfa-SMA, bu hücrelerin fibrojenik aktivitesi için bir belirteç olarak kullanılmaktadır.

Yağ depolayan hücreler olan hepatik yıldız hücrelerine benzer pankreastaki PYH ilk olarak 1982'de elektron mikroskobu ve otofloresan kullanımı ile gösterilmiştir (Watari ve ark., 1982). Sessiz (aktif olmayan) PYH genellikle birkaç hücre tipini karakterize eden ara filaman proteinlerini eksprese eder: Örneğin, miyositleri karakterize eden desmin, astrositleri karakterize eden glial fibriler asidik proteini (GFAP), lökosit, fibroblast ve endotel hücreleri karakterize eden vimentin ve nöroepitelyal kök hücreleri karakterize eden nestin. Çeşitli ara filaman proteinlerinin ekspresyonu, PYH'nin kontraktilite, hücresel etkileşim için uzantıların varlığı, ekstrasellüler matriks (ESM) bileşenlerini salgılama ve çoğalma gibi çok çeşitli potansiyel özelliklere sahip olduklarını vurgulamaktadır. Sessiz PYH, GFAP ve desmin

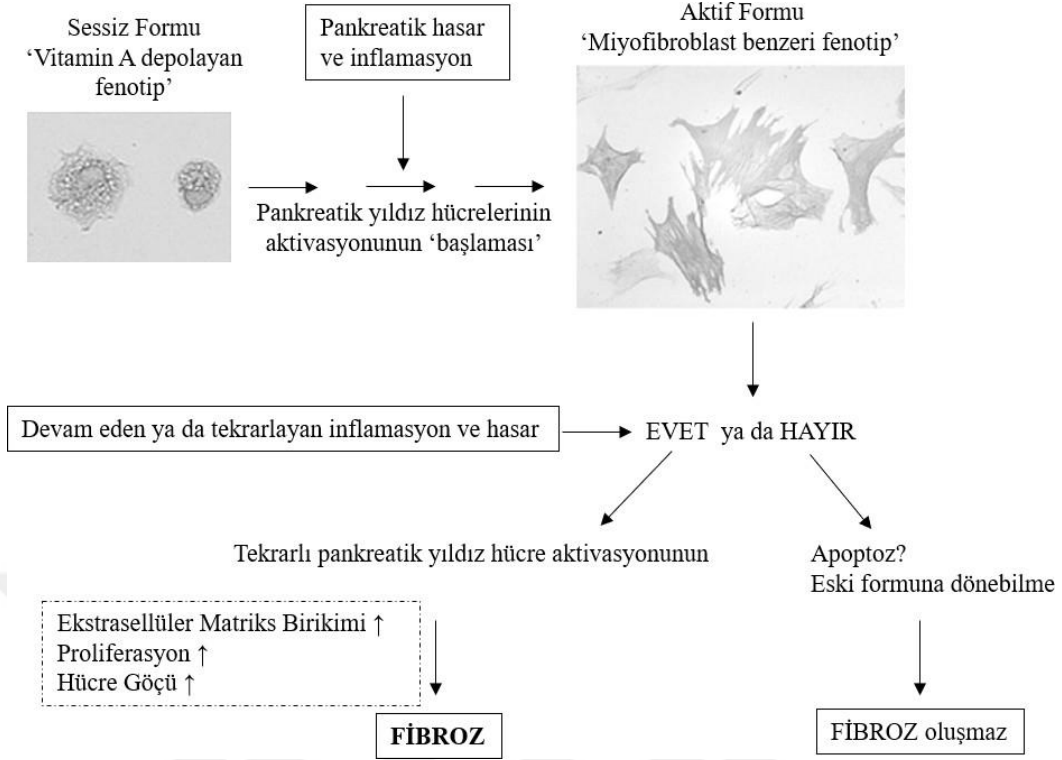
ekspresyonu ile birlikte hücre içi yağ damlacıklarının varlığı ile normal fibroblastlardan ayırt edilmektedir. PYH esas olarak periasiner dağılım gösterir ve tüm pankreatik hücrelerin %4'ünü oluşturur (Şekil 11). Sessiz PYH'nin fonksiyonları tam olarak bilinmemektedir, ancak periasiner lokalizasyonları pankreatik asiner hücrelerin korunmasında rol oynadıklarını düşündürmektedir. Buna ek olarak, PYH'nin periduktal ve perivasküler lokalizasyonu, pankreasta duktal ve vasküler fonksiyonların düzenlenmesinde etkili olabileceklerini akla getirmektedir (Apte ve ark., 2012; Jaster, 2004).



**Şekil 10.** Ekzokrin pankreasta PYH'nin periasiner dağılımı.

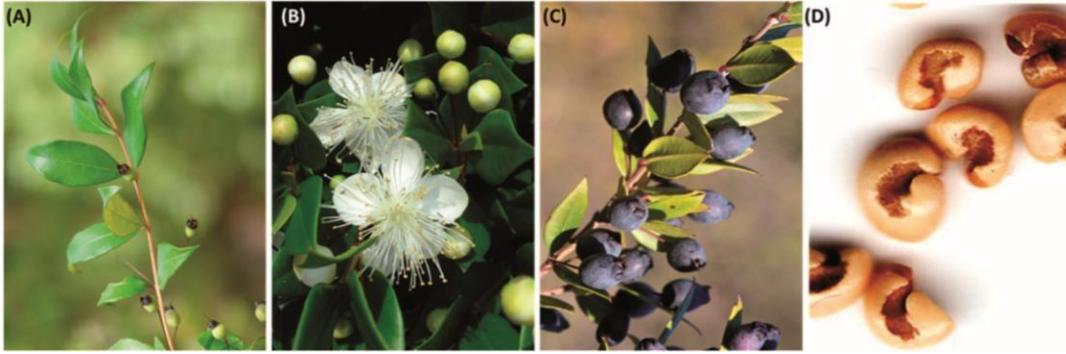
Aktif PYH izolasyon çalışmalarında, bu hücrelerin lipid damlacıklarını kaybettikleri, daha aktif bir şekilde çoğalıp göç ettikleri ve ekstrasellüler matriks bileşenlerini (kolajen I, III, ve IV, fibronektin) ve  $\alpha$ -SMA ürettikleri, aynı zamanda pro-inflamatuar sitokinleri ve kemokinleri salgıladıkları rapor edilmiştir. PYH, asiner hücreler, inflammatuar hücreler, trombositler, duktal hücreler, endotelial hücreler, kanser hücreleri tarafından veya kendi başlarına aktivelebilmektedir. Hayvan modelleri üzerinde oluşturulan deneysel pankreatit çalışmaları, parankimal nekroz ve inflamasyonun PYH aktivasyonundan önce geldiğini, dolayısıyla bu hücrelerin aktivasyonu için nekrotik bir inflammatuar sürecin ön şart olduğunu göstermektedir. Bu durum, PYH aktivasyonunda otokrin ve parakrin araçların rol oynadığını göstermektedir (Apte ve ark., 2011; Bachem ve ark., 1998; Masamune ve ark., 2009; Vonlaufen ve ark., 2007).

Pankreatik hasar ya da inflamasyona yanıt olarak, sessiz PYH  $\alpha$ -SMA'yı eksprese eden miyofibroblast benzeri hücrelere farklılaşarak morfolojik ve fonksiyonel değişiklikleri meydana getirir (Apte ve ark., 1998; Bachem ve ark., 1998) (Şekil 12). PYH proliferasyonu ve göçünü indükleyen PDGF ile  $\alpha$ -SMA ve ESM proteinlerini eksprese etmek için PYH'ni uyaran TGF- $\alpha$ 'nın rolleri literatürde farklı çalışmalarla desteklenmektedir (Apte ve ark., 2000; van Westerloo ve ark., 2005; Yan ve ark., 2006). Deneysel çalışmalar, sitokinler tarafından aktive olan PYH'nin inflamatuvar yanıtı arttırmasının yanı sıra hasarlı pankreatik asiner hücrelerden ROS'u serbest bırakarak pankreatik fibroza neden olduğunu göstermektedir (Zhang ve ark., 2008). Bu çalışma, spontan kronik pankreatit olan Wistar Bonn/Kobori sıçanlarında, pankreatik fibroz alanlarında inflamasyon ve  $\alpha$ -SMA'yı eksprese eden PYH aktivasyonu gözlenmesi ile desteklenmektedir. PYH aktivasyonu ve fibroz ilişkisi ayrıca farelerde cerulein (kolesistokinin analogu ve pankreas sekretagogu) kullanımı ile indüklenen pankreatit modeli ve sıçanlarda pankreas kanalına trinitrobenzen sülfonik asit verilerek oluşturulan deneysel bir modelde de gösterilmiştir. (Omary ve ark., 2007). Bu fibrotik bölgelerde, sadece  $\alpha$ -SMA'yı eksprese eden hücreler, prokolajen  $\alpha$ 1I kodlayan mRNA üretirler, bu da aktive edilmiş PYH'nin pankreas fibrozu sırasında baskın kolajen kaynağı olduğunu gösterir (Phillips ve ark., 2003). Uzun süreli YYD alımı ile oluşturulan deneysel modellerde, lipid peroksidasyon ürünleri üzerinden NF- $\kappa$ B'yı aktifleştirebilen ve sonradan TGF- $\beta$ 1'in artan ekspresyonu ile PYH'nin aktivasyonu ile sonuçlanabileceği ve sonunda  $\alpha$ -SMA'nın pankreatik fibrogenesi oluşturabileceği öne sürülmektedir (Yan ve ark., 2006; Zhang ve ark., 2008). Bununla birlikte, YYD ile uyarılan PYH aktivasyonunun mekanizması tam olarak bilinmemektedir.



Şekil 11. Pankreatik yıldız hücrelerinin aktivasyon şeması (Masamune ve ark., 2009).

#### 4.4. *Myrtus Communis L.* Ekstraktı



Şekil 12: *Myrtus Communis L.*'nin yaprakları (A), çiçekleri ve olgunlaşmamış meyveleri (B), olgunlaşmış meyveleri (C) ve tohumları (D) (Jabri ve ark., 2018).

Mersin bitkisi (*Myrtus communis L.*, myrtle) Myrtaceae familyasına ait olup İran'ın tropikal bölgelerinde bulunmuş, çok yıllık, yaz-kış yeşil, çalı formunda ve genellikle kısa boylu, ancak bazen 1-3 m kadar uzayabilen bir bitkidir. Mersin bitkisi, özellikle batı ve güney Anadolu'da yaygın bir çalı türüdür. Akdeniz Havzasının tipik doğal bitkilerinden olan mersin bitkisi, ülkemizde Adana, Antalya, İçel, Çanakkale, İstanbul, Zonguldak, Sinop, Ordu, Trabzon, İzmir, Samsun, Muğla ve Hatay illerinde doğal olarak bulunmaktadır. Fakat Orta

Doğu ve Kuzey Amerika'nın ılıman bölgeleri ile Avustralya'da doğal yayılım gösterir (Alipour ve ark., 2014).

Mersin meyvesi ve yaprakları aromatik bir lezzete sahip olup taze veya kurutulmuş hali ile kullanılmaktadır. Geçmişte zengin vitamin içeriğinden dolayı besin takviyesi olarak kullanılmakta olan mersin meyvelerinin tanen içeriği bakımından zengin olduğu bilinmektedir (Genders, 1994; Farah vd., 2006; Canhoto vd., 1998). Yaprakları, meyveleri ve uçucu yağlarının yara iyileşmesinde antiseptik olarak, aynı zamanda kabızlık, ülser, hemoroid, idrar yolu ve göğüs hastalıklarında yöresel kullanımı bilinmektedir. Özellikle MC yaprakları, karvakrol, rosmarinik asit ve timol gibi fenolik bileşiklere ek olarak tanenler, flavonoidler, saponinler, C vitamini gibi çeşitli kimyasal bileşikleri içerir, alkaloid içermez. MC uçucu yağının başlıca bileşeni olan 1,8-cineole ve  $\alpha$ -pinen, TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'nin güçlü bir inhibitörüdür ve sitokinlerin inhibisyonu yoluyla pulmoner hastalığı iyileştirmek ve hava yolunda mukus hipersekresyonu sağlamak amacıyla kullanılmıştır (Farah ve ark., 2006; Bouzouita ve ark., 2003; Yadegarinia ve ark., 2006; Jamoussi ve ark., 2005; Messaoud ve ark., 2005). Bu etkilerinin yanında yüksek miktarlarda tüketilmesi durumunda solunum sistemi iritasyonuna ve gebelerde uterus kasılması nedeniyle düşüklere sebep olduğu belirtilmektedir (Sepici ve ark., 2004).

MC yaprak ekstraktlarının anti-hiperglisemik ve anti-bakteriyal özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. Daha önceki çalışmalarda, MC yapraklarının etanol/su ekstraktının, akut veya subakut uygulamada normal farelerde hipoglisemik aktiviteye sahip olmadığını, ancak streptozotosin ile uyarılan diyabetik farelerde bu aktiviteyi gösterdiğini bildirilmiştir (Elfellah ve ark., 1984). Daha sonra, yaprakların sulu ekstraktının, in vitro olarak  $\alpha$ -glukozidaz inhibitör aktiviteye sahip olduğunu bildirilmiştir (Clissold ve Edwards, 1988). Aynı zamanda, çeşitli hastalıkların patogenezinde rol oynayan oksidatif stres çalışmalarında MC ekstraktlarının antioksidatif aktivitesi farklı yöntemler ile değerlendirilmiştir. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) ve ferrik indirgeyici antioksidan güç (FRAP, ferric-reducing antioxidant power) analizleriyle ölçüldüğünde MC ekstraktlarının önemli antioksidan kapasitesi belirlenmiştir (Alipour ve ark., 2014). Antioksidan özelliklerine dayanılarak yapılan deneysel inflamatuvar bağırsak hastalığı/ülser, karaciğer hasarı/fibröz hasarı, pulmoner fibrözis, intraoral ülser ve farklı diyabet modellerinde de MC bitkisinin iyileştirici etkileri gösterilmiştir (Hashemipour ve ark., 2017; Jabri ve ark., 2015; Samareh Fekri ve ark., 2018; Sen ve ark., 2016). Farklı diyabetik komplikasyonların patogenezinde oksidatif stresin anahtar rolünü temel alarak Sepici-Dincel ve ark. (2007), alloksan ile indüklenmiş diyabetik tavşanlarla

kıyaslandığında, MC yağı (50 mg/kg) ile 21 gün tedavi edilmiş hayvanların karaciğer homojenatlarda SOD ve katalaz enzim aktivitesinde önemli bir artma, MDA düzeylerinde anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir. MC yağı, diyabetik hayvanlarda glikoz konsantrasyonunda önemli bir azalma sağlamanın yanında trigliserit seviyesinde önemli bir azalmaya neden olmaktadır (Sepici-Dincel ve ark., 2007). Bu veriler MC'in antidiyabetik aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir, ancak diyabetik hastaların tedavisi için potansiyel endikasyonunu ve doğru etkin dozunu belirlemek için daha ileri deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.



<b>REFERANSLAR</b>	<b>Mekanizmalar</b>	<b>Bitki kısımları</b>	<b>Etkileri</b>
(Hosseinzadeh ve ark., 2011)	İnflamasyonun proliferatif fazda etkileri	Toprak üstü kısımları	Anti-inflamatuvar
(Ines ve ark., 2012)	Antioksidan enzim ailesi ve DNA onarım enzimlerinin aktivitesinde artış	Yapraklar	Anti-proliferatif ve anti-genotoksik (oksidatif strese hücrelerin korunması)
(Tumen ve ark., 2012)	DPPH, DMPD ve FRAP analizlerinde anti-oksidan etki	Meyve	Nöroprotektif
(Tretiakova ve ark., 2008)	Kaspaz 3, 8 ve 9'un aktivasyonu; çoklu-PARP'nin bölünmesi; sitozol içine nükleozomların salınımı; DNA parçalanması	Yapraklar	Kanser hücre hattı üzerinde etkileri
(Tuberoso ve ark., 2010)	Çoklu doymamış yağ asitlerinin indirgenmesinin inhibisyonu; bunların oksidatif ürünlerinin artışının inhibisyonu	Meyve	LDL oksidasyonunda etkileri
(Gholamhoseinian et all., 2009)	Alfa-glukozidaz enziminin inhibisyonu	Yapraklar	Anti-diyabetik

**Tablo 3.** *Myrtus Communis L.*'nin etki mekanizma örnekleri (Alipour ve ark., 2014).

## 5. GEREÇ VE YÖNTEM

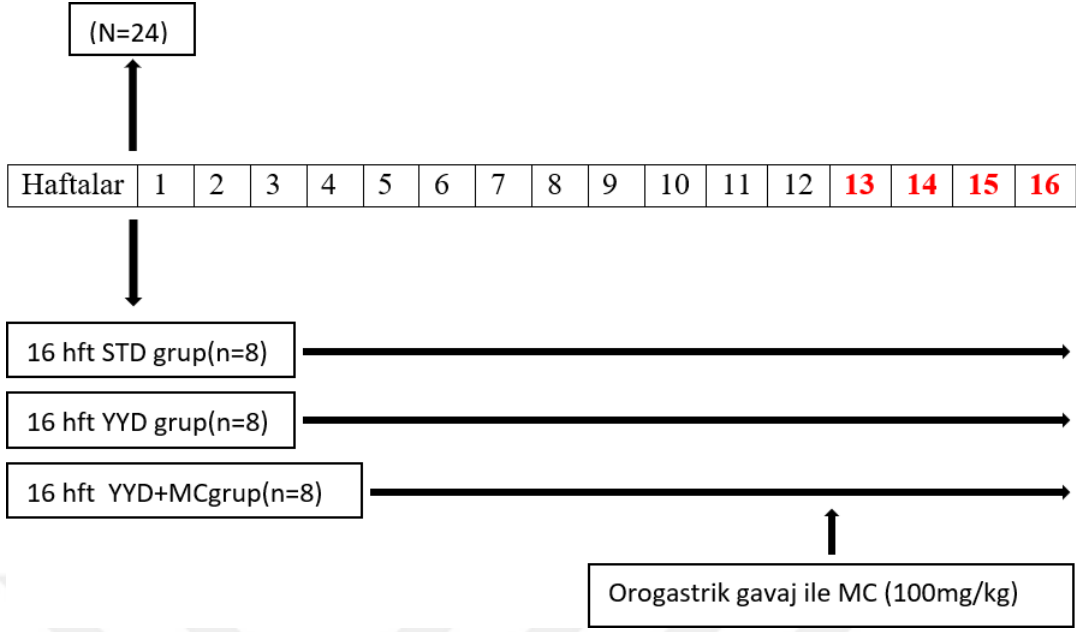
### 5.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada M.Ü. DEHAMER'den temin edilen Wistar albino yetişkin erkek sıçanlar (2 aylık, 200-250 gr) kullanıldı. Hayvanlar, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsünde ve oda sıcaklığında kafeslerde en fazla 6 sıçan olacak şekilde muhafaza edildi. Çalışma için Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulundan izin alındı (34.2018.mar).

Bu çalışmada, Wistar albino erkek sıçanlarda yüksek yağlı diyet modeli oluşturmak amacıyla hayvanlara 16 hafta boyunca 'yüksek yağlı yem' verildi. Kontrol gruplarına bu süreçte standart laboratuvar yemi verildi ve her gruptaki hayvanlara hergün normal su verildi. Deney boyunca gruptaki bütün hayvanların kiloları tartılıp not alındı ve sonucunda istatistiksel değer elde edildi.

Çalışmamızda aşağıdaki deney grupları oluşturuldu:

1. **Kontrol Grubu (n=8):** Bu gruptaki sıçanlar standart sıçan yemi ile 16 hafta boyunca beslendi.
2. **YYD (Yüksek Yağlı Diyet) Grubu (n=8):** Bu gruptaki sıçanlar 16 hafta boyunca yüksek yağlı diyet ile beslendi.
3. **YYD+MC (Myrtus Communis L.) grubu (n=8):** Bu gruptaki sıçanlar 16 hafta boyunca YYD ile beslendi; çalışmanın son 4 haftasında SF'de çözülmüş MC (100 mg/kg) ekstraktı orogastrik gavaj ile uygulandı.



Deney öncesinde, deney boyunca periyodik olarak haftada bir gün ve dekapitasyondan önce sıçanların ağırlığı ölçüldü. Dekapitasyon sonrası tüm deney gruplarındaki pankreasın bir kısmı mikroskopik değerlendirmeler için, diğer kısmı ise oksidatif stres belirteçlerini biyokimyasal değerlendirmeler ile ölçmek için kullanıldı.

## 5.2. Oral Glukoz Tolerans Testi

Glikoz metabolizmasını düzenleyebilme ve glukoz kaynaklı insülin sekresyonunun ve aracılı glisemik değişikliklerin ölçümünü değerlendirmek için her bir sıçan için oral glukoz tolerans testi (OGTT) uygulandı. 12 saatlik açlıktan sonra, *Myrtus Communis L.* ekstraktı verildi ve 30 dakika sonra gavaj ile tek doz glukoz (2 g/kg, ağırlık) verildi. Glikoz konsantrasyonları, glukoz enjeksiyonunu takiben 0 (glukoz uygulamasından hemen önce), 30, 60, 120 dakika sonra kuyruk damarından toplanan kanda glukometre ile ölçüldü ve kayıt edildi.

## 5.3. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması

Deneyin sonunda 12 saat aç bırakılan hayvanlar dekapite edilerek sakrifiye edildi. Vücut kan örnekleri toplandı ve doğrudan eppendorf tüpüne yerleştirilerek oda sıcaklığında 10 dakika süreyle 1500 rpm'de santrifüj edildi. Serumlar, analize kadar -20°C'de saklandı. Dekapitasyon sonrası alınan pankreas dokusu da aynı şekilde biyokimyasal incelemeler için analiz edilene kadar -20°C'de saklanırken, histolojik incelemeler için alınan doku örnekleri hızlıca fiksatif solüsyonuna alındı.

## 5.4. Biyokimyasal Parametreler

### 5.4.1. Kan serumunda ölçülen biyokimyasal parametreler

Kan serumunda, insülin, total kolesterol (TK), HDL, trigliserit (TG) ve leptin miktar tayini yapıldı. Serum analizleri için sıçan spesifik ELISA ticari kitleri (Biont Rat ELISA kit) kullanıldı. Buzdolabında bekletilmiş kitler oda sıcaklığına gelsin diye 10-20 dk bekletildi. Standartlar her bir kit prosedürüne göre seyreltilerek hazırlandı. Reaktiflerimiz de kit içerisinde hazır durumdaydı. Serum örnekleri 10-20 dk oda sıcaklığında bekletildi ve 3000 rpm de santrifüjlenerek süpernatantı toplandı. İlk inkübasyon öncesinde kör kuyularına hiç birşey konulmazken standart kuyularına 50 µl standart + 50 µl streptavidin konuldu. Örnek kuyularına ise 40 µl örnek + 10 µl AST + 50 µl streptavidin konuldu ve 1 saat için 37°C'de 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon öncesinde hafifçe çalkalandı ve ardından inkübatöre konuldu. İnkübasyon sonrasında her küvete 0,35 ml yıkama solüsyonu koyuldu ve iyice emilmesi 1-2 dakika beklenecek şekilde sağlandı. Sonrasında sirkeleyerek yıkama solüsyonunu dökdü ve ters çevirerek havlu kağıda solüsyon boşaltıldı. Bu işlem 5 kere tekrar edildi. Yıkama yapıldıktan sonra kör ve standartlar da dahil olmak üzere her kuyuya önce kromojen solüsyon A 50 µl, sonra ışıktan korunması gereken kromojen solüsyon B karanlık ortamda yine 50 µl olacak şekilde eklendi. Karışması için nazikçe çalkalandı ve 10 dk 37°C'de inkübe edildi. 10 dk'lık inkübasyon sonrasında her bir kuyuya 50 µl durdurma solüsyonu eklendi. Durdurma solüsyonu koyduktan sonra 10 dakika içerisinde ölçüm yapılması gerektiği için hemen ELISA reader'a (Epoch Biotek®) alındı. 450 nm'de ELISA Reader yardımıyla ölçüm yapıldı. Absorbansların elde edilmesinin ardından absorbans-konsantrasyon grafiği çizildi.

LDL ve VLDL değerleri aşağıdaki formüller ile hesaplandı:

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

$$\text{VLDL} = \text{Trigliserit}/5$$

Açlık kan şekeri ve insülin seviyeleri aşağıdaki formüle yerleştirilerek HOMA-IR indeksi hesaplandı:

$$\text{HOMA IR} = \text{serum insülin } (\mu\text{mol/L}) * (\text{kan şekeri } (\mu\text{mol/L}) / 22.5)$$

#### **5.4.2. Pankreas doku örneklerinde ölçülen biyokimyasal parametreler**

Deney sonundan alınan pankreas doku örneklerindeki MDA, GSH, 8-OHdG ve MPO seviyelerine de ELISA yöntemiyle bakıldı. Dekapitasyon sonrası alınıp -20°C'de saklanan dokular çözdürüldü fakat ısısının 2-8 °C'de tutulmasına özen gösterildi. Dokular küçültüldü ve ağırlığı tartıldı. Bir tüpün içerisine doku yerleştirilip üzerine %10'luk homojenat olarak PBS (pH 7.4) eklendi ve homojenizatör ile örnekler homojenize edildi. Yaklaşık 20 dakika 3000 rpm'de santrifüj edilerek dikkatli bir şekilde süpernatantları toplandı. Kan serumunda uygulanan ELISA prosedürü elde edilen süpernatantlara uyarlandı. Aynı şekilde, 450 nm'de ELISA Reader yardımıyla ölçüm yapıldı. Absorbansların elde edilmesinin ardından absorbans-konsantrasyon grafiği çizildi.

#### **5.5. Işık Mikroskopisi ve Histolojik İnceleme**

##### **5.5.1. Morfolojik Değerlendirme**

Deney hayvanları sakrifiye edildikten sonra, elde edilen pankreas dokusu hızlıca serum fizyolojik ile yıkanarak ışık mikroskopik incelemeler için %10'luk nötral tamponlu formalin içerisinde 72 saat fikse edildi. Dokular daha sonra yükselen alkol serilerinden (%70, %90, %96, %100) geçirilerek dehidrate edildi, 2x10 dakika ksilende tutularak şeffaflaştırıldı, 60°C'lik etüvde parafinde gece boyunca bekletildikten sonra gömme cihazı ile kasetler içerisinde bloklandı. Parafin bloklardan yaklaşık 4 µm kalınlığında alınan kesitlere genel morfolojik değerlendirme yapabilmek için Hematoksilin ve Eosin (H&E), interstisyel alandaki kolajen yoğunluğunu göstermek için Masson trikrom boyası uygulandı. Kesitler daha sonra ışık mikroskobu (Olympus Bx51) ile incelenerek fotoğraflandı.

Rastgele belirlenen birbiriyle çakışmayan 5 alandan (x20'lik objektif) elde edilen fotoğraflarda Image-J programı kullanılarak adacık alanları hesaplandı. Her bir hayvan için ortalama adacık alanı (µm<sup>2</sup>) ve ortalama adacık yoğunluğu (ortalama adacık alanı/fotoğraf alanı\*100) hesaplandı. Pankreatik hasar yarı-kantitatif olarak değerlendirildi.

Pankreatik hasar için skala değerleri; her bir içerik 0-3 arası skora göre belirlendi (Rouse ve ark., 2014). Asiner hücre hipertrofisi: Skor 0: Hipertrofi yok; Skor 1: Seyrek bireysel asiner hücre hipertrofisi; Skor 2: Nodüler hipertrofi; Skor 3: Lobül içinde asiner hücrelerin çoğunda hipertrofi. Asiner hücre apoptozu: 0: apoptoz belirtisi olan nükleer veya sitoplazmik değişimler yok; 1: apoptoz belirtisi gösteren az sayıda asiner hücreler; Skor

2: az sayıda apoptotik hücre ve apoptotik cisim; Skor 3: bir sitoplazmik halka ile çevrili apoptotik hücrelerin ve apoptotik cisim grupları. Asiner hücre otofajisi: Skor 0: Otofaji yok; Skor 1: Küçük boyutlu sitoplazmik veziküller; Skor 2: Orta/büyük sitoplazmik vakuollere sahip az sayıda hücre; Skor 3: Büyük tek/birleşik vakuollü hücre grupları. Vasküler hasar: Skor 0: Vasküler hasar yok; Skor 1: Kapiller dilatasyon ve nötrofillerin küçük damarları çevreleyen perivasküler boşluğa göçü; Skor 2: Arteriyel fibronoid nekroz, fibrin eksüdasyonu, perivasküler inflamasyon; Skor 3: Orta büyüklükteki arterlerin fibroid nekrozu, hemoraji ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu. İntertisyel ödem: Skor 0: İnterstisyel ödem yok; Skor 1: Hafif interlobüler ödem, inflamasyon ve hemoraji yok; Skor 2: Orta intralobüler ödem, inflamasyon ve hemoraji; Skor 3: Ciddi intersellüler ödem, inflamasyon ve hemoraji. Duktal değişiklik: Skor 0: Duktal değişiklik yok; Skor 1: Hafif sentroasiner hücre proliferasyonu, interkalar kanal hiperplazisi, intralobüler kanalların inflamasyonu ve interasiner fibrozis; Skor 2: Kanal dilatasyonu ve intralobüler kanalların periduktal inflamasyonu ve intralobüler fibroz; Skor 3: Kanal dilatasyonu, epitel hücre proliferasyonu, interduktal kanalların periduktal inflamasyonu ve lobüler fibrozis.

Her bir sıçandan alınan pankreas doku örneklerinin kolajen varlığı ve dağılımı Masson Trichrome boyama ile gösterildi. Masson boyanan kesitlerde 5 farklı alandan (x40'lık objektif) elde edilen fotoğraflarda Image J programı kullanılarak fotoğraf alanında mavi boyanan kolajen alanlarının yüzdeliği hesaplandı.

### **5.5.2. TUNEL Yöntemi**

Apoptoz tayini için in situ DNA uç işaretleme yöntemi kullanıldı ve TUNEL kiti içerisindeki klavuzda yazılı olan işlemler sırasıyla uygulandı (ApopTag Plus, In Situ Apoptosis Detection Kit, S7101, Millipore). Doku kesitleri, 3x5 dk ksilen, 2x5 dk % 100 alkol, 3 dk %95 alkol, 3 dk %70 alkolde bekletildi ve 5 dk PBS ile çalkalandı. Proteinlerin sindirilmesi için kesitler Proteinaz K (20µg/ml) ile oda ısısında 15 dk inkübe edildi ve 2x2 dk distile su ile çalkalandı. Endojen peroksidazın maskelenmesi için kesitler PBS ile hazırlanmış %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 5 dk oda ısısında inkübe edildi. PBS ile 2x5 dk yıkandı. Lamaların etrafı dikkatlice kurularak kesitlerin üzerine 15 µl dengeleyici tampon konulup, plastik lameller ile kapatıldı ve 30 dk oda ısısında inkübe edildi. Plastik lameller kaldırılarak dokunun etrafı kurulandı ve her lam üzerine 15 µl Tdt enzimi konuldu ve tekrar plastik lameller ile kapatıldı. Nemli ortamda 37 °C etüvde 1 saat inkübe edildi. Plastik lameller kaldırılarak kesitler durdurma/yıkama tamponu ile oda ısısında 10 dk yıkandı. PBS ile 3x5 dk yıkandı. Her kesit

üzerine 13 µl Anti-Digoksinin- Peroksidaz konuldu ve üzerlerine plastik lameller kapatılarak oda ısısında 30 dk inkübe edildi. Kesitler PBS ile 3x5 dk yıkandı. Kesitlerin çevresi kurulandıktan sonra her kesit üzerine 15 µl 3,3'-diaminobenzidine (DAB) substrat solüsyonu damlatıldı. Boyanma için oda ısısında yaklaşık 5 dk bekletildi. Renk reaksiyonu oluşması gözlemlendikten sonra kesitler distile su ile yıkandı. Kesitler Mayer Hematoksilin ile boyanarak zıt boyaması yapıldı, %96 alkolde 2x2 dk bekletildikten sonra kurumaya bırakıldı. Kuruma gerçekleşikten sonra entellan ile kapatıldı.

TUNEL immünohistokimyası yarı-kantitatif olarak 0-3 arasında (0: apoptoz belirtisi olan nükleer veya sitoplazmik değişimler yok; 1: apoptoz belirtisi gösteren az sayıda asiner hücreler; Skor 2: az sayıda apoptotik hücre ve apoptotik cisim; Skor 3: bir sitoplazmik halka ile çevrili apoptotik hücrelerin ve apoptotik cisim grupları) değerlendirildi.

### **5.5.3. İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi**

Deney gruplarından alınan pankreas dokusu insülin, NF-κB ve α-SMA immünohistokimyası için %10'luk nötral tamponlu formalin içerisinde 72 saat fikse edildi. Pozitif şarjlı lamlara alınan 4 µm kalınlığında parafin kesitler 1 gece boyunca 37°C'lik etüvde bekletildikten sonra, deparafinize etmek amacıyla ksilende 3x5 dakika tutulup, %96'lık alkolde 2 kere 10 dakika bekletildikten sonra endojen enzim blokajı yapmak için metanol ile hazırlanmış %3'lük hidrojen peroksitte 20 dakika bekletildi. Önce musluk suyu sonra distile suda yıkama işleminden sonra antijen geri kazanımı için ısıtılmış sitrat tamponda (pH 6.0, 60°C'de) 20 dakika 200 W mikrodalgaya maruz bırakıldı. Oda ısısında 20 dakika soğumaya bırakılan kesitler PBS ile 2 kere 5 dakika yıkandıktan sonra bloklama solüsyonunda 10 dakika bekletildi. Pankreas kesitleri gece boyunca insülin, α-SMA ya da NF-κB ile inkübe edilmiş, ardından biyotinlenmiş sekonder antikolar ve streptavidin-peroksidaz konjugatları (HistostainPlus Kit, Invitrogen, CA, USA) ile inkübasyon yapıldı. Kesitler, PBS (phosphate-buffered saline, fosfat tamponlu salin) içinde yıkandı, sıvı diaminobenzidin (Histostain Plus Kiti, Invitrogen, CA, ABD) ile ortaya çıkarıldı ve hematoksilin ile zıt boyama yapıldı.

İnsülin immünohistokimyası uygulanan kesitlerde 5 farklı alandan (x40'lık objektif) elde edilen fotoğraflarda Image J programı kullanılarak insülin immün-işaretlenmiş alan ve adacık alanı hesaplandı. Her bir hayvan için ortalama insülin immünboyanma gösteren alan ve ortalama adacık alanı hesaplandı. Son olarak elde edilen verilerden, adacıkta insülin-pozitif alan yüzdesi hesaplandı. α-SMA immünohistokimyası uygulanan kesitlerde x20'lik objektif

ile rastgele belirlenen 5 farklı fotoğraf alanında Image-J programı ile boyanma yoğunluğu hesaplandı. Nfkappab immünohistokimyası uygulanan kesitlerde ise, Image J programı kullanılarak x20'lik objektifle elde edilen 5 farklı fotoğraf alanında immünpozitif boyanma alanları yüzdesi belirlendi.

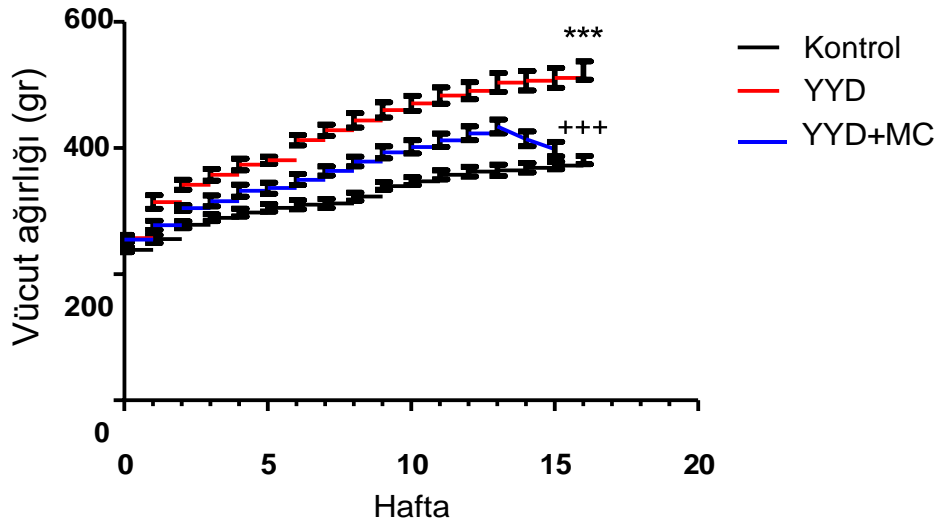
## 5.6. İstatistiksel Analiz

Histolojik ve biyokimyasal değerlendirmelerden alınan verilerin değerlendirmesi Graph-Pad Prism5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) programı kullanılarak yapıldı. İstatistiksel analizler için Tek yönlü ANOVA ve Tukey/Bonferroni post Hoc testleri ile student t testi kullanıldı.

## 6. BULGULAR

### 6.1. Kilo takibi

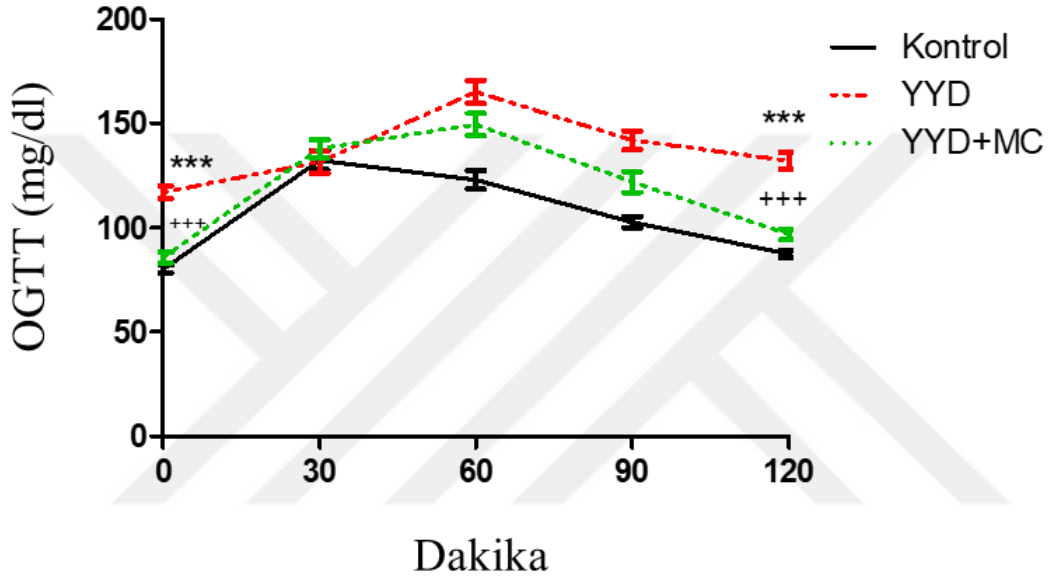
Kontrol sıçanların deney sonu ağırlıkları ile kıyaslandığında YYD ile beslenen sıçanlarda önemli bir artış gözlemlendi ( $p<0,001$ ) (Şekil 13). MC uygulanan sıçan ağırlıklarının YYD grubu hayvanlara göre daha az olduğu bulundu ( $p<0,001$ ).



Şekil 13. Deney gruplarında haftalık kilo takibi. \*\*\*:  $p<0,001$  kontrol ile kıyaslandığında; +++:  $p<0,001$  YYD ile kıyaslandığında.

### 6.2. Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT)

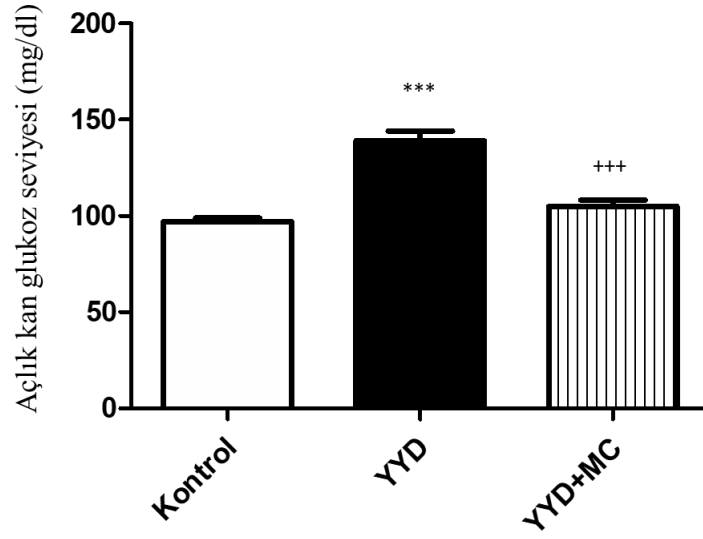
Tüm gruplardaki hayvanlarda kan glukoz seviyesi glukoz uygulamasını takiben 30. ve 60. dakikalarda 0. dakikaya göre net bir artış gösterdi (Şekil 14). YYD grubunda kontrol grubundaki hayvanlar ile karşılaştırıldığında 120. dakikada kan glukoz seviyeleri istatistiksel olarak daha fazla bulundu ( $p<0,001$ ). YYD+MC grubundaki hayvanlarda 120. dakika kan glukoz seviyesi, YYD grubu ile kıyaslandığında daha düşük seviyelerde gözlemlendi ( $p<0,001$ ). Kontrol ve YYD+MC gruplarında 120. dakika kan glukoz seviyeleri arasında anlamlı bir fark izlenmedi.



Şekil 14. Deney grupları arasında 120 dakikalık OGTT. \*\*\*:  $p<0,001$  kontrol ile kıyaslandığında; +++:  $p<0,001$  YYD ile kıyaslandığında.

### 6.3. Açlık Kan Glukoz Seviyeleri

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, YYD grubu sıçanlarında artan açlık kan glukoz seviyesi ( $p<0,001$ ), MC uygulandığında azalma gösterdi ( $p<0,001$ ) (Şekil 15).

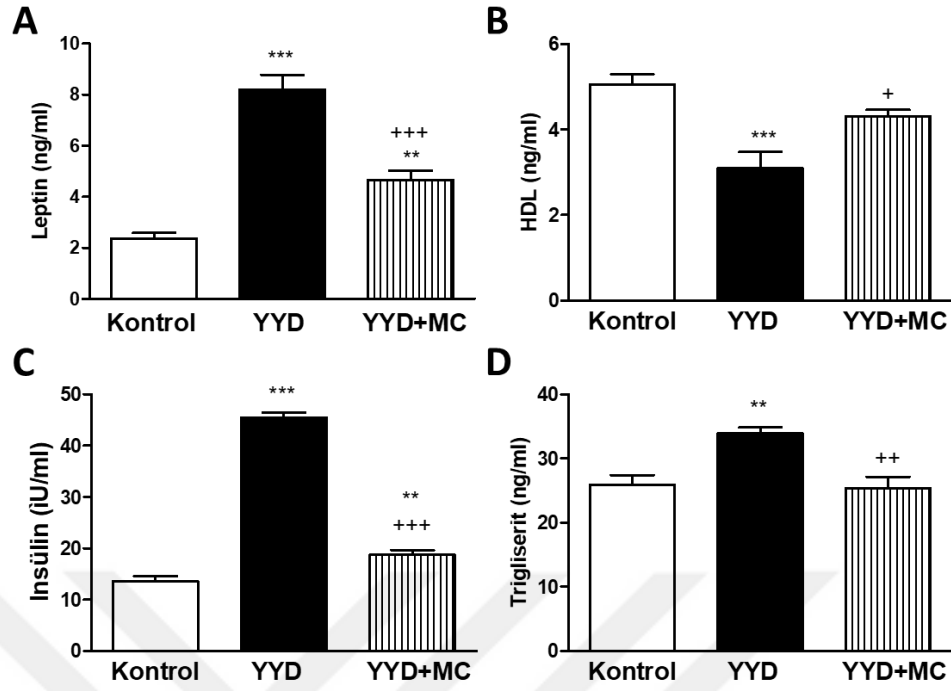


Şekil 15. Deney grupları arasında açlık glukoz seviyesi grafiği. \*\*\*:  $p < 0,001$  kontrol ile kıyaslandığında, +++:  $p < 0,001$  YYD ile kıyaslandığında.

#### 6.4. Biyokimyasal Parametreler

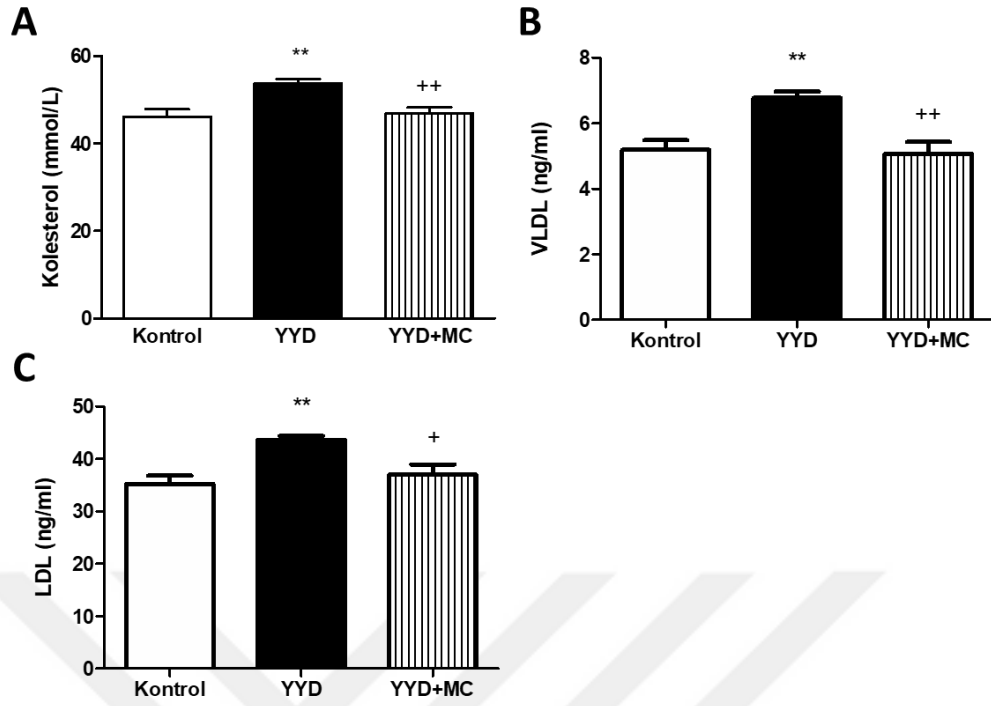
##### 6.4.1. Kan serumunda ölçülen biyokimyasal parametreler

Deney gruplarının serum analizlerinde, YYD grubunda kontrol grubuna göre artan leptin, insülin ve trigliserit seviyeleri ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$  ve  $p < 0,01$ , sırasıyla) ve azalan HDL seviyesi gözlenirken ( $p < 0,001$ ), YYD+MC grubunda YYD grubuna göre azalan leptin, insülin ve trigliserit düzeyleri ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$  ve  $p < 0,01$ , sırasıyla) ve artan HDL düzeyi ( $p < 0,05$ ) gözlemlendi. Bununla birlikte, YYD+MC grubunda kontrol grubuna göre artmış leptin ve insülin seviyeleri izlendi ( $p < 0,01$ ) (Şekil 16).

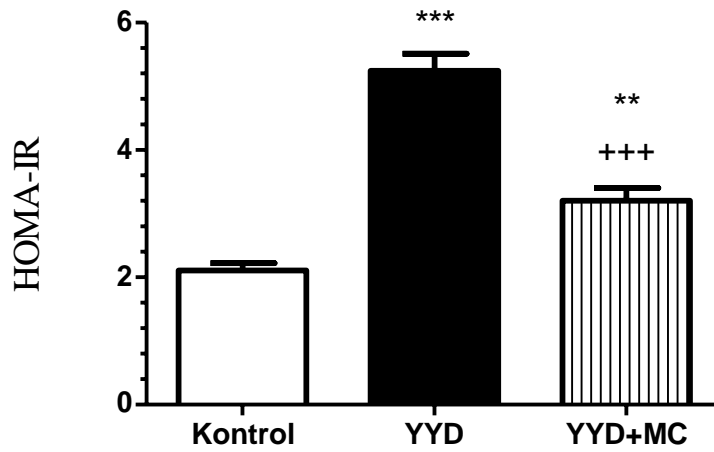


**Şekil 16.** Deney gruplarının serum leptin (A), HDL (B), insülin (C) ve trigliserit (D) değerleri. \*\*\*:  $p < 0,001$ , kontrol ile karşılaştırıldığında; \*\*:  $p < 0,01$ , kontrol ile karşılaştırıldığında; +++:  $p < 0,001$  YYD ile karşılaştırıldığında; ++:  $p < 0,001$ , YYD ile karşılaştırıldığında; +:  $p < 0,05$ , YYD ile karşılaştırıldığında.

Deney gruplarının serum analizlerinde, YYD grubunda kontrol grubuna göre kolesterol, VLDL ve LDL seviyelerinin arttığı ( $p < 0,01$ ), YYD+MC grubunda ise YYD grubuna göre kolesterol, VLDL ve LDL seviyelerinin azaldığı bulundu ( $p < 0,01$ ,  $p < 0,01$  ve  $p < 0,05$ ) (Şekil 17).



**Şekil 17.** Deney gruplarının serum kolesterol (A), VLDL (B) ve LDL (C) değerleri. \*\*:  $p < 0,01$ , kontrol ile karşılaştırıldığında; \*\*:  $p < 0,001$ , YYD ile karşılaştırıldığında; +:  $p < 0,05$ , YYD ile karşılaştırıldığında.



**Şekil 18.** Deney gruplarının HOMA-IR indeksleri. \*\*\*:  $p < 0,001$ , kontrol ile karşılaştırıldığında; \*\*:  $p < 0,01$ , kontrol ile karşılaştırıldığında; +++:  $p < 0,001$ , YYD ile karşılaştırıldığında.

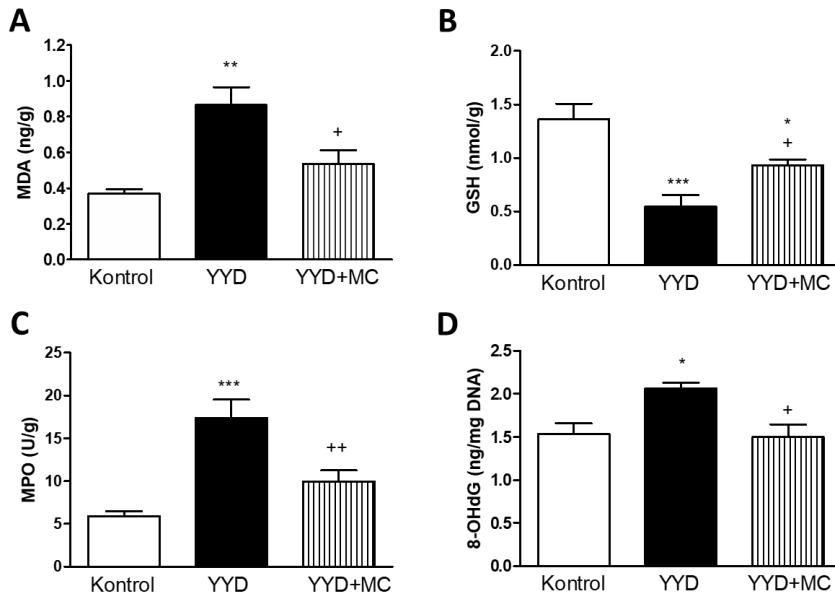
#### 6.4.2. Pankreas doku örneğinde ölçülen biyokimyasal parametreler

Deney gruplarının pankreas doku homojenatlarında MDA düzeyi ölçümü değerlendirildiğinde, YYD grubunda kontrol grubuna göre artmış, YYD+MC grubunda YYD grubuna göre azalmış MDA düzeyleri gözlemlendi ( $p<0,001$  ve  $p<0,05$ , sırasıyla) (Şekil 18A).

Deney gruplarında pankreas doku MPO aktivitesi sonuçlarında, YYD grubundaki hayvanlarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı artma gözlemlenirken ( $p<0,001$ ), YYD+MC grubundaki hayvanlarda YYD grubuna göre azalma gözlemlendi ( $p<0,01$ ) (Şekil 18B).

YYD grubundaki hayvanlarda kontrol grubu ile kıyaslandığında pankreas GSH düzeyinde azalma ( $p<0,001$ ), YYD+MC grubunda ise YYD grubu ile karşılaştırıldığında ise artma olduğu gözlemlendi ( $p<0,05$ ) (Şekil 18C). YYD+MC grubundaki sıçanlarda kontrol grubuna göre GSH düzeylerinin azalma olduğu izlendi ( $p<0,05$ ).

Kontrol grubu ile kıyaslandığında YYD grubu hayvanlarının pankreas dokusunda 8-OHdG düzeyinin arttığı, MC uygulanan hayvanlarda ise YYD grubuna göre azalma olduğu gözlemlendi ( $p<0,05$ ) (Şekil 18D).

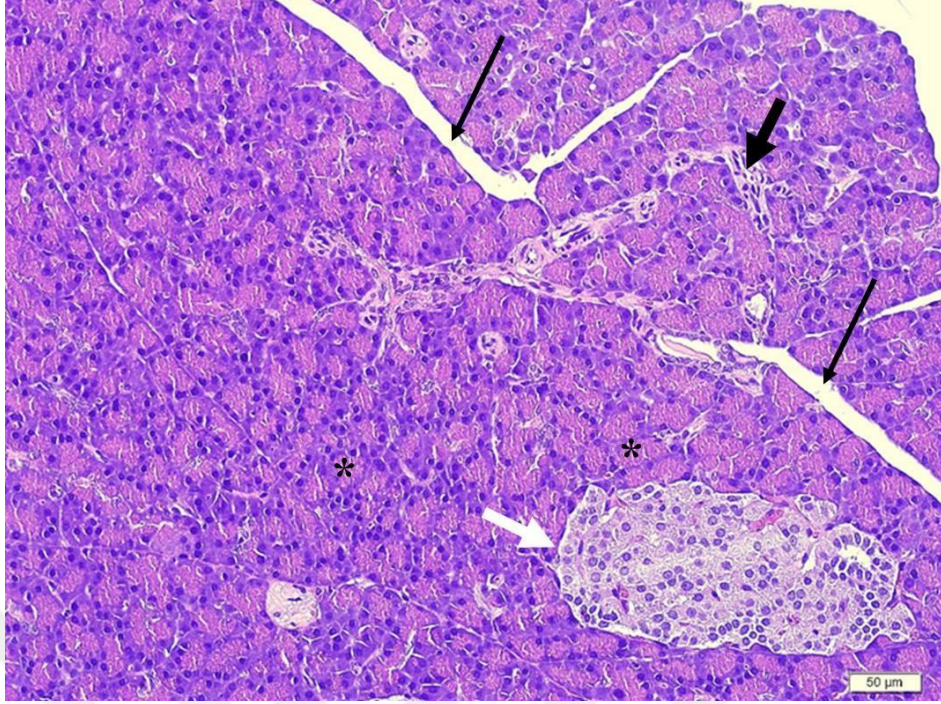


**Şekil 19.** Deney gruplarının pankreas MDA, GSH değerleri ve MPO, OHdG aktivitesi. \*\*\*:  $p<0,001$ , kontrol ile karşılaştırıldığında; \*\*:  $p<0,01$ , kontrol ile karşılaştırıldığında; \*:  $p<0,05$ , kontrol ile karşılaştırıldığında; ++:  $p<0,001$ , YYD ile karşılaştırıldığında; +:  $p<0,05$ , YYD ile karşılaştırıldığında.

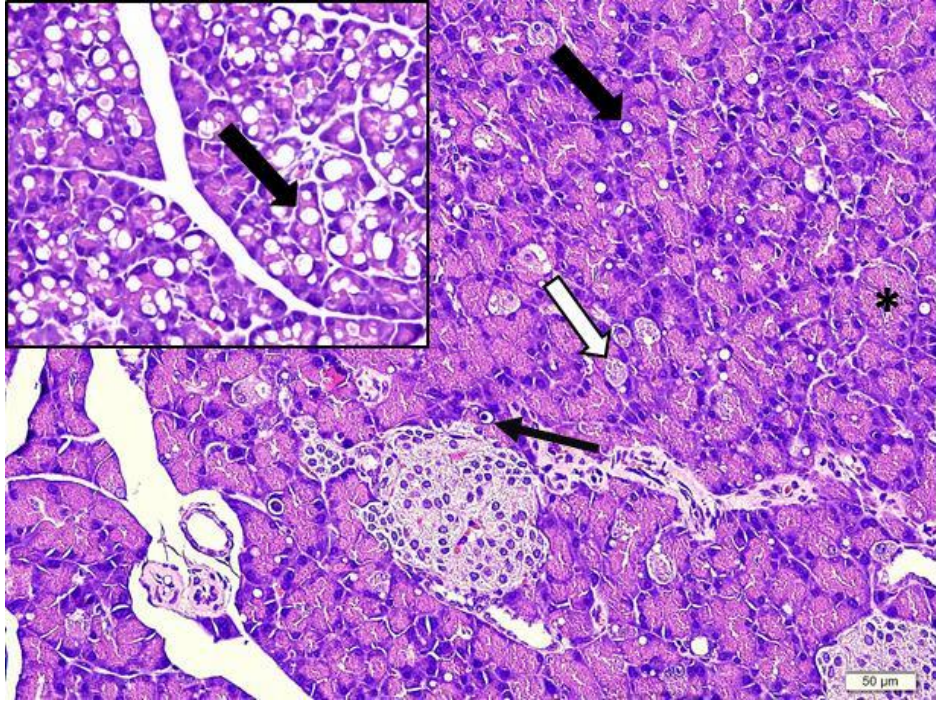
## 6.5. Işık Mikroskopik Bulgular

Kontrol grubuna ait sıçanlarda ışık mikroskopik değerlendirmeler sonucunda pankreas ekzokrin alanlarda normal bazal çekirdek ve apikal asidofilik sitoplazma, endokrin alanlarında ise düzenli adacık morfolojisi gözlemlendi (Resim 2). Kontrol hayvanlar ile karşılaştırıldığında YYD ile beslenen sıçanların pankreas dokusunda asiner hücre hiperplazisi, hücre hasarı (apoptoz/nekroz) ve otofaji anlamlı olarak artmış bulundu ( $p<0,001$ , Şekil 19) (Resim 3, 4). Ayrıca, YYD grubunda pankreasta atrofi, interstisyel ödem, vasküler ve duktal hasar yer yer gözlenmesine rağmen kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı artış bulunmadı. Yağlı diyetle beslenen sıçanlarda inflamatuvar hücre infiltrasyonu belirgin olmamakla birlikte interlobüler veya intralobüler alanlarda sadece birkaç lenfosit gözlenmekteydi. Aynı zamanda, genişlemiş interlobüler boşluklara, asiner hücrelerin aralarında yer yer ektoptik yağ hücrelerine ve adacık hücrelerinde dağılmalara rastlandı. MC uygulanan sıçanların pankreas dokularında, YYD grubuna göre asiner hücre hiperplazisi, apoptoz/nekroz ve otofajide azalma görüldü ( $p<0,01$ , Şekil 19) (Resim 5). YYD+MC grubuna ait sıçanların pankreas asiner hücreleri aralarında mikroveziküler ve ektoptik yağ hücreleri bulunmamaktaydı. Langerhans adacıkları kontrol grubuna benzer şekilde normal görünümde izlendi.

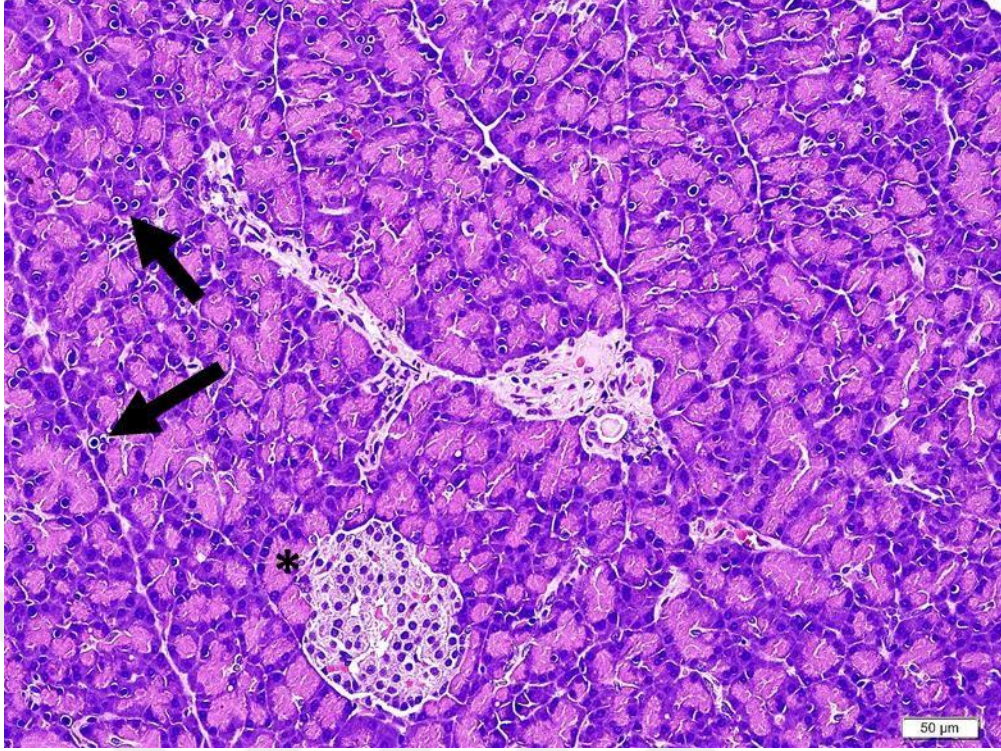
Pankreatik hasar yarı-kantitatif toplam skoru incelendiğinde, YYD grubu sıçanların pankreas dokusunda kontrol grubuna göre artmış hasar ( $p<0,001$ .) MC uygulaması ile azalmıştı ( $p<0,001$ ) (Şekil 20).



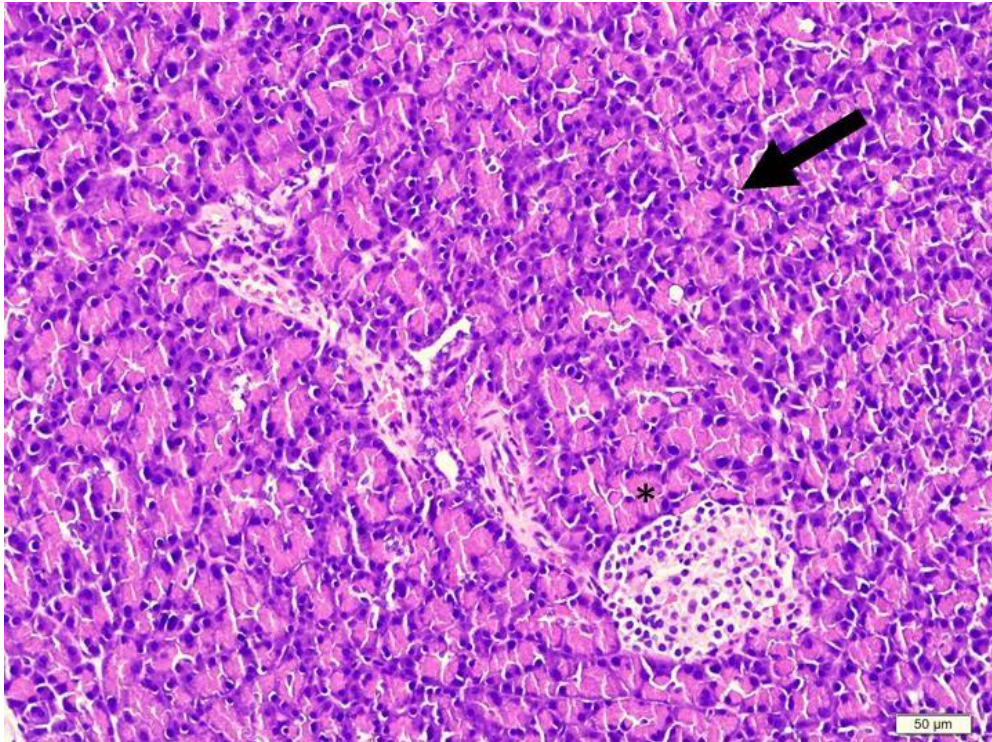
**Resim 2.** Kontrol grubuna ait pankreas dokusu. \*: Asiner hücre, ok: İntralobüler kanal, kalın ok: Kan damarı, beyaz ok: Adacık. H&E. Ölçek: 50 µm.



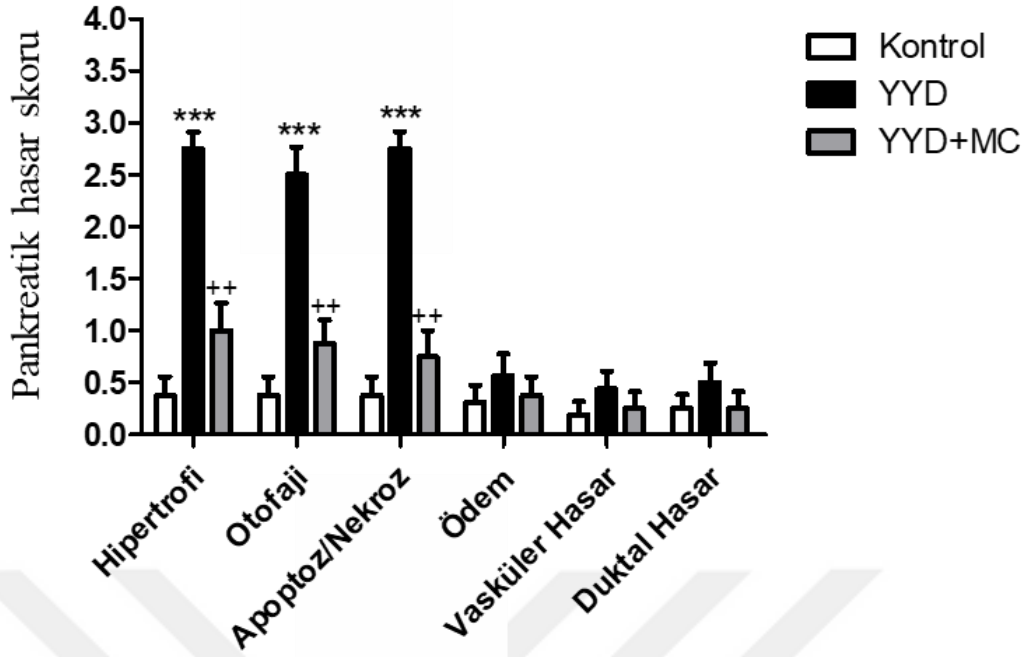
**Resim 3.** YYD grubuna ait pankreas dokusu. \*: Hipertrofi, ok: Apoptoz, beyaz kalın ok: Nekroz, siyah kalın ok: otofaji. H&E. Ölçek: 50 µm.



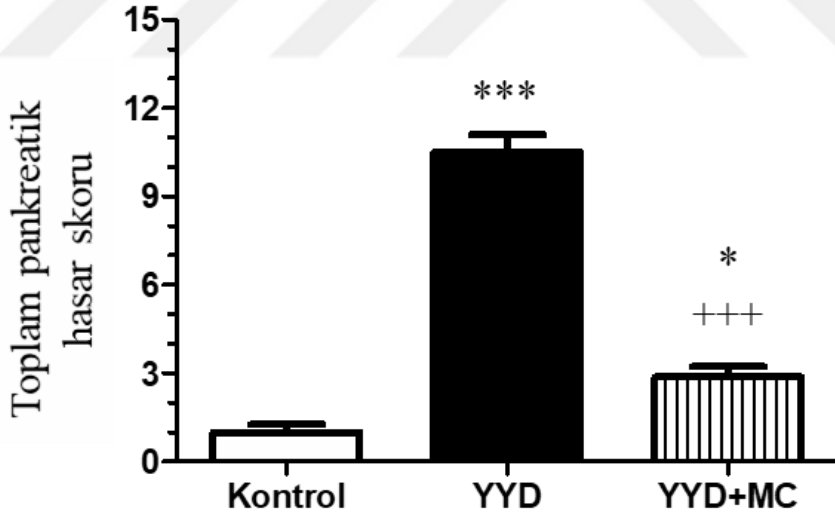
**Resim 4.** YYD grubuna ait pankreas dokusu. \*: Hipertrofi, ok: Piknotik hücre çekirdekleri. H&E. Ölçek: 20 µm.



**Resim 5.** YYD+MC grubuna ait pankreas dokusu. \*: Hipertrofi, ok: Piknotik hücre çekirdekleri. H&E. Ölçek: 50 µm.

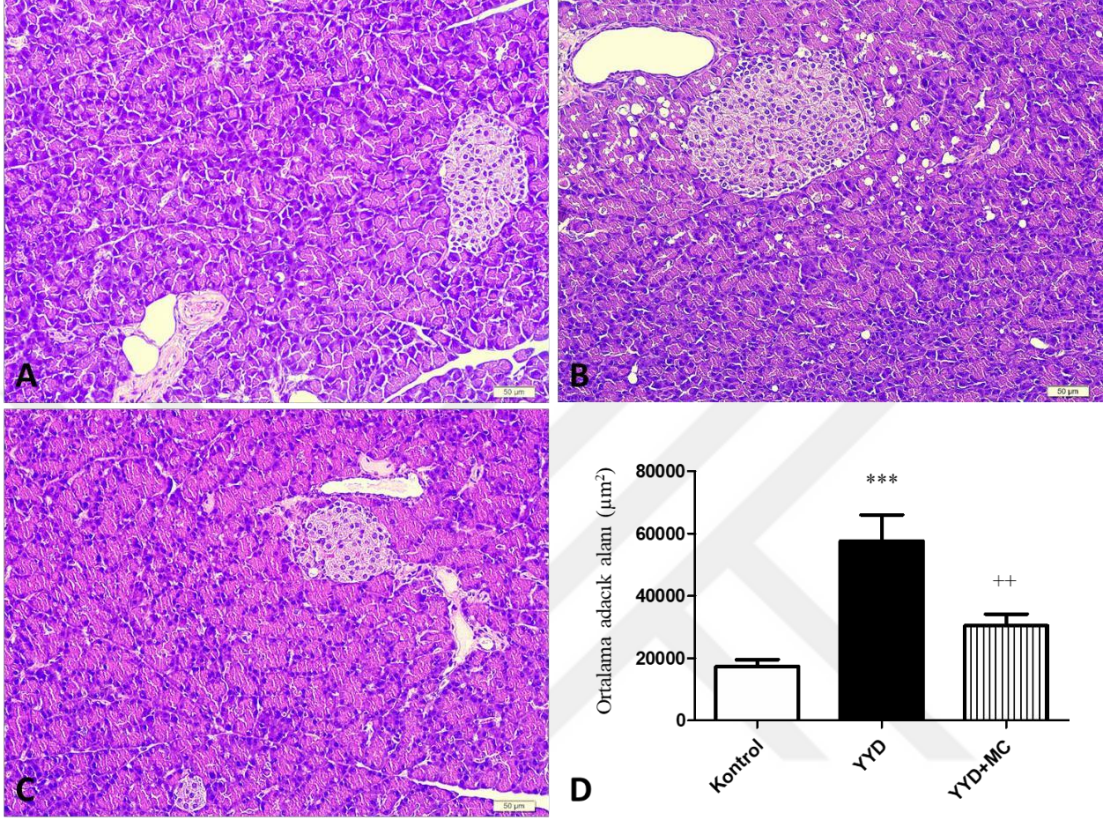


**Şekil 20.** Deney gruplarında pankreatik hasar içeriklerinin yarı-kantitatif skoru. \*\*\*: p<0,001 kontrol ile karşılaştırıldığında; \*: p<0,05 kontrol ile karşılaştırıldığında; \*\*: p<0,01 YYD ile karşılaştırıldığında; +: p<0,05 YYD ile karşılaştırıldığında; +++: p<0,001 YYD ile karşılaştırıldığında.



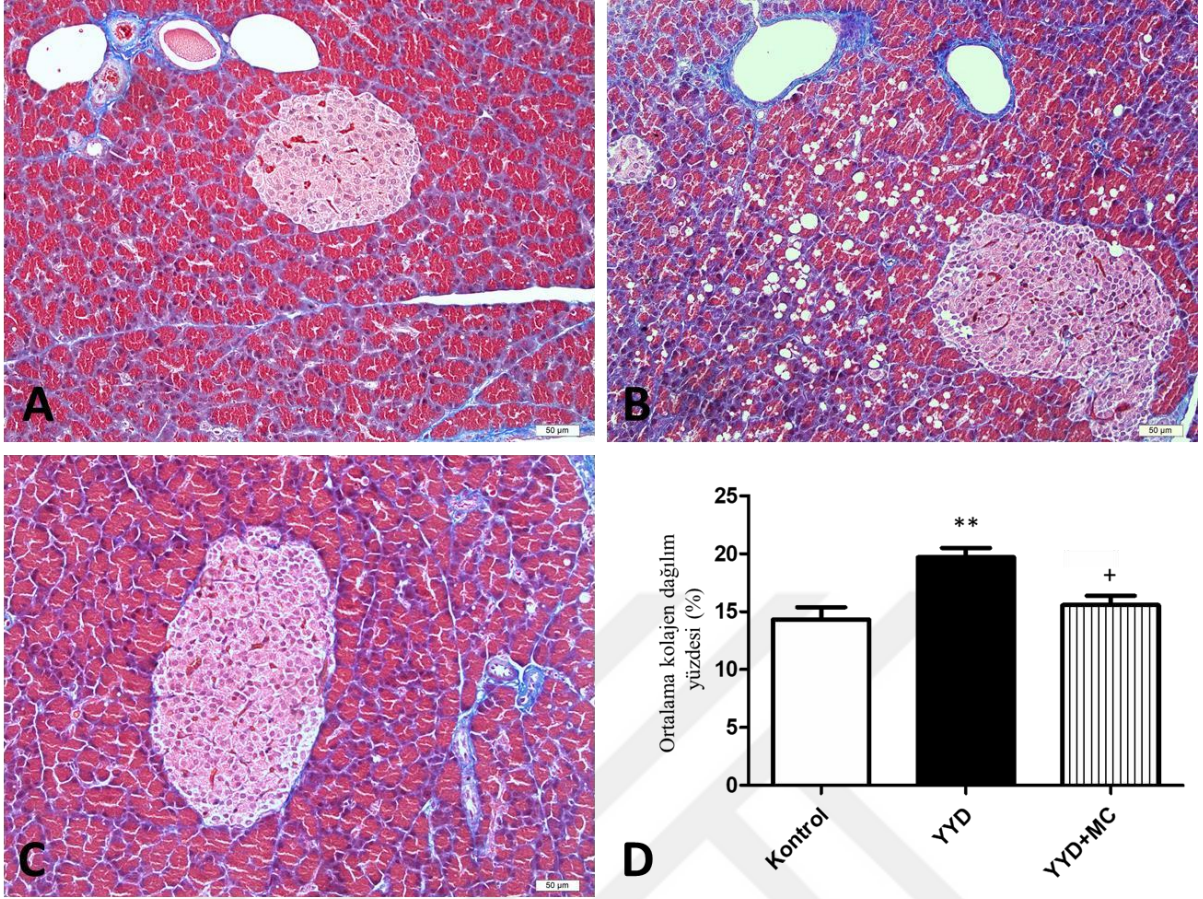
**Şekil 21.** Deney gruplarında toplam pankreatik hasarın yarı-kantitatif skoru. \*\*\*: p<0,001 kontrol ile karşılaştırıldığında; \*: p<0,05 kontrol ile karşılaştırıldığında; +++: p<0,001 YYD ile karşılaştırıldığında.

H&E ile boyanan kesitlerde, langerhans adacık alanı kontrol grubuna göre YYD grubunda artmış olarak izlendi ( $p<0,001$ ), YYD+MC grubunda ise YYD grubuna göre azaldığı gözlenmekteydi ( $p<0,01$ ) (Resim 6).



**Resim 6.** Deney gruplarında pankreatik Langerhans adacık alanları. A: Kontrol grubu, B: YYD grubu, C: YYD+MC grubu, D: Ortalama adacık alan ( $\mu\text{m}^2$ ) grafiği. H&E. \*\*\*:  $p<0,001$  Kontrol ile karşılaştırıldığında; ++:  $p<0,01$  YYD ile karşılaştırıldığında. Ölçek: 50  $\mu\text{m}$ .

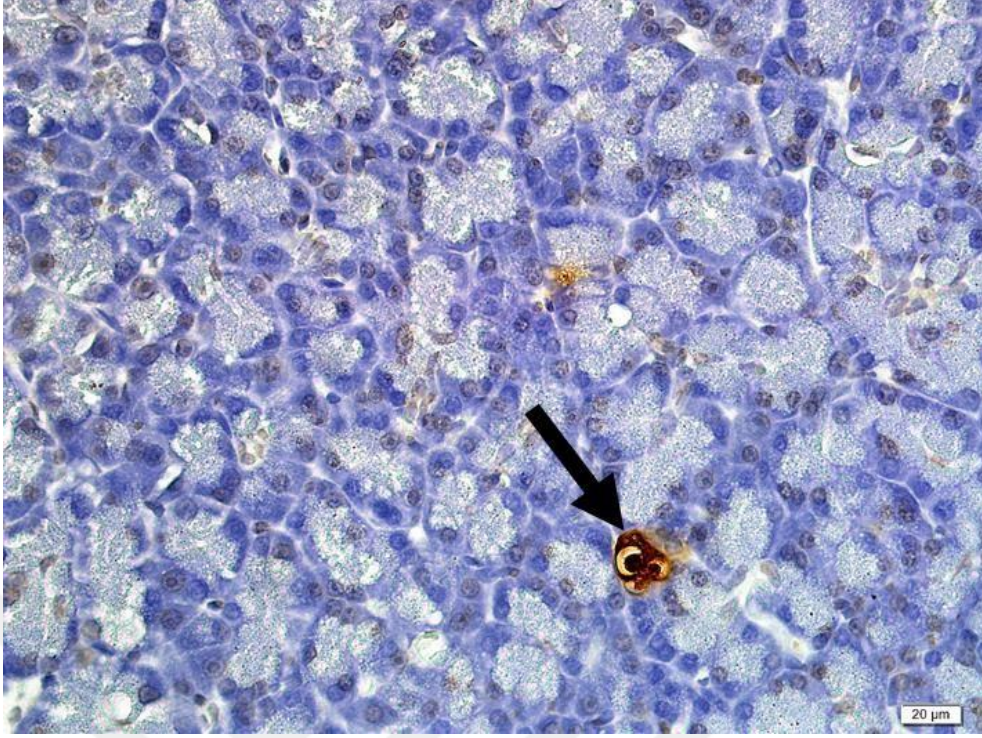
Kontrol grubu sıçanlarında Masson Trikrom boyası ile boyanmış kesitlerin ışık mikroskopik değerlendirmesinde, pankreatik asinüslerin çevresinde ve septalarda hafif kolajen liflerinin varlığı ile karakterize normal bir yapı izlendi (Resim 8A). YYD grubunda ekzokrin alanlarda periduktal, interlobüler ve intralobüler alanları çevreleyen yoğun kolajen birikimlerine rastlandı (Resim 8B). Kolajen fiberleri yoğun bir şekilde adacık çevresinde ve endokrin hücreleri arasındaki kan kapillerinin çevresinde de gözlemlendi. MC uygulanan sıçanların pankreas adacık ve endokrin kan kapilleri çevresinde kolajen birikiminde azalma gözlemlendi. İstatistiksel olarak, kontrol grubuna göre YYD sıçanlarının pankreas dokusundaki artan kolajen yoğunluğu ( $p<0,01$ ) MC uygulanan grupta azalma gösterdi ( $p<0,05$ ) (Resim 8C, D).



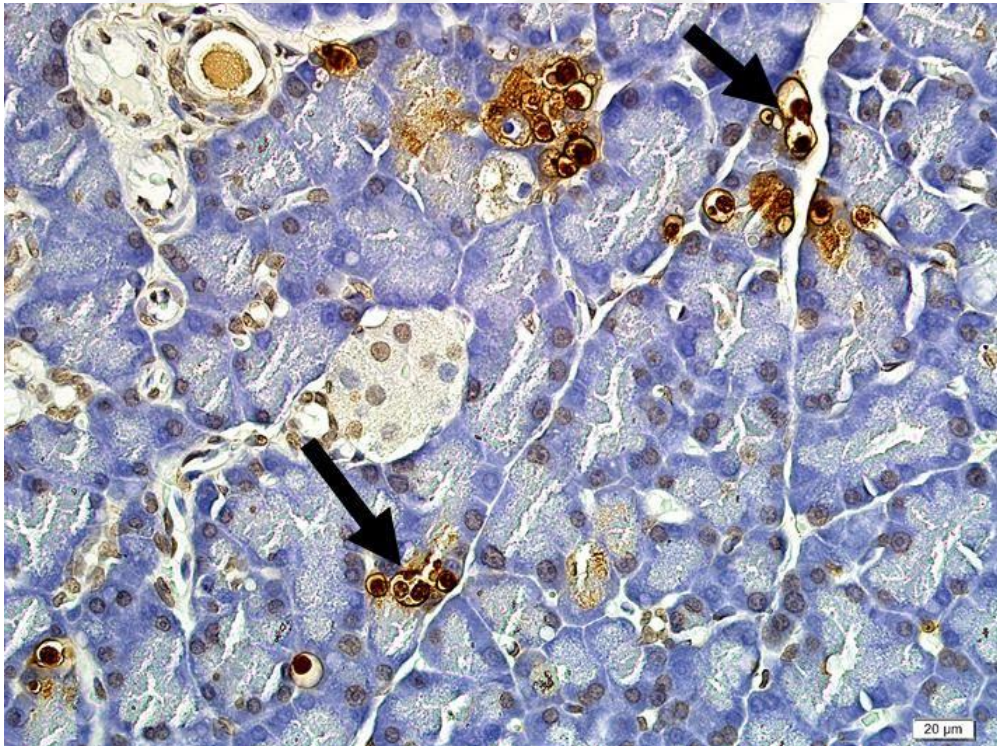
**Resim 7.** Deney gruplarına ait pankreas dokusunda kolajen dağılımı. Mavi boyanma kolajen dağılımını gösterir. A: Kontrol grubu, B: YYD grubu, C: YYD+MC grubu, D: Kolajen dağılım yüzde (%) grafiği. Masson Trikrom boyası. \*\*:  $p < 0,01$  Kontrol ile karşılaştırıldığında; +:  $p < 0,05$  YYD ile karşılaştırıldığında. Ölçek: 50  $\mu\text{m}$ .

## 6.6. TUNEL Bulguları

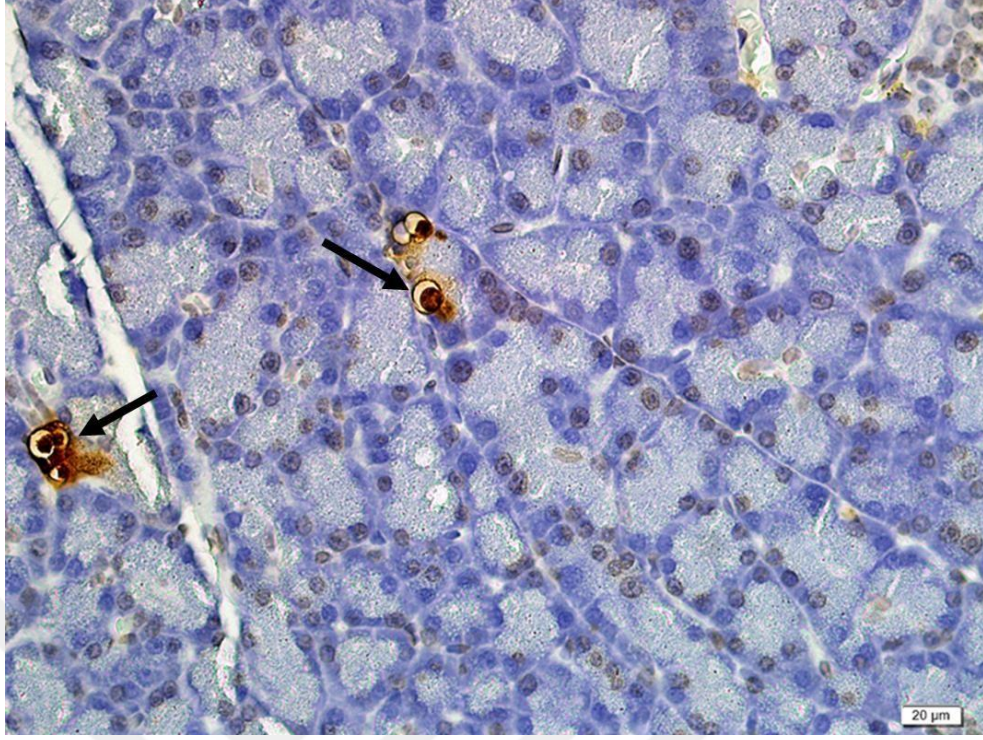
Kontrol grubunda çok az sayıda TUNEL pozitif hücre gözlemlendi (Resim 8A). YYD ile beslenen gruptaki sıçanların pankreatik hasar alanlarında asiner hücre apoptozu oldukça fazlaydı (Resim 8B). MC ile tedavi edilen grupta, yer yer bireysel apoptotik hücreler gözlemlendi (Resim 9A). Pankreatik hasarda yarı-kantitatif apoptoz skoru incelendiğinde, YYD grubu sıçanların pankreas dokusunda kontrol grubuna göre artan apoptotik hücreler ( $p < 0,001$ ), MC uygulaması ile azaldığı gözlemlendi ( $p < 0,001$ ) (Resim 9B). YYD+MC grubu sıçanlarında kontrol grubuna göre apoptotik hücre sayısında artış olduğu izlendi ( $p < 0,05$ ) (Resim 9B) (Şekil 21).



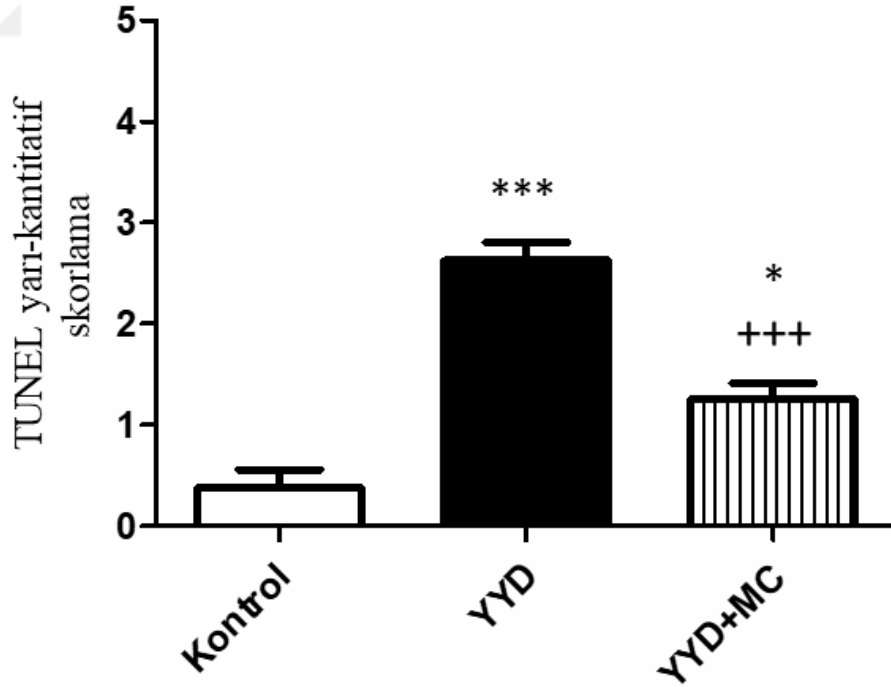
**Resim 8.** Kontrol grubuna ait TUNEL immunohistokimyası. Ok: TUNEL pozitif boyanmasını ifade eder. Ölçek: 20  $\mu\text{m}$ .



**Resim 9.** YYD grubuna ait TUNEL immunohistokimyası. Ok: TUNEL pozitif boyanmasını ifade eder. Ölçek: 20  $\mu\text{m}$ .



**Resim 10.** YYD+MC grubuna ait TUNEL immunohistokimyası. '→' TUNEL pozitif hücreleri ifade eder. Ölçek: 20 μm.



**Şekil 22.** TUNEL yarı-kantitatif skorlama grafiği. \*\*\*:  $p < 0,001$  kontrol ile karşılaştırıldığında; \*:  $p < 0,05$  kontrol ile karşılaştırıldığında; +++:  $p < 0,001$  YYD ile karşılaştırıldığında.

## **6.7. İmmünohistokimyasal Bulgular**

### **6.7.1. İnsülin İmmünohistokimyası**

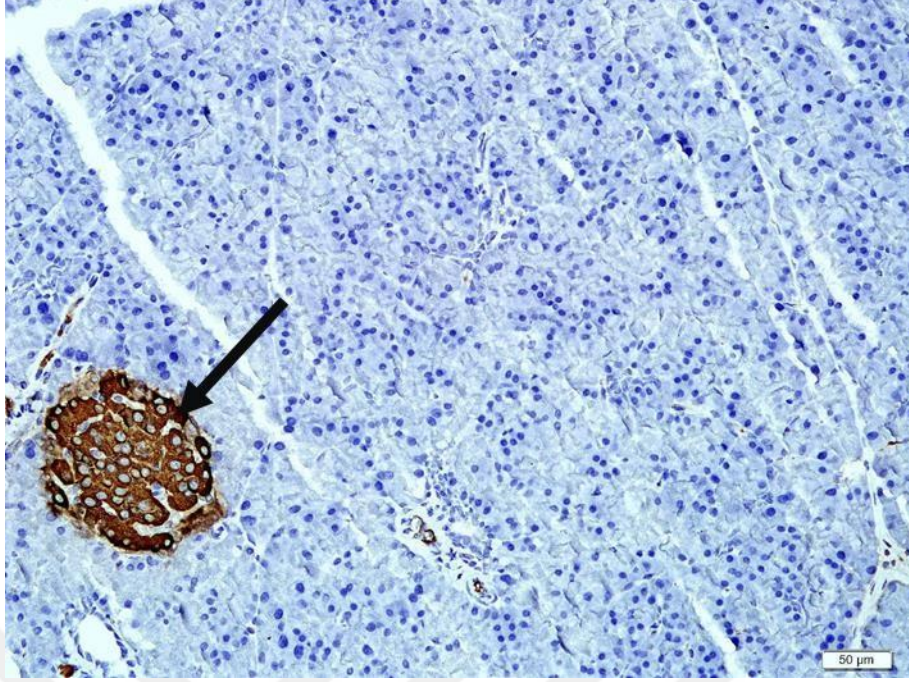
Kontrol grubunda, beta hücreleri temel olarak merkezi bölgeyi kaplayan ve pozitif insülin ekspresyonuna sahip koyu kahverengi granüller şeklinde gözlemlendi (Şekil 9A). YYD ile beslenen grubun pankreatik adacıklarında beta hücrelerinin insülin ekspresyonunun kısmi dağılımı kontrol grupları ile karşılaştırıldığında artmış olarak bulundu ( $p<0,001$ ) (Resim 9B, 10B). MC ile uygulanan gruplarda YYD grubuna göre pozitif insülin ekspresyonunun azalan dağılımı izlendi ( $p<0,001$ ) (Resim 10A, B) (Şekil 22).

### **6.7.2. $\alpha$ -SMA İmmünohistokimyası**

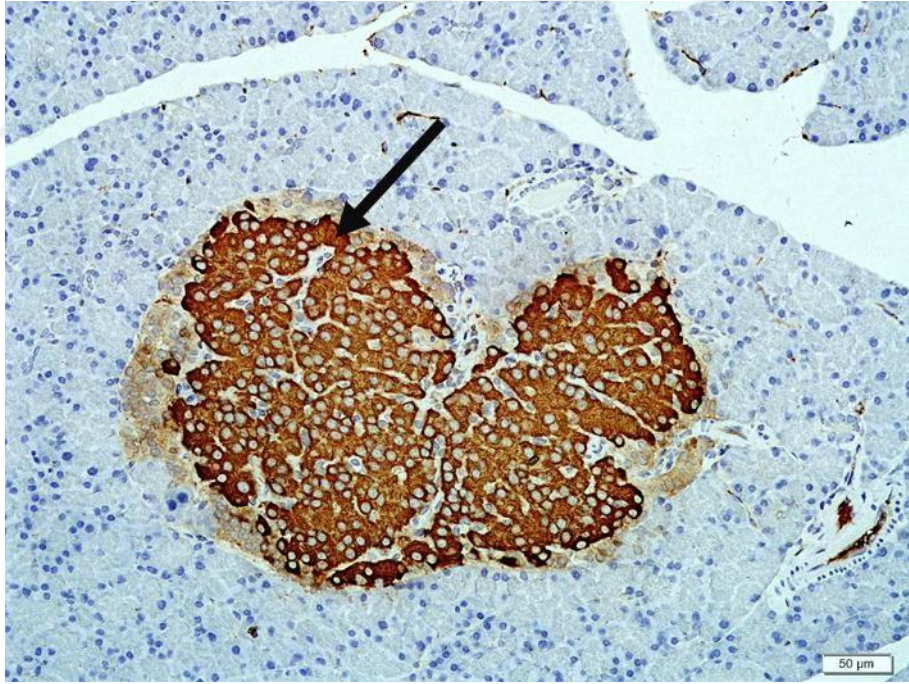
Kontrol grupların pankreasında,  $\alpha$ -SMA için yoğun immüno-boyanma, pankreatik lobüllerde gözlemlenmezken, interlobüler septa içinde lokalize olan damarların çevresindeki hücrelerde gözlemlendi (Resim 11A). YYD grubu sıçanların pankreasında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında,  $\alpha$ -SMA pozitif hücrelerin sayısı ve yoğunluğu özellikle periasiner alanlarda artış gösterdi ( $p<0,001$ ) (Resim 11B, 12B)). Bu artışın MC uygulaması ile azaldığı gözlemlendi ( $p<0,001$ ) (Resim 12, B) (Şekil 23).

### **6.7.3. NF- $\kappa$ B İmmünohistokimyası**

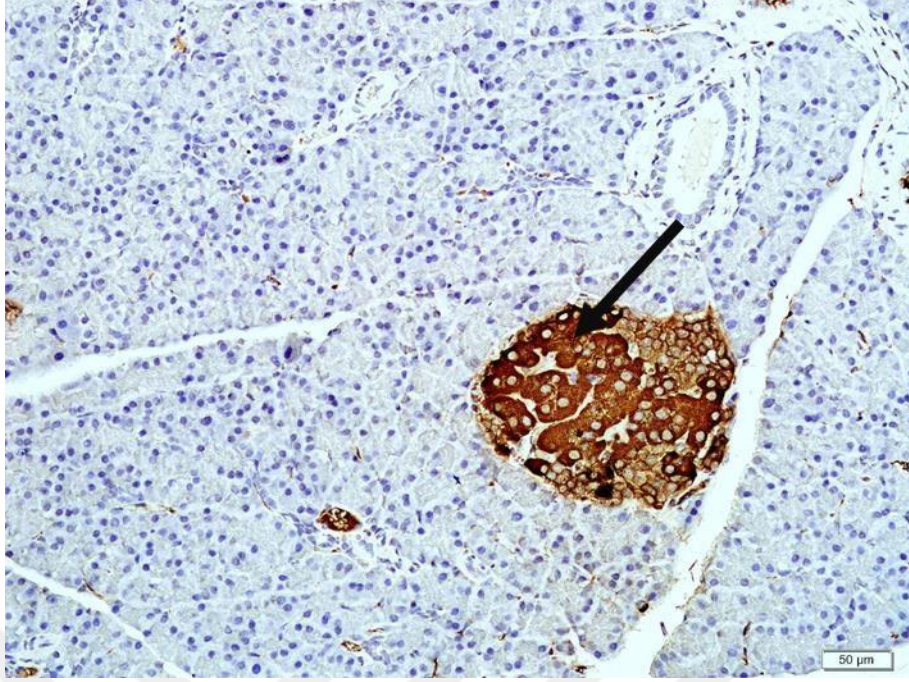
Kontrol grubunda çok az olan NF- $\kappa$ B pozitif hücreleri, YYD grubu sıçanlarının pankreasında periasiner, perivasküler ve periduktal alanlarda gözlemlendi. Aynı zamanda, endokrin adacıkların çoğunlukla perifer kısımlarında NF- $\kappa$ B pozitif hücre yoğunluğu izlendi. MC uygulanan grupta pozitif hücreler sadece perivasküler alanda bulundu. İstatistiksel olarak, kontrol grubuna göre YYD grubunda artan ( $p<0,001$ ) NF- $\kappa$ B pozitif hücre yoğunluğu MC uygulaması ile azaldı ( $p<0,001$ ) (Resim 13, 14) (Şekil 24).



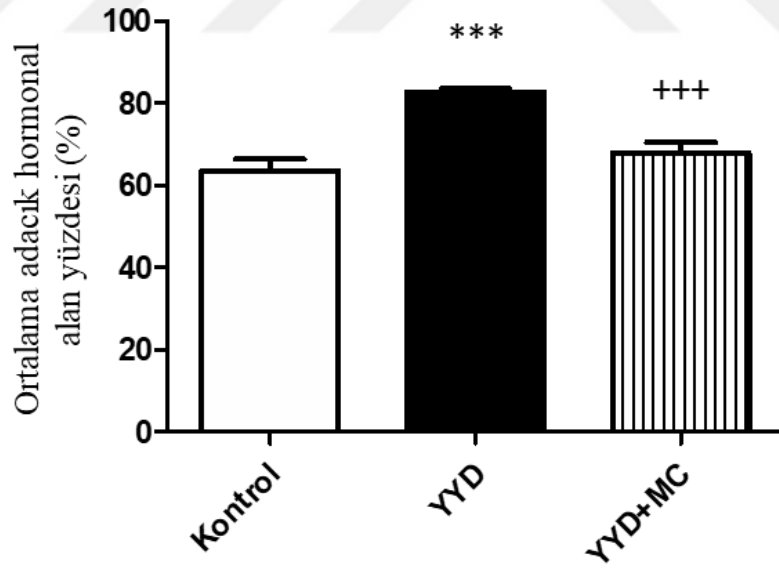
**Resim 11.** Kontrol grubunun insülin immunohistokimyası. Ok: İnsülin pozitif boyanmasını ifade eder. Ölçek: 50 µm.



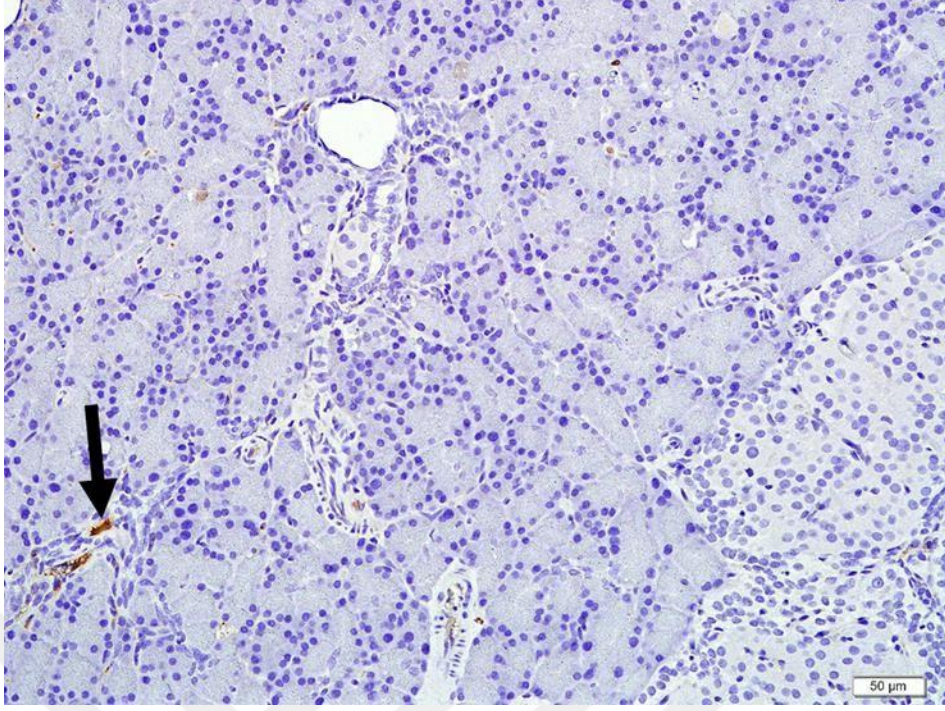
**Resim 12.** YYD grubunun insülin immunohistokimyası. Ok: İnsülin pozitif boyanmasını ifade eder. Ölçek: 50 µm.



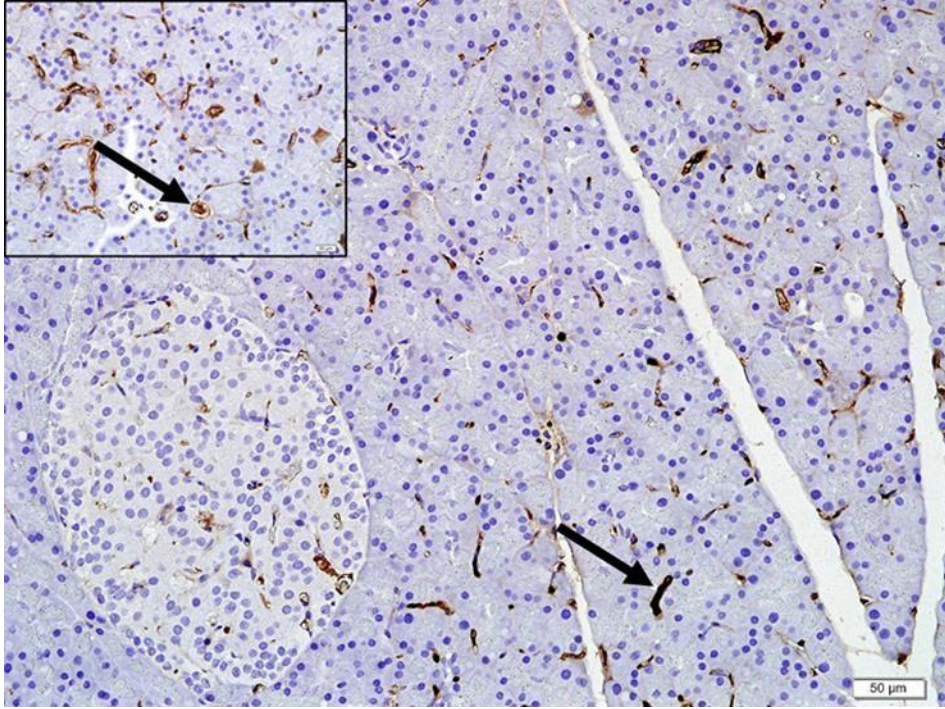
**Resim 13.** YYD grubunun insülin immunohistokimyası. Ok: İnsülin pozitif boyanmasını ifade eder. Ölçek: 50 µm.



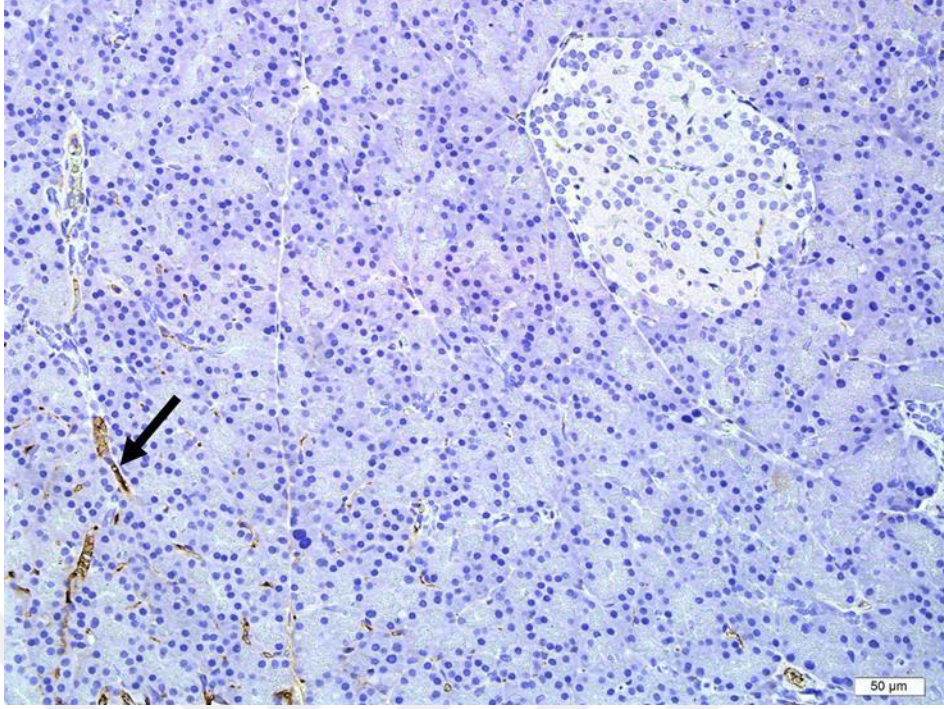
**Şekil 23.** Ortalama adacıklarda hormonal alan yüzde grafiği. \*\*\*:  $p < 0,001$  kontrol ile karşılaştırıldığında; +++:  $p < 0,001$  YYD ile karşılaştırıldığında.



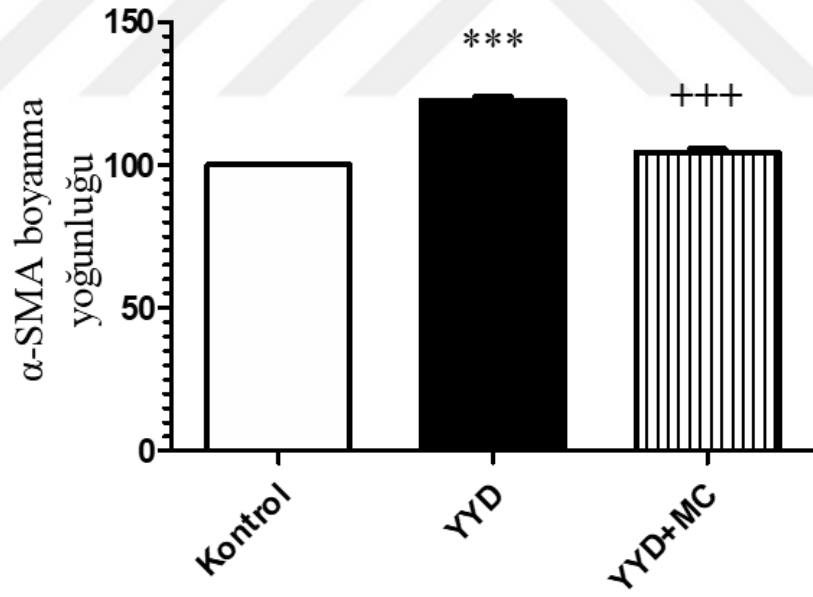
**Resim 14.** Kontrol grubuna ait  $\alpha$ -SMA immünohistokimyası.  $\alpha$ -SMA pozitif hücreler '→' ile gösterilmiştir. Ölçek: 50  $\mu$ m.



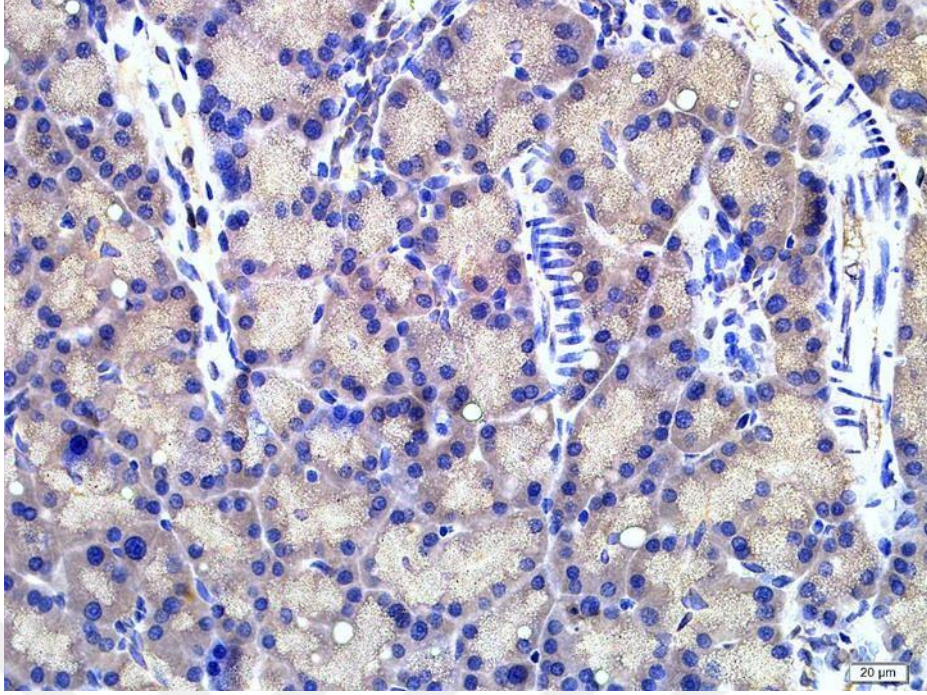
**Resim 15.** YYD grubuna ait  $\alpha$ -SMA immünohistokimyası.  $\alpha$ -SMA pozitif hücreler '→' ile gösterilmiştir. Ölçek: 50  $\mu$ m, ek resim: 20  $\mu$ m.



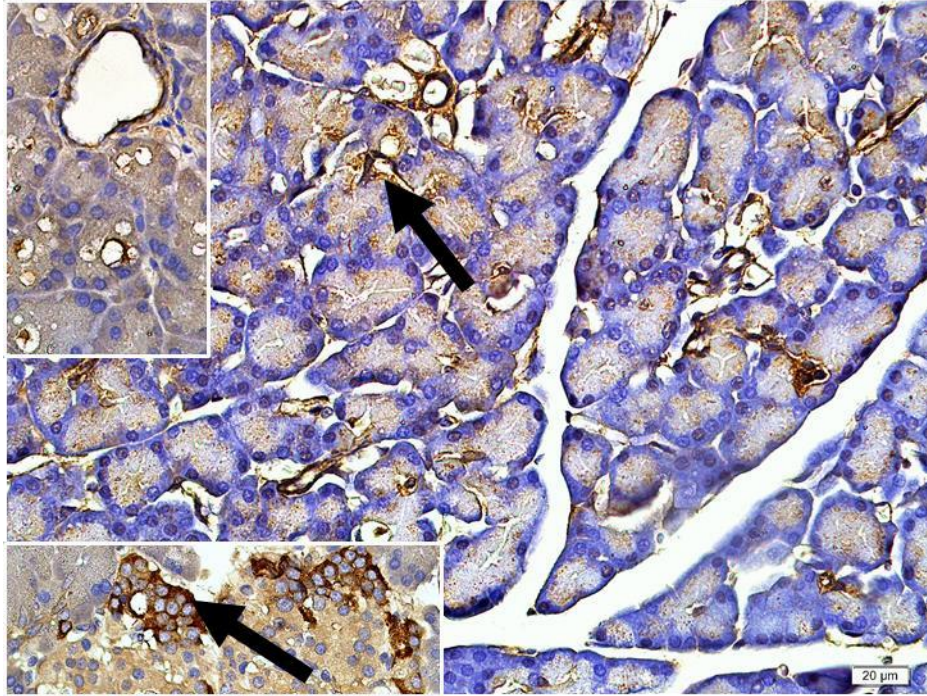
**Resim 16.** YYD+MC grubuna ait  $\alpha$ -SMA immünohistokimyası.  $\alpha$ -SMA pozitif hücreler '→' ile gösterilmiştir. Ölçek: 50  $\mu$ m.



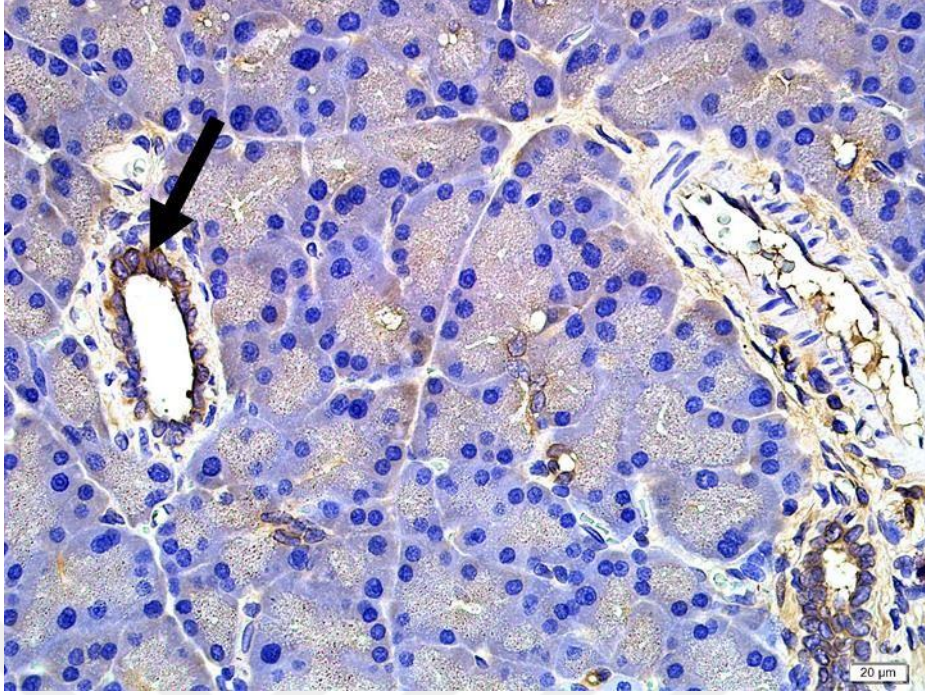
**Şekil 24.** Deney gruplarında  $\alpha$ -SMA boyanma şiddeti grafiği. \*\*\*:  $p < 0,001$  Kontrol ile karşılaştırıldığında; +++:  $p < 0,001$  YYD ile karşılaştırıldığında.



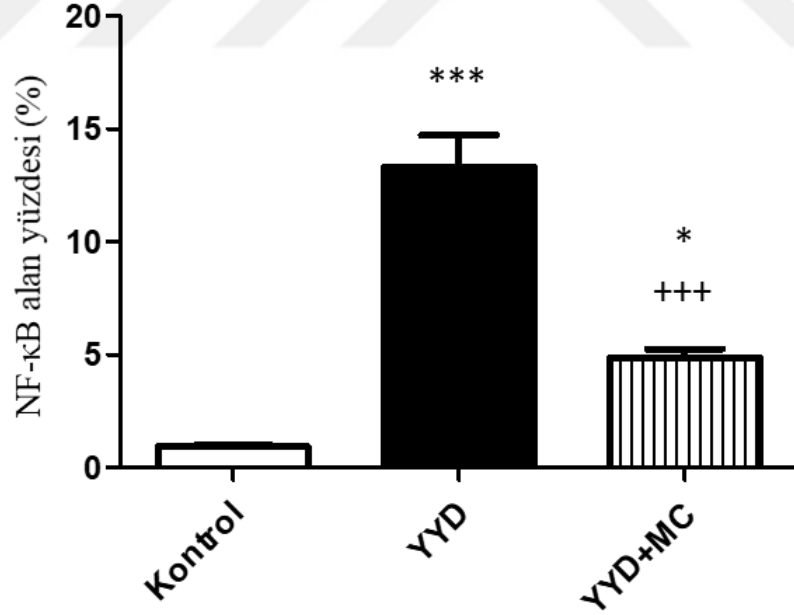
**Resim 17.** Kontrol grubuna ait NF-κB immünohistokimyası. NF-κB pozitif hücreler '→' ile gösterilmiştir. Ölçek: 20 μm.



**Resim 18.** YYD grubuna ait NF-κB immünohistokimyası. NF-κB pozitif hücreler '→' ile gösterilmiştir. Ölçek: 20 μm.



**Resim 19.** YYD+MC grubuna ait NF-κB immünohistokimyası. NF-κB pozitif hücreler ‘→’ ile gösterilmiştir. Ölçek: 20 μm.



**Şekil 25.** Deney gruplarında NF-κB alan yüzde grafiği. \*\*\*:  $p < 0,001$  Kontrol ile karşılaştırıldığında; \*:  $p < 0,05$  Kontrol ile karşılaştırıldığında; +++:  $p < 0,01$  YYD+MC ile karşılaştırıldığında.

## 7.TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, Wistar sıçanlarda YYD ile beslenme sonucunda kontrol grubuna göre serum insülin, total kolesterol, leptin, trigliserit ve VLDL seviyeleri artmış, HDL seviyesi azalmıştır. Obezite, hiperglisemi ile birlikte pankreas dokusunda asiner hücre hipertrofisi, otofajisi ile apoptoz ve nekrozu olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, YYD grubu pankreas dokusunda kontrollere göre artmış insülin,  $\alpha$ -SMA ve NF- $\kappa$ B immunohistokimyası, MPO aktivitesi ve MDA ve 8-OHdG seviyeleri ile azalmış GSH seviyesi belirlenmiştir. MC ekstraktı uygulamasının YYD ile indüklenmiş obez sıçanların kan ve pankreas örneklerinde tüm bu histolojik ve biyokimyasal parametreleri tersine çevirdiği görülmüştür.

Aşırı kilo ve şişmanlığın dünya çapında yaygınlığı, yetişkinler arasında ve aynı zamanda diyetle yüksek yağ alımının olduğu yerlerde çocuklarda ve gençlerde hızla artmaktadır ve bu durum hiperlipidemi, yağlı karaciğer, T2D ve kardiyovasküler hastalıklar gibi komplikasyonlarda önemli ölçüde artışlara neden olmaktadır (Artham ve ark., 2008; Pagotto ve ark., 2008; Yalniz ve ark., 2007). Deneysel çalışmalar, YYD alımının hiperlipidemiye indükleyebildiği ve pankreatik endokrin ve ekzokrin değişimlerine öncülük edebildiğini göstermiştir (Akiyama ve ark., 1996; Chowdhury ve ark., 2000). YYD ile indüklenen obezitenin İD ile birlikte pankreasta oksidatif stres, inflamasyon ve fibröz gelişmesinde önemli bir faktör olduğu bilinmektedir (Oben ve ark., 2007; Ribeiro ve ark., 2009) . Artan oksidatif stres seviyeleri, redoks dengesizliği ve İD dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar yoluyla hücrel glukoz metabolizmasını potansiyel olarak bozabilir (Tuzcu ve ark., 2011). Bu bulgular, yüksek yağ alımı ve kronik pankreatik hasar arasında potansiyel bir bağlantı olduğunu göstermektedir. MC ise geleneksel olarak anti-inflamatuvar, antiviral, antiseptik, antihipertansif ve dezenfekte edici özellikleri nedeniyle uzun zamandır dikkat çekmekte olan bir bitkidir (Hashemipour ve ark., 2017). Özellikle rosmarinik asit (RA) içeriği nedeniyle deneysel hiperlipidemi ve diyabette yararlı etkilere sahip olduğu bilinmektedir (Alipour ve ark., 2014). MC, kilo alımı/obezite ve beraberinde oluşan metabolik hasarları azaltmak veya kontrol etmek için kullanılacak farmakolojik bir strateji olarak düşünülebilir.

Metabolik sendromda ortaya çıkan hasarlara karşı, beslenmenin düzenlenmesi ve egzersiz programlarının kilo kaybı üzerinde olumlu etki gösterdikleri kanıtlanmıştır. Tedaviye yaklaşımda ise abdominal obezitenin önlenmesi öncelikli hedef olarak öne sürülmektedir.

Çalışmamızda YYD ile beslenen sıçanlarda, kontrol grubu hayvanlara göre artmış olan vücut ağırlığının MC uygulanması ile gıda tüketimi önemli ölçüde etkilenmeden azaldığını gözlemledik. Literatürde MC'in vücut ağırlığı üzerindeki etkileri ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Anjiogenez adipoz doku büyümesine sebep olan bir faktördür. 8 hafta YYD ile beslenen farelere aynı zamanda polifenol içeriği zengin bir antioksidan olan curcuminin uygulanması ile yapılan bir çalışmada, adipoz dokudaki lipid metabolizmasının düzenlenmesi ile birlikte anjiogenezin baskılanarak vücut yağının ve vücut ağırlığının daha düşük olmasına katkıda bulunduğu bildirilmiştir (El-Moselhy ve ark., 2011). Sterol düzenleyici element bağlayıcı proteinler (SREBP), memelilerde kolesterol, yağ asidi ve trigliserit biyosentezinde rol oynadığı iyi bilinen nükleer transkripsiyon faktörleridir. Geleneksel Çin tıbbında kilo azaltma tedavisinde sık kullanılan bir bitki olan Rheum palmatumun ana aktif bileşiği olan emodin, 12 hafta YYD ile beslenen farelere son 6 hafta boyunca her gün verilmesi ile SREBP yolağının inhibisyonu ile plazma lipid düzeyini azaltarak diyet kaynaklı obeziteyi ve ilişkili metabolik sendromu önlediği bildirilmiştir (Li ve ark., 2016). Aynı zamanda, adipogenez ve lipogenezde PPAR- $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor) önemli bir transkripsiyon faktörüdür. PPAR- $\gamma$  agonistlerinin hem hayvanlarla hem de diyabetik insanlarla yapılan çalışmalara dayanarak vücut ağırlığını ve toplam yağ kitlesini artırdığı bilinmektedir. Klinik çalışmalarda, diyabet hastalarında buna bağlı olarak kullanılan hipoglisemik aktiviteye sahip PPAR- $\gamma$  agonisti olan pioglitazone ve troglitazone ilaçlarının kilo alımına sebep olduğu bildirilmiştir (Hirose ve ark., 2002; Kelly ve ark., 1999). Deneysel bir çalışmada, meyan kökünde bulunan flavonoid içeriğinin uygulanması ile obez/diyabetik hayvan modelinde PPAR- $\gamma$  aktivitesinin düzenlenmesi ile obezite ve diyabetin önlediği (Nakagawa ve ark., 2004) ve YYD ile uyarılan obez sıçanlarda abdominal yağ doku ağırlığının azaldığı bildirilmiştir (Kamisoyama ve ark., 2008). Bu çalışmalarda etki mekanizmaları ortaya konmuş polifenol ve flavonoid bileşikleri deneyimizde kullandığımız MC'de de bulunmaktadır. Dolayısıyla, henüz MC'in kilo kaybına nasıl neden olduğu açıklanamamış olsa da, PPAR- $\gamma$  aktivitesinin düzenlenmesi, SREBP yolağı ve anjiogenezin inhibisyonu gibi benzer mekanizmalarla bu etkisini gerçekleştirmiş olabileceği düşünülebilir.

OGTT, hipoglisemik ilaçların etkisini değerlendirmek için en önemli parametrelerden biridir. OGTT'de kan glukoz seviyesi zamanla yükselir ve diyabetik sıçanlarda bu artış 120. dakikaya kadar devam eder. OGTT ile insülin duyarlılığının değerlendirilmesi sonucunda, YYD ile 4 ve 12 ay uyarılan deneysel fare modelinde, 4 ayda diyabet gelişmezken, 12. ayın sonunda hayvanlarda hücresel yaşlanma/apoptoz sonucunda yetersiz insülin salınımına bağlı olarak

diyet indüklü T2D gözlenmiştir (Sone ve Kagawa, 2005). Başka bir çalışmada, 6 hafta YYD ile beslenen farelerde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kan glukoz seviyelerinde fark olmazken, 24 hafta YYD ile beslenen farelerde kontrol grubuna göre glukoz intoleransı ve insülin direnci olduğu gösterilmiştir (Matsuzawa-Nagata ve ark., 2008). YYD alımına ek olarak alloksan/streptotosin ile indüklenen deneysel hayvan modellerinde de insülin direnci ve T2D olduğu gösterilmiştir (Srinivasan ve ark., 2005; Tang ve ark., 2006). Çalışmamızda, OGTT verileri, YYD grubu sıçanlarının kontrole göre yüksek kan glukoz seviyesine sahip olduğu işaret etmektedir. YYD+MC grubunda ise azalmış kan glukoz seviyesi izlenmesi MC'in hipoglisemik etkisini göstermektedir. 16 ve 20 hafta YYD alımı ile pankreatik hasarı indüklenen sıçanlarda, kan glukoz seviyesinin arttığı fakat insülin direnci ve T2D geliştirmediği bildirilmiştir (Cao ve ark., 2014; Yan ve ark., 2006). Bu durum, YYD ile insülin direnci/T2D'in indüklenmesi kullanılan diyet yağının miktarı, içeriği ve süresine bağlı olarak değişkenlik gösterir.

MC halk arasında anti-diyabetik ajan olarak kullanılmaktadır. MC'in hipoglisemik etkisini ve hayvan modellerinde kan glukozu üzerindeki etki mekanizmasını incelemek amacıyla bazı deneysel çalışmalar yapılmıştır. Streptozotosin (150mg/kg, intraperitoneal) ile oluşturulan diyabetik farelerde streptozotosin öncesi veya sonrasında uygulanan MC yaprak ekstraktı (2g/kg) ile sırasıyla hipergliseminin engellendiği ve azaldığını belirtilmiştir (Elfellah ve ark., 1984). Bu etkilerin, tekrarlayan MC dozlarıyla da devam ettiği gözlenmiştir. Yine streptozotosin ile oluşturulan başka bir diyabetik hayvan modelinde, sıçanlarda MC yaprak ekstraktı uygulanması ile elde edilen anti-hiperglisemik yanıtın doz bağımlı olduğu gösterilmiştir (Alipour ve ark., 2014). MC yapraklarının uçucu yağının (50mg/kg) tek/tekrarlayan dozlarının etkileri alloksan uygulanmış diyabetik tavşanlarda değerlendirildiğinde, uygulamanın 4. saatinde diyabetik tavşanlarda kan glikozunu %51 oranında azaldığı, normal hayvanlarda herhangi bir etkinin gözlenmediği bildirilmiştir (Sepici ve ark., 2004). Tüm bu çalışmalara benzer şekilde, çalışmamızda da 16 haftalık YYD alımının son 4 haftasında MC uygulamasının (100mg/kg) YYD grubunda artan açlık kan glukoz seviyesini düşürerek hipoglisemik etkisi bulunmuştur.

Deneysel diyabet sıçan modelinde, artan kan glukoz seviyesinin MC uygulaması (50mg/kg, 7 gün) ile önemli ölçüde azaldığı belirtildi (Sepici-Dincel ve ark., 2007). MC bitkisi ile meydana gelen antidiyabetik etkinin mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Ancak, MC yapraklarının uçucu yağının normal ve alloksanın neden olduğu diyabetik tavşanlarda serum

insülin konsantrasyonlarını etkilemediği gözlenmiştir. Buna bağlı olarak, MC hipoglisemik aktivitesinin insülin sekresyonu ile ilişkili olmadığı varsayılmaktadır. MC uçucu yaprak yağı, glikolizi (glikokinazın daha yüksek aktivitesi), glikojenezi ve glikojenolizi azaltarak hipoglisemik aktiviteyi ortaya çıkardı (Sepici ve ark., 2004). Dahası, glikoz yükleme testinin verileri, MC yaprağı yağı ile tedavi edilmesinin, esas olarak glukozun bağırsak emilimini azaltıp kompleks karbonhidratlardan glukoz salınımını geciktirerek hipoglisemiye yol açtığını güçlü bir şekilde ileri sürmüştür; bu nedenle, MC yağının bir alfa-glikosidaz enzim inhibitörü olabileceği düşünülmektedir (Gholamhoseinian ve ark., 2009; Sepici-Dincel ve ark., 2007).

Vücutta başlıca adipoz dokuda sentezlenen leptin, iştah, vücut ağırlığı, enerji dengesi ve bir takım nöroendokrin fonksiyonlarla ilişkili bir moleküldür. Kanda serbest ve proteine bağlı olarak iki formu bulunur. Leptinin aktivitesinden serbest formun sorumlu olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda obez bireylerde serumdaki leptinin büyük kısmının serbest formda olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle obez bireylerde serbest leptin formunun artışı, obezite gelişiminde asıl sorunun leptin eksikliği değil, leptin direnci olduğu hipotezini destekleyen kanıtlardan biri olarak görülmektedir (Brabant ve ark., 2000; Sinha ve ark., 1996). Vücut yağ miktarı ile serum leptin seviyesi doğru orantılı olup obez bireylerde ve kemirgenlerde leptin seviyeleri artmaktadır (Considine ve ark., 1996; Maffei ve ark., 1995). Obez farelere rekombinant leptin verilmesi ile gıda alımı, vücut kilosu, insülin ve glukoz konsantrasyonlarında azalma gözlenirken, leptine dirençli diyabetik farelere leptin verilmesi ile herhangi bir etkinin görülmemesi obezitede asıl sorunun leptin eksikliğinden çok leptin direnci olduğunu düşündürmektedir (Coleman, 1978; Cusin ve ark., 1995). 8 hafta boyunca YYD ile beslenen Sprague Dawley sıçanlarda gelişen glukoz intoleransı ile ilişki plazma leptin seviyelerinde artış gözlenmiştir (Huang ve ark., 2004). Bu çalışmada da benzer şekilde YYD grubunda serum leptin düzeyinin yükseldiği, MC uygulamasının ise bu düzeyi azalttığı bulunmuştur.

Obezite, yükselen açlık serum TG, LDL ve total kolesterol ile azalan HDL konsantrasyonu sonucunda oluşabilecek hiperinsülinemi ve insülin direnci ile ilişkilendirilmektedir (Casacchia ve ark., 2018). Obez bireylerde ve kemirgenlerde total kolesterol, glukoz, LDL ve VLDL değerleri artarken HDL değerinde azalma olduğu belirtilmiştir (Bhathena ve Velasquez, 2002; Cefalu ve ark., 2002). Zucker sıçanlarında YYD ile beslenme sonucunda hiperglisemiye bağlı olarak artan total kolesterol ve LDL ile azalan HDL konsantrasyonu olduğu gösterilmiştir (Huang ve ark., 2004). Başka bir çalışmada, 19

hafta YYD ile beslenen Wistar sıçanlarında insülin direnci ile birlikte lipid metabolizmasında bozulma bildirilmiştir (Antunes ve ark., 2016). 7 hafta boyunca YYD ile beslenen farelerde ise hepatik trigliserit salgısında ve sentezinde artışa sebep olan insülin direnci bulunmuştur (Lavau ve ark., 1979). Çalışmamızda, 16 hafta YYD ile beslenen sıçanlarda insülin direnci ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında YYD grubunda artan TG, LDL, VLDL ve kolesterol konsantrasyonu ile azalan HDL seviyesi gözlenmiştir. Lipid metabolizmasındaki bu değişikliğin MC uygulaması ile geri döndürüldüğü ve insülin direncinde azaldığı bulunmuştur. Benzer şekilde başka bir çalışmada, MC'de bulunan fenolik bileşiklerin (semimyrtucommulone ve myrtucommulone A), oksidatif ürünlerin artışını inhibe ederek, kardiyovasküler hastalıklarda rol oynadığı bilinen TG, kolesterol ve LDL'nin artışına karşı güçlü bir koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir (Rosa ve ark., 2008).

YYD alımı ile oluşan glukoz intoleransının nedeni, çoğunlukla çeşitli faktörlere bağlı olarak oksidatif strese bağlanır. Hiperglisemi, serbest radikaller yoluyla proteinlerin enzimatik olmayan glikasyonu ile aşırı radikallerin üretimine yol açar, bu şekilde hücre fonksiyonları üzerinde zararlı etkiler yapar ve onları oksidatif strese karşı savunmasız hale getirir. Hiperglisemi aynı zamanda antioksidan enzim savunmasını da bozarak ROS'un hücrelere ve dokulara zarar vermesini tetikler. Süperoksit anyonunu içeren ROS'lardaki artış, endotel hücrelerinin hasar görmesine ve mikrovasküler geçirgenlikte artışa neden olabilir. Oksidatif stres, serbest radikallerin antioksidanlar tarafından yeterli nötralize edilmemesi durumunda vücutta biriken hasar ile ilişkili olup GSH, SOD ve katalaz gibi antioksidan enzim aktivitelerindeki azalma ile şiddeti artar. Obezitede birçok oksidatif stres kaynağı olabilir. GSH, tekli oksijen, hidroksil radikalleri ve süperoksit radikallerinin doğrudan kimyasal nötralizasyonu, hücresel proliferasyon/apoptozun düzenlenmesi ve mitokondriyal fonksiyonların/mitokondriyal DNA'nın korunmasında görevli ve çeşitli antioksidan enzimler için kofaktör olan güçlü bir hücre antioksidanıdır (Pizzorno, 2014). Lipid peroksidasyonu, ROS'un neden olduğu oksidatif stresin en önemli göstergelerinden biridir (Coban ve ark., 2005). MDA ise, membran bütünlüğünü bozan ve hücre apoptozunu indükleyen lipid peroksidin bir belirteçidir (Li ve ark., 2016; Yan ve ark., 2006). Azalan GSH ve artan MDA oksidatif stresi tetikleyerek hücresel hasara sebep olur.

Azalmış hücresel GSH içeriği, artan oksidatif stresin ortaya çıktığı klinik ve deneysel diyabet çalışmalarında yaygın bir bulgudur (Khamaisi ve ark., 2000). Obez bireylerde kronik hiperglisemi MDA aktivitesinde sürekli artışa ve bu durumda daha fazla ROS üretimine neden

olarak oksidatif stres kaynaklı glukoz intoleransına neden olabilir (Yue ve ark., 2003). Deneysel iskemi-reperfüzyon modelinde karaciğer dokusunda MDA/GSH aktivitesi oranının artışı oksidatif stresin meydana geldiğini göstermektedir (Hazelton ve Lang, 1980). MDA/GSH oranının 16 hafta YYD ile indüklenen sıçanların karaciğer, kalp ve börek dokularında da yüksek olduğu gösterilmiştir (Noeman ve ark., 2011). 20 hafta YYD ile beslenen sıçanlarda ise, lipid birikimleri ile birlikte oksidatif stres sonucunda oluşan hiperlipidemin indüklendiği, buna bağlı olarak pankreas dokusunda MDA'nın artan seviyesi ve SOD aktivitesinin azalması ile sırasıyla artan lipid peroksidasyon ve azalan antioksidan etki gösterilmiştir (Yan ve ark., 2006). Bu çalışmalar ile benzer şekilde çalışmamızda da YYD grubunda kontrol grubuna göre pankreas MDA seviyesinde artış ve GSH aktivitesinde azalma gözlenmiş, MC uygulamasının ise bu parametrelerde tersine etki yaptığı bulunmuştur. Daha önce yapılan sıçanların özafagus mukozasında özofajiyal reflü-indüklü hasarına karşı, MC uygulamasının MDA/GSH oranında azalma sağlayarak oksidatif stresi baskıladı gösterilmiştir (Jabri ve ark., 2016). Bulgularımız daha önceki çalışmalar ile uyumlu olarak (Hosseinzadeh ve ark., 2011; Nourzadeh ve ark., 2017; Paglialunga ve ark., 2015), MC uygulamasının oksidan/antioksidan dengenin sağlanmasında rol oynadığını düşündürmektedir.

ROS, fizyolojik süreçlerin, metabolik ve diğer biyokimyasal reaksiyonların bir parçası olarak aerobik organizmaların canlı hücrelerinde sürekli olarak oluşur. Bu endojen olarak üretilmiş ROS ve serbest oksijen radikalleri önemli fizyolojik fonksiyonlara sahiptir, fakat reaktif özelliklerinden dolayı hücresel membranların, proteinlerin ve DNA'nın lipidlerine oksidatif hasar verebilir. Bu temel biyomoleküllere zarar veren en önemli serbest oksijen radikali hidroksil radikalidir. Hidroksil radikalinin guanin gibi DNA zincirlerinin nükleobazları ile etkileşimi, 8-OHdG oluşumuna yol açar. Nükleer ve mitokondriyal DNA'da 8-OHdG veya 8-okso-7,8-dihidro-2'deoksiganosin (8-oksodG), serbest radikal kaynaklı oksidatif lezyonların baskın formlarındandır ve bu nedenle, oksidatif stres ve karsinogenez için bir biyobelirteç olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Valavanidis ve ark., 2009). Literatürde, obez bireyler ve hayvanların karaciğer, pankreas ve beyaz yağ dokusunda 8-OHdG seviyesinin yüksek olduğu gösterilmiştir (Anderson ve ark., 2009; Paglialunga ve ark., 2015; Yokomizo ve ark., 2014). Bu nedenle çalışmamızda YYD ile beslenen hayvanların pankreas dokularında meydana gelebilecek metabolik hasar sonucunda hücre hasarının bir göstergesi olarak 8-OHdG varlığını inceledik. YYD grubunda, kontrol grubuna göre pankreas

8-OHdG seviyesinin arttığı, MC uygulanması ile 8-OHdG seviyesinin anlamlı ölçüde azaldığı bulundu. Bu sonuçlar, mrytle'ın DNA'daki oksidatif hasarı önleyebildiğini düşündürmektedir.

Obezite, adipoz dokuda immün hücre infiltrasyonu ve dolaşımdaki yüksek pro-inflamatuar moleküller ile karakterizedir (Weisberg ve ark., 2003). Bu pro-inflamatuar araçlar insülin sinyalini bozarak İD'ne yol açabilir. MPO, inflamasyon sırasında nötrofillerden salınan bir enzimdir ve obezite/insülin direncinin gelişiminde rol oynar. MPO knock-out farelerde YYD maruziyetiyle daha az vücut ağırlığı artışı, inflamasyonun inhibisyonu ve insülin duyarlılığı ile glukoz toleransı gelişimine yol açtığı rapor edilmesi ile bu durum kanıtlanmıştır (Wang ve ark., 2014). Sıçanlarda yapılan bir deneysel çalışma, YYD alımının karaciğer ve beyaz yağ dokusu içinde nötrofil infiltrasyonu ve artmış MPO ekspresyon/aktivitesi ile hasar oluşturduğunu göstermektedir. Çalışmamızda, YYD ile beslenen sıçanlarda kontrol hayvanlarına göre artan MPO aktivitesi YYD uygulaması ile yapılan diğer deneysel çalışmalarla tutarlıdır. Deneysel kemirgen hayvanlarda, cotton pellet/ksilen ile indüklenen kulak ödemi modelinde MC'in güçlü antiinflamatuvar özelliğe sahip olduğunu gösterilmiştir (Hosseinzadeh ve ark., 2011). Bu çalışmada da YYD ile artan MPO aktivitesinin MC uygulaması ile önemli ölçüde azalması bu bitkinin antiinflamatuvar etkisi olduğunu desteklemektedir.

MC'in makrofajlarda TGF- $\beta$  ekspresyonunun inhibisyonu ile pulmoner fibrozun başlangıç aşamasında etkili olan yüksek flavonoid içeriğine sahip olduğu bilinmektedir ve içerisinde quercetin ve myricein gibi çeşitli türevler de mevcuttur (Pournamdari ve ark., 2018). MC'in inflamasyon sonucu pek çok hücrede eksprese olan 5-lipoksijenaz ve 1-siklooksijenaz enzimlerini inhibe etmesi ile güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar aktivite sağladığı kanıtlanmıştır (Samareh Fekri ve ark., 2018). Bitkinin antioksidan etkisi aynı zamanda polifenol bileşikleri nedeniyle oksidatif stres belirleyicilerinin ekspresyonunun azalması ile gösterilmiştir (Impellizzeri ve ark., 2015). YYD grubuyla karşılaştırıldığında MC uygulanan grupta pankreas dokusunda belirlediğimiz MPO aktivitesinde ve 8-OHdG ve MDA seviyelerinde azalma ve GSH aktivitesinde artma, önceki çalışmalar ile uyumlu olarak MC'in, YYD maruziyetinde oluşabilecek oksidatif hasarı önleyebilmenin yanında oluşan akut inflamasyon üzerinde iyileştirici bir etki sağlayabileceğini destekler niteliktedir. Biyokimyasal verilerimiz, MC'in MDA ve 8OHdG seviyelerini azaltma, GSH seviyesini artırmasının yanı sıra MPO inhibisyonu üzerinden de obezite ve komplikasyonlarının önlenmesini sağlayabileceğini düşündürmektedir. MC ekstresinde myricitrin and  $\alpha$ -

tocopherol içeriğine bağı olarak güçlü antioksidan etkisi daha önceki çalışmalar ile gösterilmiştir (Akila ve Devaraj, 2008; Dairi ve ark., 2017).

Obezite, ektopik TG birikimiyle sonuçlanan, trigliseritleri depolamak için adipoz dokunun normal kapasitesini doyan, kronik bir pozitif enerji dengesi durumu olarak karakterize edilir. Aslında, obezite, adipoz olmayan dokularda, özellikle iskelet kası, karaciğer, kalp ve pankreasta lipidlerin aşırı birikmesine yol açar. Lokal pankreatik lipaz tarafından pankreatik dokunun içerisinde ve etrafında trigliseritlerin hidrolizi, yüksek konsantrasyonlarda SYA'nin birikmesine öncülük eder. Önceki çalışmalar, deneysel YYD sıçan modelinde, izole edilen pankreatik asinüslerde hücre bileşenlerinin lipid peroksidasyonunun yüksek seviyelerde SYA'nden kaynaklı asiner hücre hasarında muhtemel bir faktör olduğunu göstermiştir. Bu durum aşırı yağ birikimi, hücresel düzensizlik ve fonksiyonel doku bozukluğuna yol açabilen organa özgü toksik reaksiyonları tetikler (Nolan ve ark., 2006). Çalışmamızda da bu mekanizmaya benzer şekilde YYD maruziyetinin sebep olduğu pankreatik hasar ve hücresel düzensizlik kan serum düzeylerindeki değişiklikler paralellik göstermektedir.

Bu çalışmada, pankreas dokusundaki histopatolojik bulguların kronik YYD alımının sekonder pankreatik asiner hücre atrofisi ile kronik inflamasyon ve fibrozun erken evrelerinde gözlenen akut inflamatuvar yanıtta kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Kronik (12-16 hafta) YYD alımından sonra pankreas dokusunun yağ dokusu tarafından infiltre edilebildiği ve buna bağı olarak SYA'nin pankreasta daha yüksek konsantrasyona ulaştığı belirtilmiştir (Yan ve ark., 2006). Bu çalışmada ayrıca, pankreasta MDA ve 8-OHdG seviyeleri artışı ve GSH aktivitesi azalması, interstisyel ödem, yer yer inflamatuvar hücre infiltrasyonu, fokal asiner dejenerasyon ve vakuolizasyonu ile ilişkilendirilmiştir. Modelimizdeki histolojik ve biyokimyasal değişiklikler, 14 hafta YYD ile beslenen farelerde ve 6-10 ve 18 hafta YYD ile beslenen sıçanlarda bildirilen pankreatik hasar bulguları ile benzerlik göstermektedir (Wu ve ark., 2013; Zhang ve ark., 2008). Lipid peroksidasyonunun pankreatik hücrelerden mi yoksa pankreatik dokularda oluşan doymamış SYA'nden mi kaynaklandığı bilinmemekle birlikte çalışmadaki verilerimiz, artmış SYA ve lipid peroksidasyonunun, YYD alımının pankreas üzerinde yol açtığı hasar mekanizmalarında yer alabileceğini düşündürmektedir.

Pankreatik inflamasyon ve hücre ölümü, pankreatik hasarla birlikte akut pankreatitin gelişimi için kritik öneme sahiptir. Hayvan modellerinde yapılan birkaç çalışma, deneysel akut pankreatitin, asiner hücreler içinde başladığını ve değişmiş hücre içi protein akışı ve hücre içi

lizozomal hidrolazlarla birlikte lokalizasyonu ile ilişkili sindirim zimojenlerinin aktivasyonu ile başlatıldığını göstermiştir (Gukovskaya ve Gukovsky, 2012; Komiya ve ark., 2010). Otofaji, ilişkili proteinlerin hatalı işleyişi ile kontrolden çıkan aktif zimojenlerin salgılama sürecini temsil eder ve küçük otofajik vakuollerden, apoptoz veya nekroz yoluyla hücre ölümüne yol açan çok büyük vakuollerin intrasitoplazmik birikimine kadar uzanır (Ebato ve ark., 2008). Çalışmamızda YYD ile pankreasta oluşan hasarda, deneysel akut pankreatitte öne sürülen bu hasar mekanizması ile uyumlu olarak, asiner hücre otofajisi ve apoptoz/nekroz birlikteliği gösterilmiştir (Antonucci ve ark., 2015; Zhang ve Rouse, 2014). Daha önce farelerde YYD ile yapılan bir çalışmada pankreasta histolojik olarak gözlenen hasar, otofajiyile ilişkili birçok proteinin tükenmesi, hasarlı moleküllerin ve organellerin hücre içi birikimi, pro-apoptotik sinyaller ve otofajiden apoptoza ve potansiyel olarak nekroza hücrelerin yönlendirilmesi ile ilişkilendirilmiştir (Gukovsky ve ark., 2011). Çalışmamızdaki bulgular, YYD'in pankreas üzerinde zararlı bir etkiye sahip olduğu (Chowdhury ve ark., 2000) ve obezitenin ve/veya YYD'in deneysel modellerinin pankreatik pro-inflamatuar yanıtı arttırabileceği iddiasını destekleyen daha önceki deneysel çalışmaların raporlarıyla uyumludur (Fernandes-Santos ve ark., 2009; Segersvard ve ark., 2001; Yan ve ark., 2006; Zhou ve ark., 2001). Akut pankreatitin erken evrelerinde de çalışmamızdakine benzer şekilde pro-inflamatuar süreçlerin aktivasyonu gösterilmesine rağmen (Rouse ve ark., 2014) bulgularımız, YYD'in akut pankreatite neden olabileceği sonucunu sağlamamaktadır. Nitekim, akut pankreatitin belirleyici cevapları arasında hiperamilazemi (kandaki amilaz seviyesinin artışı; sindirim enzimlerinin asiner içinde aktivasyonu (yani tripsinojenin tripsine dönüşümü); asiner hücrelerde büyük vaküollerin birikmesi; proinflamatuar mediyatörlerin (NF- $\kappa$ B) indüklenmesi sonucunda pankreasta inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve sistemik inflamatuvar yanıt ve apoptoz ve nekroz ile asiner hücre ölümü ile sonuçlandığı bilinmektedir (Gukovsky ve ark., 2011).

Çalışmamızda, YYD grubuyla karşılaştırıldığında MC ile tedavi edilen grupta asiner hücre hipertrofisi, apoptoz/nekrozu ve otofajinin azalması ile birlikte MPO aktivitesinde ve 8-OHdG ve MDA seviyelerinde azalma ve GSH aktivitesinde artış gözlenmiştir. Bu bulgular, önceki çalışmalar ile uyumlu olarak MC'in pankreas dokusunda, YYD maruziyetinde oluşabilecek oksidatif hasarı önleyebilmenin yanında inflamasyon üzerinde iyileştirici etkisi ile doku morfolojisinde etkilerini gösterebildiğini destekler niteliktedir.

T2D'li bireylerde insülin eksikliği pankreatik  $\beta$ -hücre disfonksiyonu ve kitlesindeki azalmayla ilişkilidir (Stamateris ve ark., 2013).  $\beta$  hücre disfonksiyonu sırasıyla glukotoksisite ve lipotoksisite olarak adlandırılan kronik hiperglisemi ve/veya hiperlipidemiden kaynaklanır (Sone ve Kagawa, 2005). Çoğu obez bireyde diyabet gelişmez çünkü  $\beta$  hücreleri insülin salgısını ve/veya  $\beta$ -hücre kitlesini artırarak insülin direncini telafi edebilir.  $\beta$  hücre kitlesi,  $\beta$  hücre proliferasyonu, hipertrofisi veya diğer hücre tiplerinden dönüşüme bağlı olarak artabilmektedir (Stamateris ve ark., 2013). Ancak bu durum yetersiz kaldığında, glukoz intoleransı başlamasına yol açar (Li ve ark., 2012). Kemirgen modellerinde uzun süreli YYD uygulaması ile yapılan çalışmalar, obezitede olduğu gibi, insülin salgı yükü arttıkça  $\beta$ -hücre kitlesinin genişlediğini ve daha sonra diyabet gelişmesi ile birlikte de azaldığını göstermektedir (Stamateris ve ark., 2013). Deneysel kemirgen modellerinde, 8-24 hafta YYD alımı kompensatör  $\beta$ -hücre kitle genişlemesini incelemek için mevcut standart yaklaşım olarak öne sürülmüştür. Çalışmamızda, YYD grubunda kontrol grubuna göre artmış serum insülin seviyesi ile birlikte artmış Langerhans adacık alanı ve insülin-pozitif alan yüzdesi bulgularımız, YYD maruziyetiyle pankreas hasarının erken döneminde ortaya çıkan değişikliklerle paralel olarak kompensatör  $\beta$ -hücre kitle genişlemesi ile ilişkili olabilir. YYD maruziyetiyle insülin direncinin başlamasından önce, hiperglisemi, hiperinsülinemi ve glikoz intoleransının başlangıcı ile birlikte  $\beta$ -hücre kitle genişlemesi gözlenmektedir (Mosser ve ark., 2015; Stamateris ve ark., 2013; Woodland ve ark., 2016). YYD ile beslenen farelerde pankreatik  $\beta$ -hücre proliferasyonu 0, 3 ve 7 gün gibi kısa süreli uygulamalarda bile gözlenmiştir (Stamateris ve ark., 2013).

Kemirgenlerde YYD ile oluşturulan deneysel çalışmalarda, artmış glukoz ve insülinin  $\beta$ -hücre proliferasyonunu ve kitlesini arttırdığı ve kronik insülin direnci sürecinde rol oynadığı gösterilmiştir (Alonso ve ark., 2007; Bonner-Weir ve ark., 1989). Hem kısa (1 hafta) hem de uzun dönem (2-12 ay) YYD çalışmaları, artmış  $\beta$  hücre proliferasyonu nedeniyle artmış  $\beta$  hücre kitlesini tekrarlayan hiperglisemi ile açıklamıştır (Hull ve ark., 2005; Mosser ve ark., 2015; Stamateris ve ark., 2013). Çalışmamızda da benzer şekilde, 16 hafta YYD uygulaması sonucunda kontrol grubuna göre artmış açlık kan glukozu, kompensatör  $\beta$ -hücre büyümesinin sebebi olarak gösterilebilir. Aynı şekilde, bu çalışmada, MC uygulanması ile gözlenen YYD grubuna göre azalmış hiperglisemi ve azalmış insülin-pozitif alan ve adacık kitlesi, MC'in hipoglisemik aktivitesine bağlı olabilir.

Hafif fibroz, daha yaygın fibroz ve geniş, birleşik fibroz, sırasıyla erken, ilerleyen ve ciddi kronik pankreatitte gözlenebilir. Kronik pankreatitte kanal ektazisi, duktal yapıların dilatasyonu ve duktal epitelyumdaki değişiklikler de görülebilir. Fibroz genellikle kronik pankreatitin ayırt edici bir özelliği olarak kabul edilir, ancak son zamanlarda yapılan bir çalışma, akut pankreatitin erken başlangıcında asiner hücreler tarafından bir profibrotik mediatörün (TGF- $\beta$ , NF- $\kappa$ B gibi) üretilebildiğini ve bulgunun akut pankreatitin erken evrelerinde fibrotik yanıtı başlatan pankreatik asinüs hücrelerinin rolünü ortaya koyduğunu göstermiştir (Rouse ve ark., 2014). Oksidatif strese bağlı NF- $\kappa$ B aktivasyonu inflamasyon ve fibroz ile ilişkilidir (Yan ve ark., 2012). Yerleşik doku hücreleri, endoplazmik retikulumda metabolik veya oksidatif strese yanıt olarak NF- $\kappa$ B'yi indükler. Artan metabolik talepler, NF- $\kappa$ B aktivasyonuna karşı pro-inflamatuvar bir sinyal olan nekrotik hücre ölümüne neden olabilir (Yan ve ark., 2012). Buna bağlı olarak, düzensiz NF- $\kappa$ B aktivasyonu, pankreatik fibrogenezin ayırt edici noktası olarak gösterilebilir (Baker ve ark., 2011). Bu nedenle, NF- $\kappa$ B'nin pozitifliği pankreasta YYD'in zararlı etkileri olabileceğini gösteren çalışmaları desteklemektedir.

Bizim çalışmamızda, pankreas dokusunda artan oksidatif stres ile uyumlu olarak pankreatik endokrin ve ekzokrin alanda artan NF- $\kappa$ B ekspresyonu mevcuttu. NF- $\kappa$ B aktivasyonuna karşı pro-inflamatuvar yanıtı yansıtan apoptoz/nekroz ekzokrin alanda belirgindi. YYD'in arttırdığı NF- $\kappa$ B aktivasyonuna ilk asiner hücrelerde pro-inflamatuvar yanıt oluştuğu ve pankreas adacıklarında artan hiperglisemi ile kompensatör  $\beta$ -hücre artışı meydana geldiği ve apoptoz gelişmediği gözlemlendi. Bu gözlem, kemirgen modellerinde YYD maruziyetine erken yanıt olarak adaptif  $\beta$ -hücre proliferasyonunu gösteren çalışmalar ile tutarlıdır (Bonner-Weir, 2000; Mosser ve ark., 2015; Stamateris ve ark., 2013). 16 hafta YYD ile beslenen sıçanlarda yapılan deneysel başka bir çalışmada, bulgularımızdan farklı olarak YYD'in adacık kitlesinde azalmaya sebep olan apoptotik hücre sayısında artışa neden olduğu gösterilmiştir (Li, X ve ark., 2012). Aynı süre (16 hafta) maruziyet olmasına rağmen, bu çalışmada gözlenen adacık hücre apoptozu, kullanılan farklı diyet yağ miktarı ve içeriğinden kaynaklanmış olabilir. Bu çalışmada ayrıca beta hücre kitlesinde azalma, pro-inflamatuvar yanıt ve sonucunda fibroz oluştuğu bildirilmiştir.

Önceki çalışmalar, fibrotik süreçte aktif PYH'nin önemli bir rol oynadığını kanıtlamaktadır (Bachem ve ark., 1998; Bachem ve ark., 2006; Phillips ve ark., 2003). Pankreatik fibrozun gelişiminde aktive edilmiş PYH'nin önemli rol oynadıkları, kronik

pankreatitli hastalardan ve deneysel pankreatik fibroz çalışmalarında kemirgenlerden pankreas analizleri ile kanıtlanmıştır (Omary ve ark., 2007). PYH'nin, PDGF ve TGF- $\beta$ 1 gibi sitokinler dahil, etanol, asetaldehit ve oksidatif stresörlerini içeren bir dizi hücre dışı ve hücre içi sinyal molekülü tarafından aktive edilebildiği gösterilmiştir (Apte ve ark., 1999; Jaster, 2004). Aynı zamanda, fibrotik bölgelerde,  $\alpha$ -SMA'yı eksprese eden PYH, prokolajen a1I kodlayan mRNA'yı üretirler, bu da aktive edilmiş PYH'nin pankreas fibrozu sırasında baskın kolajen kaynağı olduğunu göstermektedir. Böylece, PYH'nin aktivasyonu, artmış  $\alpha$ -SMA ekspresyonu ve kolajen sentezi ile tanımlanabilir (Apte ve Wilson, 2003). Çeşitli in vivo çalışmalar, kültür ortamında hepatik yıldız hücrelerinin ve etanol ile uyarılan PYH'nin neden olduğu fibrogenizde  $\alpha$ -SMA'nın rolünü bildirmiştir (Apte ve ark., 2000).

SYA ile indüklenen asiner hücre nekrozu sırasında dolaylı olarak salınan sitokinlerin PYH aktivasyonu, pankreatik fibrozda aktive edilmiş nekroinflamatuvar yolu temsil edebilirken, SYA ve/veya oksidan stres ile PYH'nin doğrudan aktivasyonu non- nekroinflamatuvar yolu temsil edebilir (Zhang ve ark., 2008). Aktif PYH, patolojik uyarılardan sonra pankreasta ESM sentezi ve degradasyonu dengesine aracılık eden matriks metalloproteinaz (MMP)-2, MMP-9 ve MMP-13'ün doku inhibitörünü sentezleyebilir ve salgılayabilir (Phillips ve ark., 2003). Buna bağlı olarak, PYH'nin aktivasyonunun sinyalleşmesi, MMP ve inhibitörleri ile ESM sentezinin ve degradasyonunun dinamik regülasyonu için kritik bir adım olduğu daha önceki çalışmalar ile öne çıkarılmıştır.

Bu çalışma, YYD ile beslenme sonucunda deney hayvanlarında pankreas dokusunda artmış SYA içeriği ve lipid peroksidan üretiminin pankreatik hasarın yanı sıra artan NF- $\kappa$ B ve  $\alpha$ -SMA ekspresyonunu göstermiştir. Bu immünohistokimyasal bulgularımız, oluşan pro-inflamatuar yanıtın PYH'nin aktivasyonunu artırdığını ortaya koymuştur. Benzer şekilde, uzun süreli YYD alımıyla sıçanlarda PDGF ve TGF- $\beta$ 1 yolağı üzerinden inflamatuvar yanıt ve PYH aktivasyonu bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2008). Hasar mekanizmasının yanı sıra hasar kontrolünde aktive edilmiş NF- $\kappa$ B ve PYH'nin düzenleyici mekanizmalarının daha ileri çalışmalarla incelenmesi hasarın engellenebilmesini sağlayacak yaklaşımların belirlenebilmesi açısından önem taşımaktadır. Çalışmamızda,  $\alpha$ -SMA ekspresyon şiddetinin artmış olduğu ve kolajen birikimleri gözlenmesine rağmen 16 haftalık YYD uygulaması ile kronik fibroz gelişmemiştir. Pankreastaki fibroz, nekroz/apoptoz, inflamasyon ve kanal tıkanıklığı gibi süreçlerden kaynaklanır. İnterstisyel boşluklarda ve asiner hücrelerin kaybolduğu ve kanal hücrelerinin yaralandığı alanlarda ESM oluşumu ile sonuçlanır. Bu

sonuçta pankreasın lobüler yapısı kaybolur ve adacıkların düzenlenmesi ve bileşimlerinde ciddi değişiklikler oluşur. Fonksiyonel olarak, bu değişiklikler ekzokrin ve endokrin yetmezliği (diyabet) ile ilişkilendirilmektedir (Kloppel ve ark., 2004). Deneysel ve klinik çalışmalar, PYH'nin fibrogenez ile sıkı bir bağlantıya sahip olduğu (Apte ve ark., 2011; Bachem ve ark., 1998), dolayısıyla uzun süreli ve yüksek yağ oranlı diyetin neden olacağı pankreatik hasarın kronik fibrozla sonuçlanabileceği öngörülebilir. Zucker diyabetik sıçanlarda 6 hafta (Matsuda ve ark., 2014), Sprague Dawley sıçanlarında 18 hafta ve C57BL/6J farelerinde 12 ay gibi uzun süreli kronik YYD alımı (Sone ve Kagawa, 2005; Zhang ve ark., 2008) ile kronik fibroz gözlenmiştir. Kronik fibroz uzun süreli yüksek yağ içerikli YYD ile beslenme sonucunda gözlenebileceği gibi esas olarak streptozotosin, alloksan gibi kimyasal madde uygulaması ile oluşturulan diyabet modellerinde de karşımıza çıkmaktadır (Li ve ark., 2012; Tang ve ark., 2006).

MC uçucu yağının antioksidan aktiviti için başlıca bileşeni olan 1,8-cineole, TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'nin güçlü bir inhibitörüdür (Juergens ve ark., 2004). Bu özellikler göz önüne alınarak yapılan bir çalışmada, MC ekstraktı bleomycin ile oluşturulan pulmoner fibroz modelinde sıçanlarda erken (profilaktik) ve geç (terapötik) dönemlerde uygulanmış, her iki dönemde de hayvanlarda parankimal inflamasyonda, fibroz ve hidroksiprolin birikiminde anlamlı azalma sağladığı gösterilmiştir (Impellizzeri ve ark., 2015). Çalışmamızda, fibroz YYD ile beslenmiş sıçanlarda belirgin olarak gözlenmemiş olmasına rağmen, yer yer gözlenen kolajen birikimi MC uygulaması ile azalmıştır. İlgili kaynaklar ışığında değerlendirdiğimizde, bu gözlemimizin, immünohistokimyasal olarak  $\alpha$ -SMA ekspresyonunda azalma ile birlikteliği anlamlıdır.

Hosseinzadeh ve ark. (2011), cotton pellet/ksilen ile oluşturulan kulak ödemi modelinde MC'in su ve etanol ekstraktlarının akut ve kronik inflamasyona karşı anti-inflamatuvar etkilerinin doza bağlı olduğunu ortaya koymuşlardır (Hosseinzadeh ve ark., 2011). Ayrıca, bu çalışmada MC esansiyel yağının lokal kullanımının bu hasar sonucunda granülom oluşumu önemli ölçüde azalttığını bildirilmiştir. In vivo inflamasyon modellerinde MC'in anti-inflamatuvar mekanizmalarını açıklamak için, adezyon moleküller, lökotrien B4 ve monositler üzerindeki inhibitör etkiler üzerinde durulmuştur (Rossi ve ark., 2009). Farklı inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve fibroz modelleri üzerinde yapılan çalışmalarla kanıtlanan MC ekstraktının anti-inflamatuvar ve anti-fibrotik etkileri, çalışmamızda da NF- $\kappa$ B ve  $\alpha$ -SMA ekspresyonundaki azalma ile desteklenmektedir.

Sonuç olarak, YYD'in hiperlipidemiye tetikleyerek pankreatik endokrin ve ekzokrin bozulmalara sebep olabildiği (Fraulob ve ark., 2010; Qiu ve ark., 2005; Yan ve ark., 2006), pankreatik dokuda NF- $\kappa$ B aktivasyonu ile pro-inflamatuvar sitokinlerin salınımı arttırabildiği (Borst ve Conover, 2005) ve sonrasında  $\alpha$ -SMA'nın upregüle edildiği PYH'nin aktivasyonu ve fibrojeniz ile sonuçlanabildiği (Zhang ve ark., 2008) önceki çalışmalar ile kanıtlanmıştır (Yan ve ark., 2012). Bu çalışmada da benzer şekilde YYD ile beslenme sonucunda sıçanlarda oksidan parametrelerde ve inflamatuvar yanıtta artma ve antioksidan aktivitede azalma gözlenmiştir. Buna karşın, MC uygulanması ile YYD indüklü oksidatif stresin azalması ile birlikte proinflamatuvar yanıt olan  $\alpha$ -SMA ve NF- $\kappa$ B ekspresyonunda da benzer şekilde anlamlı azalma gözlenmiştir. YYD ile uyarılan pankreas hasarına karşı MC uygulanan sıçanların pankreasındaki histolojik ve biyokimyasal değişimler, MC'in diğer çalışmalarda vurgulanan terapötik etkileri ile paralellik göstermektedir.

Dünyadaki en yaygın sağlık sorunlarından biri olan obezite, genetik yatkınlık yanında, toplumumuzdaki yüksek enerjili gıdaların artışı ve fiziksel aktivitenin azalması ile ilişkili olup prevalansı son yıllarda artış göstermiştir. Obezite birçok hastalığın yanında diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, gastrointestinal bozukluklar ve bazı kanser türleri gibi kronik hastalıkların majör risk faktörü olarak kabul edilmiştir. Çalışmamızın verileri, MC'in antiinflamatuvar ve antioksidan mekanizmalar üzerinden obezitenin ve komplikasyonlarının önlenmesi ve tedavisi için potansiyel bir yaklaşım sunabileceğini düşündürmekle birlikte, terapötik kullanımının sağlanabilmesi için etki mekanizmalarının daha fazla deneysel ve klinik çalışma ile ortaya konması gerekliliği de göz önünde bulundurulmalıdır.

## 8.KAYNAK

Akila, M and Devaraj, H. Synergistic effect of tincture of *Crataegus* and *Mangifera indica* L. extract on hyperlipidemic and antioxidant status in atherogenic rats. *Vascul Pharmacol* 2008;49(4-6):173-177.

Akiyama, T, Tachibana, I, Shirohara, H, Watanabe, N and Otsuki, M. High-fat hypercaloric diet induces obesity, glucose intolerance and hyperlipidemia in normal adult male Wistar rat. *Diabetes Res Clin Pract* 1996;31(1-3):27-35.

Alberti, KG and Zimmet, PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998;15(7):539-553.

Alipour, G, Dashti, S and Hosseinzadeh, H. Review of pharmacological effects of *Myrtus communis* L. and its active constituents. *Phytother Res* 2014;28(8):1125-1136.

Alonso, LC, Yokoe, T, Zhang, P, Scott, DK, Kim, SK, O'Donnell, CP and Garcia-Ocana, A. Glucose infusion in mice: a new model to induce beta-cell replication. *Diabetes* 2007;56(7):1792-1801.

Anderson, EJ, Lustig, ME, Boyle, KE, Woodlief, TL, Kane, DA, Lin, CT, Price, JW, 3rd, Kang, L, Rabinovitch, PS, Szeto, HH, Houmard, JA, Cortright, RN, Wasserman, DH and Neuffer, PD. Mitochondrial H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> emission and cellular redox state link excess fat intake to insulin resistance in both rodents and humans. *J Clin Invest* 2009;119(3):573-581.

Antonucci, L, Fagman, JB, Kim, JY, Todoric, J, Gukovsky, I, Mackey, M, Ellisman, MH and Karin, M. Basal autophagy maintains pancreatic acinar cell homeostasis and protein synthesis and prevents ER stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2015;112(45):E6166-6174.

Antunes, LC, Elkfury, JL, Jornada, MN, Foletto, KC and Bertoluci, MC. Validation of HOMA-IR in a model of insulin-resistance induced by a high-fat diet in Wistar rats. *Arch Endocrinol Metab* 2016;60(2):138-142.

Apte, M, Pirola, R and Wilson, J. The fibrosis of chronic pancreatitis: new insights into the role of pancreatic stellate cells. *Antioxid Redox Signal* 2011;15(10):2711-2722.

Apte, MV, Haber, PS, Applegate, TL, Norton, ID, McCaughan, GW, Korsten, MA, Pirola, RC and Wilson, JS. Periacinar stellate shaped cells in rat pancreas: identification, isolation, and culture. *Gut* 1998;43(1):128-133.

Apte, MV, Haber, PS, Darby, SJ, Rodgers, SC, McCaughan, GW, Korsten, MA, Pirola, RC and Wilson, JS. Pancreatic stellate cells are activated by proinflammatory cytokines: implications for pancreatic fibrogenesis. *Gut* 1999;44(4):534-541.

Apte, MV, Phillips, PA, Fahmy, RG, Darby, SJ, Rodgers, SC, McCaughan, GW, Korsten, MA, Pirola, RC, Naidoo, D and Wilson, JS. Does alcohol directly stimulate pancreatic fibrogenesis? Studies with rat pancreatic stellate cells. *Gastroenterology* 2000;118(4):780-794.

Apte, MV, Pirola, RC and Wilson, JS. Pancreatic stellate cells: a starring role in normal and diseased pancreas. *Front Physiol* 2012;3:344.

Apte, MV and Wilson, JS. Stellate cell activation in alcoholic pancreatitis. *Pancreas* 2003;27(4):316-320.

Artham, SM, Lavie, CJ, Milani, RV and Ventura, HO. The obesity paradox: impact of obesity on the prevalence and prognosis of cardiovascular diseases. *Postgrad Med* 2008;120(2):34-41.

Bachem, MG, Schneider, E, Gross, H, Weidenbach, H, Schmid, RM, Menke, A, Siech, M, Beger, H, Grunert, A and Adler, G. Identification, culture, and characterization of pancreatic stellate cells in rats and humans. *Gastroenterology* 1998;115(2):421-432.

Bachem, MG, Zhou, Z, Zhou, S and Siech, M. Role of stellate cells in pancreatic fibrogenesis associated with acute and chronic pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2006;21 Suppl 3:S92-96.

Baker, RG, Hayden, MS and Ghosh, S. NF-kappaB, inflammation, and metabolic disease. *Cell Metab* 2011;13(1):11-22.

Balkan, F, Cetin, N, Usluogullari, CA, Unal, OK and Usluogullari, B. Evaluation of the ovarian reserve function in patients with metabolic syndrome in relation to healthy controls and different age groups. *J Ovarian Res* 2014;7:63.

Bardeesy, N and DePinho, RA. Pancreatic cancer biology and genetics. *Nat Rev Cancer* 2002;2(12):897-909.

Bhathena, SJ and Velasquez, MT. Beneficial role of dietary phytoestrogens in obesity and diabetes. *Am J Clin Nutr* 2002;76(6):1191-1201.

Bonner-Weir, S. Islet growth and development in the adult. *J Mol Endocrinol* 2000;24(3):297-302.

Bonner-Weir, S, Deery, D, Leahy, JL and Weir, GC. Compensatory growth of pancreatic beta-cells in adult rats after short-term glucose infusion. *Diabetes* 1989;38(1):49-53.

Borst, SE and Conover, CF. High-fat diet induces increased tissue expression of TNF-alpha. *Life Sci* 2005;77(17):2156-2165.

Brabant, G, Horn, R, von zur Muhlen, A, Mayr, B, Wurster, U, Heidenreich, F, Schnabel, D, Gruters-Kieslich, A, Zimmermann-Belsing, T and Feldt-Rasmussen, U. Free and protein bound leptin are distinct and independently controlled factors in energy regulation. *Diabetologia* 2000;43(4):438-442.

Brannon, PM. Adaptation of the exocrine pancreas to diet. *Annu Rev Nutr* 1990;10:85-105.

Cakar, M, Balta, S, Demirkol, S, Kucuk, U and Demirbas, S. Differences in the mechanisms that induce obesity and metabolic syndrome in experimental animal models and humans may cause treatment failure. *Clinics (Sao Paulo)* 2013;68(1):119.

Cao, Y, Bao, S, Yang, W, Zhang, J, Li, L, Shan, Z and Teng, W. Epigallocatechin gallate prevents inflammation by reducing macrophage infiltration and inhibiting tumor necrosis factor-alpha signaling in the pancreas of rats on a high-fat diet. *Nutr Res* 2014;34(12):1066-1074.

Carillon, J, Romain, C, Bardy, G, Fouret, G, Feillet-Coudray, C, Gaillet, S, Lacan, D, Cristol, JP and Rouanet, JM. Cafeteria diet induces obesity and insulin resistance associated with oxidative stress but not with inflammation: improvement by dietary supplementation with a melon superoxide dismutase. *Free Radic Biol Med* 2013;65:254-261.

Casacchia, T, Scavello, F, Rocca, C, Granieri, MC, Beretta, G, Amelio, D, Gelmini, F, Spina, A, Mazza, R, Toma, CC, Angelone, T, Statti, G and Pasqua, T. *Leopoldia comosa* prevents metabolic disorders in rats with high-fat diet-induced obesity. *Eur J Nutr* 2018.

Cefalu, WT, Wang, ZQ, Zhang, XH, Baldor, LC and Russell, JC. Oral chromium picolinate improves carbohydrate and lipid metabolism and enhances skeletal muscle Glut-4 translocation in obese, hyperinsulinemic (JCR-LA corpulent) rats. *J Nutr* 2002;132(6):1107-1114.

Chen, F, Castranova, V, Shi, X and Demers, LM. New insights into the role of nuclear factor-kappaB, a ubiquitous transcription factor in the initiation of diseases. *Clin Chem* 1999;45(1):7-17.

Chowdhury, P, Nishikawa, M, Blevins, GW, Jr. and Rayford, PL. Response of rat exocrine pancreas to high-fat and high-carbohydrate diets. *Proc Soc Exp Biol Med* 2000;223(3):310-315.

Clissold, SP and Edwards, C. Acarbose. A preliminary review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential. *Drugs* 1988;35(3):214-243.

Coban, YK, Kurutas, EB and Ciralik, H. Ischemia-reperfusion injury of adipofascial tissue: an experimental study evaluating early histologic and biochemical alterations in rats. *Mediators Inflamm* 2005;2005(5):304-308.

Coleman, DL. Obese and diabetes: two mutant genes causing diabetes-obesity syndromes in mice. *Diabetologia* 1978;14(3):141-148.

Considine, RV, Sinha, MK, Heiman, ML, Kriauciunas, A, Stephens, TW, Nyce, MR, Ohannesian, JP, Marco, CC, McKee, LJ, Bauer, TL and et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996;334(5):292-295.

Cousin, SP, Hugl, SR, Wrede, CE, Kajio, H, Myers, MG, Jr. and Rhodes, CJ. Free fatty acid-induced inhibition of glucose and insulin-like growth factor I-induced deoxyribonucleic acid synthesis in the pancreatic beta-cell line INS-1. *Endocrinology* 2001;142(1):229-240.

Cusin, I, Sainsbury, A, Doyle, P, Rohner-Jeanrenaud, F and Jeanrenaud, B. The ob gene and insulin. A relationship leading to clues to the understanding of obesity. *Diabetes* 1995;44(12):1467-1470.

Dairi, S, Carbonneau, MA, Galeano-Diaz, T, Remini, H, Dahmoune, F, Aoun, O, Belbahi, A, Lauret, C, Cristol, JP and Madani, K. Antioxidant effects of extra virgin olive oil enriched by myrtle phenolic extracts on iron-mediated lipid peroxidation under intestinal conditions model. *Food Chem* 2017;237:297-304.

Dandona, P, Aljada, A and Bandyopadhyay, A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol* 2004;25(1):4-7.

Davies, PF, Shi, C, Depaola, N, Helmke, BP and Polacek, DC. Hemodynamics and the focal origin of atherosclerosis: a spatial approach to endothelial structure, gene expression, and function. *Ann N Y Acad Sci* 2001;947:7-16; discussion 16-17.

Downs, JR, Clearfield, M, Weis, S, Whitney, E, Shapiro, DR, Beere, PA, Langendorfer, A, Stein, EA, Kruyer, W and Gotto, AM, Jr. Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels: results of AFCAPS/TexCAPS. Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study. *JAMA* 1998;279(20):1615-1622.

Ebato, C, Uchida, T, Arakawa, M, Komatsu, M, Ueno, T, Komiya, K, Azuma, K, Hirose, T, Tanaka, K, Kominami, E, Kawamori, R, Fujitani, Y and Watada, H. Autophagy is important in islet homeostasis and compensatory increase of beta cell mass in response to high-fat diet. *Cell Metab* 2008;8(4):325-332.

El-Moselhy, MA, Taye, A, Sharkawi, SS, El-Sisi, SF and Ahmed, AF. The antihyperglycemic effect of curcumin in high fat diet fed rats. Role of TNF-alpha and free fatty acids. *Food Chem Toxicol* 2011;49(5):1129-1140.

Elfellah, MS, Akhter, MH and Khan, MT. Anti-hyperglycaemic effect of an extract of *Myrtus communis* in streptozotocin-induced diabetes in mice. *J Ethnopharmacol* 1984;11(3):275-281.

Esrefoglu, M. Genel ve özel histoloji : renkli resimli. Ankara: Pelikan Yayıncılık; 2004.

Fernandes-Santos, C, Evangelista Carneiro, R, de Souza Mendonca, L, Barbosa Aguilá, M and Mandarim-de-Lacerda, CA. Rosiglitazone aggravates nonalcoholic Fatty pancreatic disease in C57BL/6 mice fed high-fat and high-sucrose diet. *Pancreas* 2009;38(3):e80-86.

Fraulob, JC, Ogg-Diamantino, R, Fernandes-Santos, C, Aguilá, MB and Mandarim-de-Lacerda, CA. A Mouse Model of Metabolic Syndrome: Insulin Resistance, Fatty Liver and Non-Alcoholic Fatty Pancreas Disease (NAFPD) in C57BL/6 Mice Fed a High Fat Diet. *J Clin Biochem Nutr* 2010;46(3):212-223.

Ghibaudi, L, Cook, J, Farley, C, van Heek, M and Hwa, JJ. Fat intake affects adiposity, comorbidity factors, and energy metabolism of sprague-dawley rats. *Obes Res* 2002;10(9):956-963.

Gholamhoseinian, A, Fallah, H and Sharifi far, F. Inhibitory effect of methanol extract of *Rosa damascena* Mill. flowers on alpha-glucosidase activity and postprandial hyperglycemia in normal and diabetic rats. *Phytomedicine* 2009;16(10):935-941.

Grundy, SM, Brewer, HB, Jr., Cleeman, JI, Smith, SC, Jr., Lenfant, C, National Heart, L, Blood, I and American Heart, A. Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24(2):e13-18.

Gukovskaya, AS and Gukovsky, I. Autophagy and pancreatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012;303(9):G993-G1003.

Gukovsky, I, Pandol, SJ and Gukovskaya, AS. Organellar dysfunction in the pathogenesis of pancreatitis. *Antioxid Redox Signal* 2011;15(10):2699-2710.

Haber, EP, Procopio, J, Carvalho, CR, Carpinelli, AR, Newsholme, P and Curi, R. New insights into fatty acid modulation of pancreatic beta-cell function. *Int Rev Cytol* 2006;248:1-41.

Hariri, N and Thibault, L. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutr Res Rev* 2010;23(2):270-299.

Hashemipour, MA, Lotfi, S, Torabi, M, Sharifi, F, Ansari, M, Ghassemi, A and Sheikhshoae, S. Evaluation of the Effects of Three Plant Species (*Myrtus Communis* L., *Camellia Sinensis* L., *Zataria Multiflora* Boiss.) on the Healing Process of Intraoral Ulcers in Rats. *J Dent (Shiraz)* 2017;18(2):127-135.

Hazelton, GA and Lang, CA. Glutathione contents of tissues in the aging mouse. *Biochem J* 1980;188(1):25-30.

He, J, Sun, X, Qian, KQ, Liu, X, Wang, Z and Chen, Y. Protection of cerulein-induced pancreatic fibrosis by pancreas-specific expression of Smad7. *Biochim Biophys Acta* 2009;1792(1):56-60.

Hennia, A, Miguel, MG and Nemmiche, S. Antioxidant Activity of *Myrtus communis* L. and *Myrtus nivellei* Batt. & Trab. Extracts: A Brief Review. *Medicines (Basel)* 2018;5(3).

Hildebrand, P, Petrig, C, Burckhardt, B, Ketterer, S, Lengsfeld, H, Fleury, A, Hadvary, P and Beglinger, C. Hydrolysis of dietary fat by pancreatic lipase stimulates cholecystokinin release. *Gastroenterology* 1998;114(1):123-129.

Hirose, H, Kawai, T, Yamamoto, Y, Taniyama, M, Tomita, M, Matsubara, K, Okazaki, Y, Ishii, T, Oguma, Y, Takei, I and Saruta, T. Effects of pioglitazone on metabolic parameters, body fat distribution, and serum adiponectin levels in Japanese male patients with type 2 diabetes. *Metabolism* 2002;51(3):314-317.

Hirose, H, Lee, YH, Inman, LR, Nagasawa, Y, Johnson, JH and Unger, RH. Defective fatty acid-mediated beta-cell compensation in Zucker diabetic fatty rats. Pathogenic implications for obesity-dependent diabetes. *J Biol Chem* 1996;271(10):5633-5637.

Hisada, S, Shimizu, K, Shiratori, K and Kobayashi, M. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligand prevents the development of chronic pancreatitis through modulating NF-kappaB-dependent proinflammatory cytokine production and pancreatic stellate cell activation. *Rocz Akad Med Bialymst* 2005;50:142-147.

Hosseinzadeh, H, Khoshdel, M and Ghorbani, M. Antinociceptive, anti-inflammatory effects and acute toxicity of aqueous and ethanolic extracts of *Myrtus communis* L. Aerial parts in mice. *J Acupunct Meridian Stud* 2011;4(4):242-247.

Hotamisligil, GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 2006;444(7121):860-867.

Huang, BW, Chiang, MT, Yao, HT and Chiang, W. The effect of high-fat and high-fructose diets on glucose tolerance and plasma lipid and leptin levels in rats. *Diabetes Obes Metab* 2004;6(2):120-126.

Hull, RL, Kodama, K, Utzschneider, KM, Carr, DB, Prigeon, RL and Kahn, SE. Dietary-fat-induced obesity in mice results in beta cell hyperplasia but not increased insulin release: evidence for specificity of impaired beta cell adaptation. *Diabetologia* 2005;48(7):1350-1358.

Impellizzeri, D, Talero, E, Siracusa, R, Alcaide, A, Cordaro, M, Maria Zubelia, J, Bruschetta, G, Crupi, R, Esposito, E, Cuzzocrea, S and Motilva, V. Protective effect of polyphenols in an inflammatory process associated with experimental pulmonary fibrosis in mice. *Br J Nutr* 2015;114(6):853-865.

Ines, S, Ines, B, Wissem, B, Mohamed, BS, Nawel, H, Dijoux-Franca, MG, Kamel, G and Leila, CG. In vitro antioxidant and antigenotoxic potentials of 3,5-O-di-galloylquinic acid extracted from *Myrtus communis* leaves and modulation of cell gene expression by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *J Appl Toxicol* 2012;32(5):333-341.

Jabri, MA, Marzouki, L and Sebai, H. Ethnobotanical, phytochemical and therapeutic effects of *Myrtus communis* L. berries seeds on gastrointestinal tract diseases: a review. *Arch Physiol Biochem* 2018;124(5):390-396.

Jabri, MA, Rtibi, K, Tounsi, H, Hosni, K, Souli, A, El-Benna, J, Marzouki, L, Sakly, M and Sebai, H. Myrtle berry seed aqueous extract inhibits human neutrophil myeloperoxidase in vitro and attenuates acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. *Rsc Adv* 2015;5(80):64865-64877.

Jabri, MA, Tounsi, H, Rtibi, K, Marzouki, L, Sakly, M and Sebai, H. Ameliorative and antioxidant effects of myrtle berry seed (*Myrtus communis*) extract during reflux-induced esophagitis in rats. *Pharm Biol* 2016:1-11.

Jacob, S and Henriksen, EJ. Metabolic properties of vasodilating beta blockers: management considerations for hypertensive diabetic patients and patients with the metabolic syndrome. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2004;6(12):690-696; quiz 697.

- Jaster, R. Molecular regulation of pancreatic stellate cell function. *Mol Cancer* 2004;3:26.
- Juergens, UR, Engelen, T, Racke, K, Stober, M, Gillissen, A and Vetter, H. Inhibitory activity of 1,8-cineol (eucalyptol) on cytokine production in cultured human lymphocytes and monocytes. *Pulm Pharmacol Ther* 2004;17(5):281-287.
- Junqueira, LC. *Basic histology : text and atlas*. New York: McGraw-Hill; 2003.
- Kahn, SE, Hull, RL and Utzschneider, KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature* 2006;444(7121):840-846.
- Kamisoyama, H, Honda, K, Tominaga, Y, Yokota, S and Hasegawa, S. Investigation of the anti-obesity action of licorice flavonoid oil in diet-induced obese rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 2008;72(12):3225-3231.
- Kelly, IE, Han, TS, Walsh, K and Lean, ME. Effects of a thiazolidinedione compound on body fat and fat distribution of patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 1999;22(2):288-293.
- Kern, HF, Rausch, U and Scheele, GA. Regulation of gene expression in pancreatic adaptation to nutritional substrates or hormones. *Gut* 1987;28 Suppl:89-94.
- Khamaisi, M, Kavel, O, Rosenstock, M, Porat, M, Yuli, M, Kaiser, N and Rudich, A. Effect of inhibition of glutathione synthesis on insulin action: in vivo and in vitro studies using buthionine sulfoximine. *Biochem J* 2000;349(Pt 2):579-586.
- Kloppel, G, Detlefsen, S and Feyerabend, B. Fibrosis of the pancreas: the initial tissue damage and the resulting pattern. *Virchows Arch* 2004;445(1):1-8.
- Komiya, K, Uchida, T, Ueno, T, Koike, M, Abe, H, Hirose, T, Kawamori, R, Uchiyama, Y, Kominami, E, Fujitani, Y and Watada, H. Free fatty acids stimulate autophagy in pancreatic beta-cells via JNK pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;401(4):561-567.
- Kozan, O, Oguz, A, Abaci, A, Erol, C, Ongen, Z, Temizhan, A and Celik, S. Prevalence of the metabolic syndrome among Turkish adults. *Eur J Clin Nutr* 2007;61(4):548-553.
- Kusminski, CM, Shetty, S, Orci, L, Unger, RH and Scherer, PE. Diabetes and apoptosis: lipotoxicity. *Apoptosis* 2009;14(12):1484-1495.
- Lavau, M, Fried, SK, Susini, C and Freychet, P. Mechanism of insulin resistance in adipocytes of rats fed a high-fat diet. *J Lipid Res* 1979;20(1):8-16.
- Leahy, JL, Bonner-Weir, S and Weir, GC. Beta-cell dysfunction induced by chronic hyperglycemia. Current ideas on mechanism of impaired glucose-induced insulin secretion. *Diabetes Care* 1992;15(3):442-455.

Lewis, GF, Carpentier, A, Adeli, K and Giacca, A. Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Endocr Rev* 2002;23(2):201-229.

Li, J, Ding, L, Song, B, Xiao, X, Qi, M, Yang, Q, Yang, Q, Tang, X, Wang, Z and Yang, L. Emodin improves lipid and glucose metabolism in high fat diet-induced obese mice through regulating SREBP pathway. *Eur J Pharmacol* 2016;770:99-109.

Li, X, Yuan, L, Li, J, Li, H and Cheng, S. Blockade of renin angiotensin system increased resistance to STZ-induced diabetes in rats with long-term high-fat diet. *Exp Diabetes Res* 2012;2012:618923.

Li, Y, Jiang, Z, Xue, D, Deng, G, Li, M, Liu, X and Wang, Y. *Mycoplasma ovipneumoniae* induces sheep airway epithelial cell apoptosis through an ERK signalling-mediated mitochondria pathway. *BMC Microbiol* 2016;16(1):222.

Lingohr, MK, Buettner, R and Rhodes, CJ. Pancreatic beta-cell growth and survival--a role in obesity-linked type 2 diabetes? *Trends Mol Med* 2002;8(8):375-384.

Liu, KH, Chan, YL, Chan, WB, Chan, JC and Chu, CW. Mesenteric fat thickness is an independent determinant of metabolic syndrome and identifies subjects with increased carotid intima-media thickness. *Diabetes Care* 2006;29(2):379-384.

Maffei, M, Halaas, J, Ravussin, E, Pratley, RE, Lee, GH, Zhang, Y, Fei, H, Kim, S, Lallone, R, Ranganathan, S and et al. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat Med* 1995;1(11):1155-1161.

Marques, C, Meireles, M, Norberto, S, Leite, J, Freitas, J, Pestana, D, Faria, A and Calhau, C. High-fat diet-induced obesity Rat model: a comparison between Wistar and Sprague-Dawley Rat. *Adipocyte* 2016;5(1):11-21.

Masamune, A, Watanabe, T, Kikuta, K and Shimosegawa, T. Roles of pancreatic stellate cells in pancreatic inflammation and fibrosis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009;7(11 Suppl):S48-54.

Masek, J and Fabry, P. High-fat diet and the development of obesity in albino rats. *Experientia* 1959;15:444-445.

Masini, M, Bugliani, M, Lupi, R, del Guerra, S, Boggi, U, Filipponi, F, Marselli, L, Masiello, P and Marchetti, P. Autophagy in human type 2 diabetes pancreatic beta cells. *Diabetologia* 2009;52(6):1083-1086.

Matsuda, A, Makino, N, Tozawa, T, Shirahata, N, Honda, T, Ikeda, Y, Sato, H, Ito, M, Kakizaki, Y, Akamatsu, M, Ueno, Y and Kawata, S. Pancreatic fat accumulation, fibrosis, and acinar cell injury in the Zucker diabetic fatty rat fed a chronic high-fat diet. *Pancreas* 2014;43(5):735-743.

Matsuzawa-Nagata, N, Takamura, T, Ando, H, Nakamura, S, Kurita, S, Misu, H, Ota, T, Yokoyama, M, Honda, M, Miyamoto, K and Kaneko, S. Increased oxidative stress precedes the onset of high-fat diet-induced insulin resistance and obesity. *Metabolism* 2008;57(8):1071-1077.

Matsuzawa, Y. The metabolic syndrome and adipocytokines. *FEBS Lett* 2006;580(12):2917-2921.

McPherson, R and Jones, PH. The metabolic syndrome and type 2 diabetes: role of the adipocyte. *Curr Opin Lipidol* 2003;14(6):549-553.

Mosser, RE, Maulis, MF, Moulle, VS, Dunn, JC, Carboneau, BA, Arasi, K, Pappan, K, Poitout, V and Gannon, M. High-fat diet-induced beta-cell proliferation occurs prior to insulin resistance in C57Bl/6J male mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2015;308(7):E573-582.

Nakagawa, K, Kishida, H, Arai, N, Nishiyama, T and Mae, T. Licorice flavonoids suppress abdominal fat accumulation and increase in blood glucose level in obese diabetic KK-A(y) mice. *Biol Pharm Bull* 2004;27(11):1775-1778.

Noeman, SA, Hamooda, HE and Baalash, AA. Biochemical study of oxidative stress markers in the liver, kidney and heart of high fat diet induced obesity in rats. *Diabetol Metab Syndr* 2011;3(1):17.

Nolan, CJ, Madiraju, MS, Delghingaro-Augusto, V, Peyot, ML and Prentki, M. Fatty acid signaling in the beta-cell and insulin secretion. *Diabetes* 2006;55 Suppl 2:S16-23.

Nourzadeh, M, Amini, A, Fakoor, F, Raoof, M and Sharififar, F. Comparative Antimicrobial Efficacy of *Eucalyptus Galbica* and *Myrtus Communis* L. Extracts, Chlorhexidine and Sodium Hypochlorite against *Enterococcus Faecalis*. *Iran Endod J* 2017;12(2):205-210.

Oakes, ND, Cooney, GJ, Camilleri, S, Chisholm, DJ and Kraegen, EW. Mechanisms of liver and muscle insulin resistance induced by chronic high-fat feeding. *Diabetes* 1997;46(11):1768-1774.

Oben, JE, Enyegue, DM, Fomekong, GI, Soukontoua, YB and Agbor, GA. The effect of *Cissus quadrangularis* (CQR-300) and a *Cissus* formulation (CORE) on obesity and obesity-induced oxidative stress. *Lipids Health Dis* 2007;6:4.

Oh, PS, Lee, SJ and Lim, KT. Hypolipidemic and antioxidative effects of the plant glycoprotein (36 kDa) from *Rhus verniciflua* stokes fruit in Triton WR-1339-induced hyperlipidemic mice. *Biosci Biotechnol Biochem* 2006;70(2):447-456.

Omary, MB, Lugea, A, Lowe, AW and Pandol, SJ. The pancreatic stellate cell: a star on the rise in pancreatic diseases. *J Clin Invest* 2007;117(1):50-59.

Paglalunga, S, Ludzki, A, Root-McCaig, J and Holloway, GP. In adipose tissue, increased mitochondrial emission of reactive oxygen species is important for short-term high-fat diet-induced insulin resistance in mice. *Diabetologia* 2015;58(5):1071-1080.

Pagotto, U, Vanuzzo, D, Vicennati, V and Pasquali, R. [Pharmacological therapy of obesity]. *G Ital Cardiol (Rome)* 2008;9(4 Suppl 1):83S-93S.

Panchal, SK and Brown, L. Rodent models for metabolic syndrome research. *J Biomed Biotechnol* 2011;2011:351982.

Parola, M and Robino, G. Oxidative stress-related molecules and liver fibrosis. *J Hepatol* 2001;35(2):297-306.

Patel, C, Ghanim, H, Ravishankar, S, Sia, CL, Viswanathan, P, Mohanty, P and Dandona, P. Prolonged reactive oxygen species generation and nuclear factor-kappaB activation after a high-fat, high-carbohydrate meal in the obese. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(11):4476-4479.

Phillips, PA, McCarroll, JA, Park, S, Wu, MJ, Pirola, R, Korsten, M, Wilson, JS and Apte, MV. Rat pancreatic stellate cells secrete matrix metalloproteinases: implications for extracellular matrix turnover. *Gut* 2003;52(2):275-282.

Pizzorno, J. Glutathione! *Integr Med (Encinitas)* 2014;13(1):8-12.

Pournamdari, M, Mandegary, A, Sharififar, F, Zarei, G, Zareshahi, R, Asadi, A and Mehdipour, M. Anti-Inflammatory Subfractions Separated from Acidified Chloroform Fraction of Fenugreek Seeds (*Trigonella foenum-graecum* L.). *J Diet Suppl* 2018;15(1):98-107.

Qiu, L, List, EO and Kopchick, JJ. Differentially expressed proteins in the pancreas of diet-induced diabetic mice. *Mol Cell Proteomics* 2005;4(9):1311-1318.

Reaven, GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988;37(12):1595-1607.

Ribeiro, MC, Barbosa, NB, de Almeida, TM, Parcianello, LM, Perottoni, J, de Avila, DS and Rocha, JB. High-fat diet and hydrochlorothiazide increase oxidative stress in brain of rats. *Cell Biochem Funct* 2009;27(7):473-478.

Rippe, C, Berger, K, Mei, J, Lowe, ME and Erlanson-Albertsson, C. Effect of long-term high-fat feeding on the expression of pancreatic lipases and adipose tissue uncoupling proteins in mice. *Pancreas* 2003;26(2):e36-42.

Rosa, A, Melis, MP, Deiana, M, Atzeri, A, Appendino, G, Corona, G, Incani, A, Loru, D and Dessi, MA. Protective effect of the oligomeric acylphloroglucinols from *Myrtus communis* on cholesterol and human low density lipoprotein oxidation. *Chem Phys Lipids* 2008;155(1):16-23.

Ross, MH. *Histology : a text and atlas : with correlated cell and molecular biology*. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins; 2011.

Rossi, A, Di Paola, R, Mazzon, E, Genovese, T, Caminiti, R, Bramanti, P, Pergola, C, Koeberle, A, Werz, O, Sautebin, L and Cuzzocrea, S. Myrtucommulone from *Myrtus communis* exhibits potent anti-inflammatory effectiveness in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 2009;329(1):76-86.

Rouse, R, Xu, L, Stewart, S and Zhang, J. High fat diet and GLP-1 drugs induce pancreatic injury in mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 2014;276(2):104-114.

Samareh Fekri, M, Mandegary, A, Sharififar, F, Poursalehi, HR, Nematollahi, MH, Izadi, A, Mehdipour, M, Asadi, A and Samareh Fekri, M. Protective effect of standardized extract of *Myrtus communis* L. (myrtle) on experimentally bleomycin-induced pulmonary fibrosis: biochemical and histopathological study. *Drug Chem Toxicol* 2018;41(4):408-414.

Sanfey, H, Bulkley, GB and Cameron, JL. The role of oxygen-derived free radicals in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Ann Surg* 1984;200(4):405-413.

Sano, T, Ozaki, K, Matsuura, T and Narama, I. Giant mitochondria in pancreatic acinar cells of alloxan-induced diabetic rats. *Toxicol Pathol* 2010;38(4):658-665.

Segersvard, R, Sylvan, M, Herrington, M, Larsson, J and Permert, J. Obesity increases the severity of acute experimental pancreatitis in the rat. *Scand J Gastroenterol* 2001;36(6):658-663.

Sen, A, Ozkan, S, Recebova, K, Cevik, O, Ercan, F, Demirci, EK, Bitis, L and Sener, G. Effects of *Myrtus communis* extract treatment in bile duct ligated rats. *Journal of Surgical Research* 2016;205(2):359-367.

Sepici-Dincel, A, Acikgoz, S, Cevik, C, Sengelen, M and Yesilada, E. Effects of in vivo antioxidant enzyme activities of myrtle oil in normoglycaemic and alloxan diabetic rabbits. *J Ethnopharmacol* 2007;110(3):498-503.

Sepici, A, Gurbuz, I, Cevik, C and Yesilada, E. Hypoglycaemic effects of myrtle oil in normal and alloxan-diabetic rabbits. *J Ethnopharmacol* 2004;93(2-3):311-318.

Shinozaki, S, Mashima, H, Ohnishi, H and Sugano, K. IL-13 promotes the proliferation of rat pancreatic stellate cells through the suppression of NF-kappaB/TGF-beta1 pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;393(1):61-65.

Sinha, MK, Opentanova, I, Ohannesian, JP, Kolaczynski, JW, Heiman, ML, Hale, J, Becker, GW, Bowsher, RR, Stephens, TW and Caro, JF. Evidence of free and bound leptin in human circulation. Studies in lean and obese subjects and during short-term fasting. *J Clin Invest* 1996;98(6):1277-1282.

Sone, H and Kagawa, Y. Pancreatic beta cell senescence contributes to the pathogenesis of type 2 diabetes in high-fat diet-induced diabetic mice. *Diabetologia* 2005;48(1):58-67.

Spannagel, AW, Nakano, I, Tawil, T, Chey, WY, Liddle, RA and Green, GM. Adaptation to fat markedly increases pancreatic secretory response to intraduodenal fat in rats. *Am J Physiol* 1996;270(1 Pt 1):G128-135.

Srinivasan, K, Viswanad, B, Asrat, L, Kaul, CL and Ramarao, P. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacol Res* 2005;52(4):313-320.

Stamateris, RE, Sharma, RB, Hollern, DA and Alonso, LC. Adaptive beta-cell proliferation increases early in high-fat feeding in mice, concurrent with metabolic changes, with induction of islet cyclin D2 expression. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2013;305(1):E149-159.

Sudhakara, G, Mallaiah, P, Rajendran, R and Saralakumari, D. *Caralluma fimbriata* and metformin protection of rat pancreas from high fat diet induced oxidative stress. *Biotech Histochem* 2018;93(3):177-187.

Sumiyoshi, M, Sakanaka, M and Kimura, Y. Chronic intake of high-fat and high-sucrose diets differentially affects glucose intolerance in mice. *J Nutr* 2006;136(3):582-587.

Surwit, RS, Feinglos, MN, Rodin, J, Sutherland, A, Petro, AE, Opara, EC, Kuhn, CM and Rebuffe-Scrive, M. Differential effects of fat and sucrose on the development of obesity and diabetes in C57BL/6J and A/J mice. *Metabolism* 1995;44(5):645-651.

Surwit, RS, Kuhn, CM, Cochrane, C, McCubbin, JA and Feinglos, MN. Diet-induced type II diabetes in C57BL/6J mice. *Diabetes* 1988;37(9):1163-1167.

Tang, LQ, Wei, W, Chen, LM and Liu, S. Effects of berberine on diabetes induced by alloxan and a high-fat/high-cholesterol diet in rats. *J Ethnopharmacol* 2006;108(1):109-115.

Tretiakova, I, Blaesius, D, Maxia, L, Wesselborg, S, Schulze-Osthoff, K, Cinatl, J, Jr., Michaelis, M and Werz, O. Myrtucommulone from *Myrtus communis* induces apoptosis in cancer cells via the mitochondrial pathway involving caspase-9. *Apoptosis* 2008;13(1):119-131.

Tuberoso, CIG, Rosa, A, Bifulco, E, Melis, MP, Atzeri, A, Pirisi, FM and Dessi, MA. Chemical composition and antioxidant activities of *Myrtus communis* L. berries extracts. *Food Chemistry* 2010;123(4):1242-1251.

Tumen, I, Senol, FS and Orhan, IE. Inhibitory potential of the leaves and berries of *Myrtus communis* L. (myrtle) against enzymes linked to neurodegenerative diseases and their antioxidant actions. *Int J Food Sci Nutr* 2012;63(4):387-392.

Tuzcu, M, Sahin, N, Orhan, C, Agca, CA, Akdemir, F, Tuzcu, Z, Komorowski, J and Sahin, K. Impact of chromium histidinate on high fat diet induced obesity in rats. *Nutr Metab (Lond)* 2011;8:28.

Unger, RH. Lipid overload and overflow: metabolic trauma and the metabolic syndrome. *Trends Endocrinol Metab* 2003;14(9):398-403.

Valavanidis, A, Vlachogianni, T and Fiotakis, C. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev* 2009;27(2):120-139.

van Westerloo, DJ, Florquin, S, de Boer, AM, Daalhuisen, J, de Vos, AF, Bruno, MJ and van der Poll, T. Therapeutic effects of troglitazone in experimental chronic pancreatitis in mice. *Am J Pathol* 2005;166(3):721-728.

Vonlaufen, A, Apte, MV, Imhof, BA and Frossard, JL. The role of inflammatory and parenchymal cells in acute pancreatitis. *J Pathol* 2007;213(3):239-248.

Wang, Q, Xie, Z, Zhang, W, Zhou, J, Wu, Y, Zhang, M, Zhu, H and Zou, MH. Myeloperoxidase deletion prevents high-fat diet-induced obesity and insulin resistance. *Diabetes* 2014;63(12):4172-4185.

Wang, YR, Tian, FL, Yan, MX, Fan, JH, Wang, LY, Kuang, RG and Li, YQ. Sulfasalazine inhibits inflammation and fibrogenesis in pancreas via NF-kappaB signaling pathway in rats with oxidative stress-induced pancreatic injury. *Drug Des Devel Ther* 2016;10:1743-1751.

Watari, N, Hotta, Y and Mabuchi, Y. Morphological studies on a vitamin A-storing cell and its complex with macrophage observed in mouse pancreatic tissues following excess vitamin A administration. *Okajimas Folia Anat Jpn* 1982;58(4-6):837-858.

Weisberg, SP, McCann, D, Desai, M, Rosenbaum, M, Leibel, RL and Ferrante, AW, Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003;112(12):1796-1808.

Woodland, DC, Liu, W, Leong, J, Sears, ML, Luo, P and Chen, X. Short-term high-fat feeding induces islet macrophage infiltration and beta-cell replication independently of insulin resistance in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2016;311(4):E763-E771.

Wu, Y, Wu, T, Wu, J, Zhao, L, Li, Q, Varghese, Z, Moorhead, JF, Powis, SH, Chen, Y and Ruan, XZ. Chronic inflammation exacerbates glucose metabolism disorders in C57BL/6J mice fed with high-fat diet. *J Endocrinol* 2013;219(3):195-204.

Yalniz, M, Bahcecioglu, IH, Kuzu, N, Poyrazoglu, OK, Bulmus, O, Celebi, S, Ustundag, B, Ozercan, IH and Sahin, K. Preventive role of genistein in an experimental non-alcoholic steatohepatitis model. *J Gastroenterol Hepatol* 2007;22(11):2009-2014.

Yan, MX, Li, YQ, Meng, M, Ren, HB and Kou, Y. Long-term high-fat diet induces pancreatic injuries via pancreatic microcirculatory disturbances and oxidative stress in rats with hyperlipidemia. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;347(1):192-199.

Yan, MX, Ren, HB, Kou, Y, Meng, M and Li, YQ. Involvement of nuclear factor kappa B in high-fat diet-related pancreatic fibrosis in rats. *Gut Liver* 2012;6(3):381-387.

Yokomizo, H, Inoguchi, T, Sonoda, N, Sakaki, Y, Maeda, Y, Inoue, T, Hirata, E, Takei, R, Ikeda, N, Fujii, M, Fukuda, K, Sasaki, H and Takayanagi, R. Maternal high-fat diet induces insulin resistance and deterioration of pancreatic beta-cell function in adult offspring with sex differences in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2014;306(10):E1163-1175.

Zhang, J and Rouse, RL. Histopathology and pathogenesis of caerulein-, duct ligation-, and arginine-induced acute pancreatitis in Sprague-Dawley rats and C57BL6 mice. *Histol Histopathol* 2014;29(9):1135-1152.

Zhang, X, Cui, Y, Fang, L and Li, F. Chronic high-fat diets induce oxidative injuries and fibrogenesis of pancreatic cells in rats. *Pancreas* 2008;37(3):e31-38.

Zhou, G, Myers, R, Li, Y, Chen, Y, Shen, X, Fenyk-Melody, J, Wu, M, Ventre, J, Doebber, T, Fujii, N, Musi, N, Hirshman, MF, Goodyear, LJ and Moller, DE. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest* 2001;108(8):1167-1174.



## 9. ÖZGEÇMİŞ

<b>Adı Soyadı:</b>	Gül Sinemcan Özcan
<b>Doğum Yılı:</b>	07/07/1993
<b>Yazışma Adresi :</b>	Başbüyük mah. Başbüyük yolu sok. Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı No:9 Maltepe/İstanbul
<b>Telefon :</b>	+90 542 504 14 86
<b>Faks :</b>	
<b>e-posta :</b>	gulsinemcan@hotmail.com

### EĞİTİM BİLGİLERİ

Ülke	Üniversite	Fakülte/Enstitü	Öğrenim Alanı	Derece	Mezuniyet Yılı
Türkiye	Abant İzzet Baysal Üniversitesi	Fen/Edebiyat Fakültesi	Biyoloji (İng.)	3,07	2016
Türkiye	Marmara Üniversitesi	Tıp Fakültesi	Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı	3,50	Devam ediyor

### AKADEMİK/MESLEKTE DENEYİM

Kurum/Kuruluş	Ülke	Şehir	Bölüm/Birim	Görev Türü	Görev Dönemi

### UZMANLIK ALANLARI

Uzmanlık Alanları
6-OHDA PH modeli, İmmünohistokimya, Işık Mikroskopisi,

### PROJE DENEYİMİ

Proje Adı	Kurum	Bütçe	Tarih	Görev	Proje Türü

### DİĞER AKADEMİK FAALİYETLER

<b>Son Bir Yılda Uluslararası İndekslere Kayıtlı Makale/Derleme İçin Yapılan Danışmanlık Sayısı</b>	
<b>Son Bir Yılda Projeler İçin Yapılan Danışmanlık Sayısı</b>	



<b>Yayınlara Alınan Toplam Atıf Sayısı</b>			
<b>Danışmanlık Yapılan Öğrenci Sayısı</b>		<b>Tamamlanan</b>	<b>Devam Eden</b>
	<b>Yüksek Lisans</b>		
	<b>Doktora</b>		
	<b>Uzmanlık</b>		
<b>Diğer (Eser/görev/faaliyet/sorumluluk/olay/üyelik vb.)</b>	<b>Faaliyetler</b>	<b>Katıldığı Kurslar/Seminerler</b>	
		<ul style="list-style-type: none"> <li>* Deneysel Tıp Uygulama Ve Araştırma Merkezi Mezenkimal Kök Hücre, Klinik Kanıtları Ve İn-Vivo Deneysel Kullanım Kursu (8-9 Aralık 2018)</li> <li>* XXIV. Kök Hücre ve Doku Mühendisliği Kursu: Temel Teknikler ve Moleküler Biyoloji Uygulamaları (19-23 Şubat 2018)</li> <li>* Araştırmacılar için Deney Hayvanları Kullanımına ait Eğitim 2017</li> <li>* 5th DBS Neurology Course 2017</li> <li>* 15th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry-ICHC 2017</li> <li>* 23. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi 2017</li> <li>* 6. Kök Hücre Sempozyumu (Katılım Belgesi) 2017</li> <li>* Pedagogik Formasyon Eğitim Sertifikası 2015-2016</li> <li>* ISO 22716:2007 Kozmetik İyi Üretim Uygulamaları- GMP TSC – 04.2015</li> <li>* ISO/IEC 17025:2005 Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği TSC – 04.2015</li> <li>* GMP-İyi Üretim Uygulamaları – 04.2015</li> <li>* GLP-İyi Laboratuvar Uygulamaları – 04.2015</li> </ul>	

#### ÖDÜLLER

	Ödülün Adı	Alındığı Kuruluş	Yılı
1			
2			

#### YAYINLARI

**SCI, SSCI, AHCI indekslerine giren dergilerde yayınlanan makaleler**


**Diğer dergilerde yayınlanan makaleler**


**Hakemli konferans/sempozyumların bildiri kitaplarında yer alan yayınlar**


**Düzenleme Tarihi:** 25/12/2018



# ETİK KURUL ONAYI



## MARMARA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

### PROJE ONAY FORMU

<b>BAŞVURU BİLGİLERİ</b>	<b>PROTOKOL KODU</b>	34.2018.mar	<b>ÇALIŞMA:</b> TEZ		
	<b>PROJE ADI</b>	Yüksek Yağlı Diyetle Beslenen Sıçanlarda Myrtus Communis L.'nin Pankreas Dokusu Üzerine Etkilerinin Histolojik ve Biyokimyasal Yöntemlerle Değerlendirilmesi			
	<b>SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ ADI</b>	Doç. Dr. Dilek AKAKIN			
	<b>ARAŞTIRMA MERKEZİ</b>	DEHAMER			
	<b>DESTEKLEYİCİ</b>				
<b>KARAR BİLGİLERİ</b>	<b>TARİH: 09. 04. 2018</b> Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığı için kurulumuzca onaylanmasına oy birliği ile karar verilmiştir. Onay sonrasında yapılacak her türlü proje değişiklikleri (katılımcılar, başlık vb.) veya protokol değişikliklerinin Etik Kurula bildirilerek proje onayının yenilenmesi gerekmektedir.				
<b>ETİK KURUL BİLGİLERİ</b>					
<b>ÇALIŞMA ESASI</b>	Deney hayvanları ile yapılacak olan bilimsel araştırma, test, sağlık hizmetleri uygulamaları ve eğitim-öğretim gibi temel etkinliklerde kullanılan yöntem ve materyaller ile ilgili etik standartları gözetmek, etik ilkeler doğrultusunda görüş bildirmek, araştırma önerilerini incelemek ve sertifikası olmayanların deney hayvanı kullanmalarını engellemektir.				
<b>ÜYELER</b>					
<b>Ünvanı/ Adı/ Soyadı</b>	<b>Uzmanlık Dalı</b>	<b>Kurumu/ Ek Üyeliği</b>	<b>Onaylanan Proje ile İlişkisi</b>	<b>Toplantıya Katılım</b>	<b>İmza</b>
Prof.Dr. Göksel ŞENER	Farmakoloji	M.Ü. Eczacılık Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Başkanı	Var Yok	Evet Hayır	Araştırmacı
Prof.Dr. Levent KABASAKAL	Farmakoloji	M.Ü. Eczacılık Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Ayşen YARAT	Biyokimya	M.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Serap ŞİRVANCI	Histoloji Embriyoloji ABD	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Rezzan GÜLHAN	Farmakoloji	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Doç.Dr. Gürkan SERT	Tıp Tarihi ve Etik	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Vet. Dr. Dilek ÖZBEYLİ	Veteriner Hekim	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Bio. Arif GÜMÜŞ	Biyoloji	Sivil Toplum Kuruluşu Üyesi ve Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok	Evet Hayır	
Cihanşah MURATOĞLU	Serbest Danışmanlık	Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok	Evet Hayır	

