

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

GIDA ALIMI ARTIRILAN, AZALTILAN VE MONOSODYUMGLUTAMAT
UYGULANAN GENÇ SIÇANLARIN MİDE DOKUSUNDA APELİN'İN
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL OLARAK BELİRLENMESİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Zübeyde ÇALIŞKAN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Leyla CANPOLAT KOYUTÜRK

ELAZIĞ – 2010

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Enver OZAN

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Leyla Canpolat KOYUTÜRK

Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. İ. Enver OZAN

Prof. Dr. Leyla Canpolat KOYUTÜRK

Doç. Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU

Doç. Dr. Ahmet KAVAKLI

Yrd. Doç. Dr. Dürrin Özlem DABAK

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan danışman hocam Prof. Dr. Leyla CANPOLAT KOYUTÜRK'e tezimin hazırlanmasındaki katkılarından dolayı teşekkür ederim. Yine her konuda yardımlarını hissettiğim, tez çalışmama katkıda bulunan hocalarım Prof. Dr. Enver OZAN'a, Doç. Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU'na, Yrd. Doç.Dr. D. Özlem DABAK'a, Uzm. Dr. Tuncay KULOĞLU' na teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında destek ve yardımlarını gördüğüm Araş. Gör. Dr. Nevin KOCAMAN' a ve Araş. Gör. Esra Gündüz'e destek ve yardımlarını benden esirgemeyen Doç. Dr. Selim KUTLU, Doç.Dr. Engin ŞAHNA, Yrd.Doç.Dr. Mete ÖZCAN' a, Uzm. Dr. Deniz EROL' a ve aileme teşekkür ederim.

Tezime sağladığı finansmandan ötürü de Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (FÜBAP)'ne teşekkür ederim.

ÖZET

Apelin son zamanlarda keşfedilmiş, neredeyse tüm vücutta bulunan peptit yapılı bir hormon olup, mide, beyin, akciğer, laktasyondaki meme ve yağ dokusu gibi birçok dokuda üretilir. Apelinin sıvı ve gıda alımının yanı sıra, kardiyovasküler, gastrointestinal, endokrin ve immün sistemlerin düzenlenmesinde önemli fizyolojik rolü vardır. Diabetes mellitus, hipertansiyon ve kalp krizinin patogenezinde de etkili olduğu düşünülmektedir. Monosodium glutamat (MSG) uzun dönemde obezite ve metabolik sendrom tablosunun gelişmesine neden olan bir maddedir. Bu çalışmada, gıda kısıtlamasının, gıda alımının arttırılmasının ve MSG uygulanmasının mide dokusunda oluşturduğu yapısal değişiklikler ile apelin immünreaktivitesi üzerine olan etkilerinin belirlenmesi amaçlandı.

Çalışmada 24 adet yenidoğan Wistar cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar dört eşit gruba ayrıldı. Grup I: Kontrol, Grup II: Gıda alımı arttırılan, Grup III: Gıda alımı azaltılan ve Grup IV: MSG uygulanan gruplar. Çalışmada kullanılan tüm sıçanlar deneyin 40. gününün sonunda ketamin ve xylazine anestezisi ile dekapite edilerek, mide dokuları çıkarıldı. Rutin ışık mikroskobu takibi yapılarak, dokular parafin bloklara gömüldü. Bloklardan alınan kesitlere histolojik boyamalar yapıldı ve apelin immunoreaktivitesi için avidin-biotin-peroxidaz yöntemi uygulandı.

Kontrol grubuna ait mide dokusu kesitlerinin diğer gruplar ile karşılaştırılmasında, gıda alımı arttırılmış grup kontrole daha yakın olarak gözlenirken, gıda alımı azaltılan ve daha belirgin olarak MSG uygulanan gruba ait mide dokularının gastrik bezlerinde genişlemeler, apikal mukoza yüzeyinde hücresel dökülmeler ve yüzeyel epitel hücrelerinde kayıp gözlemlendi. Gıda alımı azaltılan grupta, mide mukozası lamina propriasındaki gastrik bezlerde daha belirgin olmak üzere, gıda alımı arttırılmış grupta da gastrik bezlerdeki hücreler arasında köpüksü görünüm izlendi. MSG uygulanan gruba ait mide mukozası lamina propriasında köpüksü görünüm izlenmedi ancak tüm gruplar arasında mide mukozasında en belirgin değişikliklerin MSG uygulanan grupta olduğu gözlemlendi. Ayrıca gıda alımı azaltılan grupta lamina propriada mononükleer hücre infiltrasyonları ve gastrik bezlerin bazal bölgelerinde apoptotik hücreler olduğu belirlendi.

Kontrol ve deney gruplarına ait mide dokusundan alınan kesitlere uygulanan apelinin immunohistokimyasal boyanmasında sadece mukoza tabakasında pozitiflik gözlemlendi. Apelin immünpozitif hücreler özellikle bezlerin bazal kısımlarında daha yoğun ve belirgindi. Apelinin immünohistokimyasal boyanma derecesinin gruplar arasındaki karşılaştırılmasında sırasıyla, gıda alımı kısıtlanan grupta (+1), kontrol grubu (+2), gıda alımı arttırılan grupta (+3) ve MSG uygulanan grupta ise (+4) olduğu belirlendi.

Sonuç olarak gıda alımının arttırılması, gıda kısıtlanması ve MSG uygulanmasının mide mukozasında sırasıyla gittikçe artan oranda histolojik değişikliklere neden olduğu ve mide dokusundaki apelinin gıda alımı kısıtlandığında azaldığı, gıda alımının arttırılması ve MSG uygulanması durumunda ise arttığı kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Apelin, immünohistokimya, mide, sıçan

ABSTRACT

DETERMINATION OF APELIN AS IMMUNOHISTOCHEMICALLY IN GASTRIC TISSUE OF YOUNG RATS APPLIED MONOSODIUMGLUTAMATE AND INCREASED, RESTRICTED FOOD INTAKE

Apelin, a recently discovered peptide hormone, has a widespread pattern of expression in thorough the body and it is produced in several tissues, including stomach, brain, lung, lactating breast and adipose tissues and body. Apelin has important physiological roles in regulation of cardiovascular, gastrointestinal, endocrin and immune systems besides food and water intake. It has also effects on the pathogenesis of Diabetes Mellitus, hypertension and heart failure. Monosodium glutamate (MSG) is an agent that can cause obesity or metabolic sendrom in a long period. The aim of this study was to investigate the structural alterations and apelin immunoreactivity in rat stomach induced by food-restriction, increased food intake and MSG application.

Twenty four neonate Wistar male rats were used in the study. The rats were divided to four equal groups. Group I: Control, Group II: Increased food intake, Group III: Restricted food intake, Group IV: MSG applied groups. All the rats used the study were decapitated under ketamine anesthesia at the end of 40th day of the study and stomach tissues were removed. Following routine light microscopy procedure, tissues were embeded in paraffin blocks. The slides obtained from paraffin blocks were histologically stained and avidin- biotin-peroxidase method were applied to determine apelin immunoreactivity.

Compared to the control group, examining of stomach tissue slides revealed that there was dilatation of lumens in the gastric glands, desquamation of the surface epithelium on the apical mucosa, loss of superficial epithelial cells in the restricted food intake group and especially the MSG applied group. However, increased food intake group was close to the controls. A foamy appearence was observed more intensively in gastric glands of stomach mucosa of the restricted food intake group and less intensively between gastric gland cells of the increased food intake group.

There was no foamy appearance in lamina propria of gastric mucosa in the MSG applied group. However, the most distinct alterations in gastric mucosa were determined in the MSG applied group among all the groups. In addition, mononuclear cell infiltrations in lamina propria and apoptotic cells in basale of gastric glands of the restricted food intake group.

In immunohistochemical staining for apelin applied to the slides of gastric tissues in all the groups, immunopositive reaction was determined in only mucosa layer. Immunopositive cells for apelin were more profound and apparent in base of the glands. The degree of immunohistochemical staining for apelin was determined as (+1) in restricted food intake group, (+2) in control group, (+3) in increased food intake group and (+4) in MSG applied groups.

In conclusion, increased food intake, restricted food intake and MSG application cause progressively increased histological alterations in gastric mucosa and apelin immunoreactivity in gastric tissue is decreased in restriction of food intake while increased in MSG application and increment of food intake.

Key words: Apelin, immunohistochemical, stomach, rat

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK	I
ONAY SAYFASI	II
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	VI
İÇİNDEKİLER	VIII
TABLO LİSTESİ	X
ŞEKİLLER LİSTESİ	XI
KISALTMALAR LİSTESİ	XV
1. GİRİŞ	1
1.1 Mide	1
1.1.1 Midenin embriyolojisi	1
1.1.2 Midenin anatomisi	3
1.1.3 Midenin histolojisi	5
1.1.3.1 Midenin tabakaları	6
1.1.3.1.1 Tunika mukoza	6
1.1.3.1.2 Submukoza	10
1.1.3.1.3 Tunika muskularis	10
1.1.3.1.4 Tunika seroza	11
1.1.4 Midenin fizyolojisi	11
1.2 Gıda alımı ve metabolizma	12
1.2.1 Gıda alımının kısıtlanmasının metabolizmaya etkileri	12
1.2.2 Gıda alımının artışının metabolizmaya etkileri	12
1.2.3 Adipoz doku	13
1.2.4 Adipoz doku artışının etkileri	13
1.2.5 Adiponektinler	14
1.2.5.1 Apelin	15
1.2.5.1.1 Apelinin fizyolojik etkileri	17
1.2.5.1.2 Apelin peptidleri	17
1.2.5.1.3 Apelin ve reseptörlerinin dağılımı	18

1.3 Monosodyum glutamat	27
2. GEREÇ ve YÖNTEM	29
2.1 Denev hayvanları ve beslenmeleri	29
2.2 Denev gruplarının oluşturulması ve deneysel uygulamalar	29
2.3 Örneklerin alınması	30
2.4 Histolojik çalışma	30
2.5 İmmünohistokimyasal çalışma	31
2.6 İstatistiksel değerlendirme	33
3. BULGULAR	34
3.1 Vücut ağırlıkları	34
3.2 Histolojik bulgular	34
3.3. İmmünohistokimyasal bulgular	50
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	59
5. KAYNAKLAR	67
6. ÖZGEÇMİŞ	79

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin terkihi.	9
Tablo 2. Histolojik takip serileri	31
Tablo 3. İmmünohistokimyasal boyama prosedürü	32
Tablo 4. İmmünohistokimyasal boyanma yaygınlığının derecesi.	33
Tablo 5. Çalışmada kullanılan sıçanların başlangıç ve deney sonu vücut ağırlıkları	34

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Midenin gelişimini, rotasyonunu ve bursa amentalis ile omentum majus'un oluşumu	3
Şekil 2. Mide fundus ve bezlerinin hücreleri.	7
Şekil 3. Yağ dokusundan üretilen peptitler	14
Şekil 4 Apelinin amino asid dizilimi	16
Şekil 5. Apelinin damar düz kas hücreleri üzerine etkileri	20

RESİMLER LİSTESİ

- Resim 1.** Kontrol grubu, normal mide mukozası E: epitel, LP: lamina propria, LMM: lamina muskularis mukoza. H&E x10 36
- Resim 2.** Kontrol grubu, normal mide mukozası pariyetal hücreler (ok) ve esas hücreler (ok başı), LMM: lamina muskularis mukoza. H&E x20. 36
- Resim 3.** Kontrol mide mukozasında normal görünüm, yüzey ve boyun müköz hücrelerinde PAS (+) boyanma alanları. PAS x10 37
- Resim 4.** Kontrol mide mukozasında pariyetal ve esas hücreler. H&E x10 37
- Resim 5.** Kontrol grubu, normal mide mukozası E: epitel, LP: lamina propria, LMM lamina muskularis mukoza. H&E x10 38
- Resim 6.** Gıda alımı arttırılan grupta kontrole yakın mide mukozası görünümü. E: epitel, LP: lamina propria, LMM: lamina muskularis mukoza. 38
- Resim 7.** Gıda alımı azaltılan grupta mide mukozasında gastrik bezlerde genişleme. E: epitel, LP: lamina propria, LMM lamina muskularis mukoza. H&E x10 39
- Resim 8.** Monosodyum glutamat (MSG) uygulanan grupta mide mukozasında gastrik bezler arasında belirgin genişleme, E: epitel, LP: lamina propria, LMM lamina muskularis mukoza. H&E x10 39
- Resim 9.** Kontrol mide mukozasında PAS(+)boyanma. PAS x10 40
- Resim 10.** Gıda alımı arttırılan grup mide mukozasında kontrole yakın PAS boyanma. PAS x10 40
- Resim 11.** Gıda alımı azaltılmış olan grubun mide mukozasında zayıf PAS reaksiyonu ve hücrel dökülmeler. PAS x10 41
- Resim 12.** MSG uygulanan grupta mide mukozasında zayıf PAS reaksiyonu, epitel hücre kaybı. PAS X10 41
- Resim 13.** Kontrol grubu mide mukozası lamina propriasında normal yapıdaki gastrik bezler. PAS x20 42
- Resim 14.** Gıda alımı arttırılan grupta mide mukozası lamina propriasında gastrik bezlerde hücreler arasında hafif köpüksü görünüm. PAS x20 42
- Resim 15.** Gıda alımı azaltılan grupta mide mukozası lamina propriasında gastrik bezlerde köpüksü görünüm. PAS x20 43

Resim 16. Gıda alımı azaltılan grupta mide mukozası lamina propriasında gastrik bezlerde hücreler arasındaki köpüksü alanlar. PAS x40	43
Resim 17. MSG uygulanan grupta mide mukozası lamina propriasında gastrik bezlerde düzensizlik ve genişlemeler. PASx20	44
Resim 18. MSG uygulanan grup mide mukozasında apikal yüzeye yakın alanlarda gastrik bezlerde genişleme. PASx20	44
Resim 19. MSG uygulanan grupta mide dokusu apikal mukoza yüzeyinde epitel hücrelerinde kayıplar. Masson'un üçlü boyası x20	45
Resim 20. MSG uygulanan gruba ait mide mukozasında gastrik bezlerde düzensizlik ve genişlemeler. Masson'un üçlü boyası x20	45
Resim 21. Kontrol grubunun mide mukozası bazal bölgesi izlenmekte. Kan damarları, LMM lamina muskularis mukoza. Masson'un üçlü boyası X20	46
Resim 22. Gıda alımı arttırılan gruba ait mide mukozası bazal bölgesi yakınındaki kan damarlarında hiperemi. LMM lamina muskularis mukoza Masson'un üçlü boyası X 20	46
Resim 23. Gıda alımı azaltılan gruba ait mide mukozası bazal bölgesi izlenmekte. Kan damarları, LMM lamina muskularis mukoza. Masson'un üçlü boyası X20	47
Resim 24. MSG uygulanan gruba ait mide mukozası bazal bölgesi izlenmekte. Kan damarı, LMM lamina muskularis mukoza. Kan damarları Masson'un üçlü boyası X20	47
Resim 25. MSG uygulanan grupta mide mukozasında eozinofilik hücrelerde artış H&E X 20	48
Resim 26. Gıda alımı azaltılan gruba ait mide mukozasında mononükleer hücre infiltrasyonu, Masson'un üçlü boyası X10	48
Resim 27. Gıda alımı azaltılan gruba ait mide mukozasında mononükleer hücre infiltrasyonu. Masson'un üçlü boyası X 20	49
Resim 28. Gıda alımı azaltılan gruba ait mide mukozasında apoptotik hücreler Masson'un üçlü boyası. X 40	49
Resim 29. Kontrol grubuna ait mide mukozasında apelin immünreaktivitesi.X 4	51

Resim 30. Gıda alımı azaltılan gruba ait mide mukozasında E: epitel, LP: lamina propria ve apelin immünreaktivitesi X 4.	51
Resim 31. Gıda alımı arttırılan gruba ait mide mukozasında apelin immünreaktivitesi X 4	52
Resim 32. MSG grubuna ait mide mukozasında apelin immünreaktivitesi X 4	52
Resim 33. Kontrol grubuna ait mide mukozasında apelin immünreaktivitesi	53
Resim 34. Gıda alımı azaltılan gruba ait mide mukozasında apelin immünreaktivitesi X 10	53
Resim 35. Gıda alımı arttırılan gruba ait mide mukozasında apelin birikintileri ve apelin immünreaktivitesi X 10	54
Resim 36. MSG uygulanan grubuna ait mide mukozasında apelin immünreaktivitesi X 10	54
Resim 37. Kontrol grubuna ait mide mukozasında apelin ve apelin immünreaktivitesi X 20	55
Resim 38. Gıda alımı azaltılan gruba ait mide mukozasında apelin immünreaktivitesi X 20	55
Resim 39. Gıda alımı arttırılan gruba ait mide mukozasında apelin immünreaktivitesi X 20	56
Resim 40. MSG uygulanan grubuna ait mide mukozasında apelin ve apelin immünreaktivitesi X 20	56
Resim 41. MSG uygulanan grubuna ait mide mukozasında apelin içeren hücreler kahverenkli ve apelin immünreaktivitesi izlenmekte X 20	57
Resim 42. MSG uygulanan grubuna ait mide mukozasında apelin içeren hücreler koyu kahverenkli ve apelin immünreaktivitesi X 20	57
Resim 43. Negatif kontrol (0) apelin immünreaktivitesi X4	58

KISALTMALAR LİSTESİ

ACTH	: Adrenokortikotropik hormon
AgRP	: Agoutirelated
AKT	: Aktive olmuş olan kinazlar
Ang I	: Anjiyotensin I.
Ang II	: Anjiotensin II
Ang II	: Anjiyotensin II.
APJ	: Apelin Reseptörü
APUD	: Amin Prekursor Uptake
AT-1	: Anjiotensin II tip 1
AT1	: Anjiyotensin II tip 1 reseptörü.
AT2	: Anjiyotensin II tip 2 reseptörü
B78/APJ	: Apelin reseptörünün insandaki arşılığı
cAMP	: Siklil adenzin monofosfat
CCK	: Kolesistokinin
CCR5	: Makrofaj reseptörü
CD4+	:Yardımcı T hücrelerinin markırı
cDNA	: Komplementer DNA
CNS	: Santral sinir sistemi
CXCR4	: Makrofaj reseptörü
D4	: Dopamin 4 reseptörü
eNOS	: Nitrik oksit sentaz
ERKs	: Ekstrasellüler düzenleyici kinaz
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
GH	: Büyüme hormonu
Gi	: İnhibitör G proteini
GPCRs	: G proteini ile kenetli reseptörler
H&E	: Hematoksilen-Eozin
H,K-ATP az	: Glukozun ve amino asitlerin aktif taşınımından sorumlu dur.
HIV	: İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü
HİF	: Hipoksiyle indüklenen faktör

IHC	: İmmünohistokimya
IP3	: İnozitol trifostat
MAPK	: Mitojenler ile aktive olan kinazlar
MCP-1	: Monositkemoatraktan protein
mRNA	: mesajcı ribonükleik asit
MSG	: Monosodyum glutamat
MSS	: Merkezi sinir sistemi
NCX	: Na-Ca
NHE	: Na-H:
NPY	: Neuropeptid Y
NTS	: Nükleus tractus solitarius
p70S6	: Mitojenler ile aktive olan bir Ser/Thr protein kinase
PAI	: Plazminojen aktivatör protein
PAS	: Periodic Acid Schiff.
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonunu
PKC	: Protein Kinaz C
PTK	: Pertussis toksin
PVN	: Paraventriküler nükleus
RAS	: Proto-Onkogen ailesi adı ve bunları kodlayan genin adıdır
RAS	: Renin-Anjiyotensin sistem.
SON	: Supra optik nükleus
STZ	: Streptozocin
TNF-alfa	: Tümör nekrozis faktör alfa
VEGF	: Vasküler endotelyal growth faktör
X-msr	: İnsanlardaki apelin reseptörü

1. GİRİŞ

1.1 Mide

1.1.1 Midenin embriyolojisi

Dördüncü haftanın başında bağırsak taslağının (primitif bağırsak) kranial ucunu membrana oropharyngealis, kaudal ucunu da membrana cloacalis kapatır (1). Embriyonun sefalokaudal ve lateral yönde katlanmasıyla, endodermle döşeli boşluğun bir kısmı primitif bağırsağı oluşturmak üzere embriyonun içine alınır (2). Dördüncü hafta boyunca caput, cauda ve plika laterales olarak gelişen primitif bağırsak, saccus vitellinus'un dorsal parçasını embriyona dahil eder. Endodermal boşluğun diğer iki kısmını meydana getiren yolk kesesi ve allantois ise, embriyonun dışında kalır (1).

Pirimitif bağırsak, embriyonun sefalik ve kaudal kısımlarında, sırasıyla ön bağırsak (foregut) ve son bağırsak (hindgut) adı verilen kör sonlanan bir tüp oluşturur. Bu tüpün orta kısmı, ortabağırsak (midgut) ise, vitellin kanal veya yolk sapı yoluyla, yolk kesesiyle ilişkisini geçici olarak sürdürmeye devam eder (1, 3).

Pirimitif bağırsak ve türevlerinin gelişimi dört başlık halinde tartışılır:

(a) Bukkofaringeal membrandan, trakeobronşial divertiküle kadar uzanan faringeal bağırsak veya farinks

(b) Faringeal tüpün kaudalinde yer alan ve karaciğer tomurcuğuna kadar uzanan ön bağırsak

(c) Karaciğer tomurcuğunun kaudalinden başlayan ve yetişkinde transvers kolonun 2/3 proksimal ve 1/3 distal parçasının birleşim noktasına kadar devam eden orta bağırsak

(d) Transvers kolonun sol üçte birinden kloakal membrana kadar uzanan son bağırsak

Primitif bağırsak pre-enteron, mesenteron ve metenteron olmak üzere üç parçaya ayrılmıştır. Pre-enteron'dan ağız boşluğu, yutak, dil, bademcikler, tükürük bezleri, üst solunum yolu, alt solunum yolu, yemek borusu, mide, proksimal duodenum karaciğer, safra yolları ve pankreas gelişir (1, 3).

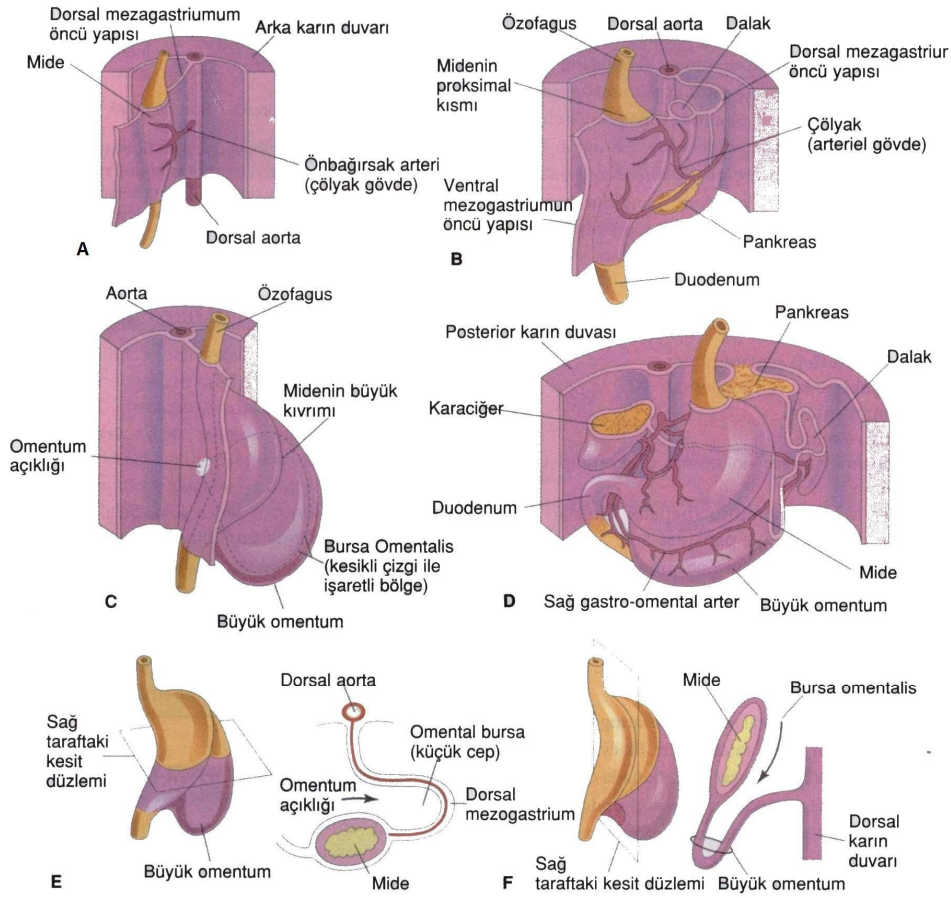
Pre-enteronun distal parçası başlangıçta basit bir tüp yapısındadır. Mide, gelişimin dördüncü haftasının ortalarında küçük bir dilatasyon olarak, orta hatta ve pre-enteron'un kaudalinde gelişir (Şekil 1A) (4). Bu yapı kısa sürede ventrodorsale doğru genişler. Bunu izleyen iki hafta boyunca primitif midenin dorsal kenarı ventral kenarından daha hızlı büyüyerek büyük kurvaturu oluşturur (1, 5) (Şekil 1B).

Mide uzun eksenini etrafında saat yönünde 90 derecelik bir dönüş yapar. Bu dönüş sonucunda midenin ventral kenarı (curvatura minor) sağa, dorsal kenarı (curvatura majör) sola geçer (1) (Şekil 1B). Böylece midenin sol tarafı öne ve sağ tarafı da arkaya bakar hale gelir. Başlangıçta midenin sol tarafını innerve eden sol vagus siniri ön duvarı, sağ vagus siniri de arka duvarı innerve eder. Bu dönüş sırasında midenin orjinal arka duvarı ön duvardan daha hızlı büyür ve bu olay büyük ve küçük kurvaturların oluşumuyla sonuçlanır (1) (Şekil 1 C).

Midenin sefalik ve kaudal uçları başlangıçta orta hatta yer alırsa da, gelişimin daha ileri evrelerinde midenin ön-arka eksen etrafında dönmesiyle, kaudal veya pilorik parça sağa ve yukarıya, sefalik veya kardiak bölüm de sola ve hafifçe aşağıya doğru yer değiştirir. Mide böylece son şeklini alır ve uzun eksenini sol üstten sağ alta doğru uzanır (3) (Şekil 1D) (1).

Mide, karın arka duvarına dorsal mezogastriumla, karın ön duvarına ise ventral mezogastriumla tutunduğu için, midenin rotasyonel hareketi ve oransız büyümesi mezenterlerin pozisyonunda değişiklik meydana getirir. Uzun eksen çevresindeki rotasyon dorsal mezogastriumu sola çekerek midenin arkasında omental bursa adı verilen bir boşluğu oluşturur. Bu rotasyon aynı zamanda ventral mezogastriumu da sağa doğru çeker (Şekil 1 E ve F).

Sindirim kanalı lümeninin epitelini endodermden, düz kas tabakasını mezodermden, ektodermden ise enterik sinir sistemi ise nöral krista hücrelerinden köken alır (3). Midenin epitelini önceleri psödostratif epitelten bağırsağa doğru ilerlerken basit kolumnar epitele dönüşür. İkinci ayın sonunda, sindirim kanalının lümeni açılmaya başlar ve hızlıca epitel proliferasyonu oluşur. Sonraki iki haftada epitelin bazalinde apoptozis ile vakuoller gelişir ve böylece sindirim kanalı tamamen kanalize olur. Villus intestinalislerde endodermin mezoderme invajinasyonu ile kripler oluşur. Ancak midede villuslar bulunmaz.



Şekil 1. Midenin gelişimini, rotasyonunu ve bursa amentalis ile omentum majus'un oluşumu gösterilmektedir (Moore Embriyoloji ve doğum defektlerinin temelleri kitabından alınmıştır).

Fakat endoderm mezoderm içine invajine olur ve gastrik glandların olduğu çukurcuklar oluşur. 9. haftada bağırsak lümenini döşeyen endodermden mukozal epitel gelişmiş olur. Gelişimin geç evrelerine kadar endoderm, mezodermine içine doğru çukurcuklar ve kriptlerin oluşumu devam eder. Sindirim sisteminin epiteli çok hızlı yenilenir. Bu epiteli oluşturan kök hücreler bulunur (1). Ayrıca enterosit denilen bu hücreler, enteroendokrin hücreler, paneth hücreleri ve mukoz hücrelere dönüşür (5).

1.1.2 Midenin anatomisi

Sindirim kanalının en geniş yeri olan mide, özefagus ile duodenum arasında yer alır. Kısmen epigastrium, kısmen de sol hipokondriak bölgede bulunur. Midenin

şekil ve pozisyonu içerisindeki muhtevaya, mide hareketlerine, kas tabakasının gelişmesine ve komşusu olan organların durumuna göre değişir. Mideyi özefagusla bağlayan deliğe, kalbe yakın olması nedeniyle ostium cardiacum denir. Mideyi duodenumla birleştiren deliğe ostium pyloricum denilir. Midenin paries anterior ve paries posterior olmak üzere iki yüzü, bu yüzleri birbirinden ayıran curvatura minor ve major olmak üzere iki kenarı vardır. Curvatura minor midenin sağ tarafına bakan konkav kısa kenarıdır. Normal dolu olan midede bu kenarın orta kısmının biraz aşağısında incisura angularis denilen bir açı bulunur. Bu açı midenin doluluk ve kontraksiyon durumuna göre değişir ve mideyi sağ ve sol olmak üzere iki bölüme ayırır. Curvatura minor'a omentum minusun ligamentum hepatogastricum denilen bölümü tutunur ve iki yaprağı arasında a.gastrica sinistra ve dekstra uzanır. Curvatura major midenin sola ve aşağı bakan konveks yüzüdür. Yukarıda incisura cardiaca'dan başlar, önce sola yukarı doğru uzanır. Sonra sağa yukarı doğru yön değiştirir ve tekrar sola uzanır (6).

Mide anatomik olarak pars cardiaca, fundus gastricus, corpus gastricus, pars pylorica, pylorus olmak üzere beş bölümden oluşur (6).

1. Pars cardiaca (cardia): Ostium cardiacum yakınındaki bölgedir ve diğer bölümler kadar belirgin değildir.
2. Fundus gastricus: Midenin incisura cardiaca'sından geçen horizontal bir düzlemin yukarısında kalan bölümüdür.
3. Corpus gastricum: Fundus gastricus ile incisura angularis arasında kalan midenin en büyük bölümüdür. İnsanlarda corpus ile fundus arasında belirgin bir sınır bulunmaz. Bu iki bölüm midenin büyük kısmını oluşturur.
4. Pars pylorica: Incisura angularis'ten pylorus'a kadar olan bölümdür.
5. Pylorus: Midenin duodenuma yakın olan bölümüdür.

Mide, her iki kenarından geçen bir kesitle iki parçaya ayrılarak iç yüzü incelendiğinde, hacim itibariyle farklı iki bölümden oluştuğu görülür. Geniş olan sol taraftaki bölümü corpus gastricus'a, dar olan sağ taraftaki bölümü de pars pylorica'ya uymaktadır. İnsanlarda bu iki bölümün iç yüzü bir bölgeden diğerine geçerken tedrici olarak değişir. Mide tunica serosa, tela subserosa, tunica muscularis ve tunica mucosa

olmak üzere dört tabakadan oluşmuştur. Tunica seroza mideyi en dıştan örten peritoneum'dur. Ön ve arka yüzleri örter ve küçük kurvaturda bir araya gelerek omentum minus'u, büyük kurvaturda ise omentum majus'un ön iki yaprağını oluşturur. Midenin damarları ve lenfatikleri, iki periton yaprağı arasında, küçük ve büyük kurvaturalar boyunca uzanırlar. Tela subseroza, kas tabakasına ince gevşek bir bağ dokusu ile bağlanır. İçerisinde damar ve sinir ağları bulunur. Tunica muscularis sirküler, oblik ve longitudinal kas tabakalarından oluşur. Midenin iç yüzünü döşeyen tunica mukoza canlılarda oldukça kalın, yumuşak, hareketli ve pembemsi renktedir. Tunica mukoza'nın altında gevşek bağ dokusundan yapılmış tela submukoza denilen bir tabaka bulunur. Bu iki tabaka arasında tunica muscularis mukoza denilen ince bir kas tabakası vardır. Boş midenin mukozasında plicae gastricae denilen kalın plikalar oluşur. Bunlar genellikle midenin uzun eksenine paralel olarak uzanırlar. Mukoza yüzeyi bir büyüteç ile incelendiğinde, 1–5 mm çapında birbirlerinden sığ oluklarla ayrılmış, küçük, yuvarlak kabartılar görülür. Areae gastricae denilen kabartılarda foveolae gastricae denilen küçük delikler görülür. Bu deliklere glandula gastrica denilen mide bezleri açılır. Foveola gastrica'lar arasında bulunan epitel çıkıntılarına plicae villosae denilir (6).

Küçük kurvaturu a. gastrica sinistra ve dekstra, büyük kurvaturu a. gastromentalis dekstra ve sinistra ile aa. gastricae brevesi besler. Venler arterler ile aynı isimleri alırlar ve portal sisteme açılırlar. Kardial bölümündekiler de özefagusun venleri ile önemli anastomoz (porto-kaval anastomoz) yaparlar (7).

1.1.3 Midenin histolojisi

Mide sindirim kanalının en genişlemiş parçası olup, özefagus ve duodenumu bağlayan fibromusküler kesedir. Mide anatomik olarak 5 ana bölgeye ayrılmasına karşın, midenin fundus ve korpusu mikroskobik yapı olarak aynı olduğu için, histolojik incelemede sadece üç bölge ayırt edilebilir. Sindirim sisteminde her bölüm bağımsız bir birim değildir. Ağız boşluğu hariç sindirim kanalı uniform bir histolojik yapıdadır. Ağız boşluğundan sonra dört büyük organ farklılaşmıştır: Yemek borusu, mide, ince bağırsak ve kalın bağırsak. Bu organların her birinde dört tabaka bulunur (9, 10, 6): 1. Tunica mukoza, 2. Tunica submukoza, 3. Tunica muscularis ve 4. Tunica seroza

1.1.3.1 Midenin tabakaları

Ağız boşluğundan sonraki sindirim kanalının bütün kısımlarında olduğu gibi histolojik olarak 4 tabakadan oluşmuş olan midede bu tabakalar: Tunika mukoza, Tunika submukoza, Tunika muskularis, Tunika seroza şeklinde isimlendirilirler.

1.1.3.1.1 Tunika mukoza

Tunika mukoza 0,3–1,5 mm kalınlığındadır. İç yüzey kasılmış midede çıplak gözle de görülebilen mukoza kıvrımları (plika ruga) adı verilen düzensiz, uzunlamasına katlantılar içerir. Mide gevşediğinde bu kıvrımlar yassılaştır (8, 10). Tunika mukoza epitel, epitelin altında uzanan lamina propria ve daha derinde bulunan lamina muskularis mukozadan oluşur (10). Tek katlı, prizmatik, alkali bir mukus salgılayan hücrelerden oluşan epitel, midenin yüzeyini kaplar. Salgılanan mukus kalın bir tabaka oluşturarak hücreleri mide tarafından salgılanan kuvvetli asidin etkisinden korur (9). Yüzey epiteli değişik uzunluklarda lamina propria içerisine uzanarak gastrik çukurcukları (pit, foveola) oluşturur (8). Midenin her bölgesi için karakteristik bir yapı gösteren (kardiak, gastrik ve pilorik) dallanmış tübüler bezler gastrik çukurcuklara açılır (11). Lamina propria, gevşek bağ dokusundan oluşmuş olup, retiküler ve kollajen lifler, fibroblastlar ve mast hücrelerini içerir (8). Bir düz kas tabakası olan lamina muskularis mukoza ise mukozayı altındaki submukoza tabakasından ayırır (9).

1.1.3.1.1.1. Tunika mukozanın midenin makroskopik bölgelerine göre histolojik yapılanması

1.1.3.1.1.1.1 Kardia

Kardia, özefagus ile mide arasında geçiş bölgesinde 1,5–3 cm genişliğinde dar sirküler bir banttır (9). Epiteli tek katlı prizmatiktir (12). Lamina propria, basit ya da dallanmış tübüler kardiak bezler içerir. Bu bezler yapı olarak özefagusun son parçasındaki kardiak bezlere benzer ve bezlerin son kısımları genellikle kıvrımlıdır. Geniş bir lümeneye sahiptir ve salgı yapan hücrelerin çoğu mukus ve lizozim üretir (9).

1.1.3.1.1.1.2 Fundus ve korpus

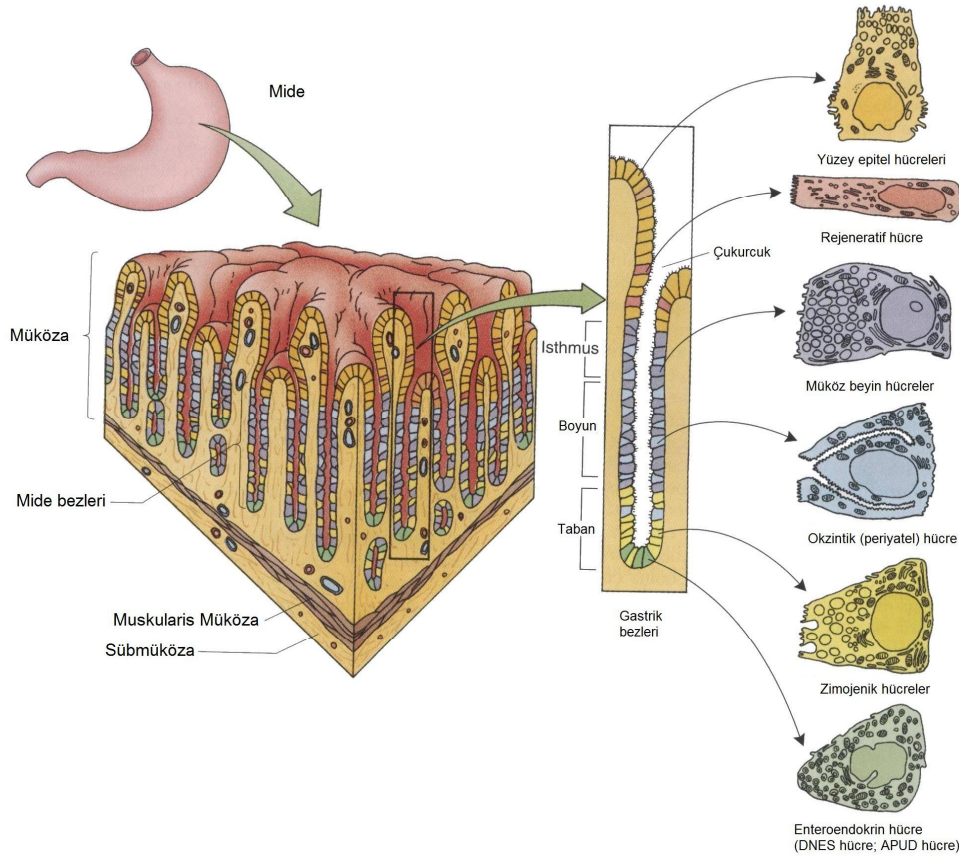
Fundus yemek borusunun soluna doğru uzanır. Korpus ise geniş merkezi bir bölgedir (8). Fundus ve korpusun yüzeyi tek katlı prizmatik epitel ile çevrilidir (12). Bu bölümlerin lamina propria dallanmış tübüler gastrik bezler (fundus bezleri) ile doludur (9). Bunların üç veya yedisi birlikte bir gastrik çukurcuğun dibine açılır.

Yaklaşık 15 milyon mide bezi 3,5 milyon civarındaki mide çukurcuğuna açılır. Mide sıvısının büyük bir kısmı fundus ve korpus bölgesinin mide bezleri tarafından oluşturulur (8).

Fundus ve korpustaki bezler (gastrik bezler); istmus, boyun ve taban olmak üzere üç bölgeden oluşmuştur (9). Bu bezlerde beş büyük hücre tipi bulunur (8):

1. Kök hücreler
2. Muköz boyun hücreleri (kollum hücreleri)
3. Pariyetal hücreler (okzintik hücreler)
4. Şef hücreler (esas, zimojen, peptik hücreler)
5. Enteroendokrin hücreler

Bezlerin istmus bölgesinde muköz, kök ve pariyetal hücreler; boyun bölgesinde kök, muköz boyun (istmustaki muköz hücrelerden farklı) ve pariyetal hücreler; taban bölgesinde ise pariyetal, esas (zimojen) ve enteroendokrin hücreler bulunur (9, 10).



Şekil 2. Mide fundus ve bezlerinin hücreleri (Gartner Histolojiden modifiye edilmiştir)

1. Kök hücreler: Kök hücreleri alçak prizmatik hücreler olup, istmus ve boyun bölgesinde bulunurlar. Oval çekirdekleri hücre bazaline yakındır. Yüksek mitotik aktiviteye sahip olan bu hücrelerin bazıları çukurcuk ve yüzeydeki müköz hücrelerin yerini almak üzere yüzeye doğru hareket ederler. Müköz hücrelerin yenilenme döngüsü 5–7 gündür. Diğer yavru hücreler bezlerin daha derin kısımlarına göç ederler ve müköz boyun hücreleri ile pariyetal, esas, enteroendokrin hücrelere farklılaşırlar. Bu hücreler yüzeydeki müköz hücrelerden çok daha yavaş yenilenirler (9, 12).

2. Müköz hücreler: Fundus ve korpus mide mukozasında, mukus üreten iki sınıf hücre vardır. Bunlar; mide çukurcuklarını örten yüzey müköz hücreleri ve mide bezinin başlangıcında yerleşmiş olan müköz boyun hücreleridir (8). Müköz boyun hücreleri, mide bezlerinin boyun bölgesindeki pariyetal hücreler arasında kümeler halinde ya da tek olarak bulunur. Bu hücrelerin müköz salgısı yüzeydeki müköz epitel hücrelerinin salgısından oldukça farklıdır. Şekilleri düzensiz olan bu hücrelerin çekirdekleri hücrenin bazalinde bulunur. Apikal yüzeye yakın oval ya da yuvarlak PAS ile koyu boyanan granülleri vardır (9). Bu granüller, yüksek moleküler kütleli glikoprotein yapısındaki mucusları üretirler. % 95'i su, % 5'i ise mucusun ibaret olan mukus salgısı, koruyucu bir mide mukozası bariyeri oluşturmak üzere mide mukozası yüzeyine bağlanan ve çözünmeyen bir jel oluşturur. Bu koruyucu mukus örtüsü bikarbonat iyonlarını tutar ve müköz yüzey hücrelerinin apikal bölgesine komşu mikro çevrenin değerini yaklaşık olarak pH 7 'ye dönüştürür (8).

3. Pariyetal (okzintik) hücreler: Pariyetal hücreler, daha çok mide bezlerinin üst yarısında boyun bölgesinde, seyrek olarak da taban bölgesinde bulunurlar (9). Pariyetal hücreler yuvarlak ya da piramidal hücreler olup, bağlantı kompleksleriyle şef hücrelere bağlanırlar (8). Merkezi yerleşimli, yuvarlak tek çekirdekleri vardır ve sitoplazmaları oldukça eozinofiliktir. Pariyetal hücreler üç farklı özelliğe sahiptir (8, 9).

1. Elektron mikroskobu ile incelendiğinde hücre hacminin % 40'ını işgal edecek kadar çok mitokondri içerirler. Hücre içinde bol kristal mitokondriler ve bazale yakın belirgin bir golgi kompleksi içerir. Salgı granülleri yoktur.

2. Apikal plazma membranının yaptığı derin sirküler girintiler olan hücre içi kanalcıklar içerirler. Bu kanalcıklar çok sayıda yoğun mikrovilluslarla kaplanmıştır

3. H,K-ATPaz'ca zengin tübüloveziküler bir sistem bulunur ve bunlar pariyetal hücrenin dinlenmesi esnasında salgı kanalcıkları boyunca dağılmışlardır.

Dinlenme halindeki hücrenin uç bölgesinde plazmalemmanın hemen altında çok sayıda tübüloveziküler yapılar görülebilir. Bu aşamada hücre az sayıda mikrovillusu sahiptir. Stimülasyonu takiben, hidroklorikasit salgısı için uyarıldığında tübüloveziküller hücre membranı ile kaynaşır ve kanalikül aralığında çok sayıda mikrovillus ortaya çıkar. Böylece hücre membranı yüzeyinde büyük bir artış sağlanmış olur. Membran birleşmesi, H,K-ATPaz miktarını artırır ve hücre içi kanalikül yaygınlaşır. Tübüloveziküller arasında bu yapıların etkileşimlerinde rolleri olduğu sanılan aktin filamentleri bulunur. Böylece pariyetal hücreler salgılarını mide lümenine bırakırlar (8, 9).

Pariyetal hücreler mide sıvısının hidroklorik asidini ve üst ince bağırsakta vitamin B12 emilimini kolaylaştırmak için B12 ile bağlanan bir glikoprotein olan intrinsik faktörü üretirler (12).

4. Esas (şef, zimojen) hücreler: Esas hücreler mide bezlerinin üçte bir altında daha çoktur. Esas hücreler kardial bezlerinde yoktur ve pilor antrumunda nadir bulunurlar (8). Esas hücreler protein sentezi yapan ve salgılayan hücrelerin bütün özelliklerine sahiptir (9). Esas hücreler ekzokrin pankreasın zimojen hücreleriyle yapısal bir benzerliğe sahiptirler. Bazal sitoplazma bölgesi yaygın bir kaba endoplazmik retikulum içerir ve bazofilik görünümündedir (8). Hücrenin apikal bölgesinde sitoplazmalarındaki granüllerde (zimojen granüller) inaktif pepsinojen enzimi bulunur (8, 9). Zimojen granüllerde depolanan bir proenzim olan pepsinojen, bezin lümenine salgılanır ve midenin asit ortamında çoğu proteinleri sindirebilen proteolitik bir enzim olan pepsine dönüştürülür (11). Pepsinojenin salgılanması hızlı olup, açlıktan sonra gıda alınması ile uyarılır (8). İnsanda bu hücreler ayrıca lipaz enzimini de üretirler (9).

5. Enteroendokrin hücreler: Bu hücreler mide bezlerinin tabanında bulunur(8). Sindirim sisteminin hormon üreten hücreleri olan enteroendokrin hücreler özefagustan kolona kadar epitel içinde yoğun olarak bulunan küçük piramidal hücrelerdir. Embriyonik endodermden köken aldığı düşünülmektedir. Yerleşimi mukoza ile sınırlıdır. Metabolik ve boyanma özellikleri temel alınarak arjentaffin, arjirofil veya apud (amin prekürsör uptake ve dekarboksilasyon) hücreleri

olarak adlandırılırlar. Rutin kesitlerde görülmeleri zordur. İmmünohistokimyasal ve elektron mikroskopik olarak görülebilirler. Lamina propriaya bitişik bazal laminaya oturmasına karşın bazıları lümeneye ulaşabilir. Enteroendokrin hücreler küçük ve membranla çevrili olup, yoğunlaşmış, elektron yoğun salgı veziküllerine sahiptirler. Sitoplazmalarında küçük bir golgi kompleksi, birkaç mitokondri ve yaygın olarak izlenen granüllü endoplazmik retikulum bulunur. Hücreler hedef hücrelerde güçlü bir etkiye sahip, kan dolaşımına giren veya lokal olarak etkili çeşitli peptit ve aminler üretirler. Gastrin, motilin, kolesistokinin, somatosatin, 5-hidroksi triptamin (serotonin) (8), sekretin ve vasoaktif intestinal polipeptid gibi otuzdan fazla gastrointestinal hormon üretirler (10).

1.1.3.1.1.3 Pilor

Pilor midenin duodenuma açıldığı yerde son bulur (8). Pilorun yüzeyi tek katlı prizmatik epitel ile döşelidir ve goblet hücresi içermez (12). Midenin fundusuyla pilor mukozası karşılaştırıldığında, pilor mukozasının epitel çukurcukları daha derindir. Bu çukurcuklar mukozanın tüm kalınlığının büyük bir bölümünü kapsarlar (13)

Pilor derin gastrik çukurcuklara sahiptir ve bunların içine dallanmış tübüler pilor bezleri açılır (12). Kardiyak bölgenin bezleriyle karşılaştırıldığında pilor bezlerinin daha uzun çukurcukları ve daha kısa kıvrımlı salgılayıcı bölümleri bulunur. Bu bezlerden lizozim ve mukus salgılanır. Gastrin salgılayan gastrin (G) hücreleri pilor bezlerinin müköz hücreleri arasında bulunur (9).

1.1.3.1.2 Submukoza

Submukoza tabakası, kollajen, elastik lifler, kan damarları (arteriol, venöz pleksus), lenfatikler ve meissner sinir pleksusunu içeren tıkkız bağ dokusundan oluşmuştur. Bol miktarda lenfoid hücre, makrofaj ve mast hücresi de içermektedir (8, 9).

1.1.3.1.3 Tunika muskularis

Başlıca üç ana yönde düzenlenmiş düz kas tabakalarından meydana gelir. Dışta longitudinal içte oblik ve ortada da sirküler kas tabakaları yer almaktadır. Pilorda orta tabaka oldukça kalınlaşarak pilor sfinkterini oluşturur. Kas tabakaları arasında Auerbach'ın myenterik pleksusu yer alır (9,10).

1.1.3.1.4 Tunika seroza

Mide ince bir seroza tabakasıyla örtülüdür (9). İnce ve gevşek bağ dokusundan oluşur (12).

1.1.4 Midenin fizyolojisi

Mide, yiyecekleri sindiren ve hormon salgılayan hem ekzokrin, hem de endokrin bir organdır. Yutulan yarı katı besinleri kimyasal olarak işler ve homojenize eder. Midenin kas duvarının kontraksiyonları ve mide mukozası tarafından salgılanan asit ve enzimler bu fonksiyona katılırlar (8). Midenin temel görevi ağızda başlayan karbonhidrat sindirimini devam ettirmek, mideye gelen besinlere asidik bir sıvı eklemek, bunları müköler aktiviteyle viskoz bir kitle haline dönüştürmek, pepsin ile proteinlerin sindirimini başlatmaktır. Mide ayrıca lingual lipazın da yardımı ile trigliseridleri sindiren bir gastrik lipaz üretir (9).

Mide otonom sinir sistemi ile innerve edilir. Sempatik, parasempatik ve enterik komponentlerden ibarettir. Sempatik sinir lifleri göğüs ve bel spinal kordundan, parasempatik sinir lifleri ise medulla oblongatanın vagal dorsal motor çekirdeğinden çıkarlar. Viseral duysal sinir lifleri ise spinal dorsal kök ganglionlarından köken alırlar (8, 9).

Midenin motor fonksiyonları besinlerin depolanması, gastrik salgılar ile karıştırılması ve emilimi için yavaş bir şekilde ince bağırsaklara boşaltılmasıdır (14).

Mide mukozasında iki önemli tip tübüler bez bulunur. Bunlar gastrik (okzintik) bezler ve pilorik bezlerdir. Gastrik bezler mide gövdesi ve fundusun iç yüzeyinde bulunurlar. Gastrik bezler hidroklorik asit, pepsinojen, intrensek faktör ve müküs salgırlar. Pilorik bezler ise bir miktar pepsinojen ve en önemlisi gastrin hormonunu salgırlar (14).

Mide bezlerini direkt olarak uyaran nörotransmitterler ve hormonların başlıcaları asetilkolin, gastrin ve histamindir. Bunların hepsi salgı hücreleri üzerindeki özgül reseptörlerine bağlanarak etkilerini gösterirler. Daha sonra reseptörler sekresyon olaylarını uyarırlar. Asetilkolin mide bezlerindeki sekretuar hücre tiplerinin tümünü sekresyon yönünde uyarır. Pariyetalardan hidroklorik asit, peptik hücrelerden pepsinojen ve müköz hücrelerden müküs salgılanır. Gastrin ve histamin pariyetal hücrelerden asit sekresyonunu uyarırken, diğer hücreler üzerine uyarıcı etkileri daha azdır (14).

Mide sekresyonuna yol açan sinirsel uyarıların yarısı vagusun dorsal motor nükleuslarından kaynaklanır ve vagus sinirleri yoluyla önce mide duvarındaki enterik sinir sistemine daha sonra da mide bezlerine gelirler (uzun vagovagal refleksler). Diğer yarısı ise, tamamen mide duvarındaki lokal reflekslerden kaynaklanır (kısa refleksler). Lokal enterik reflekslerden gelen sinirsel uyarılar mide sıvılarının salınımını direk olarak uyarmalarının yanısıra, antrum mukozasından gastrin hormonu salgılanmasına da yol açar. Histamin pariyetal hücrelerden asit salgısını uyarır ve salgılamada kofaktördür (14).

1.2 Gıda alımı ve metabolizma

1.2.1 Gıda alımının kısıtlanmasının metabolizmaya etkileri

Prenatal dönemde uygulanan kalori kısıtlaması ve beslenme bozukluğu, morfolojide ve sinirsel işlevlerde istenmeyen etkilere neden olur. Yetişkinlerde yapılan kalori kısıtlaması ise, uygulamanın niteliğine de bağlı olarak, genellikle bilinçsel işlevi artırıcı ve yaşlanmanın etkilerine karşı sinir sistemini koruyucudur (15).

Açlık, sindirim sisteminde morfolojik ve fonksiyonel bozukluklara neden olan bir stres faktörüdür. Tiroid hormonlarının seviyesi açlığın süresine bağlı olarak zamanla azalır ve bazal metabolizma hızı düşer. Açlıkta glukagon artar. Glukoneogenez açlığın üçüncü günü pik yapar. Açlık ve doyurulma sonrasında mide mukozasında yapısal değişikliklerin şekillendiği gösterilmiştir. Açlıkta epitel hücrelerinin yenilenmesi azalırken, doyurulma ile mitoz artar. Açlığın şiddetine bağlı olarak kan basıncı, glikoz seviyesi, vücut ağırlığı ve serum gastrin seviyeleri düşer. Midenin yüzey epitelinde parçalanma, lamina propriadaki bez lümenlerinde genişleme, epitelde dökülme; uzun dönemde ise lokal ülseratif alanlar izlenmiştir (16).

1.2.2 Gıda alımının artışının metabolizmaya etkileri

Obezite dünyada sıklığı giderek artan ve ciddi hastalıklar oluşturan önemli bir epidemik halk sağlığı sorunudur. Obezite genetik faktörlerden çok çevresel ve davranışsal olarak oluşur. Yağ oranı yüksek diyetler ve yetersiz fiziksel aktivite obeziteye neden olur. Tip II diabetes mellitus, safra kesesi taşları, hipertansiyon, kalp damar hastalıklarının sıklığı obezite ile orantılı olarak artar (17).

Obezite etiyolojisinde hipotalamik sendrom, Cushing sendromu, hipotiroidi, psödohipoparatiroidi, nutrisyonel dengesizlik, fiziksel inaktivite, postoperatif dönem, yaşlılık, hipogonadizm, büyüme hormonu eksikliği, hiperinsülinizm, genetik faktörler ve çevresel nedenler yer alır (15).

1.2.3 Adipoz doku

Adipoz doku yağın depolandığı yer olup, endokrin ve parakrin etkileri ile enerjinin düzenlenmesinde etkilidir (18–20). Vücutta glukoz eksikliğinde adipoz dokunun rolü uzun yıllardan beri bilinmektedir. Yağ dokusu kahverengi ve beyaz yağ dokusu olmak üzere ikiye ayrılır. Kahverengi yağ dokusu özellikle yenidoğanlarda bulunur. Beyaz yağ dokusu aktif bir dokudur ve genellikle bir organ olarak tanımlanır (18). Beyaz yağ dokusu adipozit, makrofaj, endotel hücreleri, fibroblastlar, hormonal ve inflamatuvar sistemler ile aktive olan hücrelerden oluşur.

Adipoz dokunun insan vücudunda bazı endokrin etkiler gibi birçok hayati görevleri vardır. Özellikle son yapılan çalışmalarda, kronik obezitede şekillenen metabolik ve inflamatuvar değişiklikler moleküler düzeyde daha iyi anlaşılmasına başlanmıştır. Bu çalışmalardan sonra birçok farklı adipokin (adiponektin) keşfedilmiştir. Adiponektinler, yağ dokusundan kaynaklandığı düşünülen hormon ailesinin genel adıdır. Vücudun farklı bölgelerindeki yağ dokularından farklı adiponektinler salgılanmaktadır. Adiponektinlerin metabolik ve inflamatuvar birçok görevleri vardır. İlk adiponektin olan leptin, 1994 yılında keşfedilmiştir. Leptin, visfatin, apelin, vaspın, hepsidin, semerin, omentin ve inflamatuvar sitokinler (TNF-alfa gibi), monositkemoatraktan protein (MCP-1) ve plazminojen aktivatör protein bu ailenin bilinen üyeleridir (21).

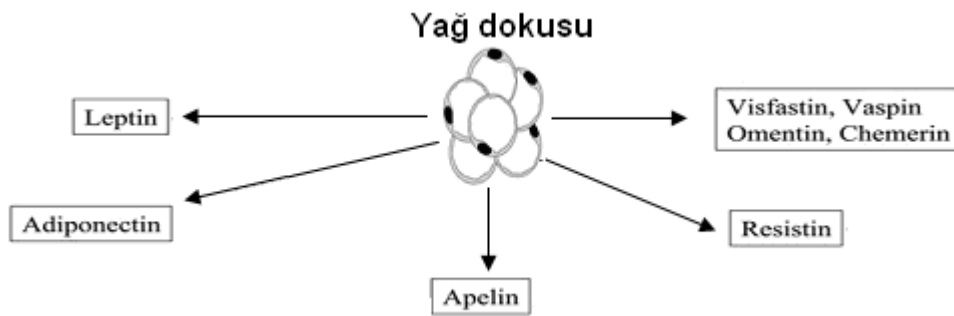
1.2.4 Adipoz doku artışının etkileri

Obezite multifaktöriyel bir hastalıktır. Genetik faktörler, enerji dengesindeki bozukluklar ve sosyal sebeplere bağlı olarak oluşur. Obezitede yağ dokusunun miktarı ve yağ hücrelerinin sayısı artar. Adipoz dokunun damarlanması yoğundur. Yağ dokusu arttıkça damarlanma ve mikrosirkülasyon artar. Adipoz doku tümörler gibi hızlı çoğalır ancak malign değildir. Tümörün büyümesi gibi anjiogeneze bağlı olarak büyür. Anjiogenez, yağ dokusunun oksijenlenmesi ve gerekli besinlerin geçişinin sağlanması için gereklidir. Anjiogenez obez veya kilolu insanlarda arttığı

gözlenmiştir. Bu tespiti dayanılarak obezitenin tedavisinde anjiogenez inhibitörlerinin kullanılabileceği düşünülmüştür. Anjiostatin, endostatin ve thalidomid ile yapılan çalışmalarda farelerin kilo kaybettiği belirlenmiştir. İmmünohistokimya (İHC) çalışmalarında, bu inhibitörlerin hayvan deneylerinde damarlanmayı azalttığı gösterilmiştir. Anjiogenez inhibitörleri adipöz dokuda vasküler gelişimi ve proliferasyon olan endotel hücrelerini azaltır, apoptotik hücreleri artırır. Bu da anjiogenez inhibitörlerinin adipöz dokudaki vasküler endotelde etkili olduğunu göstermektedir. Adipöz dokudaki damarların apoptozu özellikle kilo kaybında da gözlenmektedir. Ancak anjiogenez inhibitörü ilaçlar kesildiğinde, tekrar kilo artışı gözlenmiştir. Bunlarda adipöz doku incelendiğinde kan damarlarının artmış olduğu gösterilmiştir (22).

1.2.5 Adiponektinler

Adiponektinler adipöz dokudan salınan hormonlardır. Obezitenin komplikasyonları ile ilişkilidirler. Son yirmi yılda, iştahı, gıda alımını ve enerji homeostazisini regüle eden peptitler (leptin, apelin, ghrelin, obestatin ve oreksin) keşfedilmiştir. Apelin bu ailenin son bulunan üyelerinden birisidir. Bu peptitlerin adipöz doku dışında, sindirim sistemi ve pankreasta kendilerine özgü fonksiyonel reseptörleri bulunmuştur. En çok mideden salınmakla birlikte diğer sindirim sistemi dokularından da salınırlar. Bunlar sindirimi, iştahı enerji mekanizmasını farklı mekanizmalar ile kontrol ederler (23).



Şekil 3. Yağ dokusundan üretilen peptitler

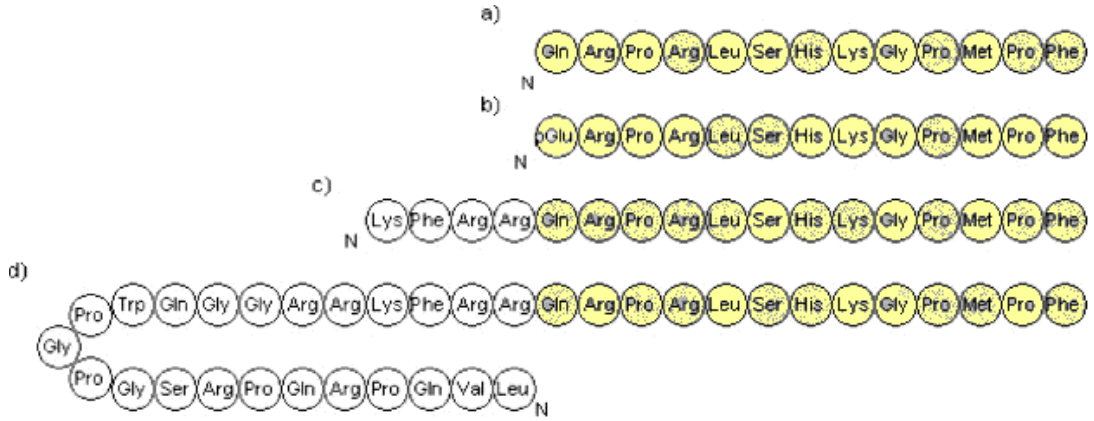
Leptin adipöz dokudan ve sindirim sisteminden salınır. Sindirim sisteminde reseptörleri olup, pankreas adacıklarında bulunan beta-hücrelerinde bulunmuştur. Gıda alımını inhibe eder. % 25'i mide fundusundaki esas hücrelerden salınır. İnsanda

gıda alımından 1–2 saat sonra artar ve 24 saatlik açlıktan sonra normal düzeylerin altına iner. Pankreastan kolesistokinin salgılatır. İnsülin sekresyonunu inhibe eder.

Ghrelinin özellikle mide mukozasından açlıkta salgınır. Aynı zamanda böbrek, immün sistem, plasenta, testis, hipofiz, akciğer, hipotalamusta bulunmuştur. Plazma insülin seviyelerini düzenler. Ghrelinin pankreas adacık hücrelerinde bulunduğu gösterilmiş olup, reseptörleri de burada bulunur. Obestatinin ghrelininle zıt etkileri vardır. Gıda ve sıvı alımını beyinde inhibe eder. Salınımı ghrelinin ve büyüme hormonu gibi ritmikdir; fakat orantılı değildir. Mide dokusu çıkarıldığında dolaşımdaki obestatin ve ghrelinin % 80'nin azaldığı gösterilmiştir. Orexin–A ve –B (hypocretin 1 ve 2) ilk kez hipotalamik nöronlarda bulunan merkezi sinir sistemi (MSS)'nde uyku-uyanıklık, davranış kalıplarının düzenlenmesi, alışkanlıklar, nöroendokrin düzenlemeler ve otonom sinir sisteminin düzenlenmesinde görevlidir. Mide de immünohistokimyasal olarak gösterilmiştir. Submukozal nöronlarda vazoaaktif intestinal peptid ile ilişkilidir. Bu da enterik nöronların aktivasyonunu, bağırsak hareketlerini, kan akımını, epitelyal emilimi ve salgıların düzenlenmesini sağlar. Uzamış açlıkta duodenumun submukozal nöronlarında orexin-A'nın artmış olduğu gösterilmiştir (23).

1.2.5.1 Apelin

Adiponektin ailesinin üyesi olan apelin ilk kez sığır mide mukozasında bulunmuştur (36). Leptin ve ghrelinin gibi iştahın düzenlenmesinde görevlidir. Dağılımı ve yoğunluğu dokulara göre değişir (23). Peptid yapılıdır ve tanımlanmış bir madde olup sıralı 77 aminoasitlik preproapelin öncü zincirlerinden meydana gelmiş bir moleküldür. Apelinin; apelin 12, 13, 36, 40 gibi çeşitleri vardır. Apelin 13, insanlarda ve kurbağalardaki en aktif formudur (24).



Şekil 4 Amino asit sequences of (a) apelin-13, (b) p[Glu] apelin-13, (c) apelin-17, and (d) apelin-36. Beyaz renkli kısımlar tüm amino asitler için ortak bölgeyi sarı renkli alanlar ise prepropeptid alanlar için tanımlayıcıdır **Matthias J. 2005** modifiye edilmiştir.

Yenidoğan sıçanlarda apelin reseptörü (APJ) ekspresyonu yetişkin sıçanlardan daha fazladır. İnsanlarda da mRNA (mesajcı ribonükleik asit) seviyeleri yenidoğanlarda daha fazladır (25, 26). Beyincik ve insan hipotalamus hücre çekirdeklerinde bulunmaktadır. Hipotalamusta apelin reseptörlerinin mRNA'sı yokken, paraventriküler (PVN) ve supranükleer çekirdeklerde (SON) apelin reseptörlerinin mRNA'sı tesbit edilmiştir (27). APJ ve apelin yağ dokusu hücrelerinde belirlenmiştir. IHC çalışmalarında apelin ve reseptörü olan APJ beyinde ve hipotalamusta gösterilmiştir (22). Son çalışmalarda APJ'nin apelin ile birlikte kurbağalarda ve perinatal fare retinasının gelişen damarlarında varlığı gösterilmiştir (22).

Apelin etkisini beyinde ve periferal yapılarda gösterir. Apelin MSS'nde hipofiz hormonları salınımının ve vücut sıvı ve enerji dengesinin düzenlenmesinde etkilidir. Apelinin periferik etkisi endokrin ve parakrindir (30).

Apelinin gıda alımı ve kilo artışına etkileri ile ilgili birkaç çalışma yapılmıştır. Beslenmiş ve aç bırakılmış olan sıçanların beyinin lateral ventriküllerine apelin-13 1-3 nm uzaklıktan verildikten 24 saat sonra seviyelerinin düştüğü gösterilmiştir. Apelin-12 enjeksiyonu yapılan sıçanlarda ise gündüz gıda alımının indüklediği, gece ise inhibe olduğu gösterilmiştir (27).

1.2.5.1.1 Apelinin fizyolojik etkileri

Son on yılda yapılan çalışmalarda, apelinin insan fizyolojisinde düzenleyici bir peptid olabileceği gösterilmiştir. Apelinin kardiyovasküler kan homostazisinde, hipotalamus–hipofiz aksında (paraventriküler nükleus), sindirim ve bağışıklık sisteminde, HIV’in MSS’ne yayılımında, kemik fizyolojisinde düzenleyici rolü vardır (28).

Kemirgenlerde yapılan deneylerde, apelinin sıvı alımını artırdığı, gıda alımını ise azalttığı gösterilmiştir (31).

Embriyolojik bir çalışmada, embriyonik sinyallerin iletiminde etkili olan bir serpentin G-proteini ve özellikle endotel, kalp ve damar duvarında bulunan bir reseptör (X-msr) ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu reseptör apelinin reseptörü olan APJ ile benzer özelliklere sahiptir (32, 33).

Apelinin gebelikte ilerleyici olarak arttığı ve doğuma yakın maksimum seviyelere ulaştığı gösterilmiştir. Apelinin laktasyonda süt ve kolostrumda yüksek olduğu bulunmuş olup (26, 34) emzirme dönemi uzadıkça apelin mRNA seviyelerinin progresif olarak düştüğü gösterilmiştir (34). Moleküler etkileri tam olarak bilinmemekle birlikte yenidoğanlarda süt alımını uyardığı düşünülmektedir(26).

1.2.5.1.2 Apelin peptitleri

Apelin öncelikle 77 amino astten oluşan pre–pro apelin olarak sentezlenir. APJ reseptörü ile N-terminal reseptör ligand reaksiyonu gerçekleşir. Apelin ekstraselüler asit ile aktive olurken, cAMP ile inhibe olur (35). İnsanda APJ genleri 11. kromozomun q12.1 bölgesinde haritalanmış ve sıçan, fare, maymun, balık ve kurbağalarda da aynı bölgede olduğu gösterilmiştir. Öncül pre–pro apelin peptidi uzunluklarına göre apelin–13,16,17,19 ve 36 parçalarına ayrılır ve biyolojik aktiviteleri için en az on iki tane c-terminal amino asit kalıntısı içermelidir (36, 37). Apelin–13 ve apelin -36 en etkin parçalarıdır (26, 38). Apelin 36’nın N-terminal kısmı APJ reseptörü ile ilişkili olan en etkin kısımdır (26).

Kısa alt birimlerinin (apelin–13) kardiyovasküler sistemde etkili olduğu, apelin-36’nın ise APJ pozitif hücrelerde HIV virusünün çoğalmasını inhibe ettiği bildirilmiştir. Apelin- 36 sınırlı biyolojik aktiviteye sahiptir. Bir öncül peptid gibi

davranır ve proteoliz, post- transyonel karboksilasyon ile biyolojik olarak daha aktif olan apelin-13 ile enzimlerin salınımlarını artırır (39, 40).

1.2.5.1.3 Apelin ve reseptörlerinin dağılımı

Apelin ilk olarak sığır midesinde keşfedilmiş olan biyoaktif 36 amino asitten oluşan bir peptiddir (36). Son zamanlarda yapılan önemli farmakolojik çalışmalarda, peptid ligandlar ile reseptörleri çeşitli dokularda gösterilmiştir (41).

Bilinen peptid ve nöropeptidler biyolojik aktivitelerini 7-transmembran G proteini ile ilişkili olan reseptörler (GPCRs) ile gerçekleştirirler. DNA izolasyon çalışmalarında birçok farklı ve ligandları bilinmeyen GPCRs'ler gösterilmiş ve bu reseptörlere genel olarak orphan GPCRs denilmiştir. Bunlar henüz tanımlanmamış hormon ve nöropeptidlerin özellikli reseptörüdürler (42).

Bir orphan GPCR olan APJ geni ilk kez O'Dowd ve arkadaşları(43) tarafından 1993 yılında gösterilmiştir. Apelinin reseptörü olan APJ 360 amino asitten oluşan bir protein ile kodlanır. APJ'nin anjiotensin II tip 1 (AT-1) reseptörüne benzediği polimeraz zincir reaksiyonunu (PCR) ile tespit edilmiştir. Bu reseptör 1998'e kadar orphan GPCR olarak nitelendirilmiştir. Tameto ve ark. (36) ise selektif ligandı olan apelin tanımlamışlardır. APJ'nin daha önceden keşfedilmiş olan ve embriyogenezde tesbit edilmiş olan X-msr ile de benzerlikleri gösterilmiştir (44). APJ ve AT-1 reseptörleri benzemelerine rağmen, apelin AT-1 reseptörüne bağlanmayıp sadece APJ'ne bağlanır (36, 43).

Yetişkin sıçanların dokularındaki APJ, endotelial prekürsör hücrelerin yüzeyinde bulunur (22). Yapılan ilk çalışmalarda, kalp, beyin, böbrekler ve akciğerlerde APJ ve apelinin varlığı gösterilmiştir (28).

APJ, guanin nükleotidi bağlayan protein (G proteini) ile hücre içi sinyalleri iletir. APJ'leri özellikle MSS'nde ve periferik dokularda, özellikle kalp, akciğer, midede bulunur (34). Ayrıca gebelikte, laktasyonda, kalbin iç yüzeyinde, damar duvarındaki düz kas hücrelerinde ve endotelinde, çizgili kas T tubullerinde, koroner arterlerde, sindirim sisteminde, böbrekte, adrenal bezde, uterusu, ovaryumda ve testiste APJ'lerin varlığı PCR kullanılarak gösterilmiştir (28, 37, 39, 45). Ayrıca İHC ile APJ immünreaktivitesi miyokardiyal hücrelere komşu olan endotelial hücreler, koroner arterler, endokardiyal endotelial hücreler, vasküler düz kas hücrelerinde

tespit edilmiştir. Ayrıca kardiyomiyositlerde ve t-tübüllerde de aynı bölgelerde gösterilmiştir (28).

APJ, çoğunlukla hücre membranlarında bulunur. Ayrıca serebellum nükleuslarında, hipotalamusta hücre çekirdeklerinde de bulunduğu belirtilmiştir (28). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, pre-pro apelinin birçok sıçan dokularında yaygın olarak bulunduğu gözlenmiştir. Sıçanlardaki pre-pro apelin mRNA'sının MSS, plasenta, böbrek, kalp, akciğerler ve meme dokusunda insanlardakine benzer şekilde bulunduğu belirtilmiştir (34, 38, 46). Ayrıca sıçanların miyokardında, endokardında, büyük damarların endotelinde, küçük ven ve arterlerde bulunduğu gösterilmiştir (47).

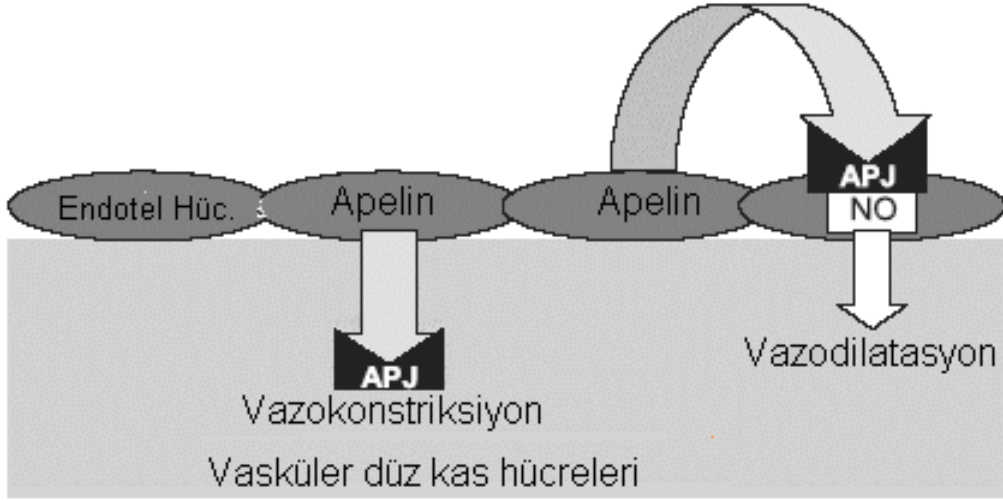
Apelin sinyallerinin iletiminde, APJ ile Gi-protein ilişkilidir. RAS (protoonkogenler) bağımsız olmasına rağmen Protein Kinaz C (PKC) bağımlıdır. Fosfolipaz C, Na-H (NHE) ve Na-Ca (NCX) değiş tokuşu ile apelinin etkileri inhibe olur ve böylece negatif inotropik etki sağlanır. PKC'nin aktivasyonu NHE'nin fosforilasyonu ile sonuçlanmaktadır. Buna bağlı olarak hücre içi alkalizasyon oluşur ve miyofibrillerin Ca duyarlılığını başlatır. Buna ek olarak NCX aktivasyonu daha sonra Ca'un hücre içine girişini inhibe eder (28).

Apelin damar endotelinde Weibel-Palade cisimciklerinde depolanmaz ve damarların uyarılmasına bağlı olarak salınır (39). Hasimoto ve arkadaşları (48) son zamanlarda yaptıkları bir çalışmada, apelinin vasküler düz kasta fosforilasyon ile düz kas kasılmasını başlattığını göstermişlerdir. PKC'nin inhibisyonu ile Na-H ve Na-Ca değiş tokuşunda belirgin azalma belirlenmiştir. Apelin adenilat siklaz yolağına ek olarak PKC bağımlı süreçte bir pertussis toksine duyarlı G protein yoluyla ekstrasellüler düzenleyici kinaz (ERKs) yolaklarını aktive eder (49).

Apelinin endotele bağımlı vasodilatasyon yaptığı gösterilmiştir. Apelin, endotel hücre proliferasyonunu iki mekanizmayla aktive etmektedir. Birincisi, hücre dışı düzenleyici kinazlar ve inozitol trifostat bağımlı aktivasyondur (50). İkinci mekanizma ise apelinin endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ile fosforilasyonudur(51).

Dolaşımdaki apelin sağlıklı endotel hücrelerinde bulunan reseptörlere bağlandığında nitrik oksit (NO) ile dolaylı olarak düz kas hücrelerinde gevşeme ve genişleme oluşturur. Bu etki eNOS ile gerçekleşir. Bu enzimin inhibisyonunda, NO

bağımlı damarlardaki vazodilatasyon inhibe olur (51, 53). Fonksiyonu bozuk endotel hücrelerinde ise NO salınımı olmaz. Apelin kastaki reseptörlere direk olarak bağlanır, Gi aktive olur ve kasta kasılma ve daralma şekillenir (28).



Şekil 5. Apelinin damar düz kas hücreleri üzerine etkileri (Matthias J. Kleinz 2004 ‘den modifiye edilmiştir)

Mononükleer hücrelerdeki APJ üretiminin mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. IL-2, periferik dokularda mononükleer hücrelerdeki APJ salınımını artırabilmektedir. Apelin fare dalağında antijen sunumunu baskılayarak sitokinlerin üretimini azaltır (28).

Apelin HIV Tip I enfeksiyonlarında CXCR4 ve CCR5 ile CD4 pozitif makrofajların içine girer. Apelin ve APJ’nin MSS’ndeki HIV’in CD4+ hücrelere girişinde önemli başka bir ko-reseptör olarak etkili olabileceği bildirilmiştir (39).

Apelin ve APJ embriyonal ve yetişkin dokulardan salınır ve vücuttaki dağılımı çok yaygındır. Gelişimin en erken evrelerinden yetişkin döneme kadar kalp-damar sisteminin gelişiminde etkindir. Embriyonal dönemde damar endotelinde, retina damarlarının tunika mediasında apelin reseptörleri gösterilmiştir (28, 39).

Apelin mRNA’larının yetişkin sıçanlarda en fazla midede bulunduğu gösterilmiştir (36). İleumda belirgin olarak daha fazla olmakla birlikte kolon, duodenum ve jejunumda ise daha az olduğu tesbit edilmiştir. İHC olarak yetişkin sıçan midesi boyandığında oksintik hücreler, mukozanın epitel hücrelerinin sitoplazmalarında belirgin boyanma gösterilmiştir. Gastrik bezlerin lümeninde apelin

tespit edilmiştir. PCR ile apelin mRNA'larına bakıldığında fetal ve postnatal dönemlerde, yetişkinlerden belirgin olarak daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Fetal dönemde apelinin varlığı yirminci günden sonra boyanarak tesbit edilmiştir (54).

Apelin- 36 kolesistokinin sekresyonunu arttırmaz, apelin -13, 19, 12 ise kolesistokinini uyarır. Bu, APJ reseptörünün ilişkili olduğu hücre içi sinyal sistemlerinden MAPK (mitojenlerin aktive ettikleri kinazlar) ve PKC ile ilişkilidir. Farmakolojik olarak apelinin kolesistokin üzerine olan etkilerini görmek için MAPK bloke edildiğinde apelinin uyardığı kolesistokinin düzeyi düşer. PKC inhibe edildiğinde ise apelinin uyardığı kolsitokinin seviyeleri etkilenmez. (54).

Apelin ve APJ, kardiyovasküler sistemde yaygın olarak bulunur ve kardiyovasküler homeostazisin düzenlenmesinde çok önemli etkileri vardır. Preklinik modellerde apelinin, venöz ve arteriyel dilatasyon oluşturduğu belirlenmiştir (58, 59). Vasküler endotel hücrelerde üretilen apelin ve APJ miktarının kalp krizinde oluşan lokal hipoksi ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Kalp krizinin derecelerine göre apelin-APJ yolağının farklı etkiler gösterdiğini bildiren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Apelin-APJ yolağının dekompanse kalp krizlerinde inhibe olduğu, fakat erken ve kompanse kalp krizlerinde ise aktivitesinin arttığı belirtilmiştir. Bazı çalışmalarda ise kalp krizlerinde dolaşımdaki apelin seviyelerinin değişmediği veya düştüğü gösterilmiştir (60).

Damarlardaki apelin reseptörleri kan basıncının düzenlenmesi ve kontrolünde önemlidir (61). Bu reseptörlerin uyarılması yeni damar gelişimini de uyarır (49). Apelinin ayrıca hipotansif etkisi vardır. Bu etkisi endotel yüzeyindeki APJ'lerin aktivasyonu ile oluşur. Bu aktivasyon arter düz kasını güçlü gevşeten NO'nin sentezi ile gerçekleşir. Farelerde anjiotensin II reseptörü ile apelinin reseptör geninin ilişkili olduğu belirtilmiştir. Ancak anjiotensin II kan basıncını artırırken, apelin kan basıncını düşürür(52).Apelinin anjiojenik etkileri endotel hücrelerinin proliferasyonu ve migrasyonu ile gerçekleşir. Bu proliferasyon ERKs, Akt ve p70S6 kinaz fosforilaz gibi hücre içi sinyal sistemleri ile oluşturulur (62).

APJ mRNA'sının Northern Blot analizi ile beyindeki dağılımının incelenmesinde, beyin birçok alanda bulunduğu tespit edilmiştir (63). APJ mRNA, MSS'nde hipokampus, caudat, putamen, üçüncü ve lateral ventriküller, korpus kallosum, hipotalamus, medulla oblongata ve spinal kordda sentezlenir (26, 63).

Spinal kordun beyaz cevherindeki APJ mRNA seviyelerinin gri cevherden daha fazla olduğu ve glial hücrelerin periferik kısımlarında yoğun olarak bulunduğu gösterilmiştir (45).

Beyindeki APJ reseptörünün mRNA dağılımının, dopamin D4 reseptörünün dağılımına benzer olduğu bildirilmiştir. Bu iki reseptörün beyinde aynı bölgedeki nöronlar ve diğer glial hücrelerde sentezlendiği öne sürülmüştür (63, 36).

Apelin, MSS'nde paraventriküler nükleus, preoptik bölge, perivenriküler hipotalamus, ventromedial ve dorsomedial nükleuslardaki hücre gövdeleri ve fibrillerde özellikle PVN, SON, median eminens hücreleri ve arka hipofizde gösterilmiştir (64).

Hipofizdeki apelin, etkilerini vazopressin ile gerçekleştirir. Birçok çalışmada apelin ve APJ'nin PVN ve SON'da vazopressin salgılayan nöronlarda bulunduğu tesbit edilmiştir (65, 66). Vazopressin ve apelin sıvı homeostazisinin düzenlenmesinde etkilidir. Apelin, vazopressin salgılayan nöronları etkileyerek vazopressinin etkilerini düzenler (64).

Sıçan APJ reseptörünün insandaki homologunun B78/APJ olduğu bildirilmiştir. Bu reseptörün endojen ligandı olan apelin beyinde ve birçok dokuda yaygın olarak gösterilmiştir (45).

İn situ hibridizasyon ve İHC ile sıçanlarda yapılan çalışmalarda, apelin ve reseptörünün vücutta en fazla akciğerde olduğu ve akciğerde parankimde yoğunlaştığı gösterilmiştir. Ancak bronşlar, bronşoller ve pulmoner damarlarda gösterilememiştir. İnsanlarda ise APJ mRNA'sı en fazla dalakta bulunmaktadır (26).

İHC ile APJ'nin böbreklerde özellikle kortekste yer aldığı, glomerüllerin % 40'ında bulunduğu, distal ve proksimal tübüllerde ise bulunmadığı gözlenmiştir. Medullanın iç kısımlarındaki varlığı da tespit edilmiştir (66). Hus-Citharel ve arkadaşları (67) da apelin mRNA seviyelerinin glomerüllerin endotelinde ve vasküler düz kas hücrelerinde yüksek olduğunu, V2 (vazopressin) reseptörü içeren toplayıcı tübüllerde ise az miktarda apelin mRNA'sı bulunduğunu göstermişlerdir. Laktasyondaki sıçanlara İV olarak apelin-17 uygulandığında, efferent ve afferent

arteriyollerdeki anjiotensin II reseptörlerini NO sentezi ile inhibe ederek, diürezis uyardığı belirlenmiştir.

Shirasuna ve arkadaşları (68), apelin ve reseptörünü östrus siklusundaki sığırcorpus luteumunda göstermişlerdir. Aynı çalışmada, apelin ve APJ intraluteal arteriollerin düz kas tabakasında immünohistokimyasal olarak gösterilmiştir. Apelinin hücreler arası bağ dokusunun gelişiminde etkileri vardır. Sığırcorpus luteumunun gelişimi, gerilemesi, fonksiyonlarının devamı ile apelinin bu etkileri ilişkili bulunmuştur (68). Korpus luteumun hızlı gelişimi için aktif yeni damar oluşumu gereklidir. Lokal büyüme faktörleri (VEGF, FGF)'nin artışı endotel hücrelerinde, apelin ve reseptörü olan APJ'ni artırır. Apelin mRNA'sının menstruel siklusun erken dönemlerinde ve luteal fazın ortasında yüksek olduğu ve bu yüksekliğin corpus luteumun hızlı gelişimi ile orantılı olduğu gösterilmiştir (69).

Apelinin yağ dokusu, testis ve kemik dokusundaki varlığı da gösterilmiştir (38). Apelin yağ dokusundan üretilir ve salınır. Apelin ve APJ insanlarda osteoblastların proliferasyonunu uyarmasına karşın, osteoblastların farklılaşmasına etkileri yoktur. Apelinin mitojenik etkilerinin olduğu da düşünülmektedir (70).

1.2.5.1.4 Apelinin etkileri

Adipoz doku adiponektinler adı verilen birçok faktörü salgılar ve bunlar ile insülin duyarlılığını ve metabolizmasını düzenler (71). Obezitede, adipoz doku adiponektinleri uyarır ve bunlar da obeziteye bağlı olarak şekillenen tip II diyabet veya kardiyovasküler hastalıkların oluşmasına neden olur (72). Adipositler adiponektin ailesinin bir üyesi olan biyoaktif apelinin sentezleyip sekrete ederler (73). Apelin yağ dokusu dışında diğer dokularda ve kan dolaşımında da bulunur (74, 75).

Apelinin, etkileri tam olarak bilinmemekle birlikte reseptörü ve ligandı birçok dokuda aynı anda bulunmaktadır ve etkileri dokulara göre değişebilmektedir (74). Apelin ve visfatin birbirlerine benzeyen adipoz doku hormonları olup, obezitede üretimleri artar ve vücutta olumlu etkileri vardır (36). Apelinin glukoz homeostazisinin düzenlenmesi ve obezite ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür (73). Son zamanlarda apelin salınımının insülin ile düzenlendiği belirtilmiştir. Apelin, insülin rezistansını kahverengi yağ dokusundan salınan eşleşmemiş proteinler ile düzenler (21). Bazı çalışmalarda, apelinin diyabetiklerde yüksek olduğu (76), başka

bir çalışmada ise yeni tanımlanmış tip II diyabetiklerde serum seviyelerinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu gösterilmiştir (77).

Obez deney hayvanları ve obez insanlarda plazma apelin düzeyinin yüksek olduğu bildirilmiştir (73, 79). İnsülinin adipoz dokudan apelin sekresyonunu uyardığı da gösterilmiştir (73). Bununla beraber, apelin infüzyonu yapılan farelerde, pankreasta normal şartlarda hiperglisemiye yanıt olarak oluşan insülin salınımının meydana gelmediği gösterilmiştir (79). Bütün bunlar, apelin-hiperglisemi/hiperinsülinemi ilişkisinin mekanizmasının tahmin edilenden daha karmaşık olabileceğine işaret etmektedir (80).

1.2.5.1.4.1 Apelinin anjiogenez ve yağ dokusu oluşumuna etkileri

Adipoz doku damardan zengindir. Yağ dokusu arttıkça damarlanma artar. Adipoz doku hücreleri hızlı çoğalır. Yağ dokusu anjiogenez ile büyür. Anjiogenez yağ dokusunun oksijenlenmesi ve gerekli besinlerin geçişini sağlanması için gereklidir. Son zamanlarda, endotel hücrelerindeki apelinin preadipositlerin gelişimini artırarak matür yağ dokusu artışına neden olabileceği belirtilmiştir. Bu iletişim parakrin, ekstrasellüler içerikler, direkt hücre etkileşimleri ile sağlanır. Apelinin damarlanmayı uyaran bir faktör olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir. Apelinin vaskularizasyona etkilerini göstermek için model olarak tavuk koryoallontoyik membranı kullanılmıştır. VEGF tedavisi ile oluşan damarlanma artışının, apelin verildiğinde yağ dokusunda oluşan damarlanmaya yakın olduğu gözlenmiştir. Farelerle yapılan çalışmalarda apelinin deneysel olarak oluşturulmuş olan tümörlerin büyümesini ve vaskularizasyonu artırdığı gösterilmiştir. Apelin geni diğer anjiogenik faktörler gibi hipoksizde aktive olmaktadır. Kurbağalarda embriyonik dönemde apelin salınımı inhibe edildiğinde vasküler yapıların oluşumunun belirgin olarak azaldığı gösterilmiştir. Bu çalışmalar apelinin normal ve patolojik vasküler yapıların gelişimindeki önemini göstermektedir. Apelin salınımı inhibe edildiğinde anjiogenik etkileri kaybolmuştur. Apelinin adipoz dokudaki parakrin etkileri araştırılmamıştır. Pro-anjiogenik etki için adipoz dokudan salınan apelin etkilidir ve damarlanmayı artırarak adipoz dokunun büyüme ve beslenmesinde etkili olabilir(22).

1.2.5.1.4.2 Apelinin beyin ve gıda alımına etkileri

Apelinin beyinde birçok etkisinin olduğu gösterilmiştir. Beslenmiş ve aç bırakılmış olan sıçanların beyin lateral ventriküllerine apelin-13'den 1-3 nm

uzaklıkta verildikten 24 h sonra seviyelerinin düştüğü gösterilmiştir. Apelin-12 10 nmden ejekte edildiğinde ise gündüz gıda alımını indüklediği, gece ise inhibe ettiği gösterilmiştir. Apelin-13 30 nm verildiğinde gıda alımı üzerine etkilerinin olmadığı veya çok az olduğu ancak sıvı alımını, plazma ACTH, kortikosteron seviyelerini artırdığı, prolaktin, FSH ve LH seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir. 10 gün boyunca üçüncü ventriküle apelin-13 verildiğinde yiyecek alımı ve kilo artışı gösterilmiştir. Apeline bağlı kilo artışı, MSS (hipofiz hormonları) ve sindirim sisteminde kompleks etkiler ile oluşur. Periferik apelinin kilo artışı ve gıda alımı ile ilgili olarak bazı çalışmalar yapılmıştır. 24 saat doyurulmuş ve aç bırakılmış sıçanlara tek doz 10 nm apelinin İV (intra venöz) olarak verildiğinde değişiklik olmadığı gözlenmiştir. İP(intraperitoneal) olarak 0,1 mikromol apelin/kg/gün 14 gün uygulandığında gıda alımı üzerine etkisi olmadığı; ancak yağ dokusunun, serum insülin ve TG (trigliserid) seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir. Adipoz dokudan apelinin salınımı gıda alımı ve açlık ile düzenlenir. TNF- α , GH (büyüme hormonu), insülin ve glukokortikoidler de apelinin adipozitlerden salınımını etkileyen diğer hormonlardır (22).

1.2.5.1.4.3 Apelinin gastrointestinal sisteme etkileri

Apelinin gastrointestinal fonksiyonları vardır. Apelin ilk olarak sığır mide dokusunda keşfedilmiştir. Sıçan, fare, inek ve insanların apelin cDNA'ları tanımlanmıştır. Apelin gastrointestinal kanal boyunca salınır (36).

Apelin mide dokusunda yüksek miktarda bulunur ve CCK (kolesistokinin) sekresyonunu artırır. CCK sekresyonunu artıran birçok madde bulunmuştur. CCK releasing faktör, diazepam binding faktör, leptin ve son olarak apelin bunlardan bazılarıdır. Leptin ve apelin mide lümenine salınır ve intestinal lümeninden geçerek CCK sekresyonunu artırır (81, 82).

İmmünohistokimyasal çalışmalarda midenin mukoza hücrelerinde apelin içeren hücreler gösterilmiştir. Sıçan mide epitelinin okzintik hücrelerinde belirgin apelin pozitifliği tespit edilmiştir. Apelin pozitif hücreler mide bezlerinin boyun bölgesinde de gösterilmiştir. Ancak aynı bölgedeki müköz boyun hücrelerinde apelin boyanmıştır. İstmusun üst kısımlarındaki pariyetal hücrelerde apelin için boyanma olmuştur. Mide kas tabakasında İHC ile boyanmada apelin immunoreaktivitesi gözlenmemiştir. (81, 82).

Apelinin midenin ekzokrin ve endokrin hücrelerinde bulunduğu gösterilmiştir. Apelin müköz boyun, pariyetal, esas hücrelerde histolojik olarak gösterilmiştir. Gastrik bezlerin boyun bölgesindeki pariyetal hücrelerde apelin daha az gösterilmiştir; ancak bu bezlerin üst kısımlarında da boyanma tesbit edilmiştir (81, 82). Apelinin boyanması ile proton pompalarının boyanma oranlarının aynı olmadığı gözlenmiştir. Bu da apelinin H⁺ iyonu ile birlikte salınmadığını gösterir. Bazalde apelin boyanmasının daha güçlü olduğu ancak apelin içeren hücrelerin ise daha az olduğu gösterilmiştir. Bazalde çoğunlukla esas hücreler bulunur. Bu da apelin pozitif hücrelerin çoğunun esas hücre olduğunu düşündürmektedir ve bağırsak lümenindeki apelin immünreaktivitesi immunolojik testler ile belirlenmiştir (82, 83).

Song ve ark.(84) yaptıkları bir çalışmada, hipoksinin gastrointestinal sistemde apelin sekresyonuna etkilerini araştırmışlardır. Dokuda oluşan hipoksiyle indüklenen faktör (HIF) artar ve apelin sekresyonunu uyarır. İntestinal inflamasyon ve akut hipoksida hepatik, mide, duodenal ve kolonik apelin mRNA'yı arttırdığı tesbit edilmiştir. Hipoksi epitel proliferasyonunu azaltır. Hipoksida apelin tedavisinin kolonda hücre proliferasyonunu arttırdığı in vivo olarak gösterilmiştir. Hipoksi olmadan apelin tedavisinin epitel proliferasyonuna etkisi olmadığı gözlenmiştir.

İnsanlarda karaciğer hücrelerinde apelin ve apelin reseptörleri daha yoğunken, kronik fibrozis ve anjiogenez bulguları olan karaciğer parankiminde ise mRNA seviyelerinin 300 kat artmış olduğu gösterilmiştir. Fibrozisli insanlara apelin reseptör antagonistleri uygulandığında, fibrozis ve anjiogenez azalırken, kan apelin seviyelerinin yükseldiği gösterilmiştir (85).

Sunter ve arkadaşları (86), bir gün aç bırakılmış veya beslenmiş sıçanlara 10 nmol apelin-13 IV olarak verildiğinde gıda alımı etkilemezken, 1-3 nmol apelin-13 ICV (intra serebrovenriküler) enjeksiyonu yaptıklarında gıda alımının azaldığını tespit etmişlerdir.

1.2.5.1.4.4 Apelinin kardiovasküler sisteme etkileri

Apelin, vasküler stromal hücrelerde ve kalpte bulunur. İnsülin ve obezite ile seviyeleri artar. Kardiyak apelin seviyeleri anjiotensin II ile düşer ve anjiotensin tip I reseptör blokerleri ile hayvan modellerindeki kalp krizini düzenler. İskemik kardiyomyopati ve hipoksida apelin seviyeleri yükselir. Atriyal fibrilasyon ve kronik kalp hastalıklarının düşük apelin seviyeleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Apelinin

hemodinami üzerine pozitif etkileri vardır. Apelinin normal ve hasarlı kalpte ve kardiomyositlerde inotropik etkileri gösterilmiştir (21).

Kısa süre önce yayımlanmış olan bir çalışmada izole hiperkolesterolemili olgularda sağlıklı kontrol grubu ile kıyaslandığında kan apelin düzeyinin düşük olduğu ortaya çıkmıştır (80).

1.3 Monosodyum glutamat

L- glutamat memelilerin MSS'nde bulunan eksitatör bir nöropeptiddir. Glutamat beyinde ve bazı özel nöron gruplarında yüksek seviyelerde bulunur. Endojen L- glutamat Ca bağımsız olarak depolarizasyon ile sinir sisteminde aktivasyon oluşturur (87).

İnsanlar ve kemirici hayvanların genleri benzediği için insanları etkileyen durumlar araştırılırken hayvan deneylerinde model olarak kemirici hayvanlar tercih edilir. Hayvanlarda obezite, hormonlar, diyet, genetik değişiklikler ve kimyasallar monosodyum glutamat (MSG) ile oluşturulur. MSG, hipotalamus çekirdeklerinde oluşturduğu hasara bağlı olarak iştah artırır. Bu etki en çok yeni doğanda gözlenir, deney hayvanlarında obesite oluşumu için monosodyum glutamat, elektriksel hasar, overlerin çıkarılması ve yüksek kalorili diyet gibi yöntemler kullanılır (88).

Monosodyumglutamat yenidoğan sıçanlarda obesiteyi nöronal hasar, lipid ve glukoz metabolizmasını bozarak oluşturur. Hiperglisemi yaparak insülin salınımını ve rezistansını artırır. İnsülin yağların depolanmasını artırır. Hiperleptinemi yapar. Bu metabolik etkiler ve arkuat nükleustaki hasar, obezite oluşumuna sebep olur (89).

Beyinde hipotalamus lateral bölgesi beslenme ve nükleus tractus solitarius (NTS) arasındaki nöron bağlantıları ile yeme-doyma döngüsü kontrol edilir. NPY (neuropeptid Y) ve agoutirelated (AgRP) iştah artışında görevli olan maddelerdir. Sinyaller arkuat nükleustan hipotalamustaki paraventricüler nükleusa iletilir. Son olarak sinyaller lateral hipotalamik alana iletilir. Monosodyumglutamat bu döngüde aktivatör etki oluşturur ve memelilerde iştahı artırarak obeziteye neden olur (90).

Yenidoğan sıçanlara MSG verildiğinde %80-90'ının arkuat nükleus nöronlarında harabiyet oluşmuştur. Birçok nöroendokrin ve metabolik bozukluklara sebep olduğu ve büyümeyi durdurduğu bildirilmiştir. Monosodyumglutamat'ın metabolik etkileri sekonder olarak artan kortizole bağlıdır. Monosodyumglutamat ile

oluşturulmuş olan obezitede özellikle karın bölgesinde yağ dokusunun daha fazla olduğu gözlenmiştir (91).

Kemiricilere yenidoğan döneminde gün aşırı olarak monosodyumglutamat verildiğinde arkuat nükleusta ve retinada belirgin harabiyet oluşmuştur. MSG günlük gıda alım ritmini bozmuştur; deneklerin gece beslenmeleri artmıştır (92).

Nagata ve arkadaşları (93), deneysel obezite ve tip II diyabet arasındaki ilişkiyi araştırdıkları bir çalışmada, farelere MSG enjeksiyonu yaparak 29. haftada özellikle erkek farelerde % 70 glikozüri ve pankreas adacıklarında hipertrofi tesbit etmişlerdir. Ancak dişi ve erkek sıçanlarda polifaji gözlenmemiştir. 29. haftada özellikle MSG grubundaki yetişkin erkek farelerde glukoz, insülin, total kolesterol ve trigliseritler oranının kontrol grubundan daha yüksek olduğu ölçülmüştür. 54. haftada ise belirgin obezite ve artmış kan glukoz, insülin ve total kolesterol konsantrasyonları tesbit edilmiştir. Bu bulgular MSG'nin deneysel polifaji olmadan obez tip II diyabeti oluşturmak için kullanılabileceğini göstermektedir (93).

Sindirim sisteminde enzimlerin fonksiyonlarını etkiler. Duodenumdaki alkalen fosfatazi aktive eder. Yenidoğan sıçanlarda 2 mg intraperitoneal olarak MSG ile obezite oluşturulup, sıçanlar aç bırakılıp tekrar doyurulduğunda; duodenum enterisitlerindeki ve yağ dokularındaki alkalen fosfataz düzeylerinin artmış olduğu gözlenmiştir (94).

MSG yenidoğan sıçanlarda obeziteyi nöronal hasar, lipid ve glukoz metabolizmasını bozarak oluşturur. MSG hiperglisemi oluşturarak insülin salınımını ve rezistansını artırır. İnsülin yağların depolanmasını artırır, hiperleptinemi yapar. Bu metabolik etkiler ve arkuat nükleusta oluşan hasar obezite oluşumuna sebep olur (95).

Bu çalışmada, gıda kısıtlamasının, gıda alımının arttırılmasının ve MSG uygulanmasının mide dokusunda oluşturduğu yapısal değişiklikler ile apelin immünreaktivitesi üzerine olan etkilerinin belirlenmesi amaçlandı.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1 Deney hayvanları ve beslenmeleri

Bu çalışmada, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi (FÜDAM)'dan temin edildi. Çalışmamızda 13-16 gr ağırlığında 24 adet 10 günlük Wistar-Albino türü erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar dört gruba ayrıldı. 21 °C'deki oda ısısında 12 saat ışık (7:00-19:00) 12 saat karanlıkta (19:00-7:00) tutulan sıçanlar özel olarak yaptırılan kafeslerde tutuldu. Çalışmada kullanılan tüm sıçanlar 20 günlük olana kadar 10 gün süreyle anne sütü ile beslendiler. Çalışmanın 10. gününden sonra annelerinden ayrı kafeslerde yem verildi. Yemler, çelik kaplarda; su, cam biberonlarda (normal çeşme suyu) verildi. Hayvan yemleri Elazığ Yem Sanayi A.Ş. Yem Fabrikası'nda hazırlandı. Yemlerin terkibi Tablo 1'de gösterildi.

Tablo 1. Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin terkibi.

Buğday (%)	15
Mısır (%)	10
Arpa (%)	27
Kepek (%)	8
Soya (%)	29,4
Balık Unu (%)	8
Tuz (%)	0,6
Kavimix VM 23-Z (%) *	0,2
Methionin (%)	0,2
DCP (%)**	1,6

* 1 gramında: 4800 IU A, 960 IU D₃, 12 mg E, 0,8 mg K₃, 0,8 mg B₁, 2,4 mg B₂, 1,2 mg B₆, 0.006 mg B₁₂ vitaminleri, 16 mg Nicotin amid, 3,2 mg Cal. D. Panth. 0,32 mg Folic acid, 0,02 mg D-Biotin, 50 mg Cholin Chloride, 20 mg Zinc Bacitracin, 32 mg Mn, 16 mg Fe, 24 mg Zn, 2 mg Cu, 0,8 mg I, 0,2 mg Co, 0.06 mg Se, 4 mg Antioksidan ve 200 mg Ca bulunur.

** % 18 fosfor, %25 kalsiyum, %0,2 flor'dan oluşur.

2.2 Deney gruplarının oluşturulması ve deneysel uygulamalar

Çalışmada kullanılan toplam 24 adet sıçan ilk tartımları yapıp, ağırlıkları kaydedildikten sonra eşit sayıda 4 gruba ayrıldı. Hayvanlar kafeslere tek tek yerleştirildi ve kafeslerde sürekli suları bulunduruldu.

- Grup I** : Kontrol grubu
Grup II : Gıda alımı arttırılan grup kontrol grubu
Grup III : Gıda alımı azaltılan grup
Grup IV : Monosodyumglumat (MSG) (Sigma) enjeksiyonu yapılan grup

Grup I: Bu gruba deney süresince hiçbir uygulama yapılmadı. Çalışmanın başlangıcında ve sonunda düzenli bir şekilde ağırlık değişimleri kaydedildi. Yem günlük olarak 5 gr /100 gram vücut ağırlığı olacak şekilde verildi.

Grup II: Bu gruba deney süresince hiçbir uygulama yapılmadı. Çalışmanın başlangıcında ve sonunda düzenli bir şekilde ağırlık değişimleri kaydedildi. Yem günlük olarak 12 gr /100 gram vücut ağırlığı olacak şekilde verildi.

Grup III: Bu gruba deney süresince hiçbir uygulama yapılmadı. Çalışmanın başlangıcında ve sonunda düzenli bir şekilde ağırlık değişimleri kaydedildi. Yem günlük olarak 2 gr /100 gram vücut ağırlığı olacak şekilde verildi.

Grup IV: Bu gruptaki sıçanlara çalışmanın başlangıcından sonuna kadar intraperitoneal olarak 4 mg /kg vücut ağırlığı dozunda MSG gün aşırı verilmiştir.

2.3 Örneklerin alınması

Tüm gruplardaki sıçanlar deney sonunda tartıldıktan sonra, deneyin 40. gününün sonunda ketamin (75 mg/kg) + xylazine (10 mg/kg) anestezisi i.p uygulanarak dekapite edildiler. Dekapitasyonun ardından sıçanların mide dokuları hızla çıkarıldı. Bütün hayvanların mideleri serum fizyolojik ile yıkanıp mide içeriği temizlendikten sonra mide dokuları %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi.

2.4 Histolojik çalışma

Her gruptan alınan mide dokuları %10'luk formaldehit tespit solüsyonunda 24 saat süresince tespit edildikten sonra musluk suyu altında yıkamaya alındı. Musluk suyunda 24 saat yıkanan dokular daha sonra rutin histolojik takip serilerinden geçirildi (Tablo 2). Daha sonra dokular parafin bloklara gömüldü. Bu parafin bloklardan 5–6 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler Hematoksilen-Eozin (H&E), Masson Trikrom ve PAS metodları ile boyandı. Hazırlanan preparatlar araştırma fotomikroskopunda (Olympus BH–2) incelenip fotoğraflandı.

Tablo 2. Histolojik takip serileri

Sıra	İşlem	Süresi
1	%70 Alkol	2 saat
2	%80 Alkol	1,5 saat
3	%96 Alkol I	30 dakika
4	%96 Alkol II	30 dakika
5	%100 Alkol I	30 dakika
6	%100 Alkol II	30 dakika
7	Alkol + Xylol	15 dakika
8	Xylol I	15 dakika
9	Xylol II	15 dakika
10	Yumuşak parafin + Xylol	45 dakika
11	Yumuşak parafin	1 saat
12	Yumuşak parafin + Sert parafin	1,5 saat
13	Sert parafin	3 saat
14	Gömme	

2.5 İmmünohistokimyasal çalışma

Çalışmamızda mide dokusunda apelin immünreaktivitesinin belirlenmesi için Avidin-Biotin-Peroksidaz tekniği kontrol ve deney gruplarından alınan sıçan midelerinden hazırlanan kesitlerde apelin-36, (fare-sıçan monoclonal antikoro kullanıma hazır. katalog no: H-057-28 phoenix pharmaceuticals. İnc Burlingame) parafin bloklardan 5–6 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Bütün kesitlere aşağıdaki prosedürün aynısı uygulandı. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. Kesitler sitrat fosfat tamponunda pH: 6 'da mikrodafırında 7+5 kaynatıldıktan sonra oda ısısında soğutuldu. PBS (fosfat buffer saline) ile yıkayıp rehidrate edildi. Endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için %3 lük H₂O₂ (katalog no: 85-9043 İnvitrogen Corperation Caramillo, USA) ile 10 dakika muamele edildi. Zemin boyasını engellemek için 5 dakika bloking solüsyonu (katalog no: 85-9043 İnvitrogen Corperation Caramillo, USA) ile muamele edildi. Yıkama yapılmadan poliklonal apelin primer antikoru ile 1 saat inkübe edildi. PBS ile yıkandı ve 30 dakika biotinli sekonder antikor (Keçe antifare, sıçan IgG biyotinli katalog no: 85-9043 İnvitrogen Corperation Caramillo,

USA) ile inkübasyon yapıp PBS ile yıkandı. HRP- streptoavidin (katalog no: 85-9043 İnvitrogen Corperation Caramillo, USA) ile 30 dakika muamele edildi. PBS ile yıkayıp DAB (katalog no: 85-9043 İnvitrogen Corperation Caramillo, USA) ile boyandı. Son olarak haris hematoksilen ile zıt boyama yapıp dereceli etanol serilerinden geçirilip xylol'den geçirilip entellan ile kapatıldı. Negatif kontrol için hazırlanan dokularda primer antikor yerine phosphate buffered saline kullanıldı. Diğer basamaklar aynı şekilde uygulandı. Phosphate buffered saline ve distile sudan geçirilen dokular uygun kapatma solusyonu ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskopunda (Olympus BH-2) incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. Boyama metodu Tablo 3'te ayrıntılı olarak verildi.

Tablo 3. İmmünohistokimyasal boyama prosedürü

Sıra	İşlem	
1	Xylol I	10 dakika
2	Xylol II	10 dakika
3	Xylol III	10 dakika
4	% 100 Alkol	10 dakika
5	% 96 Alkol	10 dakika
6	% 80 Alkol	10 dakika
7	Distile su	5 dakika
8	Mikrodalga	7+5 dakika
9	Oda ısısında soğutma	20 dakika
10	PBS (Phosphate Buffered Saline)	3X5 dakika
11	H ₂ O ₂	10 dakika
12	PBS	3X5 dakika
13	Normal serum	60 dakika
14	Primer antikor	+4°C bir gece
15	PBS	3X5 dakika
16	Sekonder antikor	30 dakika
17	PBS	3X5 dakika
18	Strepavidin HRP (Horse radish peroksidaz)	20 dakika
19	PBS	3X5 dakika
20	Dab kromogen	5 dakika
21	Distile su	5 dakika
22	Zıt boya olarak Haris hematoksilen	10 saniye
23	Akarsuda	5 dakika
24	Özel kapatma maddesi ile kapatma	

İmmünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesinde boyanmanın şiddeti esas alındı. Sitoplazmik immün boyanmanın şiddeti 0'dan +4'e kadar sayı ile semikantitatif olarak skorlandı (Tablo 4).

Tablo 4. İmmünohistokimyasal boyanma yaygınlığının derecesi.

Derece	Anlamı
0	Yok
+1	Çok az
+2	Az
+3	Orta
+4	Şiddetli

2.6 İstatistiksel değerlendirme

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 12,0 programı kullanıldı. Bütün değerler; ortalama, standard hata (AO+/-SH) olarak belirlendi. Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 12,0 programı kullanıldı. Bütün değerler; ortalama, standard hata (AO+/-SH) olarak belirlendi. İstatistiksel karşılaştırmalar tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Gruplar arası farkın ortaya konulmasında post hoc test olarak Tukey HSD testi kullanıldı. $P < 0.05$ istatistiksel anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1 Vücut ağırlıkları

Tüm gruplardaki hayvanların başlangıç ve deney sonu vücut ağırlıklarının aritmetik ortalamaları, standart hataları ile başlangıç ve son değerler arasındaki istatistiksel farklılıklar Tablo 5’de gösterildi.

Tablo 5. Çalışmada kullanılan sıçanların başlangıç ve deney sonu vücut ağırlıkları kontrol grubu ile gıda alımı arttırılan, azaltılan ve MSG uygulanan gruplar arasında istatistiksel analiz için Tukey HSD testi kullanılmıştır $p < 0.001^*$.

	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
Başlangıç vücut ağırlığı (gr)	14,6667 ±	14,5167 ±	13,8333 ±	14,75 ±
Deney sonu vücut ağırlığı	0,98319	0,99079	1,12546	8,2158
Başlangıç vücut ağırlığı	80,6667 ±	100,666 ±	49,1667 ±	119,9167 ±
Deney sonu vücut ağırlığı	1,77951*	0,98319*	1,21106*	7,82571*

3.2 Histolojik bulgular

Kontrol grubuna ait mide dokusundan alınan mukoza kesitleri incelendiğinde; mukozanın epiteli, lamina propriası ve muskularis mukozası normal yapıda izlendi. Kontrol grubunda, lamina propriada pariyetal ve esas hücreler normal yapıda gözlemlendi. Gastrik bezlerde çok sayıda pariyetal hücreler, geniş yuvarlak eozinofilik sitoplazmaları, merkezi yerleşimli yuvarlak tek çekirdekleri ile kolaylıkla ayırt edildi. Kübikten prizmatikçe değişen bazofilik sitoplazmalı, yuvarlak çekirdekli esas hücreler ise genellikle bezlerin bazal bölümünde gözlemlendi (Resim 1, 2). Kontrol grubunda mide dokusundan alınan kesitler PAS boyası ile boyandığında, yüzey ve boyun mukus hücrelerinin PAS (+) boyandığı ve mide mukozasının normal görünümlü olduğu belirlendi (Resim 3). H&E boyanmasında olduğu gibi pariyetal ve esas hücreler normal yapıda gözlemlendi (Resim 4). Mideden alınan ve H&E ile boyanan kontrol grubuna ait kesitler diğer gruplar ile karşılaştırıldığında, gıda alımı arttırılmış gruba ait kesitler kontrole yakın olarak gözlenirken, gıda alımı azaltılan ve daha belirgin olarak MSG uygulanan gruba ait mide dokusunda olmak üzere gastrik bezlerde genişlemeler izlendi (Resim 5, 6, 7, 8).

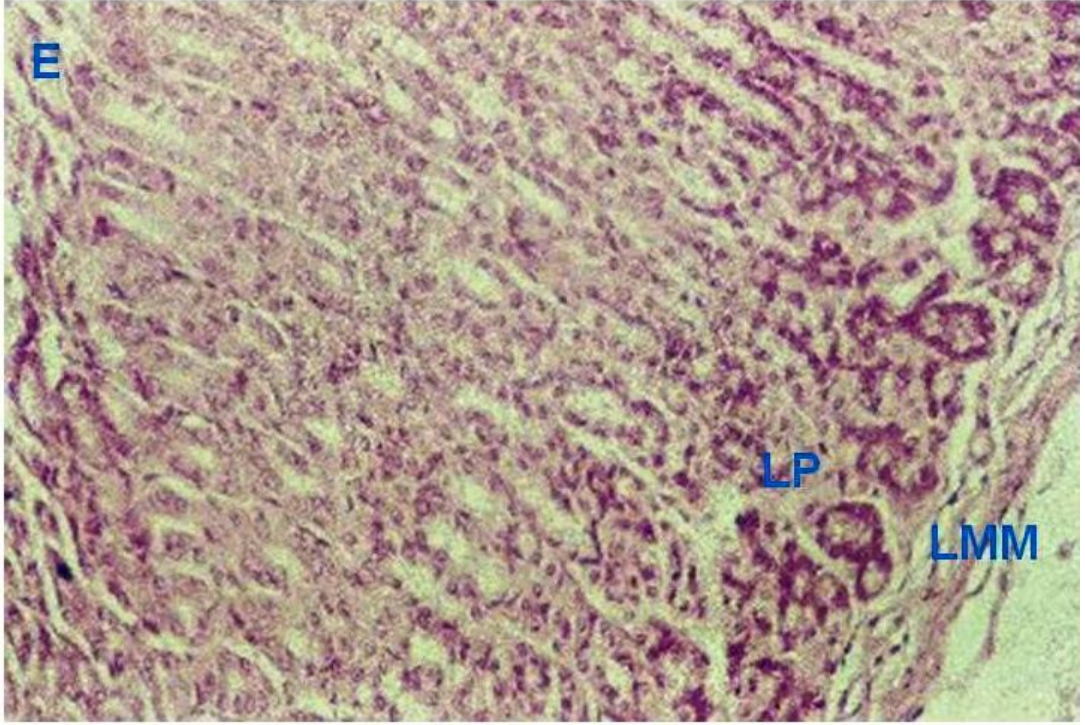
Mideden alınan ve PAS ile boyanan kontrol grubuna ait kesitler diğer gruplar ile karşılaştırıldığında, gıda alımı arttırılmış grubun mide mukozasında PAS reaksiyonu kontrole yakın olarak gözlenirken, gıda alımı azaltılan ve MSG uygulanan gruba ait mide dokularında ise PAS reaksiyonu daha zayıf olarak izlendi. Ayrıca gıda alımı azaltılan ve MSG uygulanan grupta daha belirgin olmak üzere apikal mukoza yüzeyinde hücresel dökülmeler ve yüzeyel epitel hücrelerinde kayıp gözlemlendi (Resim 9, 10, 11, 12).

Mideden alınan ve PAS ile boyanan kontrol grubu lamina propriasına ait kesitler diğer gruplar ile karşılaştırıldığında, gıda alımı arttırılmış grupta gastrik bezlerdeki hücreler arasında hafif köpüksü görünüm dikkat çekti (Resim 13, 14). Gıda alımı azaltılan grupta, mide mukozası lamina propriasında gastrik bezlerde daha belirgin köpüksü görünüm izlendi (Resim 15, 16). MSG uygulanan gruba ait mide mukozası lamina propriasında ise köpüksü görünüm izlenmezken, gastrik bezlerde düzensizlik ve genişlemeler dikkati çekti (Resim 17). MSG uygulanan gruba ait mide mukozasında bu genişlemelerin apikal yüzeye yakın alanlarda da gözlemlendiği belirlendi (Resim 18).

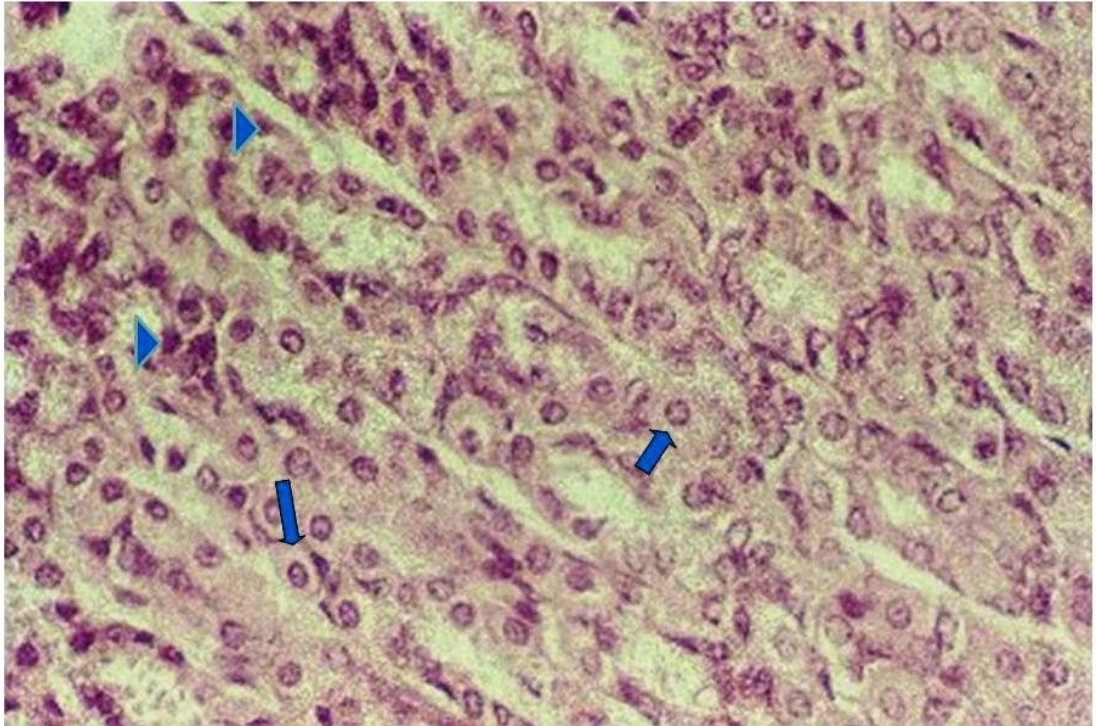
Tüm gruplar arasında mide mukozasında en belirgin değişikliklerin MSG uygulanan grupta olduğu gözlemlendi. Mideden alınan ve Masson'un üçlü boyası ile boyanan kesitlerde de apikal mukoza yüzeyinde epitel hücrelerinde kaybin yanı sıra gastrik bezlerde düzensizlik ve genişlemelerin yoğunluğu dikkati çekti (Resim 19, 20).

Mideden alınan ve Masson'un üçlü boyası ile boyanan kontrol grubu kesitleri diğer gruplar ile karşılaştırıldığında diğer gruplarda kan damarlarında belirgin bir değişiklik izlenmezken gıda alımı arttırılan gruba ait mide mukozası bazal bölgesi yakınındaki kan damarlarının hiperemik olduğu gözlemlendi (Resim 21, 22, 23, 24).

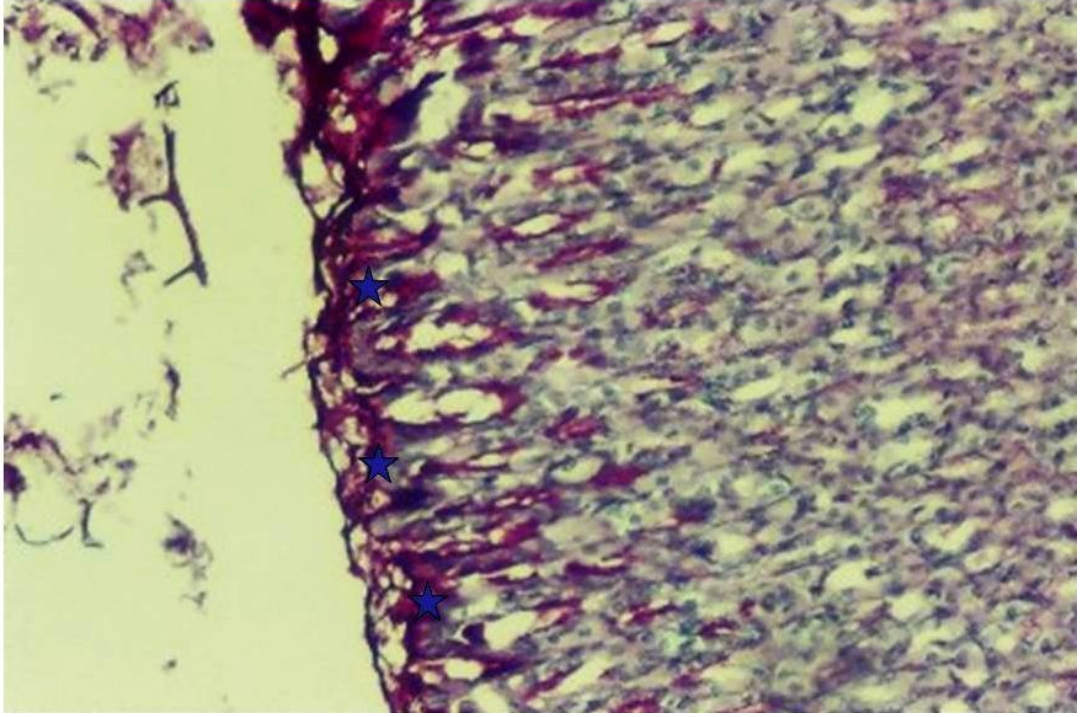
Ayrıca MSG grubuna gruba ait mide mukozası lamina propriasında eozinofilik hücrelerde artış belirlendi (Resim 25). Gıda alımı azaltılan gruba ait mide mukozası lamina propriasında da bazı alanlarda mononükleer hücre infiltrasyonları gözlemlendi (Resim 26, 27). Aynı gruba ait bezlerin taban bölgelerinde yoğun olmak üzere bazı apoptotik hücreler olduğunda belirlendi (Resim 28).



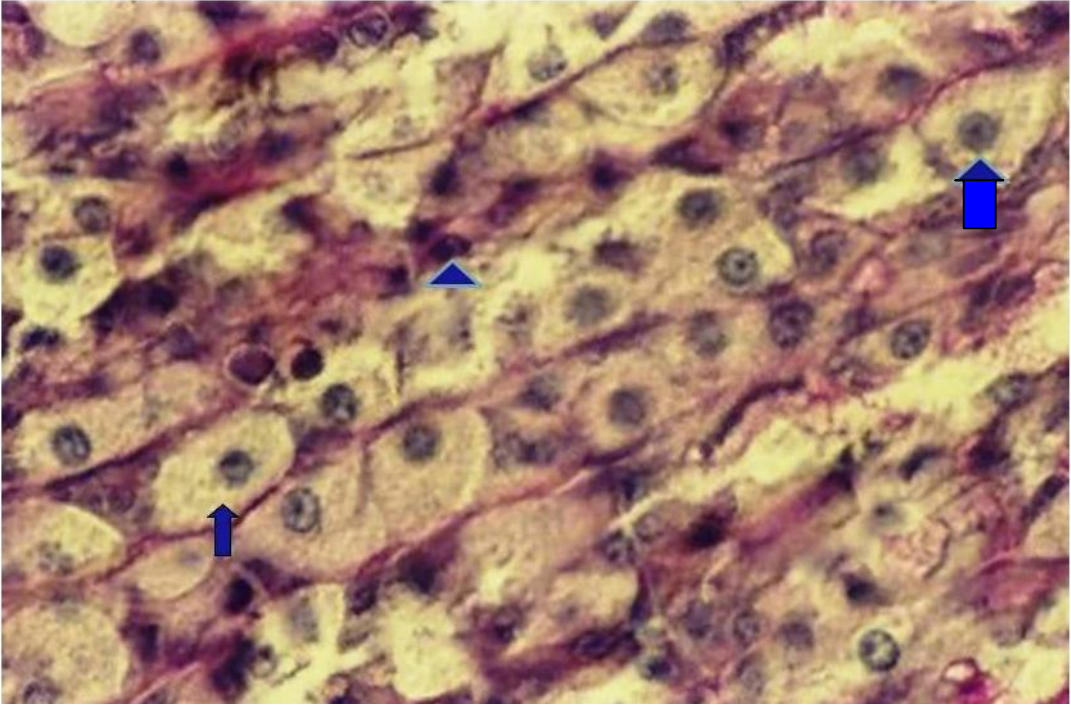
Resim 1 Kontrol grubu, normal mide mukozası izlenmekte. E: epitel, LP: lamina propria, LMM: lamina muskularis mukoza. H&E x10



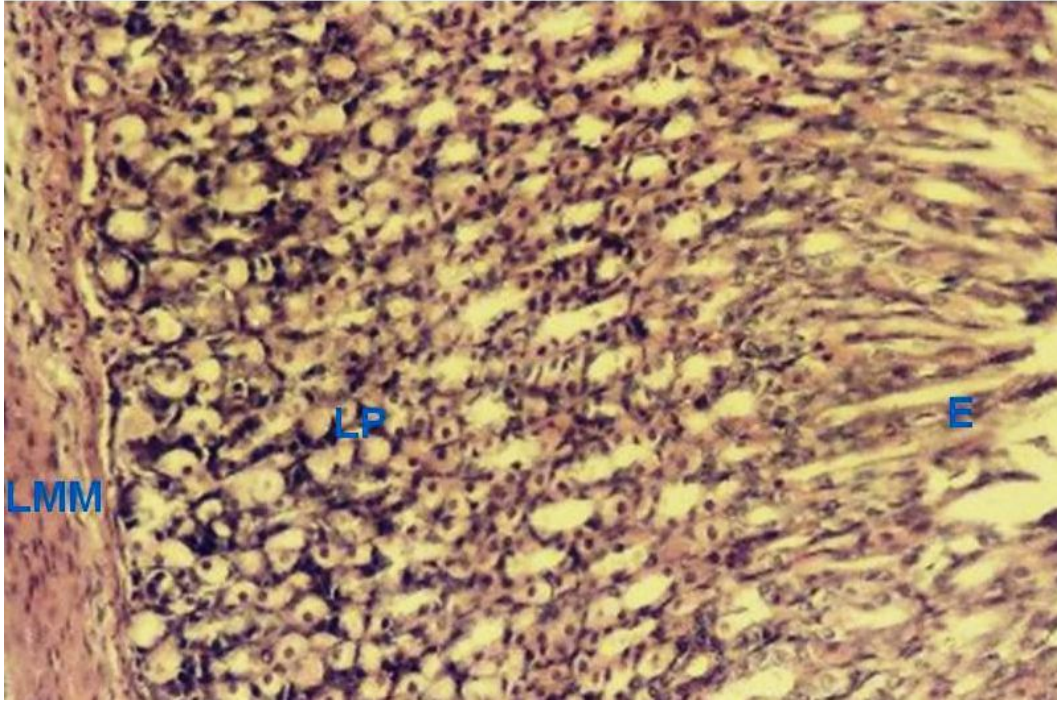
Resim 2 Kontrol grubu, normal mide mukozası pariyetal hücreler (↕) ve esas hücreler (▲) gözlenmekte. H&E x20.



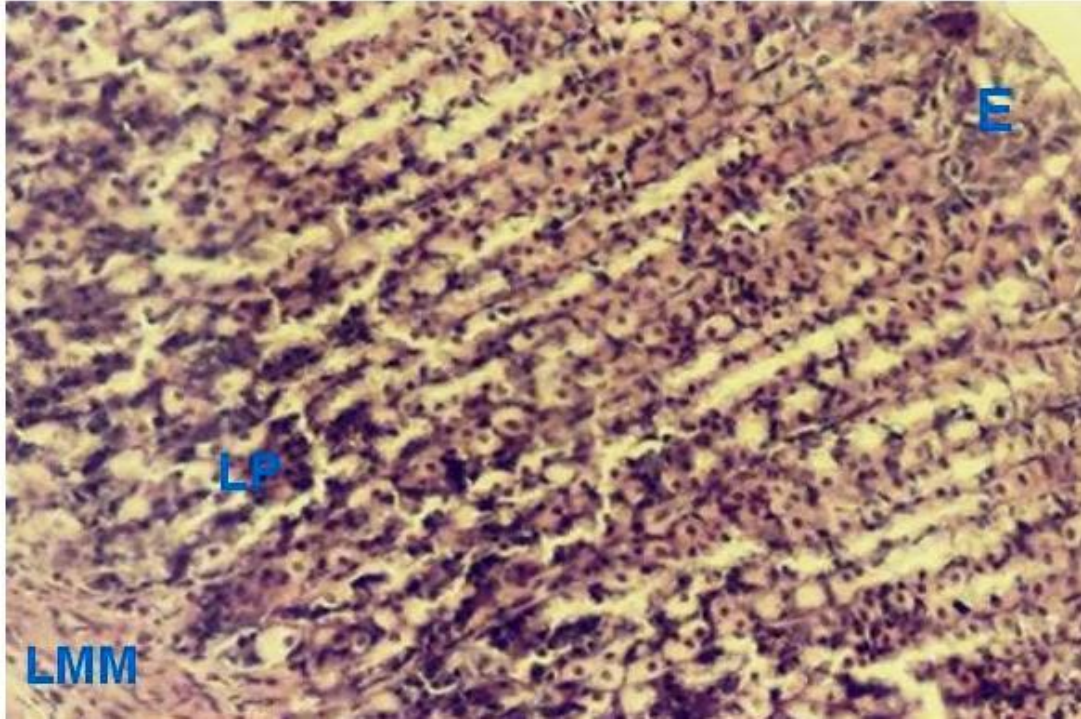
Resim 3. Kontrol mide mukoazasında normal görünüm, yüzey ve boyun müköz hücrelerinde PAS(+) (★) boyanma alanları. PAS x10



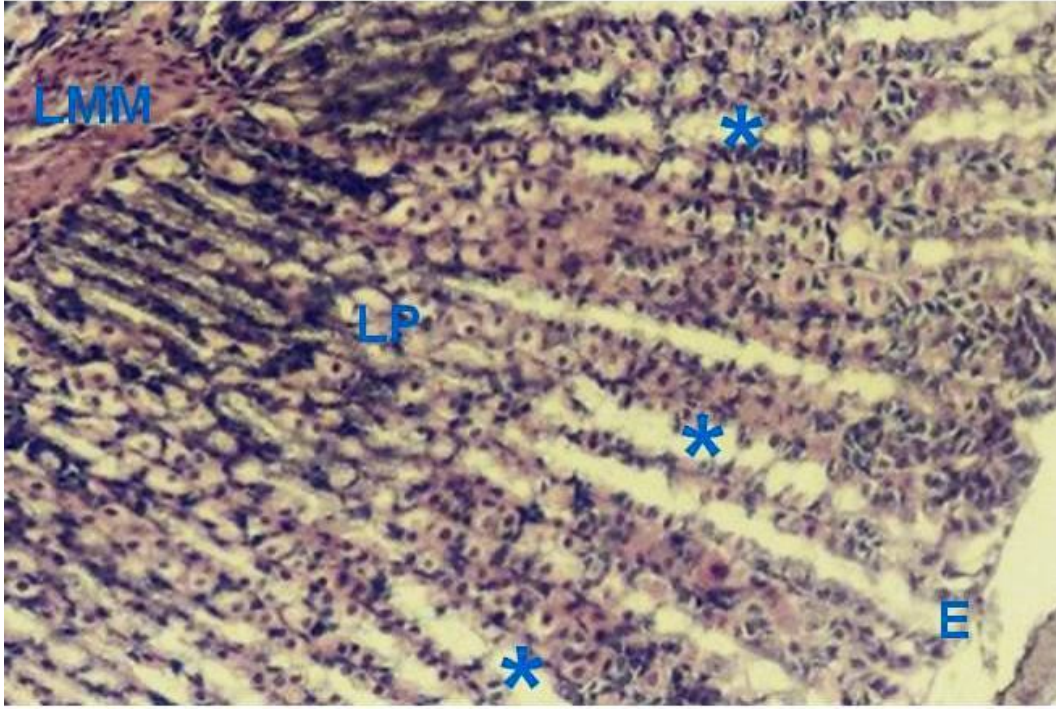
Resim 4. Kontrol mide mukoazasında pariyetal (↑) ve esas (▲) hücreler. H&E x40



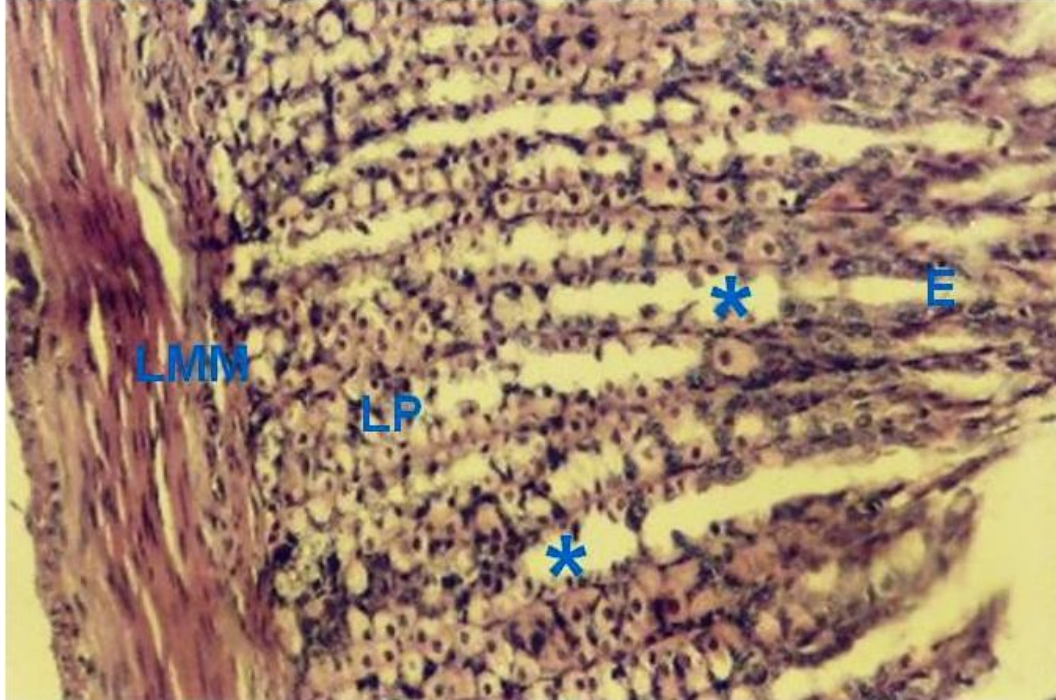
Resim 5. Kontrol grubu, normal mide mukozası E: epitel, LP: lamina propria, LMM lamina muskularis mukoza. H&E x10



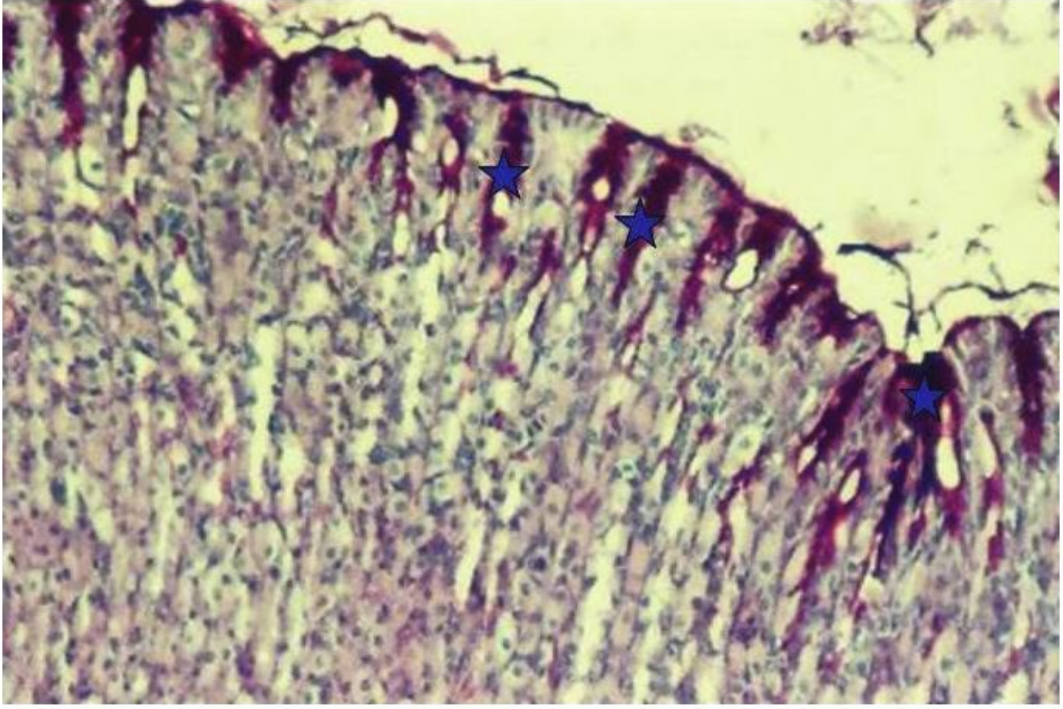
Resim 6. Gıda alımı arttırılan grupta kontrole yakın mide mukozası görünümü. E: epitel, LP: lamina propria, LMM: lamina muskularis mukoza. H&E x10



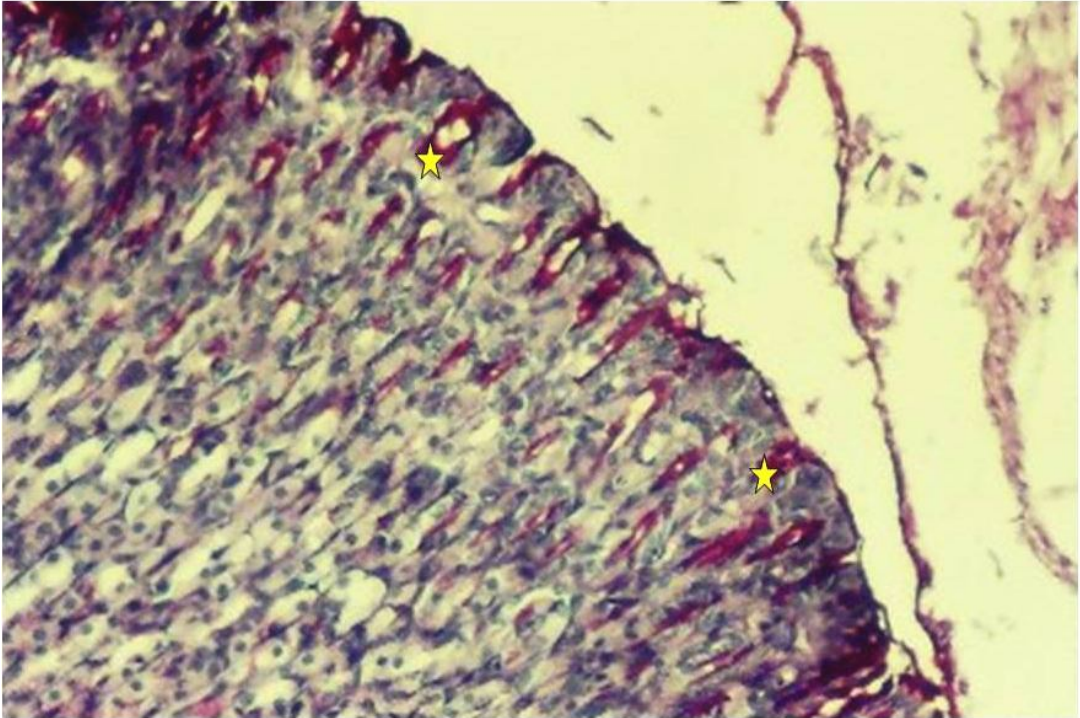
Resim 7. Gıda alımı azaltılan grupta mide mukozasında gastrik bezlerde genişleme (*). E: epitel, LP: lamina propria, LMM lamina muskularis mukoza. H&E x10



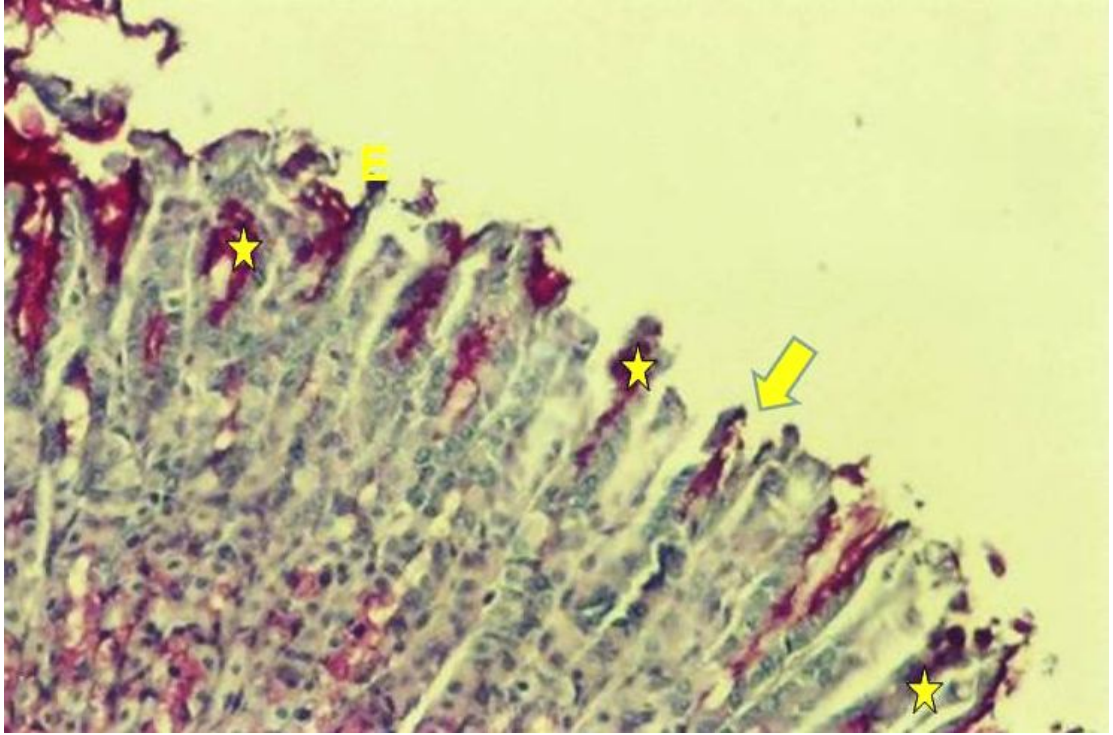
Resim 8. MSG uygulanan grupta mide mukozasında gastrik bezler arasında belirgin genişleme (*), E: epitel, LP: lamina propria, LMM lamina muskularis mukoza. H&E x10



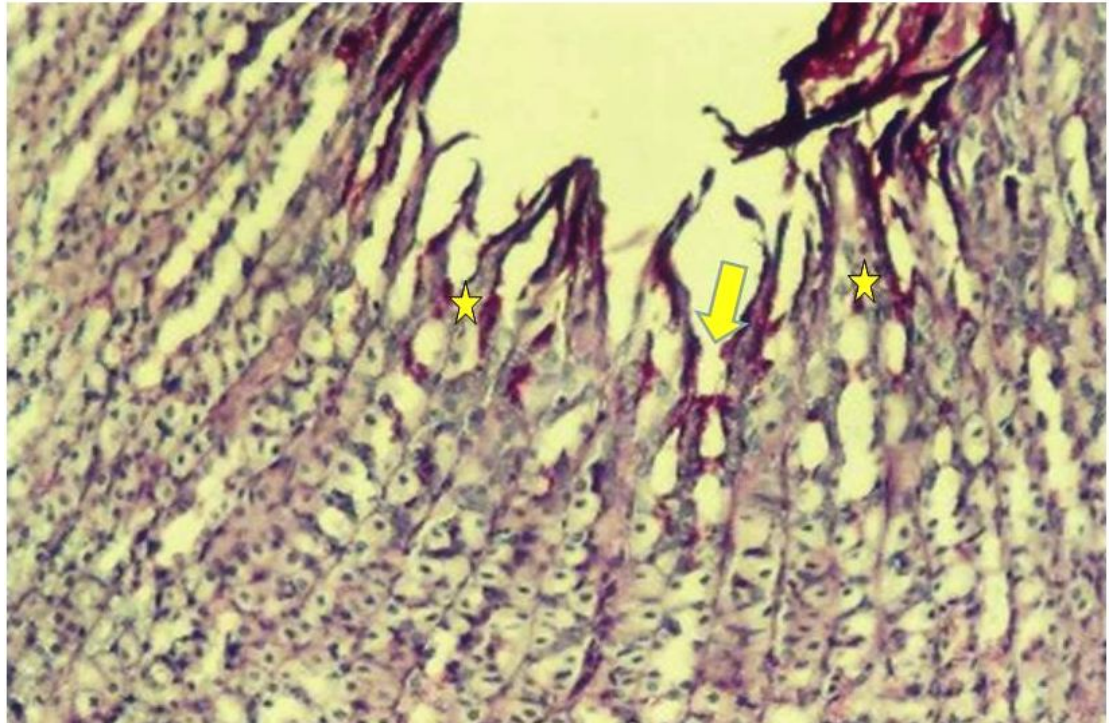
Resim 9. Kontrol mide mukozasında PAS(+) (★) boyanma. PAS x10



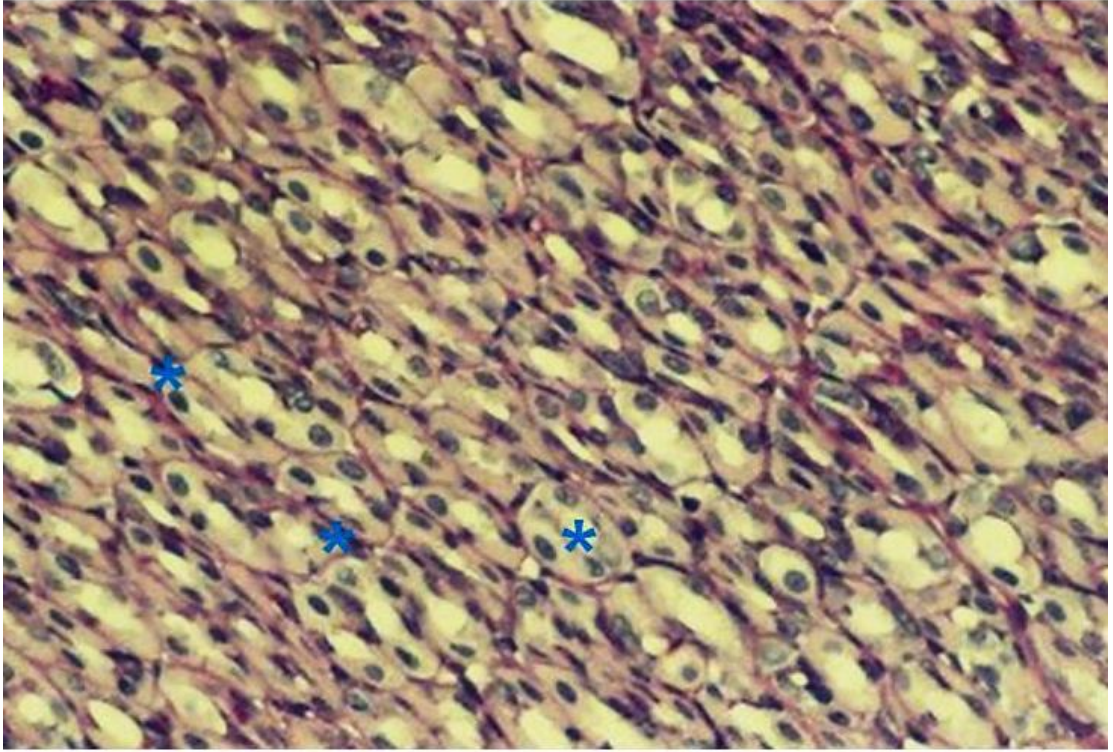
Resim 10. Gıda alımı arttırılan grup mide mukozasında kontrole yakın PAS (+) boyanma (★). PAS x10



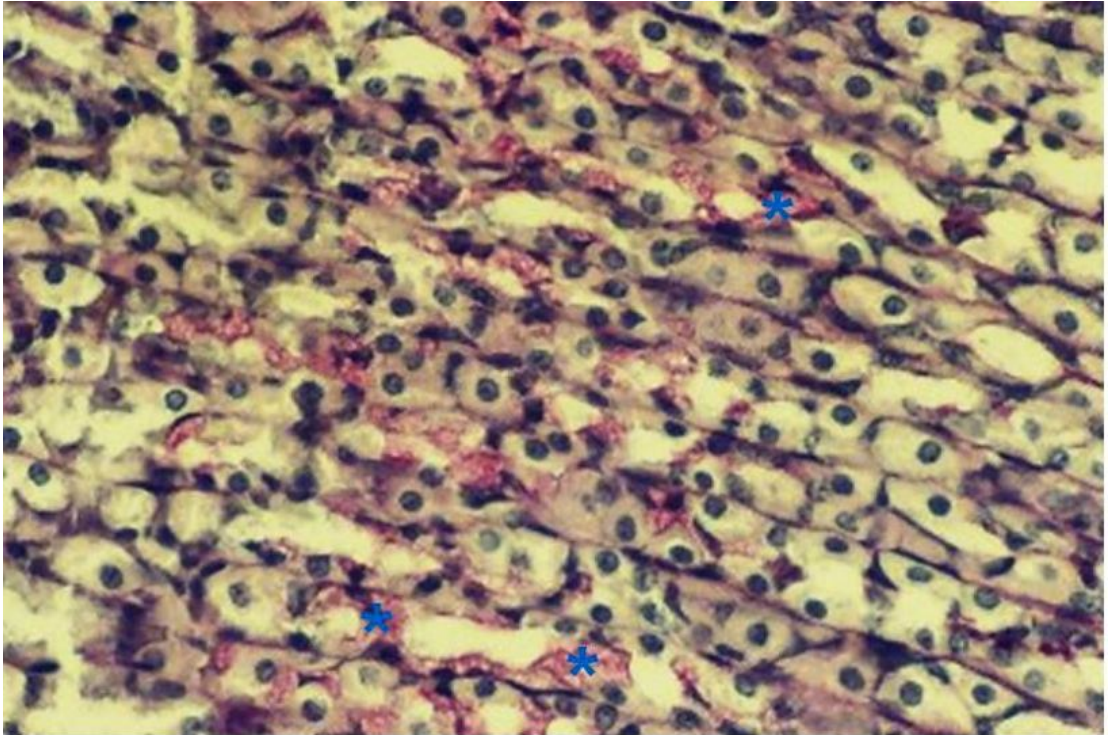
Resim 11. Gıda alımı azaltılmış olan grubun mide mukozasında zayıf PAS reaksiyonu (★) ve hüresel dökülmeler (▲). PAS x10



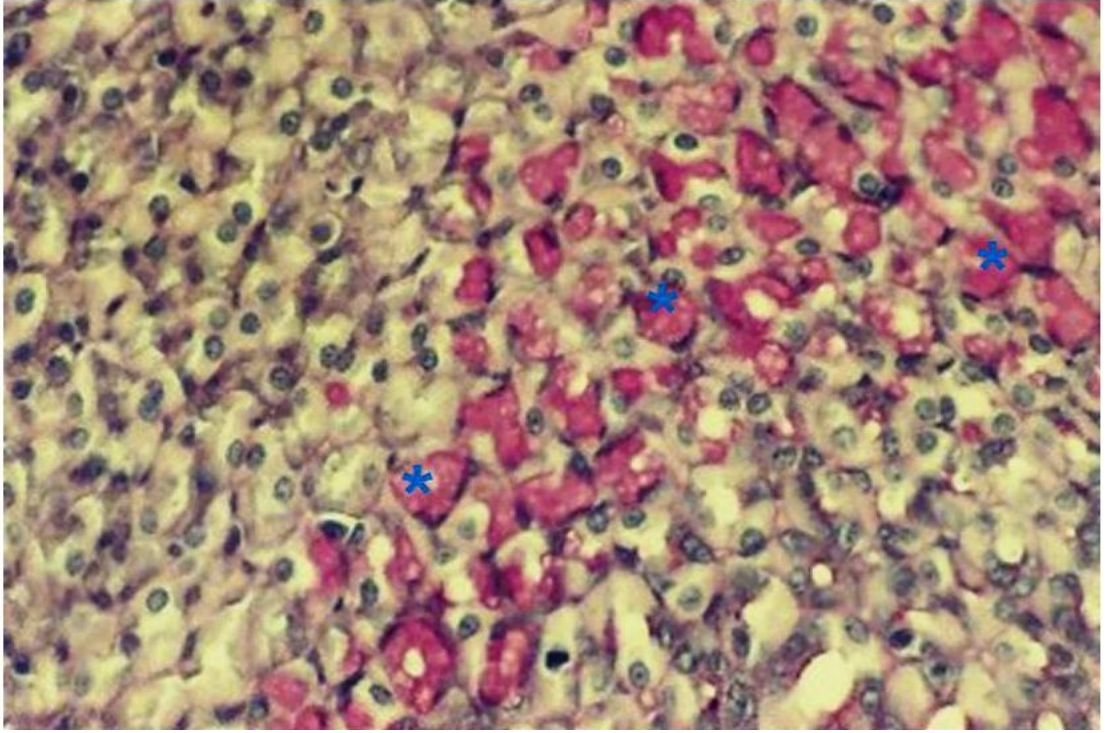
Resim 12. MSG uygulanan grupta mide mukozasında zayıf PAS reaksiyonu (★), epitel hücre kaybı(▲). PAS X10



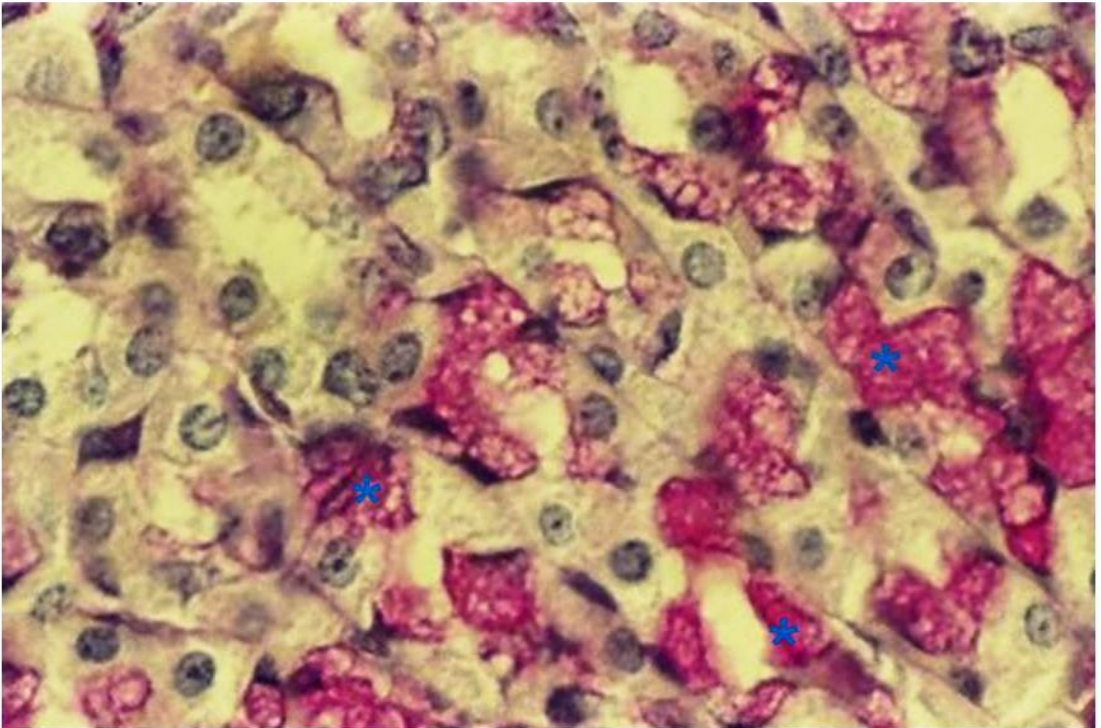
Resim 13. Kontrol grubu mide mukozası lamina propriasında normal yapıdaki gastrik bezler (*). PAS x20



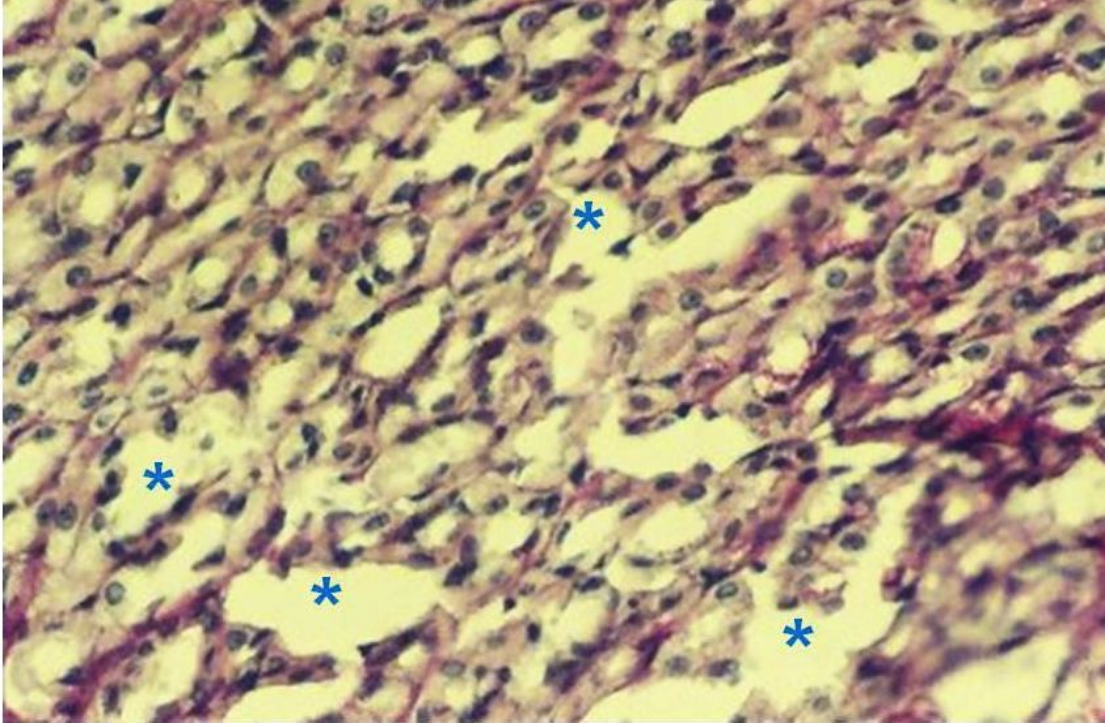
Resim 14. Gıda alımı arttırılan grupta mide mukozası lamina propriasında gastrik bezlerde hücreler arasında hafif köpüksü görünüm (*). PAS x20



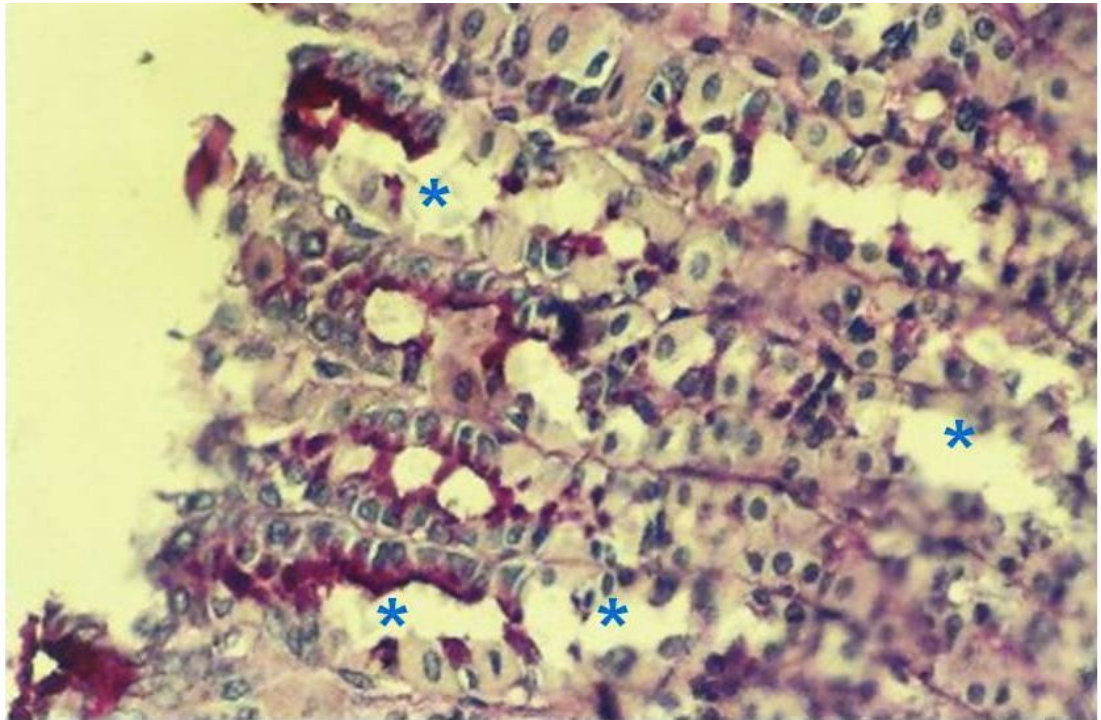
Resim 15. Gıda alımı azaltılan grupta mide mukozası lamina propriasında gastrik bezlerde köpüksü görünüm (*). PAS x20



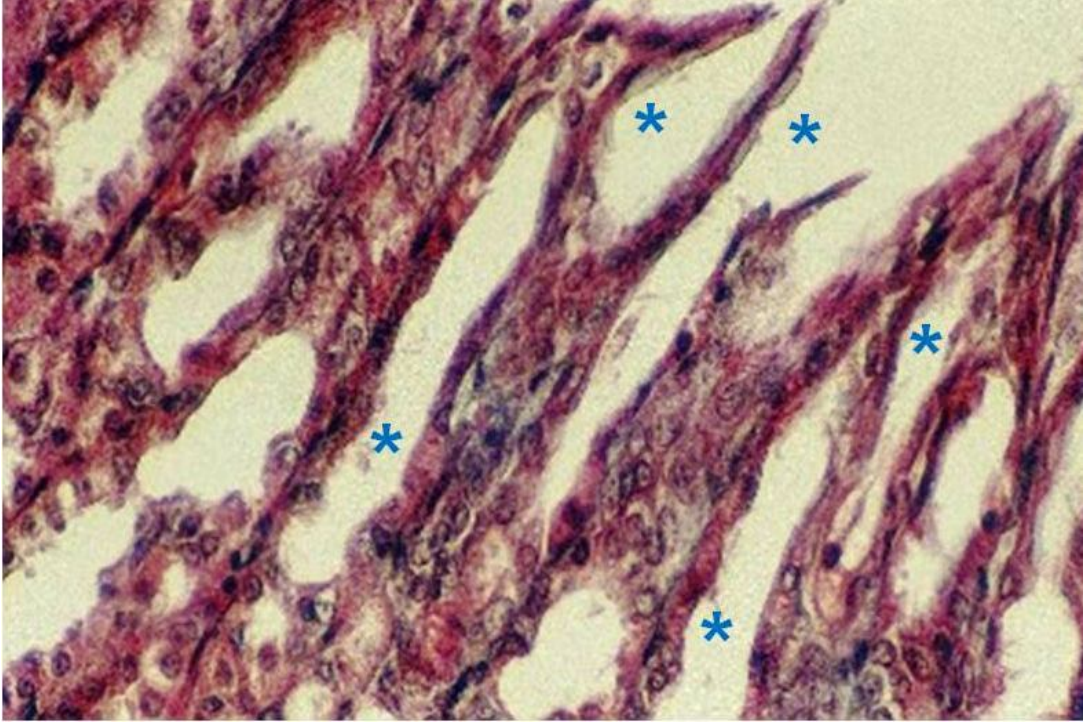
Resim 16. Gıda alımı azaltılan grupta mide mukozası lamina propriasında gastrik bezlerde hücreler arasındaki köpüksü (*) alanlar. PAS x40



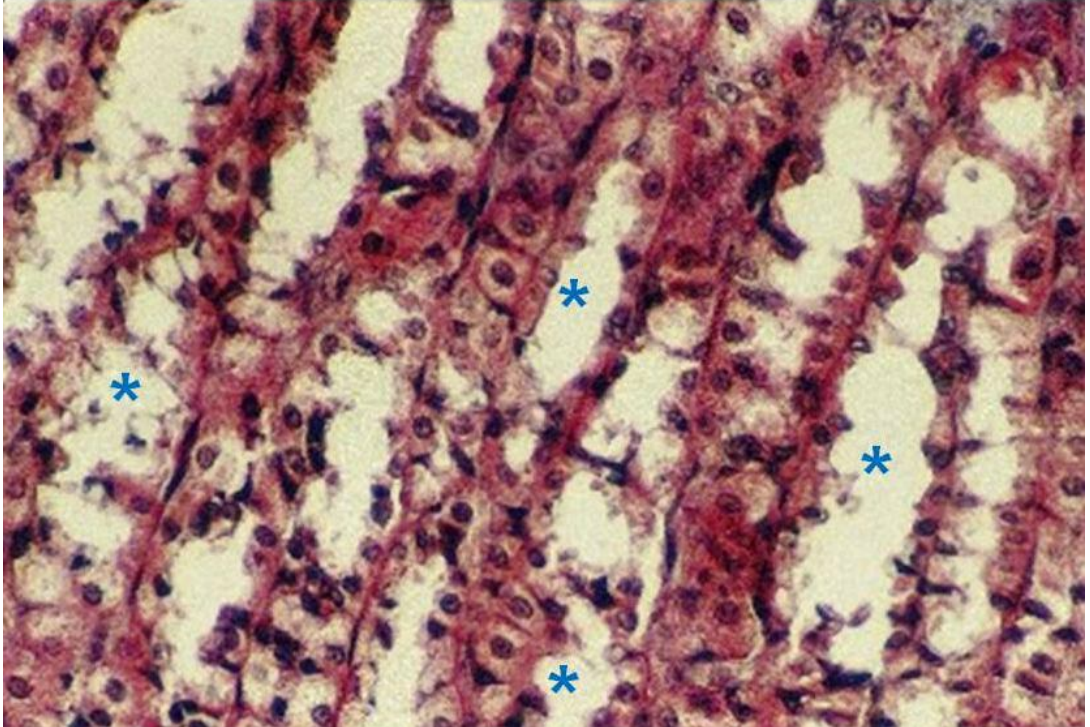
Resim 17. MSG uygulanan grupta mide mukozası lamina propriasında gastrik bezlerde düzensizlik ve genişlemeler (*). PAS x20



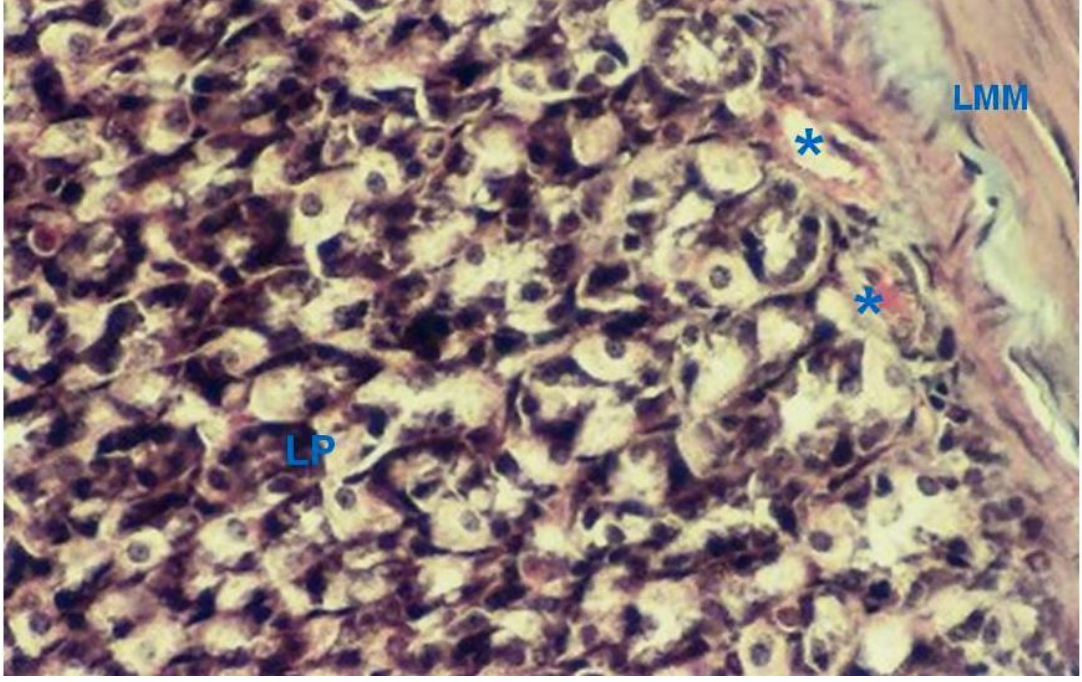
Resim 18. MSG uygulanan grup mide mukozasında apikal yüzeye yakın alanlarda gastrik bezlerde genişleme (*). PAS x20



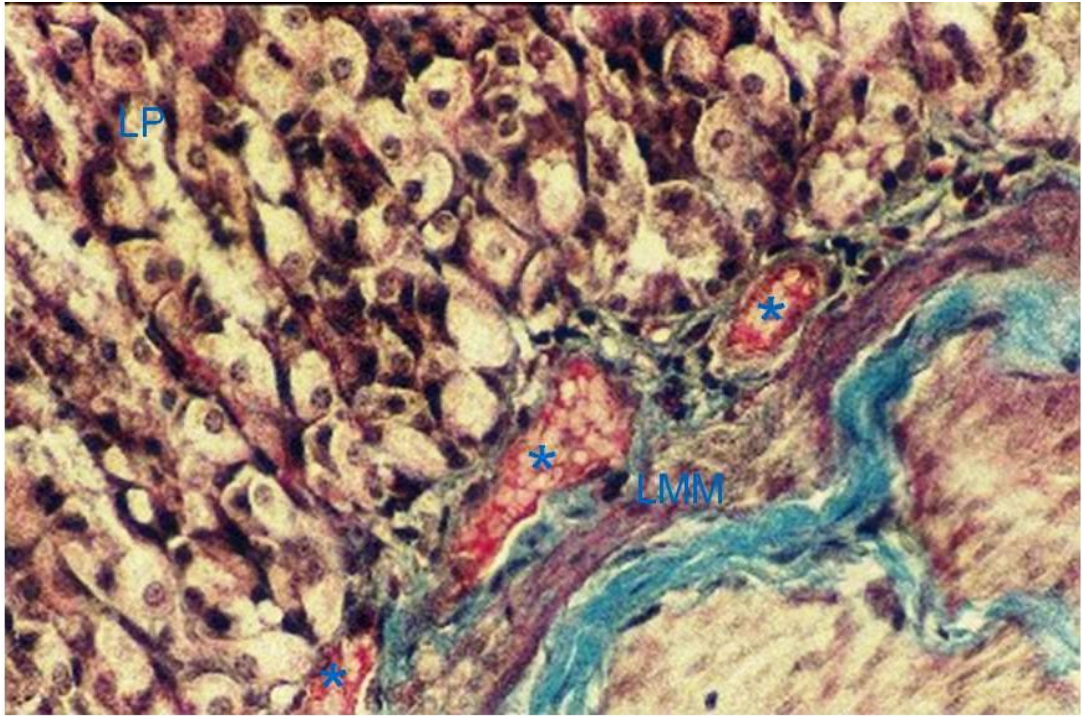
Resim 19. MSG uygulanan grupta mide dokusu apikal mukoza yüzeyinde epitel hücrelerinde kayıplar (*). Masson'un üçlü boyası x 20



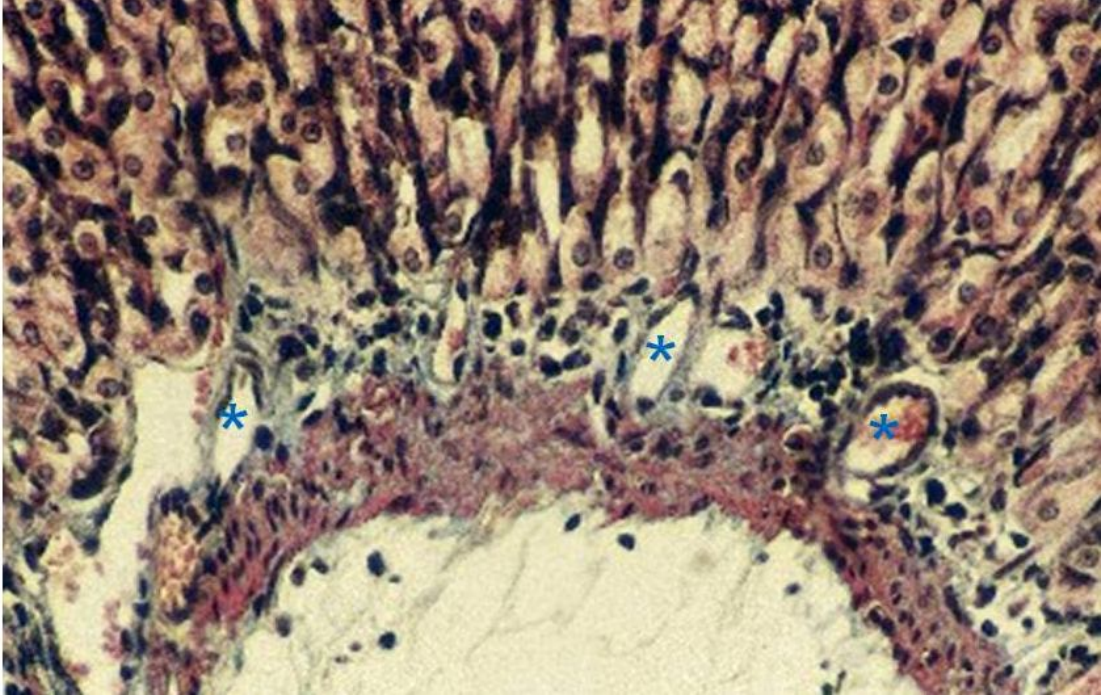
Resim 20. MSG uygulanan gruba ait mide mukozasında gastrik bezlerde düzensizlik ve genişlemeler. (*)Masson'un üçlü boyası x20



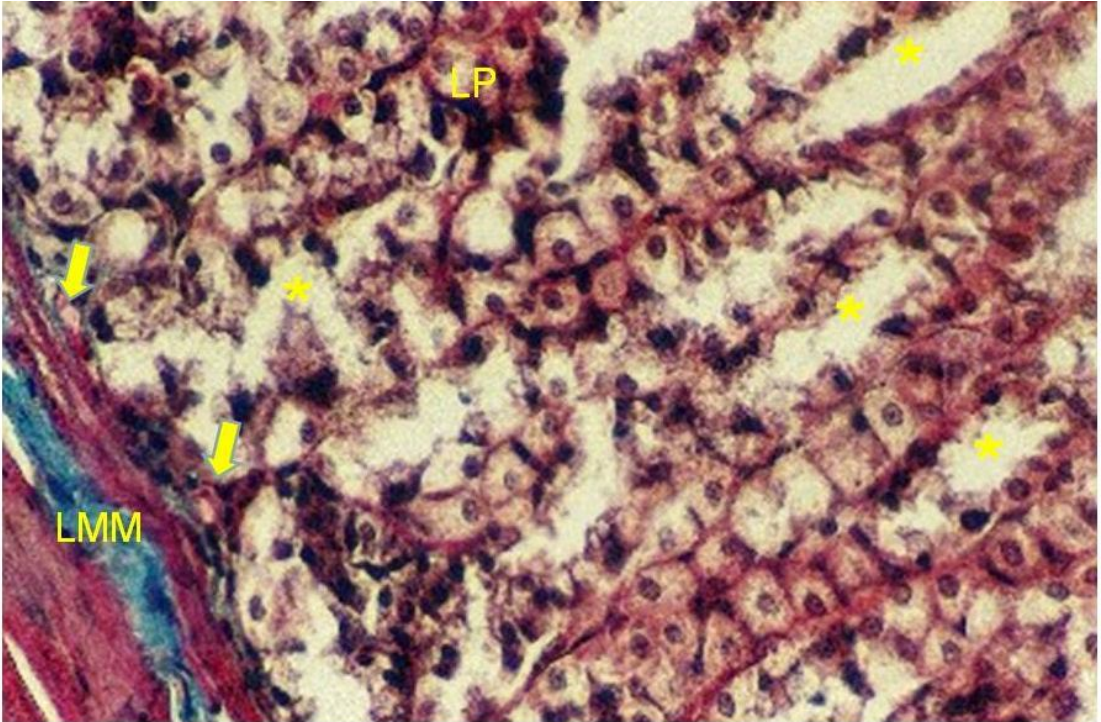
Resim 21. Kontrol grubunun mide mukozası bazal bölgesi izlenmekte.
Kan damarları (*), LMM lamina muskularis mukoza. Masson'un üçlü boyası X20



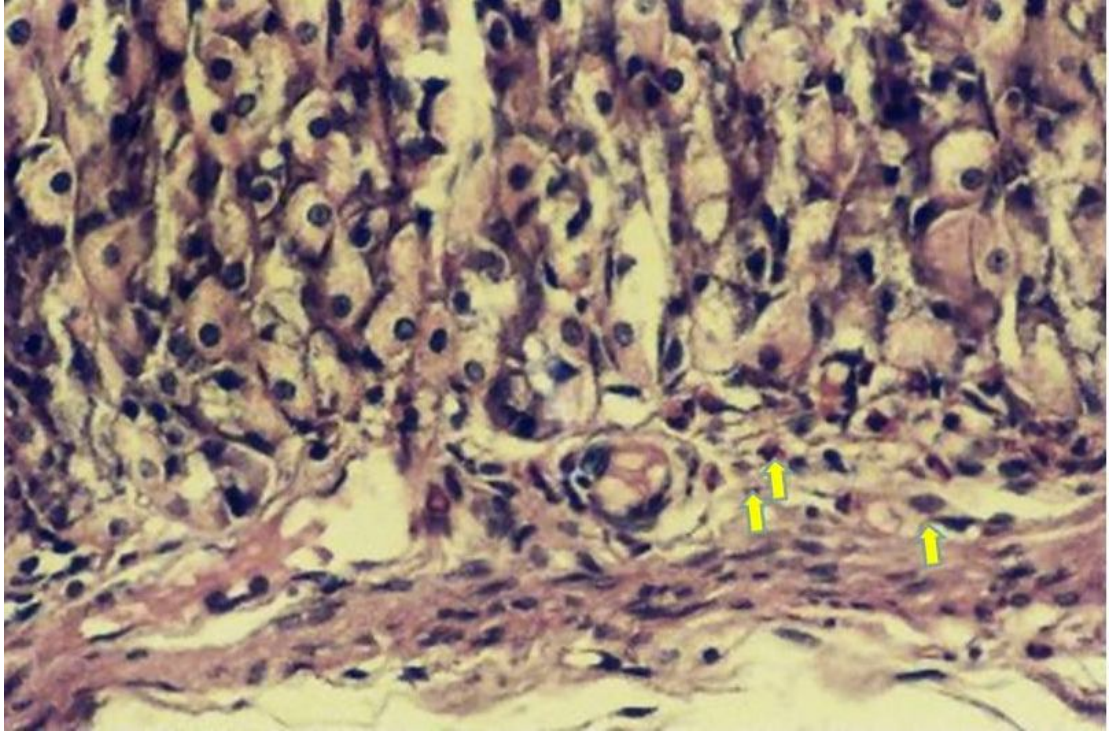
Resim 22. Gıda alımı arttırılan gruba ait mide mukozası bazal bölgesi yakınındaki kan damarlarında hiperemi (*). LMM lamina muskularis mukoza Masson'un üçlü boyası X 20



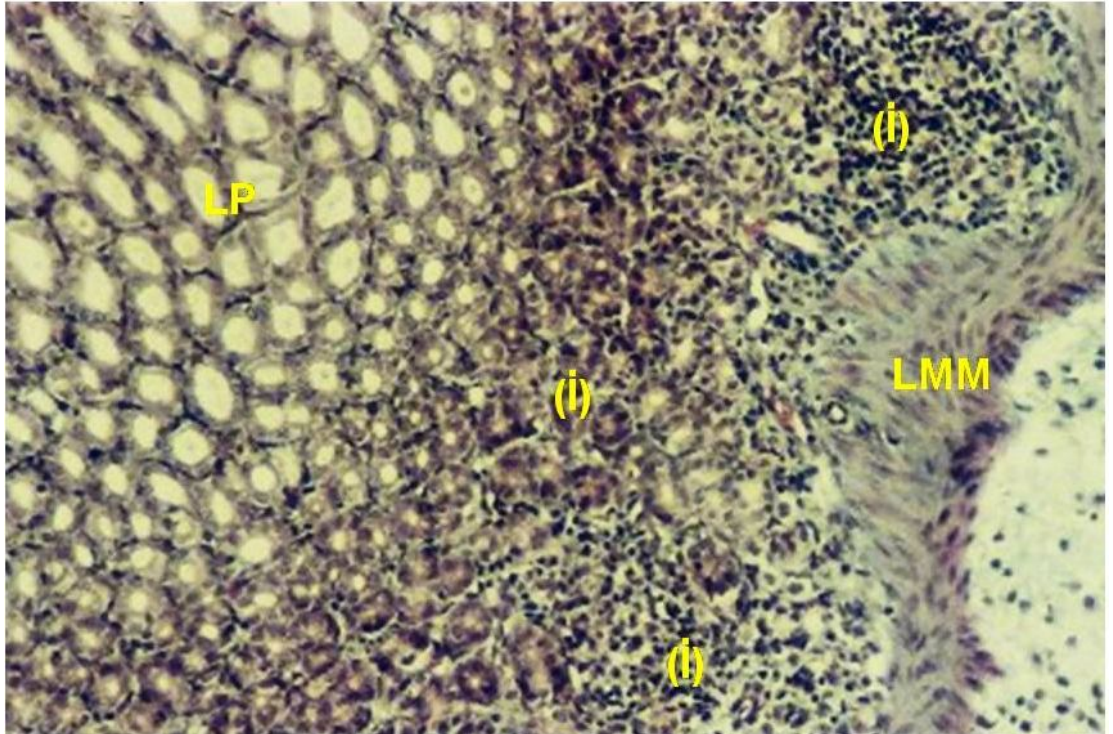
Resim 23. Gıda alımı azaltılan gruba ait mide mukozası bazal bölgesi izlenmekte. Kan damarları (*), LMM lamina muskularis mukoza. Masson'un üçlü boyası X20



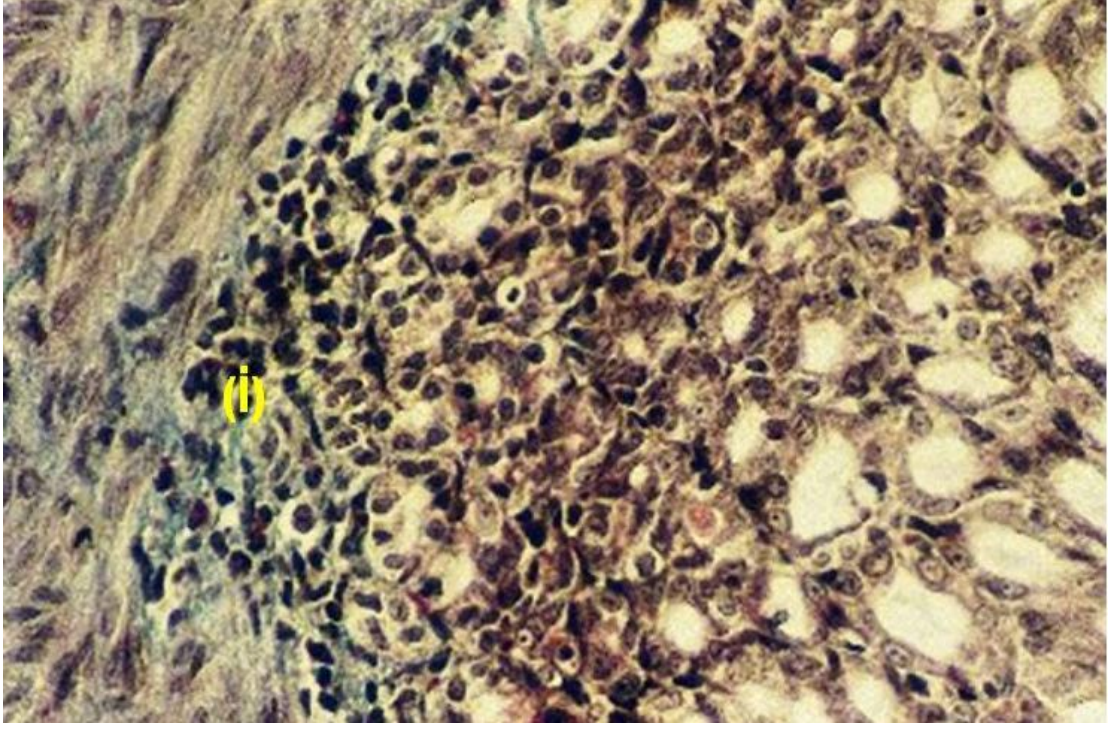
Resim 24. MSG uygulanan gruba ait mide mukozası bazal bölgesi izlenmekte. Kan damarları (*), LMM lamina muskularis mukoza. Kan damarları (↴) Masson'un üçlü boyası X20



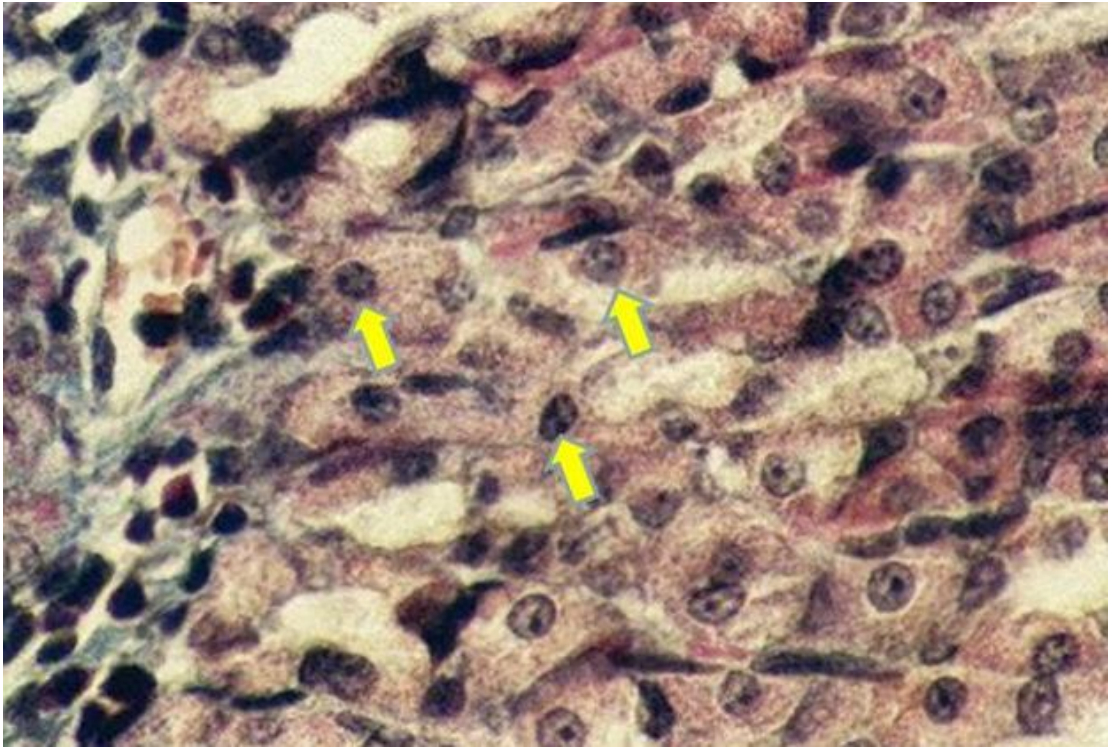
Resim 25. MSG uygulanan grupta mide mukozasında eozinofilik hücrelerde artış (↗) H&E X 20



Resim 26. Gıda alımı azaltılan gruba ait mide mukozasında mononükleer hücre infiltrasyonu (i) Masson'un üçlü boyası X10



Resim 27. Gıda alımı azaltılan gruba ait mide mukozasında mononükleer hücre infiltrasyonu (İ) Masson'un üçlü boyası X 20



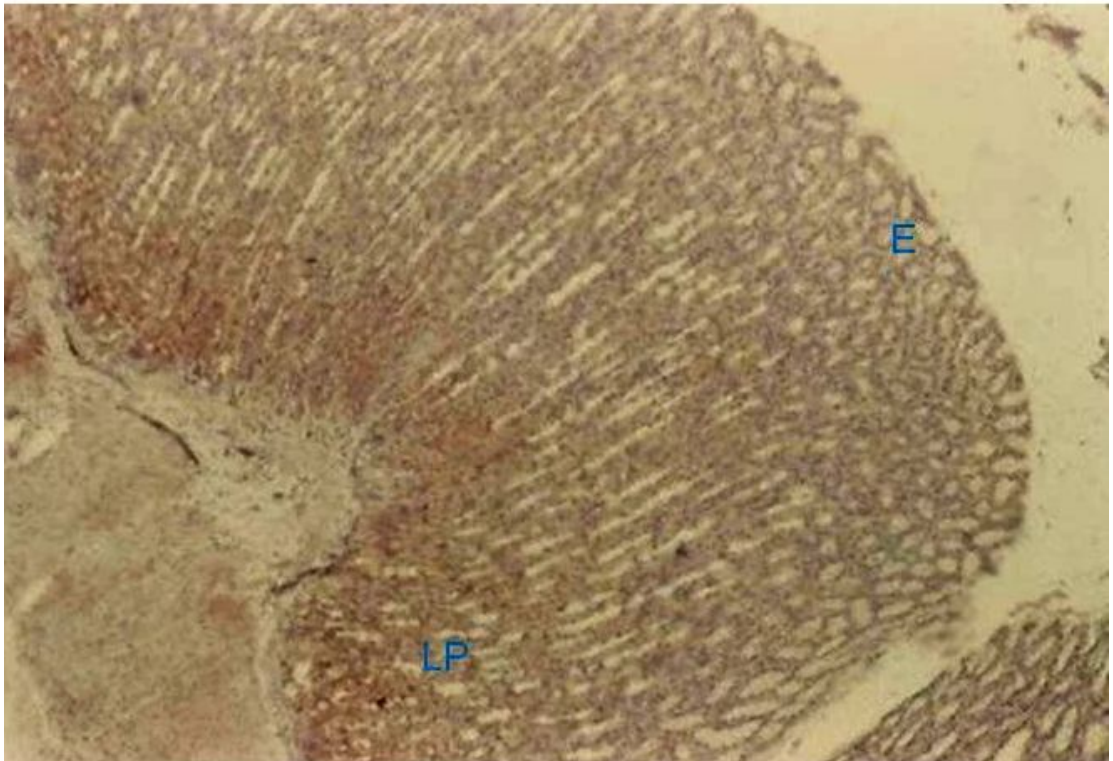
Resim 28. Gıda alımı azaltılan gruba ait mide mukozasında apoptotik hücreler (▲) Masson'un üçlü boyası. X 40

3.3. İmmunohistokimyasal bulgular

Kontrol ve deney gruplarına ait mide dokusundan alınan kesitlere uygulanan apelinin immunohistokimyasal boyanmasında sadece mukoza tabakasında pozitiflik gözlemlendi. Submukoza ve musküler tabakada immün boyanma izlenmedi (Resim 29, 30). Apelin immunpozitifliği tüm gruplarda mide mukozasında gastrik bezlerdeki bazı hücrelerin sitoplazmasında diffüz kırmızı-kahverengi boyanma olarak belirgin bir şekilde izlendi (Resim 37, 38, 39, 40). Apelin immünpozitif hücreler özellikle bezlerin bazal kısımlarında daha yoğun ve belirgin olarak gözlemlendi (37, 40-42). İmmunohistokimyasal boyanma yaygınlığının derecesinin gruplar arasında karşılaştırılmasında açlık grubu (+1), kontrol grubu (+2), gıda alımı arttırılan grubu (+3), ve MSG uygulanan grup (+4) olarak değerlendirildi (Resim 33, 34, 35, 36). Küçük büyütmelelerde de gastrik bezlerdeki apelin immün pozitif boyanma yaygınlığındaki bu farklılık dikkati çekti (Resim 29, 30, 31, 32). Gıda alımı azaltılan grupta apelin immünpozitif boyanma yaygınlığı kontrol grubuna oranla daha az olarak belirlendi (Resim 29, 30, 33, 34, 37, 38). Gıda alımı arttırılan grupta apelin immün pozitif boyanma yaygınlığı kontrol grubuna oranla daha fazla olarak belirlendi (Resim 29, 31, 33, 35, 37, 39). MSG uygulanan grupta da apelin immün pozitif boyanma yaygınlığı kontrol grubuna oranla daha fazla olarak belirlendi (Resim 29, 32, 33, 36, 37, 40). Ancak gıda alımı arttırılan ve MSG uygulanan grup karşılaştırıldığında immün pozitif boyanmanın gıda alımı arttırılan grupta daha şiddetli olduğu kolaylıkla ayırtedildi (Resim 31, 32, 35, 36, 39, 40). MSG uygulanan grupta mide mukozasında, lamina propriadaki gastrik bezlerin bazalinde diğer gruplara göre daha yoğun immün pozitiflik tespit edildi (Resim 37, 38, 39, 40, 41, 42). Negatif kontrol için yapılan mide dokusunda apelin için her hangi bir immünreaktiviteye rastlanmadı (Resim 43).



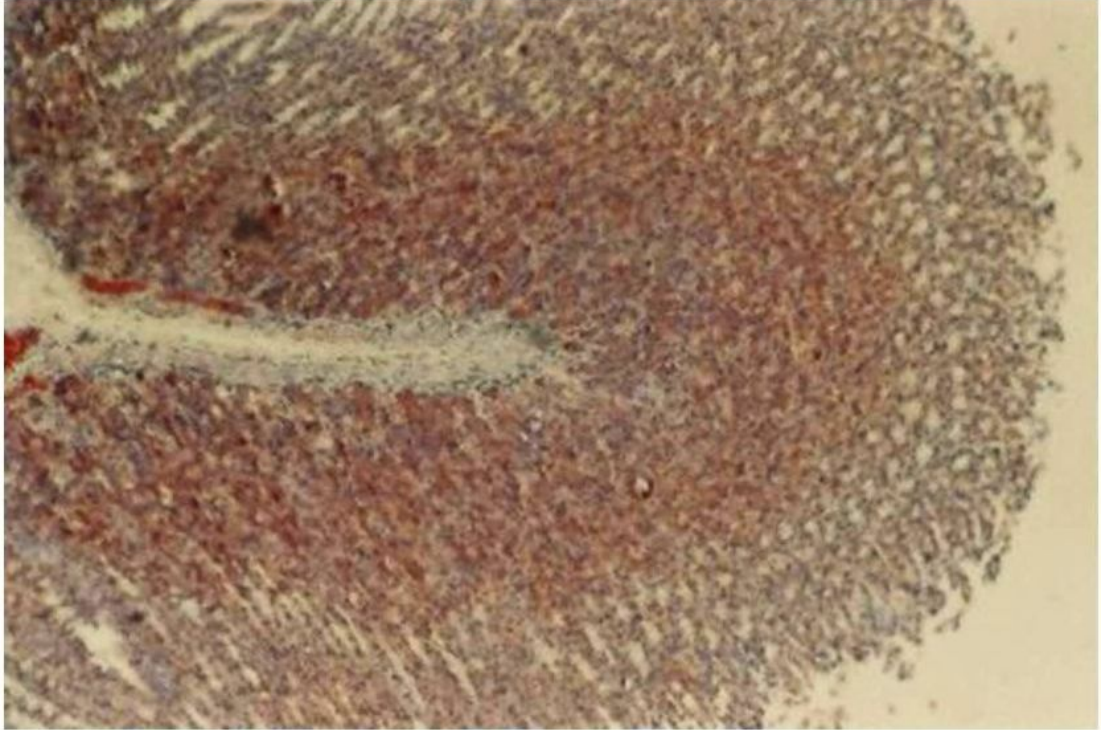
Resim 29. Kontrol grubuna ait mide mukozasında apelin immünreaktivitesi (++) X 4



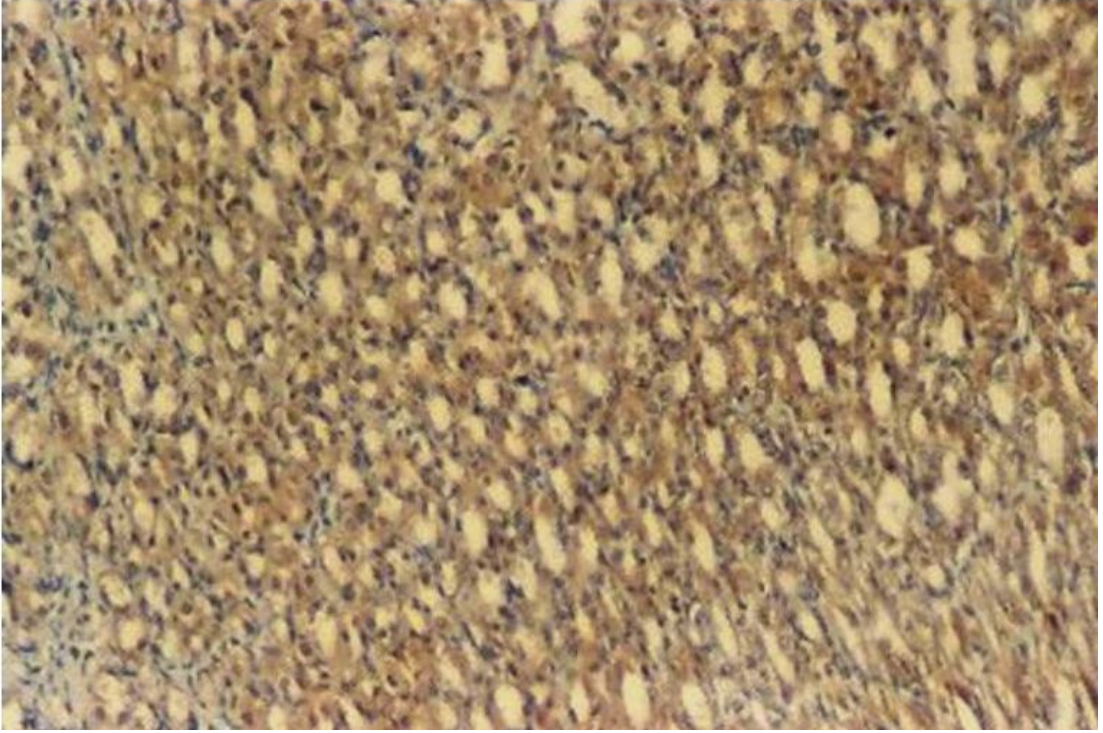
Resim 30. Gıda alımı azaltılan gruba ait mide mukozasında E: epitel, LP: lamina propria ve apelin (+) immünreaktivitesi X 4.



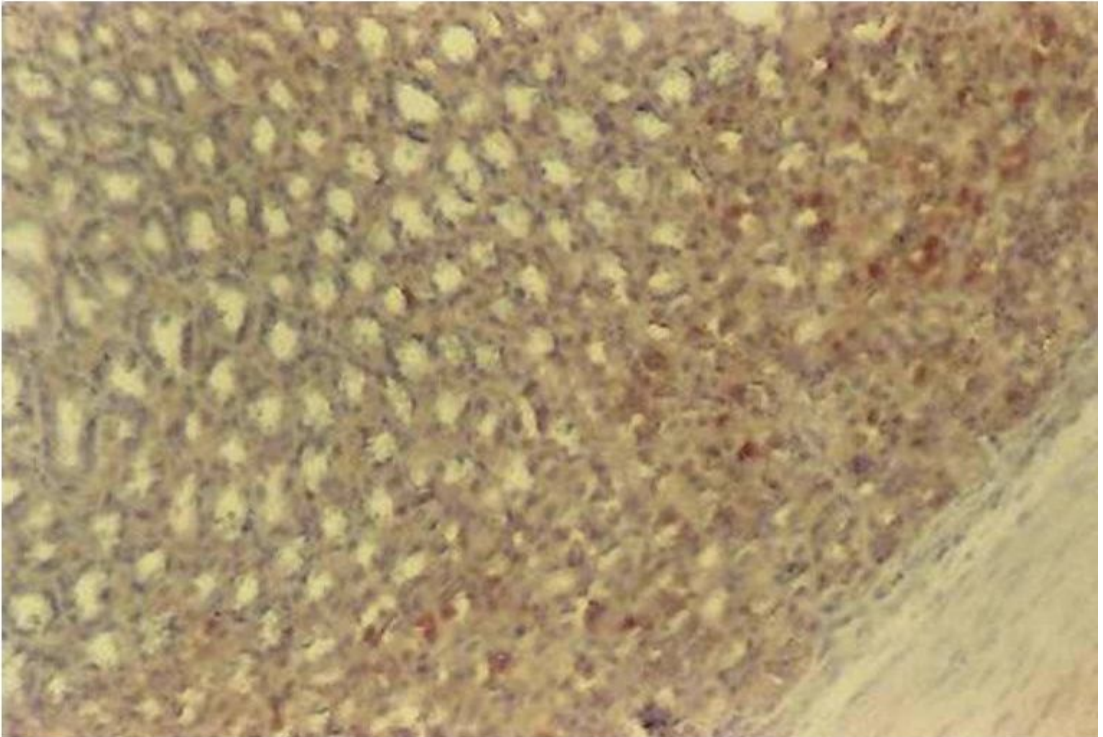
Resim 31. Gıda alımı arttırılan gruba ait mide mukozasında apelin (+++) immünreaktivitesi X 4



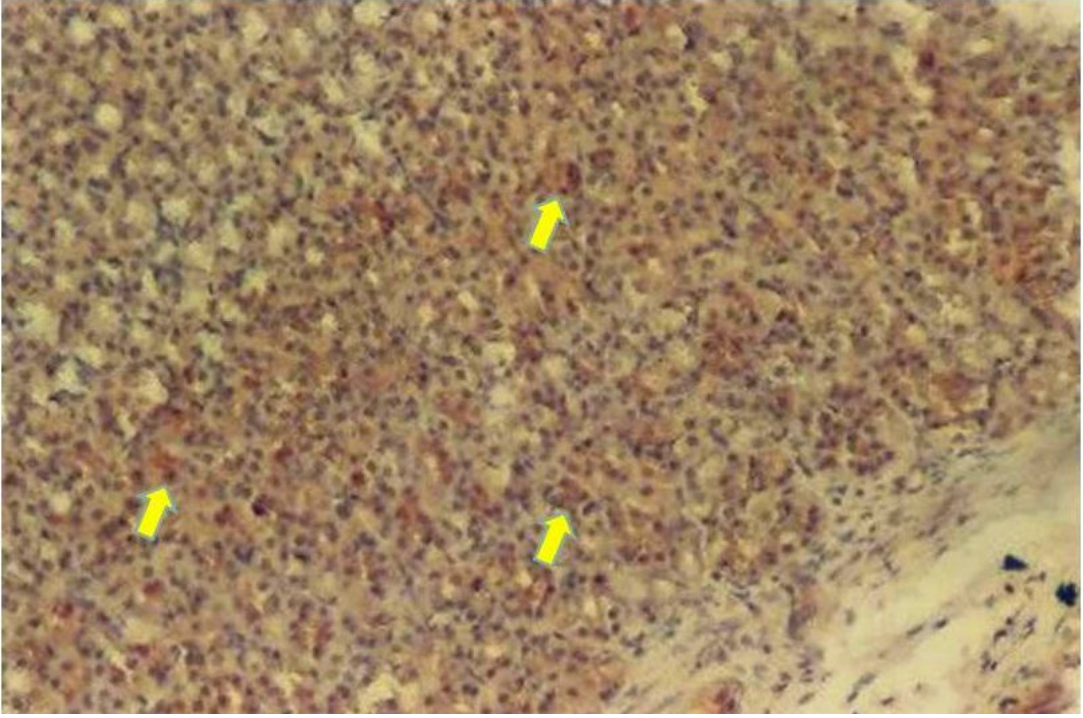
Resim 32. MSG grubuna ait mide mukozasında (++++) apelin immünreaktivitesi X 4



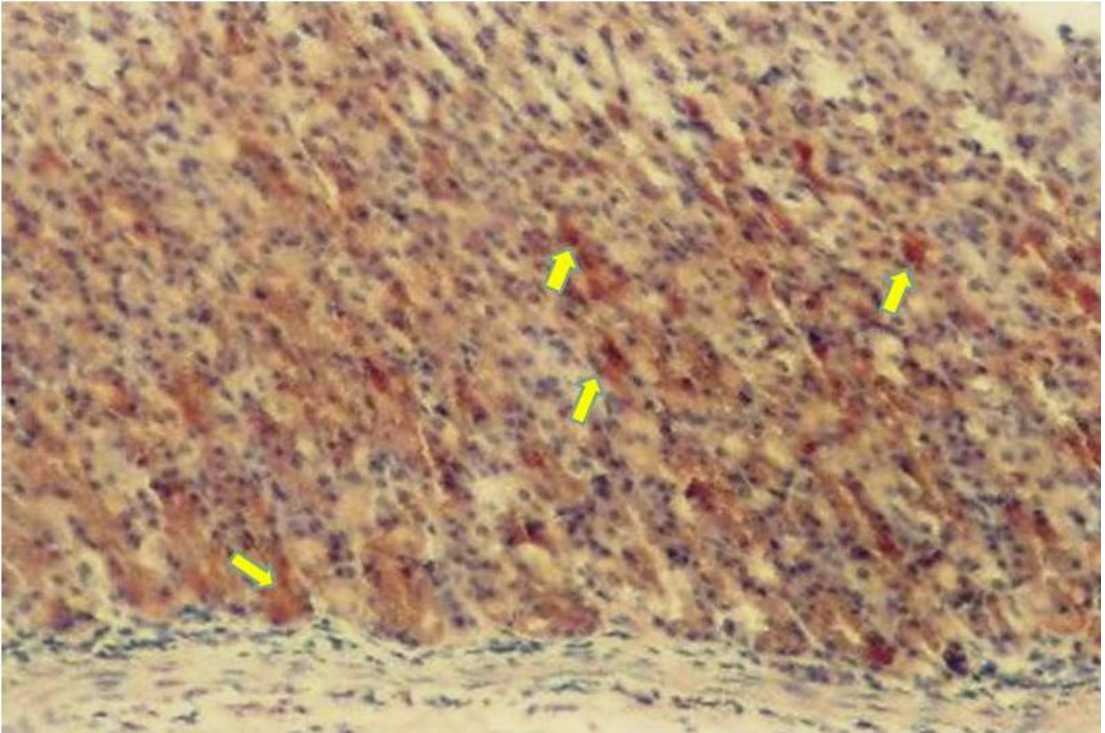
Resim 33. Kontrol grubuna ait mide mukozasında (++) apelin immünreaktivitesi X10



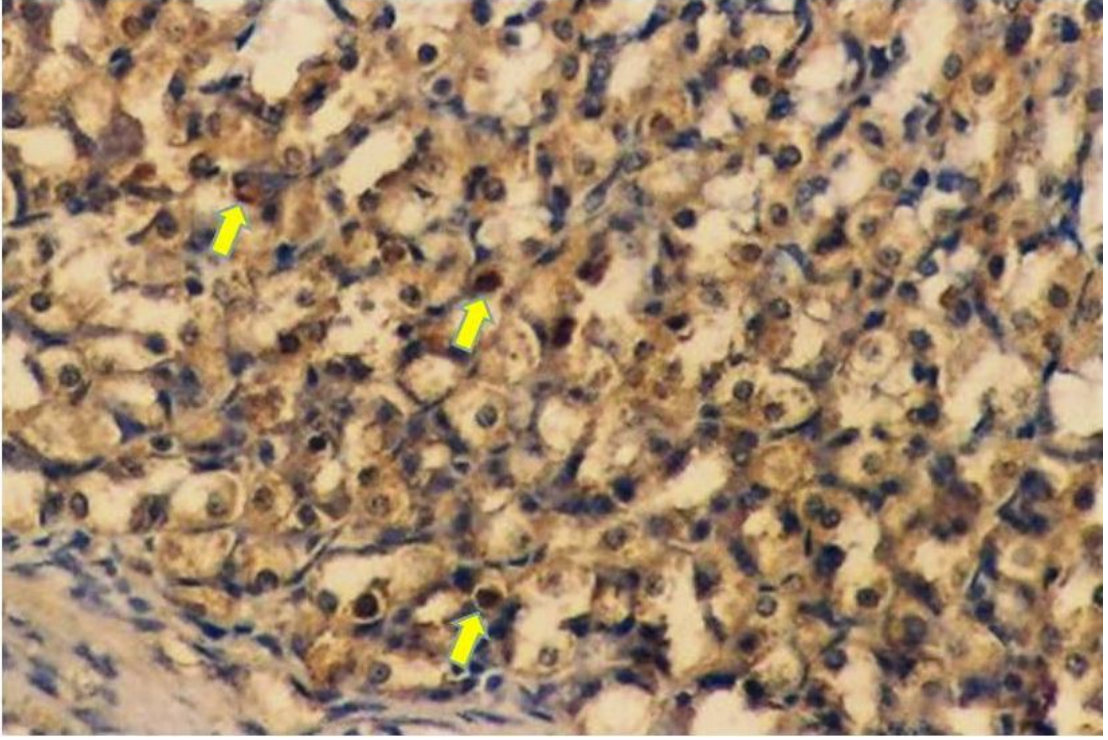
Resim 34. Gıda alımı azaltılan gruba ait mide mukozasında (+) apelin immünreaktivitesi X 10



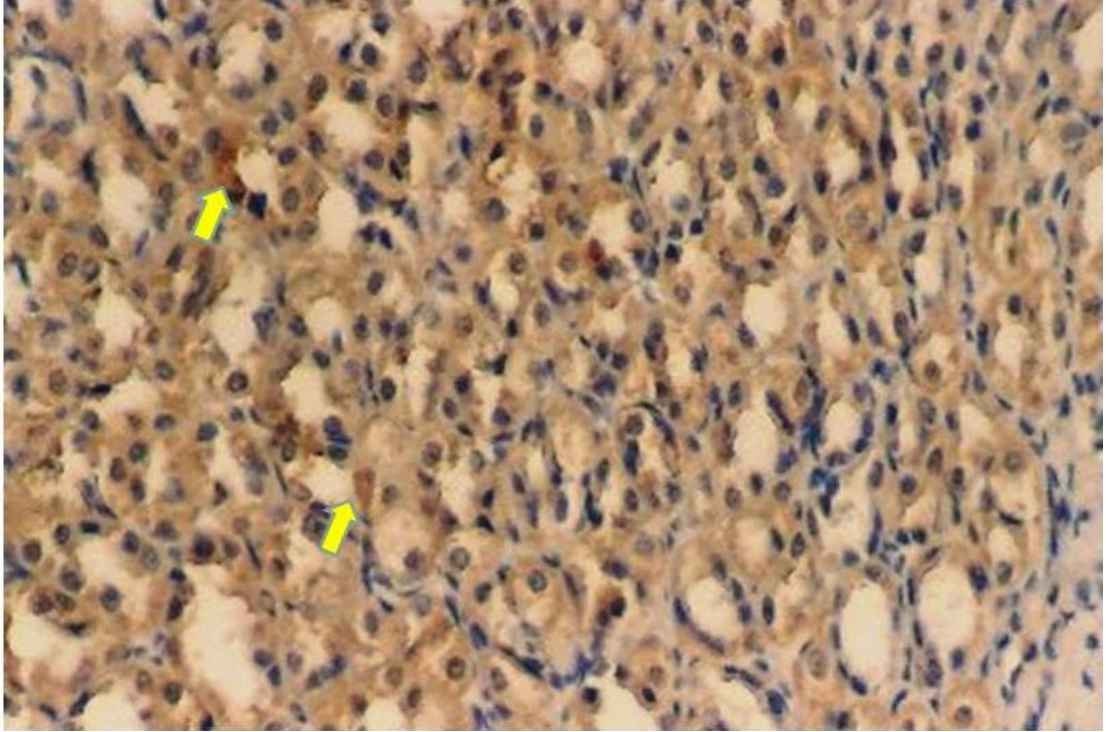
Resim 35. Gıda alımı arttırılan gruba ait mide mukozasında apelin birikintileri (▲) ve (+++) apelin immünreaktivitesi X 10



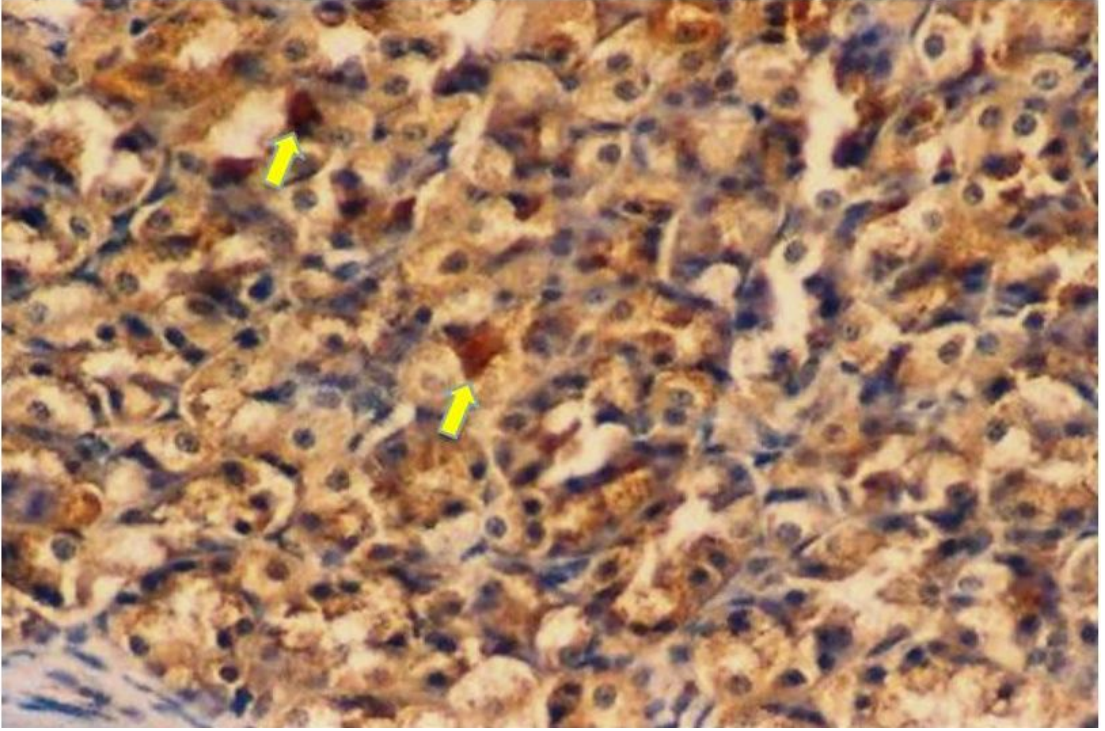
Resim 36. MSG uygulanan grubuna ait mide mukozasında (++++) apelin immünreaktivitesi X 10



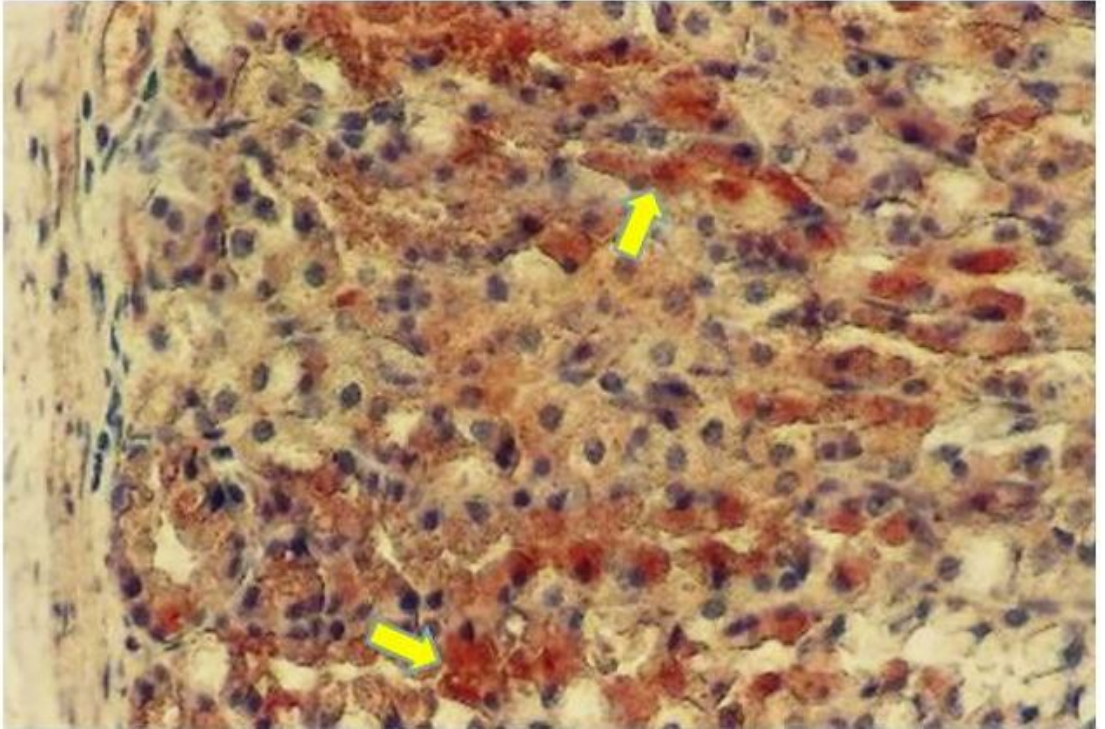
Resim 37. Kontrol grubuna ait mide mukozasında apelin (\blacktriangleright) ve (++) apelin immünreaktivitesi X 20



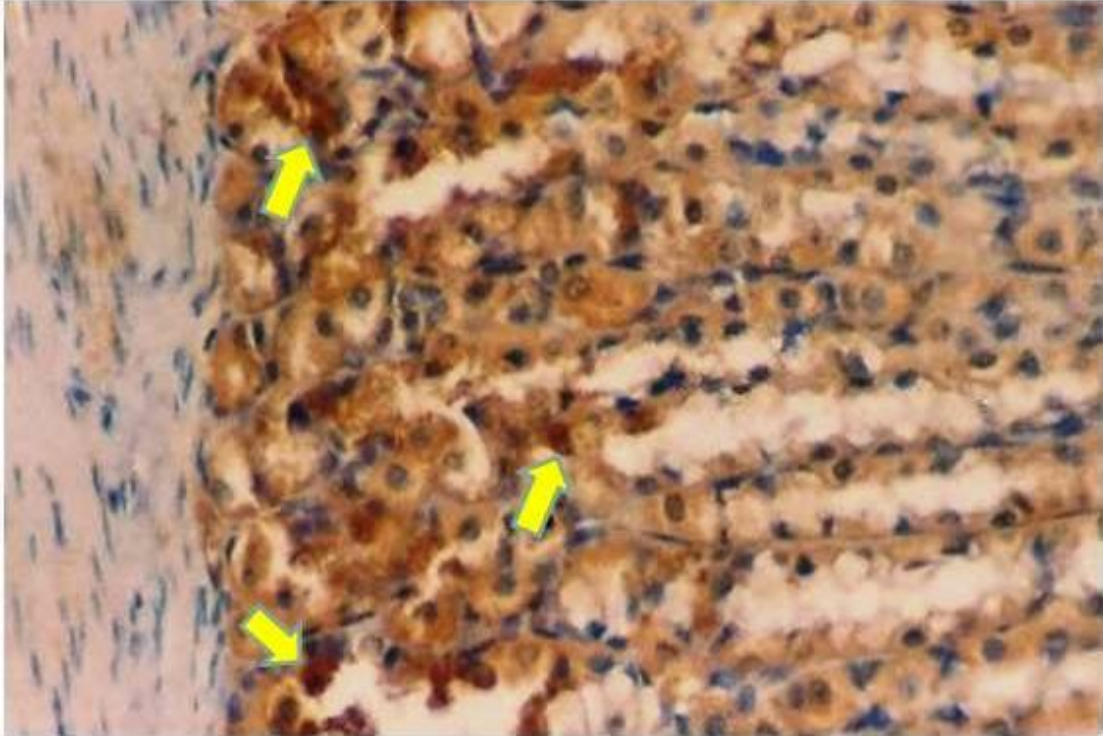
Resim 38. Gıda alımı azaltılan gruba ait mide mukozasında (+) apelin (\blacktriangleright) immünreaktivitesi X 20



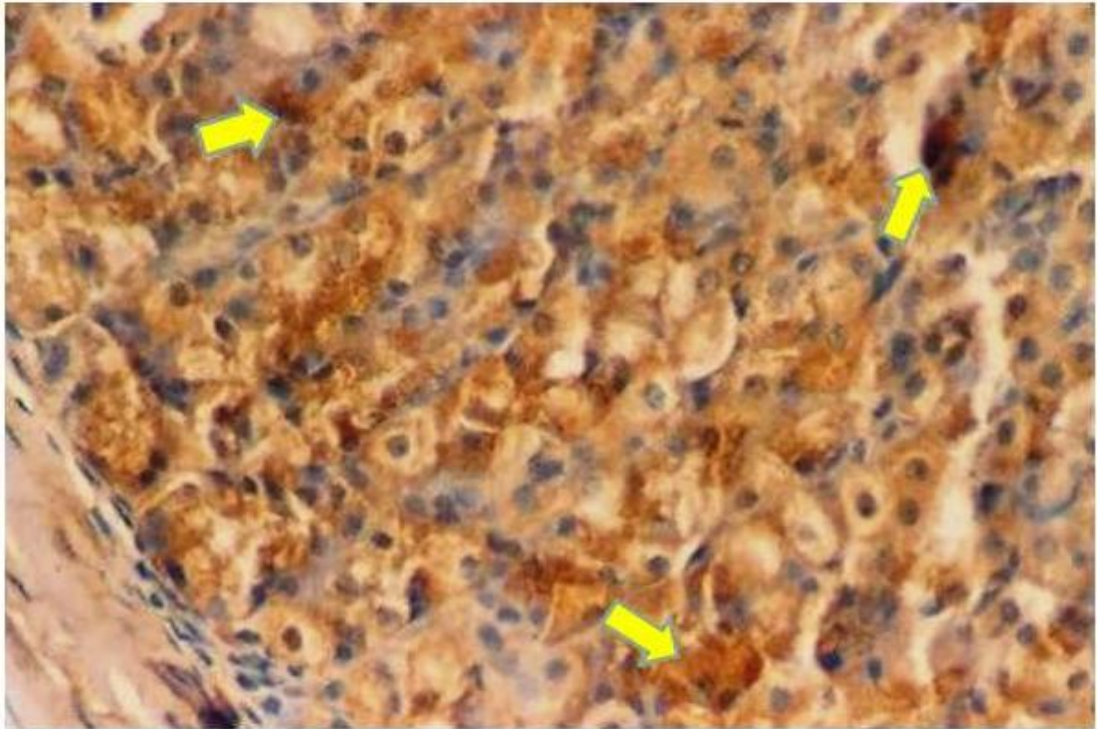
Resim 39. Gıda alımı arttırılan gruba ait mide mukozasında (+++) apelin immünreaktivitesi X 20



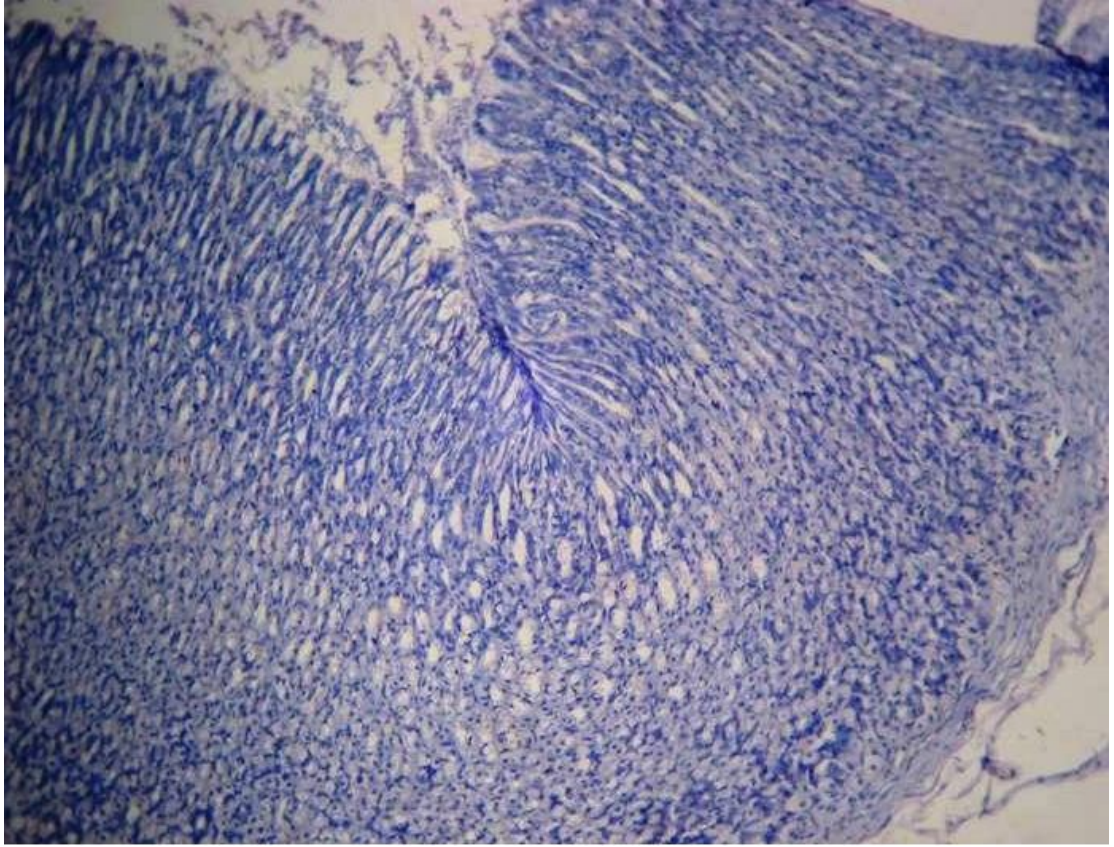
Resim 40. MSG uygulanan grubuna ait mide mukozasında apelin (↑) ve (++++), apelin immünreaktivitesi X 20



Resim 41. MSG uygulanan grubuna ait mide mukozasında apelin içeren hücreler kahverenkli (▲) ve (++++) apelin immünreaktivitesi izlenmekte X 20



Resim 42. MSG uygulanan grubuna ait mide mukozasında apelin içeren hücreler koyu kahverenkli (▲) ve (++++) apelin immünreaktivitesi X 20



Resim 43. Negatif kontrol (0) apelin immünreaktivitesi X4

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Besin alımı daima vücudun metabolik ihtiyacını karşılayacak kadar yeterli olmalı ancak şişmanlığa yol açacak kadar fazla olmamalıdır. Kişinin alacağı besin miktarı esasen açlık diye adlandırılan ve besine duyulan intrinsek istek tarafından düzenlenir (14).

Beslenmenin uzun süreli düzenlenmesinde rol alan çeşitli feedback faktörler tam olarak aydınlatılamamıştır. Vücutta besin depoları normalin altına indiği zaman hipotalamustaki beslenme merkezinin aktivitesi yükselerek açlık belirtileri ortaya çıkar diğer yandan başlıca yağ olmak üzere enerji depoları arttığında, açlık kaybolarak tokluk durumu görülür (14).

Vücuda tüketilenden fazla enerji girdiğinde vücut ağırlığı artar. Yemek yeme hızı vücuttaki besin depoları ile orantılı olarak düzenlenir. Depolar en uygun düzeye ulaştığı zaman aşırı depolanmayı önlemek üzere beslenme de otomatik olarak azalır. Ancak birçok şişman kişi için bu geçerli değildir. Şişmanlarda vücut ağırlığı normalin çok üstüne çıkıncaya kadar beslenme eksilmez. Şişmanlık genellikle beslenmenin düzenlenmesi ile ilgili mekanizmanın bozukluğuna bağlı olarak ortaya çıkar. Bu durum psikojenik, nörolojik anormallikler, genetik faktörler ve çocuklukta aşırı beslenmeye bağlı olarak oluşur (14).

Obezite, genetik-çevresel faktörlerin rol aldığı multifaktöriyel ve karmaşık bir hastalıktır. İhtiyaçtan fazla olarak alınan enerji, yağ olarak depo edilmektedir. Obezitenin oluşması için diyetin içeriği (yüksek yağlı besin, sukroz ihtiva eden içecekler, fast food) çok önemlidir (15). Obezite ve metabolik sendrom, tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalıkların gelişimi ile ilgili olması açısından da çok önem taşıyan bir sağlık sorunudur. Obezitenin sinir sisteminde nörodejenerasyon ile demans oluşma riskini arttırdığı düşünülmektedir. Alzheimer ve Parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklar için oksidatif hasar ve inflamasyon etyopatogenezinde rol alabileceğini bildiren çalışmalar mevcuttur (15). Fontana ve arkadaşları (96) obez kişilerin hafif düzeyde bir kronik inflamatuvar durum içinde olduklarını bildirmişlerdir. Genişleyen yağ hücreleri kan dolaşımına inflamatuvar moleküller salarlar. Kronik inflamasyon ise doku harabiyetine sebep olmaktadır. Bu durumun, ışık mikroskobu düzeyindeki çalışmamızın MSG uygulanan grubunda gözlenen gastrik bezlerdeki oldukça belirgin genişleme ve epitel kaybı gibi

histopatolojik değişikliklere temel oluşturabileceği kanısındayız. Bu çalışmada gıda alımı artırılan grupta da mide gastrik bezlerinde kontrol grubuna göre hafif bir genişleme ve hücreler arasında hafif köpüksü bir görünüm izlendi. Ancak MSG uygulanan grupta gastrik bezlerdeki genişleme ve düzensizlik oldukça belirgindi.

İlk olarak 70'li yıllarda yenidoğan dönemindeki sıçanlara enjeksiyonları yapılmaya başlanan MSG'nin, gelişme geriliği, adrenokortikal fonksiyonlarda bozulmalar, glukoz intoleransı yaptığı ancak fertlitye etkilemediği bildirilmiştir (100, 101). Son on yılda yapılan çalışmalarda, MSG enjekte edilmiş olan sıçanlarda santral obezite, azalmış glukoz toleransı, tedaviden 12 hafta sonra oluşan hiperinsülinemi tespit edilmiştir (101, 103). Sonraki yıllarda, MSG'nin yenidoğan döneminde endokrin fonksiyonları, hipotalamusun arkuat ve paraventriküler nükleuslarını etkilediği, yetişkin sıçanlarda ise hipoaljezi oluşturduğu tesbit edilmiştir. Ayrıca interskapular kahverengi yağ dokusunu azalttığı da bildirilmiştir (101, 102).

Zayıflık şişmanlığın tam tersidir. Zayıflığa beslenme yetersizliği, psikojenik ve hipotalamik anormallikler de neden olabilir. Uzun süre aç bırakılmış daha sonra besin alımı serbest bırakılan bir hayvan, düzenli beslenen bir hayvandan çok daha fazla yemek yer. Aksine haftalarca yemeye zorlanan bir hayvan kendi arzusuna göre beslenmeye bırakıldığı zaman daha az yer. Böylece vücudun beslenmesini kontrol eden mekanizmalar, beslenme durumuna göre ayarlanır. Kan glukoz konsantrasyonundaki azalmanın acıkmaya neden olduğu uzun zamandan beri bilinmektedir (14).

Açlıkta bazal metabolizma hızı düşer ve glukagon artar. Tiroid hormonlarının seviyesi açlığın süresine bağlı olarak zamanla azalır. Açlığın şiddetine bağlı olarak kan basıncı, glukoz seviyesi, vücut ağırlığı ve serum gastrin seviyeleri de düşer (97). Açlıkta epitel hücrelerinin yenilenmesinin azaldığı ve sonrasında doyurulma ile mitozlarda artış olduğu belirlenmiştir. Buna ek olarak yüzey epitelinde parçalanmalar, lamina propriadaki bez lümenlerinde genişlemeler, epitelde dökülme, uzun dönemde ise lokal ülseratif alanlar izlenmiştir (16). Bu çalışmada da gıda alımı kısıtlandığımda mide mukozasında Sönmez ve ark.'nın (16) çalışmasıyla oldukça paralel bir şekilde yüzey epitelinde parçalanmalar, yer yer dökülmeler, gastrik

bezlerin bazalinde lenfosit infiltrasyonları, lamina propriadaki bez lümenlerinde genişlemeler ve köpüksü alanlar belirlenmiştir.

Literatürde kalori kısıtlaması ile ilgili gelişme döneminde yapılan az sayıda çalışma bulunmaktadır. Gelişme döneminde, uygulanacak kalori kısıtlanmasının süresi ve miktarına bağlı olarak öğrenme, hafıza gibi beyin fonksiyonları ve psikomotor fonksiyonları azaltarak etkileyebileceğini gösteren önemli bulgular mevcuttur (15, 99). Ancak gelişme dönemindeki kalori kısıtlanmasının mide üzerine etkilerini araştıran çok az sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada on günlük sıçanların kullanılması, gelişme döneminde kalori kısıtlanmasının mide dokusu üzerine etkileri ve bu dokudaki apelin dağılımının ortaya çıkması açısından önem taşımaktadır. Çalışmamızda olduğu gibi, gelişme dönemindeki sıçanlarda yapılan bir çalışmada % 60 kalori kısıtlaması 40 gün uygulanmış ve kalori kısıtlanmasının dokularda oksidatif stresi azalttığı belirtilmiştir. Kısa süreli kalori kısıtlanmasının, beyinde sadece lipit peroksidasyonunu engellemesi, sürenin az olmasına bağlanmıştır (15, 98).

Apelin ilk kez sığır midesinde bulunmuştur (36). Farklı aminoasit dizilimlerinden oluşan apelin fragmanları ve reseptörü olan APJ, insanlarda, sığırlarda, sıçanlarda ve farelerde gösterilmiştir (26). Sıçanlarda apelin karaciğer, dalak, akciğer, pankreas ve adipoz dokunun küçük damarlarının endotelinde yer alır (104, 39). Apelinin santral ve periferik etkileri vardır. Kardiyovasküler sistemde kan basıncı ve kanın akışını, sıvı ve gıda alımını düzenler (46). Apelin reseptörü kalpte erken embriyonal gelişimden itibaren kontraktıl hücre öncüllerinin kardiomyositlere migrasyonunu düzenler (55). Bu üretim yetişkinlerin kardiomyositlerinde devam eder ve apelin kalbin kasılmasının en güçlü uyarıcılardandır (56). Apelin eksikliğinde yaşlı farelerde kalp kasılmalarının ilerleyici olarak azaldığı gösterilmiştir (57).

Embriyogenezde, retina da otokrin sinyaller ile yeni damar yapılarının oluşması ve gelişiminde APJ ve apelinin etkileri olduğu gösterilmiştir (106). Apelinin mRNA'sı PCR ile birçok dokuda gösterilmiştir. Sıçanlarda apelin mRNA'sı en çok akciğerlerde gösterilmiştir (26, 34). İnsanlarda ise en çok dalakta ve akciğerlerde bulunur (38). Apelin mRNA'sı ayrıca ovaryum, kalp, adipoz doku, testis, uterus ve tüm beyinde tesbit edilmiştir (26, 38).

PCR ve in situ hibridizasyon kullanılarak APJ mRNA'sı ve apelin üretiminin yenidoğan ve gelişme dönemindeki sıçanlarda yetişkinlerden daha fazla olduğunun gösterilmiş olması bu çalışma açısından büyük önem taşımaktadır (26). Wang ve ark. (54) yaptıkları bir çalışmada Northern Bloth analizi ile sindirim sistemindeki apelin mRNA seviyelerine baktıklarında, sırası ile en çok mide (fundus), ileum, kalın bağırsak, duodenum ve jejunumda bulunduğunu tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada northern bloth ve in situ hibridizasyon teknikleri ile fetal, postnatal ve yetişkin sıçanların apelin mRNA seviyelerine bakılmıştır. Fetal dönem 16–21. haftalar, postnatal 1–24. haftalar, yetişkin dönem için ise 24 haftadan büyük sıçanların apelin mRNA'larının incelenmesi ile fetal dönemden gelişime kadar tedricen azaldığını belirlemişlerdir. 24. haftadan sonra ise sinyal gösterilememiştir. Apelinin özellikle gelişim döneminde (fetal, postnatal) yoğun olarak üretilmesi, gelişim döneminde önemli fizyolojik etkilerinin olabileceğini göstermektedir (54).

Bizim çalışmamızda da Wang ve arkadaşlarının çalışmasının postnatal dönemine uyacak şekilde apelin immün boyanmasının kontrol grubunda belirgin olduğu ancak immünohistokimyasal boyanma yaygınlığı derecesinin gıda alımı ile özellikle de MSG uygulanması ile daha fazla olmak üzere arttığı belirlenmiştir. Apelinin immünohistokimyasal boyanma yaygınlığı derecesinin gruplar arasında karşılaştırılmasında kontrol grubu (+2), gıda alımı arttırılan grubu (+3), ve MSG uygulanan grup (+4) olarak gittikçe artmış olarak değerlendirilmiş ancak kontrollerle karşılaştırıldığında, gıda alımı azaltılan grupta (+1) ise boyanma yaygınlığında azalma olduğu tespit edilmiştir. İmmünohistokimyasal çalışmalarda, bu çalışmada belirlendiği gibi midenin mukoza hücrelerinde apelin immün pozitifliği gösterilmiştir. Apelin immün pozitif hücreler sıçan mide epitelinin oksintik hücrelerinde, mide bezlerinin boyun bölgesinde de gösterilmiştir. Mide kas tabakasında İHC ile boyanmada apelin immünreaktivitesi gözlenmemiştir. Ancak aynı bölgedeki müköz boyun hücrelerinde apelin boyanmıştır. İstmusun üst kısımlarındaki pariyetal hücrelerde apelin için boyanma olmuştur (81, 82). Bu çalışmada da özellikle gastrik bezlerde yoğunlaşan boyanma gözlenmiştir.

Apelin mRNA seviyelerinin PCR ile gebeliğin farklı dönemlerinde, sıçanlarda meme dokusunda gebelik süresi ile doğru orantılı olarak arttığı, doğum anında pik yaptığı ve laktasyonda ise tedricen azaldığı gösterilmiştir (34, 38).

Apelinin obeziteyle ilişkisini göstermek için birçok çalışma yapılmıştır. Federico ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada apelin seviyelerinin temel olarak obeziteyle ilişkili olmadığını göstermişlerdir. Apelin seviyelerinin tipII diyabetli morbid obezlerde yüksek olduğu, yağ dokularının çıkarılması amacıyla uygulanan bölgesel cerrahiden sonra glukoz seviyeleri ile insülin sensitivitesinin azaldığı ve serum apelin seviyelerinin düştüğü gösterilmiştir. Cerrahi sonrası glukoz seviyeleri arttığında serum apelin seviyesinin belirgin olarak değiştiği gösterilmiştir. Glisemik kontroller, düzenlemeler ve vücut ağırlığındaki azalma, apelinin, insülin rezistansı ve tipII diyabet gelişiminde etkili olabileceğini kanıtlamaktadır. Bazı çalışmalar bu bulgu ile uyumludur ve serum apelin seviyelerinin obezitede yüksek olduğu ve obezitenin patofizyolojisinde etkili olduğunu göstermiştir. Deneysel obezite modellerinde apelin seviyelerinin yükselmiş olduğu (49, 73, 107) ve apelin artışının insülin artışıyla belirgin olarak paralelliği gösterilmiştir (73).

Apelin ve reseptörü gastrointestinal kanal boyunca sentezlenir. Sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan kolit ve insanlardaki inflamatuvar bağırsak hastalıklarında intestinal apelin üretimi artar. Lipopolisakkarit ve proinflamatuvar sitokinlerin (IL-6 ve IFN-GAMA) sıçanlarda enterik hücrelerde apelin üretimini arttırdığı belirtilmiştir (84). İmmün sistem hücrelerindeki APJ reseptörlerini ilk kez Tameto ve arkadaşları göstermişlerdir (36, 34). Habata ve arkadaşları BALB/C fare dalak hücre kültüründe apelin-36'nın IFN-gama, IL-2 ve IL-4'ü baskılandığını tesbit etmişlerdir. Bu bulgular apelinin immün cevabın düzenlenmesinde de etkili olduğunu göstermektedir (34).

Obezitede TNF- α ve IL- 6'nın plazma seviyelerinin insanlarda arttığı ve diyet ile oluşturulmuş olan kilo kaybında ise düştüğü belirtilmiştir. TNF- α , insan ve farelerin adipozitlerinde apelin mRNA'sının miktarını belirler. İntraperitoneal olarak uygulanan TNF- α farelerde hem dokuda hem de dolaşımdaki apelinini artırır (78). Bu bilgiye dayanarak obezitenin oluşturduğu inflamatuvar yanıtı bağı olarak artmış sitokinler apelinin sekresyonunu artırır. Artmış olan apelin dokulardaki vaskülarizasyonu artırır. Bizde apelinin en çok salgılandığı dokulardan olan mide de bunu immünohistokimyasal olarak göstermeyi amaçladık. MSG de metabolik sendrom ve kilo artışına bağlı olduğu için en şiddetli boyanmayı bu grupta tesbit ettik.

Apelin artışının insülin artışına mı, yoksa obeziteye mi bağlı olduğu tam olarak belirlenememiştir. Frederica ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada apelin miktarındaki artış, tip II diyabet ve tüm morbid obezlerde yakın seviyelerde bulunmuştur. Buna bağlı olarak obezitenin dolaşımdaki apelinini belirleyen tek faktör olmadığı ve diğer adipokinlerinde etkili olduğunu düşündürmektedir.

Apelin iştah ve gıda kontrolünü sağlar ve yoğun olarak mide, hipotalamus ve yağ dokusundan salgılanır. Anoreksia nervosa (AN) insanlarda görülen kronik yağ dokusu atrofisi ile seyreden biyolojik bir yeme bozukluğudur. Zaira ve arkadaşları (106) AN lı ve yeme bozukluğu olmayan bireylerin kan apelin-36 ve apelin -12 seviyelerinin sağlıklı ve obez bireylerden daha düşük olduğunu göstermişlerdir. Bu bulgu apelinin yağ dokusunun miktarı ile serum apelin düzeyleri ile orantılı olduğunu kanıtlamaktadır. Bu bulgulardan yola çıkılarak bizde gıda alımı kısıtlandığında midedeki apelinin IHC olarak boyandığında boyanmanın şiddetinin düşmüş olduğunu; kontrol, gıda alımı kısıtlanmayan ve MSG grubunda tedricen artmış olduğunu gösterdik. Kromogranin-A enteroendokrin hücreler için bir markerdir. Apelinin bu hücrelerde bulunduğu gösterilmiştir. Bu da apelinin sistemik dolaşımda endokrin etkilerinin olabileceğini gösterir. Bazı apelin pozitif hücrelerde kromogranin –A ve apelinin beraber üretildiği gösterilmiştir (82).

Apelin genç erişkin döneme kadar tüm vücutta yaygın olarak üretilir ve mRNA sını PCR ile gösterilmiştir. Apelin sadece midenin ekzokrin ve endokrin bir ürünü değildir. Apelinin büyüme faktörü gibi etkileri de olabilir. Bu çalışmada apelinin intestinal epitel proliferasyonunu artırabileceği gösterilmiştir. Susaki ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmadaki gibi bizim çalışmamızda da mide mukozasındaki apelin immün pozitif hücreler gösterildi. Boyanma tüm gruplarda tesbit edilmiş, tüm gruplardaki boyanma şiddetinde değişiklikler gözlenmiştir (26).

Apelin glukoz salgılanmasını uyarır, insülin sekresyonunu inhibe eder. İnsan ve hayvanlar pankreas adacık hücrelerinde bulunur. APJ reseptörlerinin adacık hücrelerinde bulunması apelinin parakrin ve otokrin etkilerinin olabileceğini gösterir. Rinström ve arkadaşları (108) yüksek doz apelin -36 sıçanlara verildiğinde glukozun uyardığı insülin sekresyonu arttırdığını daha düşük doz uygulandığında ise insülin sekresyonu % 50 azaldığını, insanlarda ise pankreastan apelin üretiminin glukozdan etkilenmediğini PCR, IHC, in situ hibridizasyon ile göstermişlerdir. MSG metabolik

sendrom oluşturur. Metabolik sendromda insülin rezistansı olur. Apelinin insülini inhibe etmek için miktarının artmış olabileceğini düşünmekteyiz.

Bu çalışmadaki sıçanlar 40. günde dekapite edildiler. Erişkin olmadan deney sonlandırıldı. Gruplar arasında belirgin farklılık gözlemlendi. Gıda alımı kısıtlanan, gıda alımı kısıtlanmayan ve MSG uygulanan sıçanların mide dokularındaki apelinin immün boyanma şiddetleri karşılaştırıldığında; apelinin gıda alımı kısıtlanmış olan grupta daha az boyandığı, kontrol ve gıda alımı kısıtlanmamış olan grupta ise boyanma şiddetinin birbirine daha yakın olduğu belirlenmiştir. Apelinin gastrik mukozadan salgınır (73) ve hasar görmüş mide mukozasından açlıkta olduğu gibi daha az sekresyonu beklenir. Ancak buna karşı MSG uygulanan grupta ise gastrik bez yapıları hasar görmüş olmasına rağmen boyanma şiddetinin daha fazla olduğu belirlendi. MSG insülin rezistansının eşlik ettiği kilo artışını uyarır ve uzun dönemde diyabet oluşumuna sebep olmaktadır (93).

Bulgularımız, apelinin gelişim döneminde yoğun üretimi ile ilişkili olarak fizyolojik etkilerinin olabileceği düşüncesi esas alındığında, oldukça önem taşımaktadır. Bizim bulgularımıza göre; gıda alımı kısıtlandığında IHC boyanmanın şiddetinin daha az olması, apelinin gıda alımı kısıtlandığında mide dokusunda üretiminin düştüğünü göstermektedir.

Apelinin temel olarak mide, hipotalamus ve adipoz doku arasındaki bağlantılar ile salgılanır. Adipoz dokudan apelinin sekresyonu insülin ve TNF- α artışı ile orantılı olarak arttığı bildirilmiştir (75). Metabolik sendromda dokularda insülin rezistansı gelişir ve kan glukoz seviyeleri yükselme eğilimi olur. Apelinin artışı ile metabolik sendrom, obezite, diyabetin ilişkili olduğu düşünülebilir. Apelinin artmış olan bu insülini azaltmak için artmış olabileceğini düşünmekteyiz. Özellikle gelişme dönemindeki MSG alımının midede ki apelinin immün pozitifliğini arttırdığı çalışmamızda bariz olarak gösterilmiştir. Günümüzde obezite ve diyabetin giderek artışı ve yol açtığı sorunlar ele alındığında bu durumun aydınlatılabilmesi açısından uzun süreli MSG uygulanması ve apelin ile ilgili gelecekte daha ayrıntılı ve geniş çaplı çalışmaların yapılması gerektiği düşüncesindeyiz.

Biz bu çalışmada sıçan mide dokusundan salgılanan bir peptit olan apelinin, gıda alımı kısıtlandığında, artırıldığında ve MSG uygulaması sonrasında değişiklikleri göstermeyi amaçladık. H&E, PAS ve Masson'un üçlü boyaması ile

göstermeyi amaçladık. Gıda alımı ve MSG'nin, mide dokusunun korpusundan alınan kesitlerdeki apelin immünreaktivitesine olan etkileri boyama yapılarak karşılaştırıldı. MSG uygulanan gruplar H&E, PAS, Masson'un üçlü boyası ve immün boyama yapılarak ışık mikroskobu ile incelendiğinde, gastrik bezlerde genişleme, mukozanın bazalinde hücre infiltrasyonları ve immün boyanmanın şiddetinde artma tesbit edildi.

5. KAYNAKLAR

1. Moore KL, Persaud TVN. Embriyoloji ve Doğum Defektlerinin Temelleri.7.baskı, Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P (Çeviri editörleri) Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri, 2009: 139–143.
2. Şeftalioğlu A. Genel&Özel İnsan Embriyolojisi. 3.Baskı, Ankara, Tıp&Teknik Yayıncılık, 1998: 294–296.
3. Sadler TW. Medikal Embriyoloji. Başaklar AC (Çeviri Editörü). 7. Baskı, Ankara, Palme Yayıncılık, 1996: 231–237.
4. England MA. Life before birth. 2. Baskı Graphos SA. Arte Sabre Papel 1996: 126.
5. Brauer bleyl, Francis West Larsen's Human Embriyology 4. Baskı 2009: 28-29.
6. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. 3. Baskı, Ankara, Güneş Kitabevi, 2001: 241- 244
7. Kuran O, sistemik anatomi 3. baskı 1993: 388-395
8. Kierszenbaum AL, Histoloji ve Hücre Biyolojisi. Demir R (Çeviri Editörü). 1. Baskı, Ankara, Palme Yayıncılık, 2006: 406–420.
9. Junqueira LC, Carneiro Jose. Temel histoloji. Solakoğlu S, AYTEKİN Y Nobel Tıp Kitabevleri 2009: 288–304
10. Ovalle WK, Nahirvey PC. Netter Temel Histoloji. Çev. Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P. 2009: 287–292.
11. Ross MH, Pawlina W. Histology. A Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology. Taylor C, Scogna KH, Ajello JP (Editörler). Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia. 2006; 730
12. Gartner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology. 3.Baskı United States of America 2007: 385–398

13. Sobotta, Hammersen. Histoloji Renkli Mikroskopik Anatomi Atlası. Tekelioğlu M. 3. Baskı Beta Basım Yayın Dağıtım Merkezi 1998;5: 233
14. Guyton AC, Hall JE. Tıbbi Fizyoloji. Çavuşoğlu H (Çeviri Editörü). 9. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri, 1996: 315–319.
15. Yılmaz N. Ratlarda Kalori kısıtlamasının NMDA Reseptör Subünit Kontrasyonları Üzerine Etkisi 2007: 8 -12
16. Sönmez MF, OZAN E. Açlık ve Açlık Sonrası Doyurulmanın Sıçan Mide Dokusu üzerine Etkileri: Işık Mikroskopik Çalışma. Fırat Tıp Dergisi 2005; 10: 96–102.
17. Balanka Z, Jana M, Resha M, Renata H, Darja B, Lenka M. CCK ve CART peptide in MSG obese mice 166 prague 6 Physolical Research Pre –Press article.
18. Cinti S, Mitchell G, Barbatelli G, Murano I, Ceresi E, Faloia E, Wang S, et all. Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans; Epub 2005; 46: 2347-2355.
19. Badman MK, Flier JS. The adipocyte as an active participant in energy balance and metabolism. 2007; 132: 2103 -2115.
20. Romero Mdel M, Fernández-López JA, Esteve M, Alemany M. Different modulation by dietary restriction of adipokine expression in white adipose tissue sites in the rat. Cardiovasc Diabetol. 2009; 30; 8-42
21. Susan E, Wozniak AE, Laura L, Gee AE, Mitchell S, Wachtel AE, Eldo E. Frezza Dig Dis Sci 2009; 54: 1847–1856
22. Rayalam S, Della-Fera MA, Krieg PA, Cox CM, Robins A, Baile A putative role for apelin in the etiology of obesity. CA 2008 11; 368: 815 - 819.
23. Kapıca M, Puzio I, Kato I, Kuwahara A, Zabielski R. Role of the feed – regulating peptides on pancreatic exocrine secretion: Journal of Physiology and Pharmacology 2008; 59: 145-159.

24. Etsuko S, Guiyun W, Gan Cao, Hui-Quin W, Ella W. Englander and George H. Greeley, Jr. Apelin cells in the rat stomach Science Direct Regulatory Peptides 2005; 129: 37- 41
25. Choe H, Farzan M, Konkel M, Martin K, Sun Y, Marcon L, et all. The orphan seven-transmembrane receptor apj supports the entry of primary T-cell-line-tropic and dualtropic human immunodeficiency virus type 1. 1998; 72: 6113-6118.
26. Hosoya M, Kawamata Y, Fukusumi S, Fujii R, Habata Y, Hinuma S, et all. Molecular and functional characteristics of APJ. Tissue distribution of mRNA and interaction with the endogenous ligand apelin. J Biol Chem. 2000; 275: 21061-21067
27. Annabelle RG, Rodrigo AP, Phelippe Z, Dacquese E, Marie teres BP, Catherine LC Cellular localization of apelin in the anterior pituitary: Evidence for a direct stimulatory action of apelin on ACTH release: Physiol Endocrinol Metab 2006; 292: 7-15.
28. Ricardo LL, Joqa FM, Adelino FL. The apelinergic system: The Role played in Human Physiology and Pathology and Potential Therapeutic Applications 04 December 2007: Arq Bras Cardiol 2008: 343-349
29. Llorens-Cortes C, Moos F. Opposite potentiality of hypothalamic coexpressed neuropeptides, apelin and vasopressin in maintaining body-fluid homeostasis. Prog Brain Res 2008; 170: 559-570.
30. Taheri S, Murphy K, Cohen M, Sujkovic E, Kennedy A, Dhillon W, et all. The effects of centrally administered apelin-13 on food intake, water intake and pituitary hormone release in rats, Biochem. Biophys. Res. Commun 2002; 291: 1208–1212.
31. Clarke KJ, Whitaker KW, Reyes TM. Diminished Metabolic Responses to Centrally-Administered Apelin-13 in Diet-Induced Obese Rats Fed a High-Fat Diet Journal of Neuroendocrinology 2009; 21: 83–89

32. Devic E, Rizzoti K, Bodin S, Knibiehler B, Audigier Y. Amino acid sequence and embryonic expression of msr/apj, the mouse homolog of Xenopus X-msr and human APJ. 1999; 84: 199-203
33. Saint-Geniez M, Masri B, Malecaze F, Knibiehler B, Audigier Y, Expression of the murine msr/apj receptor and its ligand apelin is upregulated during formation of the retinal vessels. *Retina* 2002; 110: 183–186.
34. Habata Y, Fujii R, Hosoya M, Fukusumi S, Kawamata Y, Hinuma S, et al. Apelin, the natural ligand of the orphan receptor APJ, is abundantly secreted in the colostrum. *Biochim Biophys Acta*. 1999; 1452: 25–35
35. Ricardo Ladeiras-Lopes, João Ferreira-Martins, Adelino F. Leite-Moreira The Apelinergic System: The Role Played in Human Physiology and Pathology and Potential Therapeutic Applications Manuscript received August 03, 2007; reviewed manuscript received Ladeiras-Lopes R, Ferreira-Martins J, Leite-Moreira AF. *Arq Bras Cardiol*. 2008; 90: 343–349.
36. Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, Fujii R, Kakegawa T, Zou MX, et al. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998; 251: 471–476.
37. Medhurst AD, Jennings CA, Robbins MJ, Davis RP, Ellis C, Winborn KY, et al. Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin. *J Neurochem*. 2003; 84: 1162–1172.
38. Kawamata Y, Habata Y, Fukusumi S, Hosoya M, Fujii R, Hinuma S, et al. Molecular properties of apelin: tissue distribution and receptor binding. *Biochim Biophys Acta* 2001; 1538: 162–171.
39. Kleinz MJ, Davenport AP. Emerging roles of apelin in biology and medicine. *Pharmacol Ther* 2005; 107: 198- 211
40. Matthias J. Kleinz and Anthony P. Davenport Emerging roles of apelin in biology and medicine *Pharmacology & Therapeutics* 2005; 107: 198–211

41. Katugampola S, Davenport A. Emerging roles for orphan G-protein-coupled receptors in the cardiovascular system. *Trends Pharmacol Sci* 2003; 24: 30-
42. Stadel JM, Wilson S, Bergsma DJ. *Trends Pharmacol. Sci* 1997; 18: 430-437.
43. O'Dowd B, Heiber M, Chan A, Heng H, Tsui L, Kennedy J, et al. A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene* 1993; 136: 355-60.
44. Saint-Geniez M, Masri B, Malecaze F, Knibiehler B, Audigier Y. Expression of the murine msr/apj receptor and its ligand apelin is upregulated during formation of the retinal vessels. *Dev* 2002;110: 183-
45. O'Carroll AM, Selby TL, Palkovits M, Lolait SJ. Apelin at brain and peripheral tissues 14 March 2000 Elsevier Distribution of mRNA encoding B78/apj, the rat homologue of the human APJ receptor, and its endogenous ligand apelin in brain and peripheral tissues. *Biochim Biophys Acta*. 2000; 1492: 72–80.
46. De Falco M, De Luca L, Onori N, Cavallotti I, Artigiano F, Esposito V, et al. Apelin expression in normal human tissues. *In Vivo* 2002; 16: 333–336.
47. Falcao-Pires I, Leite-Moreira AF. Apelin: a novel neurohumoral modulator of the cardiovascular system: pathophysiologic importance and potential use as a therapeutic target. *Rev Port Cardiol* 2005; 24: 1263-1276
48. Hashimoto T, Kihara M, Ishida J, Imai N, Yoshida S, Toya Y, et al. Apelin stimulates myosin light chain phosphorylation in vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 1267-1272.
49. Masri B, Lahlou H, Mazarguil H, Knibiehler B, Audigier Y. Apelin activates extracellular signal-regulated kinases via a PTX-sensitive G protein. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 290: 539–545.
50. Masri B, Knibiehler B, Audigier Y. Apelin signalling: a promising pathway from cloning to pharmacology. *Cell Signal* 2005; 17: 415-426.

51. Tatemoto K, Takayama K, Zou MX, Kumaki I, Zhang W, Kumano K, et al. The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism. *Regul Pept* 2001; 99: 87–92.
52. Ishida J, Hashimoto T, Hashimoto Y, Nishiwaki S, Iguchi T, Harada S, et al. Fukamizu A Regulatory roles for APJ, a seven-transmembrane receptor related to angiotensin-type 1 receptor in blood pressure in vivo *J Biol Chem.* 2004; 279: 26274-26279.
53. Zhong JC, Yu XY, Huang Y, Yung LM, Lau CW, Lin SG. Apelin modulates aortic vascular tone via endothelial nitric oxide synthase phosphorylation pathway in diabetic mice. *Cardiovasc Res.* 2007; 74: 388-395.
54. Wang G, Anini Y, Wei W, Qi X, OCarroll AM, Mochizuki T, Wang HQ, Hellmich MR, Englander EW, Greeley GH Jr Apelin, a new enteric peptide: localization in the gastrointestinal tract, ontogeny, and stimulation of gastric cell proliferation and of cholecystokinin secretion. 2004 145: 1342-1348.
55. Scott IC, Masri B, D'Amico LA, Jin SW, Jungblut B, Wehman AM, et al. The G protein-coupled receptor agr11b regulates early development of myocardial progenitors. *Dev Cell* 2007; 12: 403–413
56. Ashley EA, Powers J, Chen M, Kundu R, Finsterbach T, Caffarelli A, Deng A, Eichhorn J. Quatermous T The endogenous peptide apelin potently improves cardiac contractility and reduces cardiac loading in vivo. *Cardiovasc Res* 2005; 65: 73-82
57. Kuba K, Zhang L, Imai Y, Arab S, Chen M, Maekawa Y, et al. Impaired heart contractility in Apelin gene-deficient mice associated with aging and pressure overload. *Circ Res* 2007; 101: 32-42.
58. Japp AG, Cruden NL, Amer DA, Li VK, Goudie EB, Johnston NR, et al. Vascular effects of apelin in vivo in man. *J Am Coll Cardiol* 2008; 52: 908–913

59. Langelaan DN, Rainey JK. Headgroup-dependent membrane catalysis of apelin-receptor interactions is likely. *J Phys Chem B* 2009; 113: 10465–10471.
60. Sheikh AY, Chun HJ, Glassford AJ, Kundu RK, Kutschka I, Ardigo D, et al. In vivo genetic profiling and cellular localization of apelin reveals a hypoxia-sensitive, endothelial-centered pathway activated in ischemic heart failure, *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 294: 88–98.
61. Lee DK, George SR, O'Dowd B. Unraveling the roles of the apelin system: prospective therapeutic applications in heart failure and obesity. *Trends Pharmacol Sci* 2006; 27: 190–194.
62. Kasai A, Shintani N, Oda M, Kakuda M, Hashimoto H, Matsuda T, et al. Apelin is a novel angiogenic factor in retinal endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 325: 395-400.
63. Matsumoto M, Hidaka K, Akiho H, Tada S, Okada M, Yamaguchi T. Low stringency hybridization study of the dopamine D4 receptor revealed D4-like mRNA distribution of the orphan seven-transmembrane receptor, APJ, in human brain. *Neurosci Lett* 1996; 219: 119-122
64. Newson MJ, Roberts EM, Pope GR, Lolait SJ, O'Carroll AM. The effects of apelin on hypothalamic-pituitary-adrenal axis neuroendocrine function are mediated through corticotrophin-releasing factor- and vasopressin-dependent mechanisms. *J Endocrinol.* 2009; 202: 123–129.
65. Reaux A, De Mota N, Skultetyova I, Lenkei Z, El Messari S, Gallatz K, et al. Physiological role of a novel neuropeptide, apelin, and its receptor in the rat brain *J Neurochem* 2001; 77: 1085–1096.
66. O'Carroll AM, Lolait SJ. Regulation of rat APJ receptor messenger ribonucleic acid expression in magnocellular neurones of the paraventricular and supraoptic nuclei by osmotic stimuli. *J Neuroendocrinol* 2003; 15: 661-666

67. Hus-Citharel A, Bouby N, Frugière A, Bodineau L, Gasc JM, Llorens-Cortes C. Effect of apelin on glomerular hemodynamic function in the rat kidney. *Kidney Int* 2008; 74: 486-494
68. Shirasuna K, Shimizu T, Sayama K, Asahi T, Sasaki M, Berisha B, et al. Expression and localisation of apelin and its receptor APJ in the bovine corpus luteum during the estrus cycle and prostaglandin F_{2α}-induced luteolysis. *Reproduction* 2008; 135: 519-525.
69. Schilffarth S, Antoni B, Schams D, Meyer HH, Berisha B. The expression of apelin and its receptor APJ during different physiological stages in the bovine ovary. *Int J Biol Sci.* 2009; 5: 344-350.
70. Xie H, Tang SY, Cui RR, Huang J, Ren XH, Yuan LQ, et al. Apelin and its receptor are expressed in human osteoblasts. *Regul. Pept.* 2006; 134: 118–125.
71. Rosen ED, Spiegelman BM. Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature.* 2006; 444: 847-853
72. Mlinar B, Marc J, Janez A, Pfeifer M. Molecular mechanisms of insulin resistance and associated diseases. *Clin. Chim. Acta* 2007; 375: 20–35.
73. Boucher J, Masri B, Daviaud D, Gesta S, Guigné C, Mazzucotelli A, et al. Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity *Endocrinology.* 2005; 146: 1764-1770.
74. Carpe'ne' C, Dray C, Attane' C, Valet P, Portillo MP, Churrua I, et al. Expanding role for the apelin/APJ system in physiopathology. *J. Physiol. Biochem.* 2007; 63: 359–373.
75. Ce' dric Dray, Claude Knauf, Danie' le Daviaud, Aure' lie Waget, Je' re' mie Boucher, et al. Apelin Stimulates Glucose Utilization in Normal and Obese Insulin-Resistant Mice *Cell Metabolism* 2008; 8: 437–445,
76. Li L, Yang G, Li Q, Tang Y, Yang M, Yang H, Li K. Changes and relations of circulating visfatin, apelin, and resistin levels in normal, impaired glucose

- tolerance, and type 2 diabetic subjects. , *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2006; 114: 544–8.
- 77.** Soriguer F, Garrido-Sanchez L, Garcia-Serrano S, Garcia-Almeida JM, Garcia-Arnes J, Tinahones FJ, Garcia-Fuentes E. Apelin levels are increased in morbidly obese subjects with type 2 diabetes mellitus. *Obes Surg*. 2009; 19: 1574 -1580.
- 78.** Heinonen MV, Purhonen AK, Mäkelä KA, Herzig KH. Functions of orexins in peripheral tissues *Acta Physiol (Oxf)*. 2008;192: 471–485
- 79.** Sörhede Winzell M, Magnusson C, Ahrén B. The apj receptor is expressed in pancreatic islets and its ligand, apelin, inhibits insulin secretion in mice. *Regul Pept*. 2005; 131: 12-17.
- 80.** Taşcı İ, Özgür G, Genç H, Özgürtaş T, Açikel C. İzole hiperkolesterolemili olgularda LDL düşürücü tedavinin plazma apelin düzeyine etkisinin araştırılması. *Türkiye Bilimsel Ve Teknolojik Araştırma Kurumu* 2007
- 81.** Wang G, Anini Y, Wei W, Qi X, OCarroll AM, Mochizuki T, et al. Apelin, a new enteric peptide: localization in the gastrointestinal tract, ontogeny, and stimulation of gastric cell proliferation and of cholecystokinin secretion. *Endocrinology* 2004; 145: 1342–1348.
- 82.** Susaki E, Wang G, Cao G, Wang HQ, Englander EW, Greeley GH Jr. Apelin cells in the rat stomach. *Regul Pept*. 2005; 129: 37-41.
- 83.** Guiyun W, Younes A, Wei W, Xiang QI, Anne-Marie O’C, Tohru M, Hui-qun W, et al. Apelin a New Enteric Peptide: localization in the Gastrointestinal Cell Proliferation and of cholecystokinin secretion *Endocrinology* 2009; 145: 1348-1350.
- 84.** Han S, Wang G, Qi X, Englander EW, Greeley GH. Jr Involvement of a Stat3 binding site in inflammation-induced enteric apelin expression. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 295:1068–1078.

85. Principe A, Melgar-Lesmes P, Fernández-Varo G, del Arbol LR, Ros J, Morales-Ruiz M, et al. The hepatic apelin system: a new therapeutic target for liver disease. *Hepatology* 2008; 48: 1193-1201.
86. Sunter D, Hewson AK, Dickson SL. Intracerebroventricular injection of apelin-13 reduces food intake in the rat. *Neurosci Lett* 2003; 353: 1-4.
87. Ortiz GG, Bitzer-Quintero OK, Zárate CB, Rodríguez-Reynoso S, Larios-Arceo F, et al. Monosodium glutamate-induced damage in liver and kidney: a morphological and biochemical approach. *Biomed Pharmacother.* 2006; 60: 86–91.
88. Vinicius VD, Eduardo NT, Manoel RMT. Experimental model to induce obesity in rats. *Acta Cirurgica brasileira* 2006; 21: 425-426.
89. Možeš Š, Šefčíková Z, Lenhardt L, Raček L. Obesity and Changes of Alkaline Phosphatase Activity in the Small Intestine of 40- and 80-day-old Rats Subjected to Early Postnatal Overfeeding or Monosodium Glutamate *Physiol.* 2004; 53: 177-186.
90. Dolkinoff M, Hidalgo AM, Machado UF, Lima FB, Herrera E. Decreased lipolysis and enhanced glycerol and glucose utilization by adipose tissue prior to development of obesity in monosodium glutamate treated rats *International Journal of Obesity* 2006; 60: 86-91.
91. Kim YW, Kim JY, Lee SK. Surgical removal of visceral fat decreases plasma free fatty acid and increases insulin sensitivity on liver and peripheral tissue in monosodium glutamate (MSG)-obese 1999; 14: 539 -545
92. Mistlberger RE, Antle MC. Neonatal monosodium glutamate alters circadian organization of feeding, food anticipatory activity and photic masking in the rat *Brain Res.* 1999 18; 842: 73-83.

93. Nagata M, Suzuki W, Iizuka S, Tabuchi M, Maruyama H, Takeda S, Aburada M, Miyamoto K Type 2 diabetes mellitus in obese mouse model induced by monosodium glutamate *Zhongguo Zhen Jiu* 2005; 25: 269-271.
94. Mozeš Š, Šefčíková Z, Lenhardt L, Raček L. Effect Of Fasting And Refeeding On Duodenal Alkaline Phosphatase Activity In Monosodium Glutamate Obese Rats *Physiol. Res* 2001; 50: 365–372.
95. Luz J, Pasin VP, Silva DJ, Zemdegs JC, Amaral LS, Affonso-Silva SM. Effect of food restriction on energy expenditure of monosodium glutamate-induced obese rats. *Ann Nutr Metab.* 2010; 56: 31-5.
96. Fontana L, Mc Donald MR. Cold-induced thermoregulation and biological aging. *Physiol. Rev* 1998; 78: 339–458.
97. Çolakoğlu N, Kükner A, Canpolat L, Gezen MR, Öner J, Ozan E. Açlıkta mide mukozası değişikliklerinin ışık mikroskopik incelenmesi. *Fırat tıp dergisi* 1999; 8: 575–80.
98. Xia E, Rao G, Van Remmen H. Activities of antioxidant enzymes in various tissues of male Fischer 344 rats are altered by food restriction. *J Nutr* 1994; 125: 195-201.
99. Bondolfi L, Ermini F, Long JM, Ingram DK, Jucker M. “Impact of age and caloric restriction on neurogenesis in the dentate gyms of C57BL/6 mice”, *Neurobiology of Aging*, 2004; 25: 333-340
100. Lengvári I. Effect of perinatal monosodium glutamate treatment on endocrine functions of rats in maturity. *Acta Biol Acad Sci Hung.* 1977; 28: 133–141.
101. Morrison JF, Shehab S, Sheen R, Dhanasekaran S, Shaffiullah M, Mensah-Brown E. Sensory and autonomic nerve changes in the monosodium glutamate-treated rat: a model of type II diabetes. *Exp Physiol* 2008; 93: 213–22

102. Duloo AG, Miller DS. Unimpaired thermogenic response to noradrenaline in genetic (ob/ob) and hypothalamic (MSG) obese mice. *Biosci Rep.* 1984; 4: 343–349
103. deMello DE, Mahmoud S, Padfield PJ, Hoffmann JW. Generation of an immortal differentiated lung type-II epithelial cell line from the adult H-2K(b)tsA58 transgenic mouse. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2000; 36: 374–382
104. De Falco M, Fedele V, Russo T, Virgilio F, Sciarrillo R, Leone S, et al. Distribution of apelin, the endogenous ligand of the APJ receptor, in the lizard *Podarcis sicula*. *Mol Histol.* 2004; 35: 521-527
105. Cox CM, D'Agostino SL, Miller MK, Heimark RL, Krieg PA. Apelin, the ligand for the endothelial G-protein-coupled receptor, APJ, is a potent angiogenic factor required for normal vascular development of the frog embryo., *Dev Biol.* 2006; 296:177–189.
106. Ziora K, Oswiecimska J, Swietochowska E, Ziora D, Ostrowska Z, Stojewska M, et al. Assessment of Serum Apelin Levels in Girls with Anorexia Nervosa. *J Clin Endocrinol Metab.* Assessment of Serum Apelin Levels in Girls with Anorexia Nervosa. 2010.
107. Sörhede Winzell M, Magnusson C, Ahrén B. The apj receptor is expressed in pancreatic islets and its ligand, apelin, inhibits insulin secretion in mice. *Regul Pept.* 2005; 131: 12-17.
108. Ringström C, Nitert MD, Bennet H, Fex M, Valet P, Rehfeld JF, et al. Apelin is a novel islet peptide. *Regul Pept Marc* 2010.

ÖZGEÇMİŞ

02.11.1979 Amasya doğumluyum. İlk, orta ve lise eğitimimi Malatya'da tamamladım. 1997 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesini kazandım. 2003 yılında mezun olduktan sonra 2004 – 2006 yılları arasında Malatya Doğanşehir Kurucuova Sağlık ocağı ve Malatya Şeker Fabrikasının da pratisyen hekim olarak çalıştım. 2006–2007 arasında Eylül TUS sınavında başarılı olarak İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalında asistan olarak çalıştım. 2007 yılı Nisan dönemi TUS sınavında başarılı olarak, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında uzmanlık eğitimi yapmaya başladım.