



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK
LİSANS
TEZİ**

**ALKOLİK OLMAYAN YAĞLI PANKREASTA
EKZOKRİN FONKSİYONLARIN İNCELENMESİ İÇİN
HAYVAN MODELİ OLUŞTURMA ÇALIŞMASI**

PELİN ŞAHİN

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

AĞUSTOS 2022



**ALKOLİK OLMAYAN YAĞLI PANKREASTA EKZOKRİN
FONKSİYONLARIN İNCELENMESİ İÇİN HAYVAN MODELİ
OLUŞTURMA ÇALIŞMASI**

Pelin ŞAHİN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

AĞUSTOS 2022

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Pelin ŞAHİN
23/08/2022

ALKOLİK OLMAYAN YAĞLI PANKREASTA EKZOKRİN FONKSİYONLARIN İNCELENMESİ İÇİN HAYVAN MODELİ OLUŞTURMA ÇALIŞMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Pelin ŞAHİN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ağustos 2022

ÖZET

Bu çalışma alkolik olmayan yağlı pankrasta ekzokrin fonksiyonların incelenmesi için hayvan modeli oluşturmak amacıyla planlandı. Çalışmada 32 adet erkek C57BL/6 fare kullanıldı. Fareler, her grupta 8 hayvan olmak üzere; 2 deney ve 2 kontrol grubu olarak 4 gruba rastgele ayrılmıştır. Deney grubundaki hayvanlar yüksek yağ yüksek sükroz diyeti (HFHSD) ile ; kontrol grubundaki hayvanlar ise standart diyet ile 6-8 ve 10-12 haftalar boyunca beslenmişlerdir. Çalışma süresince hayvanların haftalık ağırlık takipleri yapılmıştır. Sakrifikasyon öncesi gaitada yağ analizi için hayvanlardan gaita toplanmış ve kan şekeri ölçümleri yapılmıştır. Alınan kandan amilaz, lipaz ve yağ parametreleri ölçüldü. Pankreas dokusu tartıldıktan sonra histolojik değerlendirmeler için kullanıldı. İstatistikler analizler Jamovi programı kullanılarak yapılmış ve $p<0.05$ anlamlı kabul edilmiştir. Kan glukoz düzeyi, vücut ve epididimal yağ ağırlıkları diyet gruplarında kontrole göre anlamlı düzeyde artmıştır. Gaita yağ miktarı D10-12 grubunda anlamlı şekilde yüksekti ($p=0.038$). Amilaz, kolesterol, HDL ve LDL düzeyleri diyet gruplarında 6-8.haftalarda artmış ve sürecin devamında yüksek kalmıştır. Sonuç olarak, kullandığımız hayvan ve diyet türü yağlı pankreas çalışmaları için uygundur. Pankreas yağlanması ile ilgili yapılacak çalışmaların 6-8 haftalık protokollerin; ileri düzey pankreas hasarı çalışmaları için ise 10-12 veya daha ileri haftalık protokollerin kullanılması gerektiği görüşündeyiz.

Bilim Kodu : 1023

Anahtar Kelimeler : Non-alkolik yağlı pankreas, Hayvan Modeli, Ekzokrin Pankreas

Sayfa Adedi : 52

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Meltem SEVGİLİ

ANIMAL MODELING STUDY FOR EXAMINATION OF EXOCRINE FUNCTIONS
OF NON-ALCOHOLIC FATTY PANCREAS

(M. Sc. Thesis)

Pelin ŞAHİN

GAZİ UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

August 2022

ABSTRACT

This study was planned to establish an animal model for evaluating exocrine functions in non-alcoholic fatty pancreas disease (NAFPD). In this study, 32 male C57BL/6 mice were used. Animals divided into 4 groups: 2 experimental and 2 control groups. While experimental groups were fed with high fat high sucrose diet (HFHSD); animals in control groups were fed with a standard diet for 6-8 and 10-12 weeks. During the protocol, weights of animals were noted. Stool was collected from animals for analysis of fat in the stool and blood sugars were determined before sacrifice. Amylase, lipase and lipid parameters were measured from the blood taken. After weighing the pancreas, it was used for histological evaluations. Statistics were considered for the Jamovi program and analyzed with $p < 0.05$ significant. Blood sugar levels, body and epididymal fat weights were significantly relative in diet groups. The amount of stool fat increased significantly in D10-12 ($p = 0.038$). Amylase, cholesterol, HDL and LDL remained elevated from 6-8 weeks to the end of protocol. As a result, this type of animal and dietary type are suitable for animal model of NAFPD. Our suggestion is that 6-8 week protocol of this study should be used for fatty pancreas situation; 10-12 week protocol should be used for advanced pancreatic damage.

Science Code : 1023

Key Words : Non-alcoholic fatty pancreas, Animal Model, Exocrine Pancreas

Page Number : 52

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Ayşe Meltem SEVGİLİ

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimin en başından bu zamana kadar hayallerime, akademik hedeflerime doğru yürüdüğüm yolumu ışııyla aydınlatan, anlayışı ve hoşgörüsü ile tüm güçlüklerle rağmen pes etmeden ilerlememi sağlayan ve başarabileceğime dair inancına her gün bir tuğla da kendisi ekleyen akademik danışmanım, çok değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Meltem SEVGİLİ'ye sonsuz minnetlerimi sunarım.

Lisans eğitiminden yüksek lisans eğitimine geçiş, yıllardan sonra bambaşka bir hayata başlamak gibidir. Fakat ilk günden bu yana yıllardır beraber çalışıyormuşuz gibi beni evimde hissettiren ve eğitimim süresince hiçbir desteğini esirgemeyen Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı aileme, tüm hocalarıma teşekkür ve sonsuz saygılarımı sunarım.

Tez çalışmam süresince histolojik analizler sırasında her türlü desteği ile çalışmamıza katkıda bulunan kıymetli hocam Dr. Öğr. Üyesi Zeynep YİĞMAN'a teşekkür ederim.

Kıdemlim, tüm çalışmalarımızda desteğiyle ve tecrübeleriyle yanımda olan yol arkadaşım Dr. Sevtap KILINÇ'a teşekkür ederim.

Konu 'eğitim' ise tüm akan suları durduran, bu yolda beni sonsuz destekleyen, başarılarımla gözlerinin içi parlayan ve bana tüm kalbiyle inanan canım anne babama sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım. Ve bu yoldaki en büyük destekçilerimden, sabrıyla, sevgisiyle her zorlu yolda her an yanı başımda olan canım eşim Eralp ŞAHİN'e teşekkür ederim.

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'nin desteği ile (Proje No: TYL-2022-7585) gerçekleşmiş olup; desteklerinden dolayı Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Pankreas Anatomisi, Histolojisi ve Fizyolojisi	3
2.1.1. Pankreas anatomisi.....	3
2.1.2. Pankreas histolojisi	4
2.1.3. Pankreas fizyolojisi	5
2.2. Non-alkolik Yağlı Pankreas Hastalığı.....	8
2.2.1. Epidemiyolojisi	9
2.2.2. Risk faktörleri ve etiyolojisi.....	10
2.2.3. Patofizyolojisi	11
2.2.4. Tanı ve tedavi.....	13
2.3. Çalışmanın Amacı	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	17
3.1. Gereç	17
3.1.1. Etik kurul.....	17
3.1.2. Deney hayvanları	17

	Sayfa
3.1.3. Kullanılan laboratuvar aletleri ve cihazları	17
3.1.4. Kullanılan kimyasallar	17
3.2. Yöntem	19
3.2.1. Araştırma planı	19
3.2.2. Araştırma protokolü	19
3.2.3. Gaitada yağ analizi	20
3.2.4. Kan biyokimya analizleri	22
3.2.5. Histolojik değerlendirmeler	22
3.2.6. İstatistiksel analiz	22
4. BULGULAR	23
4.1. Ağırlık Değişimleri	23
4.2. Kan Şekeri Düzeyleri	24
4.3. Pankreas Ağırlık Ölçümleri	25
4.4. Periepididimal Yağ Ağırlık Ölçümleri	26
4.5. Gaitada Yağ Analizi	28
4.6. Kan Lipaz Düzeyleri	28
4.7. Kan Amilaz Düzeyleri	29
4.8. Kolesterol Düzeyleri	29
4.9. Trigliserid Düzeyleri	30
4.10. HDL Düzeyleri	31
4.11. LDL Düzeyleri	32
4.12. Histolojik Gözlemler	33
5. TARTIŞMA	35
5.1. Yönteme Yönelik	35
5.2. Çalışmanın Kısıtlılıkları	39
5.3. Geleceğe Yönelik Araştırma Planları	40

	Sayfa
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	41
KAYNAKLAR	43
EKLER.....	49
Ek-1. Etik Kurul Onayı	50
ÖZGEÇMİŞ	52

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Laboratuvarda kullanılan malzemeler	18
Çizelge 3.2. Kullanılan kimyasal malzemeler	18
Çizelge 3.3. Beslenme protokolü	19
Çizelge 4.1. Farelerin başlangıç ve son ortalama ağırlık değerleri (g)	24
Çizelge 4.2. Farelerin başlangıç ve son ortalama kan şekeri değerleri (mg/dL).....	24
Çizelge 4.3. Farelerin ortalama pankreas ağırlıkları (g)	26
Çizelge 4.4. Farelerin ortalama periepididimal yağ ağırlıkları (g)	27
Çizelge 4.5. Farelerin kan lipaz düzeyleri (U/L)	28
Çizelge 4.6. Farelerin kan amilaz düzeyleri (U/L)	29
Çizelge 4.7. Farelerin kolesterol düzeyleri (mg/dl)	30
Çizelge 4.8. Farelerin trigliserid düzeyleri (mg/dl)	31
Çizelge 4.9. Farelerin HDL düzeyleri (mg/dl).....	32
Çizelge 4.10. Farelerin LDL düzeyleri (mg/dl)	33

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Pankreasın Yapısı	3
Şekil 2.2. Pankreasın endokrin ve ekzokrin fonksiyonu	8
Şekil 2.3. Pankreas Yağlanması'nın Olası Mekanizması.....	13
Şekil 4.1. Farelerin başlangıç ve son ortalama ağırlık değişimleri.	23
Şekil 4.2. Farelerin başlangıç ve son ortalama kan şekeri değişimleri.	25
Şekil 4.3. Kontrol ve diyet grubu hayvanların ortalama pankreas ağırlıkları (gram)	26
Şekil 4.4. Kontrol ve diyet grubu hayvanların ortalama periepididimal yağ ağırlıkları (gram)	27
Şekil 4.5. Kontrol ve diyet grubu hayvanların gaitada yağ skoru.....	28
Şekil 4.6. Kontrol ve diyet grubu hayvanların kanda amilaz düzeyleri	29
Şekil 4.7. Kontrol ve diyet grubu hayvanların kolesterol düzeyleri	30
Şekil 4.8. Kontrol ve diyet grubu hayvanların trigliserid düzeyleri	31
Şekil 4.9. Kontrol ve diyet grubu hayvanların HDL düzeyleri.....	32
Şekil 4.10. Kontrol ve diyet grubu hayvanların LDL düzeyleri	33

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Periepididimal Yağ Görüntüsü	20
Resim 3.2. Gaitada Yağ Mikroskopik Görüntüsü.....	21
Resim 4.1. H&E boyaması yapılmış pankreas kesitlerinin mikroskop görüntüleri (▲) Okların ucu yağ birikim alanlarını göstermektedir.	34

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklamalar

cm	Santimetre
dl	Desilitre
dk	Dakika
g	Gram
kJ	Kilojoule
U	Ünite
mg	Miligram
ml	Mililitre
µm	Mikrometre
L-lt	Litre
rpm	Dakikadaki devir sayısı

Kısaltmalar

Açıklamalar

HADYEK	Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
GÜDAM	Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi
NAYKH	Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı
NAYPH	Alkolik olmayan yağlı pankreas hastalığı
CCK	Kolesistokinin
HCO₃⁻	Bikarbonat
Ach	Asetilkolin
DPP-4	Dipeptidil Peptidaz-4
T2DM	Tip-2 diyabetes mellitus
EUS	Endoskopik Ultrasonografi

Kısaltmalar**Açıklamalar**

BT	Bilgisayarlı tomografi
USG	Ultrasonografi
VKİ	Vücut kitle indeksi
MRS	Manyetik rezonans spektrofotometri
MRG	Manyetik rezonans görüntüleme
HFHSD	Yüksek yağlı yüksek şükrozlu diyet
HFD	Yüksek yağlı diyet
SD	Standart diyet
HDL	Yüksek yoğunluklu yağ
LDL	Düşük yoğunluklu yağ
TG	Trigliserid
H&E	Hematoksilen & Eozin

1. GİRİŞ

Pankreas endokrin ve ekzokrin fonksiyonlarıyla önemli bir salgı organıdır. Patolojileri bu iki alanda bulgular vererek klinik sonuçlar doğurmaktadır. Pankreas patolojileri arasında pankreatitler ve pankreas kanserlerinin daha çok göz önünde bulunmasının temel sebebi klinik manifestasyonlarının dramatik bir tablo çizmesidir. Hâlbuki pankreası çok daha sık etkileyen ve fonksiyonlarında değişik düzeylerde bozukluklar yaratan farklı durumlar da vardır. Son dönemlerde özellikle dikkat çeken Alkolik Olmayan Yağlı Pankreas Hastalığı (NAYPH) steatozisten steatopankreatite ve devamında pankreatik fibrozise hatta kansere kadar ilerleyebilen bir klinik seyir izler [1, 2]. NAYPH ile ilgili çalışmalar yakın zamana kadar çok kısıtlı kalmıştır. Bunun en önemli nedenleri pankreas görüntülemesinin zor olması, organın yerleştiği alan nedeni ile biyopsi alımının sıkıntılı olması, doku örneği alındığında da hızlı bir otoliz görülmesidir [3, 4]. 2010 sonrasında konu hakkında çalışmalar hız kazanmaya başlamış görünmesine rağmen biriken literatürden genellenebilecek yorumlar çıkartmak; çalışmalarda farklı yöntemler ve hayvanlar kullanıldığı, seçilen parametrelerin değişkenliği ve çalışmaların yapıldığı zaman aralıklarının standardize olmaması gibi karıştırıcı birçok faktör nedeniyle, hala pek mümkün değildir.

NAYPH'nın tedavisi için alternatiflerin geliştirilebilmesi ve uygulanacak herhangi bir tedavinin etkinliğinin doğru şekilde değerlendirilebilmesi için öncelikli adım bu hastalıkla ilgili güvenilir ve geçerli bir hayvan modeli oluşturmak olmalıdır. Bu hastalık için oluşturulmuş bir hayvan modelinin eksikliği ve gerekliliği yakın dönemlerde yayınlanan önemli derlemelerde de ısrarla vurgulanmıştır [5, 6].

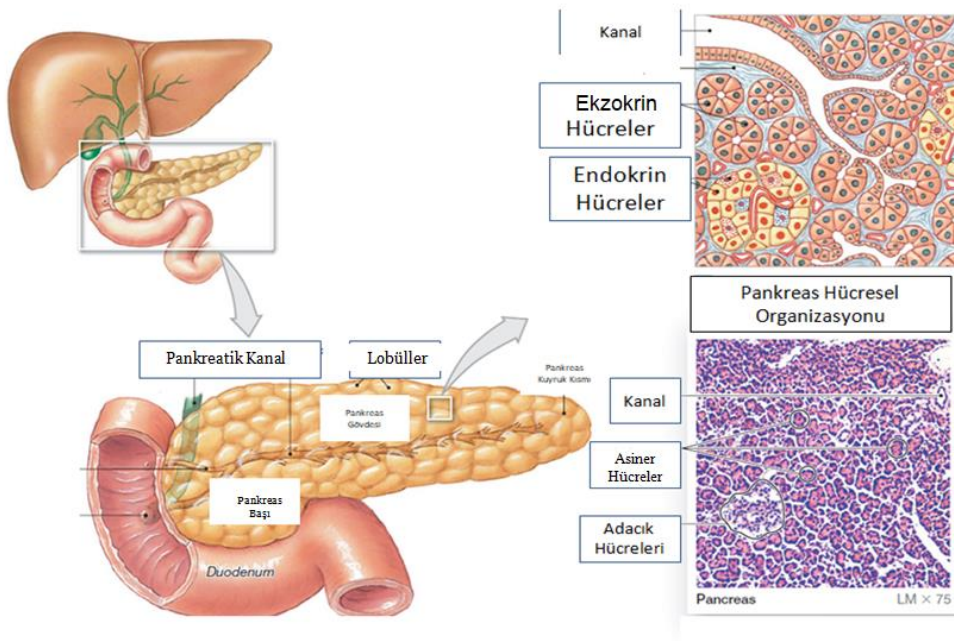
Dolayısı ile çalışmamızda pankreasın 'ekzokrin' fonksiyonlarının yağlanma sürecinden nasıl etkilendiğini gösterecek geçerli ve güvenilir bir hayvan modeli oluşturmak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pankreas Anatomisi, Histolojisi ve Fizyolojisi

2.1.1. Pankreas anatomisi

Pankreas, abdominal boşluğun sol üst kadranında abdominal duvarın arkasına sıkı bir şekilde bağlı; midenin arkasında yatay konumlanan retroperitoneal bir organdır. Sağda duodenumun proksimal parçası ile komşu olup; solda dalağa kadar uzanır. Pankreas baş, gövde ve kuyruk olmak üzere 3 bölümde incelenir. Baş bölgesi duodenumun oluşturduğu halkanın içinde yer alırken; kuyruk kısmı ise dalağa doğru uzanır. İnsanlarda yaklaşık 15 cm uzunluğunda ve yaklaşık 80 gram ağırlığında olan pankreas, ince, gri-pembe renkte ve oldukça yumuşak yoğunlukta bir organdır. Pankreasın yüzeyi ise topaklı lobüller bir yapıdadır [7–9].



Şekil 2.1. Pankreasın Yapısı [8]

Pankreasın kanlanması splenik arterin pankreatik, hepatik arterlerin superior pankreatikoduodenal ve superior mezenterik arterin inferior pankreatikoduodenal arter dallarıyla sağlanır. Pankreasın venleri, v. porta hepatis, v.splenika ve v.mezenterika

superior'a açılır. Lenf drenajının büyük kısmı ise nodi pankreatikospleniki'ye açılmaktadır [9].

Pankreası innerve eden sempatik sinir lifleri n. splenicus major'den; parasempatik lifler ise n. vagus'tan gelmektedir [9].

Bu tez çalışmasında kullanılan C57BL/6 farelerin pankreas yerleşimi ve yapısı insandaki ile benzerdir.

2.1.2. Pankreas histolojisi

Pankreas, ince bir bağ dokusu kapsülü ile örtülü bir salgı organıdır. Bağ dokusu pankreası farklı loblara böler. Loblar arasında bulunan bağ dokusu aynı zamanda kan damarlarını ve pankreas kanallarını barındırır (Şekil 2.1.) [10].

Pankreasın ekzokrin ve endokrin fonksiyonları histolojik olarak farklı bölgeler tarafından yerine getirilir. Asiner hücreleri arasında dağınık olarak yerleşen Langerhans adacıkları pankreasın endokrin fonksiyonundan sorumlu hücreleri içerir. Bu hücreler esas olarak karbonhidrat metabolizmasını düzenleyen hormonları üretirler. Pankreasın büyük kısmını ekzokrin pankreas oluşturur. Ekzokrin pankreas, bir tübüloasiner bez bileşenidir. Asinüs bir lümeni saran, bazal kısmında yuvarlak çekirdekleri olan ve apikal kısmı zimojen salgı granülleri ile dolu seröz hücrelerden oluşur. Zimojen salgı granülleri protein yapıda sindirim enzimlerini içerir. Asinüslerin tübüllere açıldığı bölgelerde sentroasiner hücreler bulunur. Esas olarak HCO_3^- salgısından sorumlu olan bu hücreler aynı zamanda asinüsü interkale kanallara bağlarlar. İnterkale kanallar birleşerek intralobüler kanalları, onlarda ekstralobüler kanalları oluştururlar. Ekstralobüler kanallarsa ana toplayıcı kanala dökülürler. Bu kanal pankreasın baş bölgesinde aksesuar ve ana pankreatik kanal olmak üzere iki dala ayrılır. Aksesuar kanal tek başına duodenuma açılır ve bağlantı bölgesinde sfinkterik bir yapı bulunmaz. Ana pankreatik kanal ise koledok ile birleşerek hepatopankreatik ampüllayı oluşturur. Bu ampülla Oddi sfinkteri aracılığı ile duodenuma açılır [10].

2.1.3. Pankreas fizyolojisi

Pankreasın fonksiyonlarını endokrin ve ekzokrin fonksiyon olarak 2'ye ayırmak mümkündür. Ekzokrin pankreas total hacmin %85'ini oluştururken; endokrin pankreas %2'den daha azını oluşturmaktadır. Geri kalan kısmını ise ekstraselüler matriks (%10) ve kanal hücreleri ile kan damarları (%2) oluşturmaktadır [11]. Pankreasın duodenumun yanında midenin arkasında bulunması ve kendine spesifik hücresel organizasyonu ekzokrin pankreasın fizyolojik rolünü (sindirim, salgı ve absorpsiyon gibi) kolaylaştırmaktadır.

Ekzokrin Pankreas

Ekzokrin pankreas asiner, sentroasiner ve pankreas kanallarını döşeyen epitelyal hücrelerden oluşmaktadır. Bu hücreler günlük yaklaşık 1-1.5 lt kadar pankreatik sıvıyı üretir ve pankreatik kanala salgılarlar [8]. Pankreatik salgı 2 temel içerikten oluşur. İlki asiner hücrelerde üretilen ve salgılanan pankreatik sindirim enzimleridir. Bu enzimler başlıca karbonhidrat, yağ ve proteinlerin sindiriminden sorumludurlar. Enzimler, üretildikten sonra salgı vezikülleri içinde ihtiyaç oluşana kadar depo edilir. Gerekli durumlarda ekzositoz ile pankreatik kanala bırakılır ve kanal aracılığıyla da duodenuma iletilir. Pankreas enzimleri ince bağırsaklarda gerçekleşen sindirimin büyük kısmından sorumludurlar [12].

Pankreatik salgı ayrıca sentroasiner ve kanal hücrelerin aktif olarak salgıladığı bikarbonattan zengin, su oranı asiner salgya oranla daha yüksek alkali bir çözelti içerir. Bu çözeltinin alkali içerikte olması oldukça önemlidir. Mideden gelen asidik kimusun pH'sı pankreas sıvısındaki bikarbonat ile nötralize edilir. Böylece pankreatik enzimlerin aktivitesi için uygun bir ortam oluşturulur [13].

Asiner hücreler temel olarak 3 tip pankreatik enzim salgılar; proteazlar, lipazlar ve amilaz. Ekzokrin pankreas bunların yanında farklı ürünlerde sentezler ve salgılar.

1. Pankreatik Proteolitik Enzimler: Total pankreatik enzim üretiminin en az %70'ini oluştururlar. Bu enzimler inaktif proenzim olarak sentezlenir ve normal koşullarda ince bağırsağa ulaşmadan aktive olmazlar [8]. Bu enzimlerin pankreasta inaktif formda depolanması hücrelerin otolizinin engellenmesi açısından oldukça önemlidir. Proteolitik

enzimlerin aktivasyon kaskatı tripsinojenin fırçamsı kenarda yerleşmiş enteropeptidaz (enterokinaz) tarafından tripsine çevrilmesi ile başlar. Tripsin daha sonra inaktif formda salgılanan diğer pankreatik enzimleri aktif formlarına çevirir. Dolayısı ile tripsinojenin henüz pankreastayken erken aktivasyonu pankreas dokusunun otolizine neden olacaktır. Bu durum asiner hücreler tarafından sentezlenip proteolitik enzimlerle aynı zimogen granüllerde depolanan tripsin inhibitörleri tarafından engellenir. Kimotripsinojen proelastaz ve prokarboksipeptidazlar inaktif formda salgılanan ve duodenumda tripsin tarafından aktive edilen diğer proteazlardır. Tripsin ayrıca lipid sindiriminde rol alan ve inaktif formda salgılanan profosfolipaz A₂ ve prokolipazı aktif formlarına çevirir [8, 12-13].

2. *Pankreatik Amilaz Enzimi:* Aktif formunda depolanan amilaz pankreasın otolizi açısından risk teşkil etmez ve asiner hücrelere zarar vermez. Bu enzimin temel işlevi ise karbonhidratların sindirimidir. Polisakkaritleri maltoz, maltotrioz ve α dekstrinlere kadar parçalar [8, 12, 14].

3. *Pankreatik Lipazlar:* Pankreatik lipaz diyet ile alınan trigliseritleri, monogliserit ve serbest yağ asitlerine hidrolize eder. Amilaz gibi lipaz da aktif formda sekrete edilir. Gastrointestinal sistem tarafından lingual ve gastrik lipaz enzimleri de salgılansa da pankreatik lipaz diyetle alınan tüm trigliseritlerin sindirimi için kendi başına yeterlidir. Ekzokrin pankreas disfonksiyonlarında öncelikle lipaz eksikliği bulgularının (steatore; yağlı gayta) karşımıza çıkma nedeni; pankreatik lipazın yağ sindirimindeki baskın etkinliğinden kaynaklanır. Protein ve karbonhidrat sindirimindeki bozulma daha az derecede görülmektedir. Bu sindirim enzimlerindeki azalmalar tükrük, gastrik ve ince bağırsak enzimleri ile kompanse edilebilmektedir. Asiner hücrelerin salgıladığı diğer lipolitik enzimler profosfolipaz A₂, prokolipaz ve nonspesifik esteraz şeklinde sıralanabilir. Bu enzimlerin içinden prokolipaz, lipazın etkinliği için gerekli olup zimojen granül ve hücre membranının sindirimini engellenmesi için inaktif formda depolanır [13, 14].

4. *Diğer pankreatik salgı ürünleri:* Pankreas ayrıca deoksiribonükleaz, ribonükleaz ve monitör peptid salgılar.

Ekzokrin pankreas sekresyonunun hormonal kontrolü

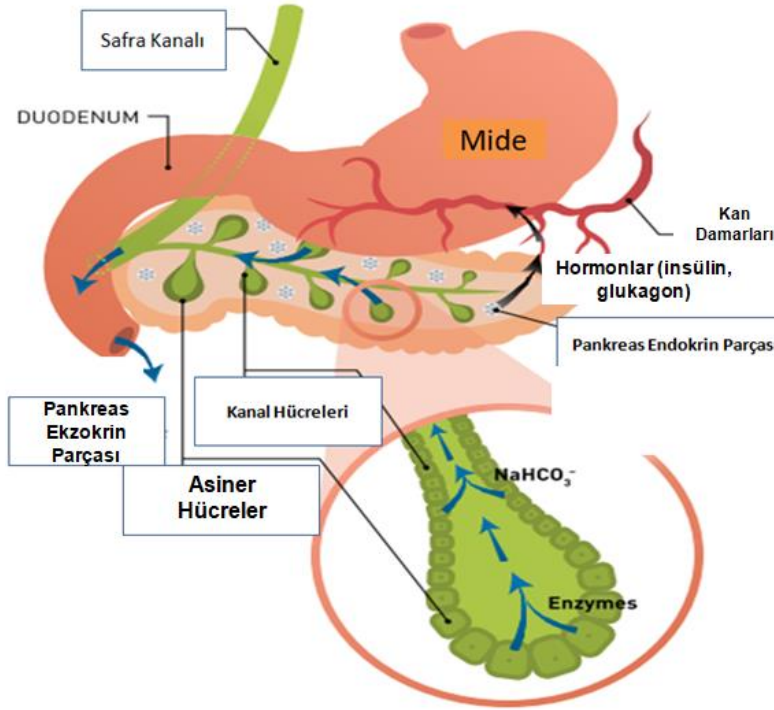
Sindirimin sefalik ve gastrik fazlarında parasempatik etki ile salgısı bir miktar uyarılsa da ekzokrin pankreas esas olarak sindirimin intestinal fazında kimusun ince bağırsağa ulaşması ile stimüle edilir. Asidik kimus duodenal lümenine geldiğinde, S hücrelerinden sekretin salgılanır. Sekretin salgısı duodenum pH değeri 4,5'in altına düştüğünde stimüle edilmeye başlansa da pH 3'ün altına düşmeden maksimum düzeye ulaşmaz. Sekretin salgısı düşük pH dışında Ach ve CCK tarafından kontrol edilir. Sekretin, pankreasın sentroasiner ve tübüler hücrelerini uyarak bikarbonat sekresyonunu artırır. Diğer taraftan kimusun içeriğindeki besin maddeleri; özellikle lipidler yine duodenum duvarında yerleşmiş I hücrelerinden kolesistokinin (CCK) salgısını başlatır. CCK'nin sekretin sekresyonu üzerindeki potansiyelize edici etkisine karşın sekretinin CCK salgısı üzerinde benzer bir etkisi yoktur. Ancak pankreatik salgının başlaması ile duodenuma ulaşan monitör peptid, duodenum duvarından besinlerin varlığında salgılanan CCK-serbestleştirici peptid ile beraber I hücrelerinin salgısını belirgin şekilde artırır. CCK diğer etkilerinin yanında bir taraftan pankreas asiner hücrelerinin enzim salgısını artırırken diğer taraftan oddi sfinkterini gevşeterek hızlanmış olan pankreatik sıvı salgısının duodenuma geçişini kolaylaştırır [13, 14].

Endokrin pankreas

Endokrin pankreasın fonksiyonu glukoz, yağ asitleri ve aminoasitlerin kullanılabilirliğini düzenlemektir. Ekzokrin asinuslar arasında konumlanmış endokrin pankreas hücre toplulukları Langerhans adacıkları olarak adlandırılır. Adacıklar toplam pankreas hacminin %1-2'sini oluşturmaktadır. Adacık hücreleri alfa (α), beta (β) ve delta (D) hücrelerinden oluşur. İnsülin sentezi ve sekresyonundan sorumlu olan beta hücreleri ile glukagon sentezinden sorumlu alfa hücreleri endokrin hücreler arasında en fazla bulunan hücrelerdir. Delta hücreleri ise somatostatin sentezinden sorumludur [13]. Bu hücelere ek olarak pankreatik polipeptit sentezinden sorumlu hücrelerden F hücreleri de Langerhans adacıklarında bulunur [8].

İnsülin ve glukagon vücutta karbohidrat metabolizmasının kontrolünü sağlarken, somatostatin ve pankreatik polipeptid safra kesesi kontraksiyonlarını ve pankreas ekzokrin

salgılarını inhibe eder. Büyüme hormonunun da inhibitörü olan somatostatinin diğer birçok gastrointestinal fonksiyon üzerinde inhibitör etkiye sahiptir.



Şekil 2.2. Pankreasın endokrin ve ekzokrin fonksiyonu [11]

2.2. Non-alkolik Yağlı Pankreas Hastalığı

Yağlı pankreas ile ilgili literatürdeki ilk çalışmalar 1926 yılında Schaefer'ın 'Pankreas Yağ İnfiltrasyonu' tanımlaması ile başlamıştır. Pankreastaki yağ birikiminin patolojik süreci için 'Pankreatik Lipomatosis' terimi ise ilk defa 1933 yılında Ogilvie tarafından kullanılmıştır [1, 15]. Uzun yıllar sonra daha geniş bir otopsi çalışması sonucu yağlanma ve yaş arasında ilişki bulunmuş ve ayrıca pankreas yağlanmasının obezite ile ilişkisi onaylanmıştır [15]. Son dönemlerde pankreatik yağlanma ile doğrudan ya da dolaylı olarak ilintili çok sayıda araştırma rapor edilmeye başlanmıştır. Bazı çalışmalarda pankreastaki yağlanma obezite ve/veya metabolik sendromla ilişkilendirilerek, diğerlerinde yağlanmanın hücre içi-dışı yerleşimine göre ya da endokrin ve ekzokrin pankreasın etkilenişine göre değişik şekillerde isimlendirilmiştir. Bu çeşitlilik aslında halen yerleşmiş ve geniş kabul görmüş bir tanım yapılamamış olduğunu gösterir.

Sık kullanılan sınıflandırmalardan biri yağlanmanın alkol ile ilintili olup olmamasına dayanmaktadır ve önemli derecede alkol kullanımı olmayan kişilerde gelişen ve obezite ile birlikte seyreden pankreatik yağlanma Smits ve arkadaşları tarafından ‘**Non-alkolik Yağlı Pankreas Hastalığı (NAYPH)**’ olarak isimlendirilmiştir [16]. Çoğu yayında ‘önemli derecede’ alkol tüketimi Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığında olduğu gibi ‘günde 20 gramın üstünde tüketim’ şeklinde tanımlansa da ‘Non-alkolik Yağlı Pankreas Hastalığı (NAYPH)’ için aynı limitlerin kullanılabileceği yönünde bir görüş henüz kılavuzlara girmemiştir [4].

2.2.1. Epidemiyolojisi

NAYPH’nın genel popülasyondaki prevalansı ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Verilerin kısıtlı olmasının önemli nedenlerinden biri standart bir değerlendirme yönteminin bulunmuyor olmasıdır. Çeşitli çalışmalarda genel popülasyondaki yağlı pankreas oranı %10 ile %35 arasında değişen aralıklarda verilmiştir [4, 17]. Bu değişkenliğin altında yatan temel faktör hastalık ile ilgili tanımlamaların farklı olması dolayısı ile aynı kriterlere göre hastalık prevalansının değerlendirilemiyor olmasıdır.

NAYPH prevalansı popülasyonun etnik yapısına ve uygulanan tanı metodolojilerine bağlı olarak değişmektedir. ABD’de 230 kişi EUS (endoskopik ultrasonografi) ile değerlendirilmiş ve bireylerin %27,8’inde yağlı pankreasa rastlanmıştır. Tayvan’da sağlık kontrolü yapılan 8 binden fazla kişinin abdominal USG sonuçlarına göre NAYPH prevalansı %16 olarak rapor edilmiştir. Endonezya’da 901 hastanın rutin medikal kontrolleri esnasında USG ile tespit edilen NAYPH oranı %35 iken; Güney Kore’de obezite kliniğini ziyaret eden 293 kişiden %61,4’ünde yağlı pankreas gözlenmiştir [4]. Günümüze kadar ülkemizde bu hastalıkla ilgili bir prevalans çalışması yapılmamıştır.

Hastalığın pediatrik popülasyondaki prevalansı ile ilgili bilgiler ise tartışmalıdır. 2016’da Pham ve arkadaşlarının yaptığı çalışma pediatrik popülasyonda pankreatik steatozis prevalansı değerlendiren ilk çalışmadır. Bu çalışmaya göre prevalans %10 bulunmuştur ancak değerlendirme hospitalize hastalar üzerinde yapıldığı için sonuçlar genel pediatrik popülasyona genişletilememiştir [18].

NAYPH prevelansı için bu kadar geniş aralıkta değerler rapor edilmiş olsa da hemen tüm çalışmalarda ortak olan bazı bulgular, erkeklerde sıklığının daha fazla olduğu ve yaşla birlikte prevelansının arttığı yönündedir [19, 20].

2.2.2. Risk faktörleri ve etiyolojisi

Obezite, alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH), yaş ve cinsiyet NAYPH'nın en önemli risk faktörleri arasındadır [15, 21].

Obezite: Yağlı pankreas obezite ile yakından ilişkilidir. Vücut kitle indeksi (VKİ) ve subkutan yağın önemli ölçüde pankreatik yağ içeriği ile korele olduğu gösterilmiştir [21]. Genç obez bireylerde yapılan bir çalışmada da pankreatik yağ oranı visseral adipoz doku ve hepatik yağ oranı ile ilişkili bulunmuştur [22].

NAYKH: Yağlı pankreas için primer risk faktörlerinden biridir. Pankreatik steatozise sahip 293 hastada yapılan bir çalışmada hastaların %67,9'unda yağlı karaciğere rastlanmıştır. Yine bir diğer çalışmada pankreatik steatozis ve NAYKH arasındaki ilişki %50 oranında bulunmuştur [23]. Klinik çalışmaların dışında hayvanlarla yapılan çalışmalarda da bu iki patolojinin birlikte gelişebileceği ve birbirleri için birer risk faktörü olabilecekleri gözlemlenmiştir. Örneğin; yüksek yağlı diyet ile beslenen C57BL/6 farelerin hem pankreas hem de karaciğerlerinde yağlanma tespit edilmiştir [24]. Ayrıca pankreası değerlendirilmiş ve yağlanma tespit edilmemiş 586 hastanın 381'inde karaciğer yağlanması tespit edilmiştir. Aynı çalışma dâhilinde pankreas yağlanmasına sahip 315 kişiden 83'ünde ise karaciğer yağlanmasına rastlanmamıştır [25]. Alkolik olmayan yağlı pankreas ve karaciğer hastalıklarının birbirleri ile ilişkisinde aydınlatılması gereken noktalar olduğu açıktır.

Yaş ve cinsiyet: diğer risk faktörleri arasındadır. NAYPH görülme sıklığı yaşla birlikte artarken; erkeklerde kadınlardan daha sık meydana gelmektedir. Saisho ve arkadaşları, pankreatik yağ içeriğinin çocukluk boyunca yaşla birlikte linear olarak arttığını ve yaklaşık 50'li yaşlara kadar platoya ulaştığını bulmuşlardır [26]. Bir başka çalışmada ise erkeklerde NAYPH görülme prevelansının 40-49 yaşlar arasında en yükseğe ulaştığını; kadınlarda ise bu yükselişin menopoza sonrası meydana geldiğini göstermişlerdir [4]. Bu bilgiler ışığında yaşın ve hormonal değişikliklerin NAYPH gelişimine etkisinin varlığından söz etmek mümkün olsa da daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Bunlara ek olarak lipotoksisite, insulin direnci varlığı, hiperlipidemi, inflamasyon, hipertansiyon, kistik fibrozis, malnutrisyon ve bazı konjenital sendromlar NAYPH'nın diğer risk faktörleri arasında sayılabilir [1, 15, 24].

T2DM: Tip-2 diyabete sahip hastalarda NAYPH'nın prevelansının ve yağlı pankreasa sahip hastalarda da T2DM prevelansının yüksek olduğu bildirilmiştir [24, 27]. Bir başka çalışmada pankreatik yağın T2DM sahip obez/obez olmayan hastalarda anlamlı derecede arttığı gösterilmiştir. Ancak yaş, cinsiyet, VKİ ve varsa karaciğer ile ilgili patolojiler bu değerlendirmelere dahil edildiğinde NAYPH ve T2DM insidansı arasındaki korelasyon ortadan kalkmaktadır. Benzer şekilde 7464 kişinin USG ile değerlendirildiği bir çalışmada yağlı pankreasın T2DM'dan bağımsız olarak geliştiği rapor edilmiştir [21]. Sonuç olarak, T2DM ile birlikte birçok risk faktörünün eşlik etmesi NAYPH riskini artırmaktadır.

2.2.3. Patofizyolojisi

NAYPH klinik seyri, ilk evrede yağ infiltrasyonu, pankreatik steatozis ile başlarken; süreç steatopankreatitise ve pankreatik fibroze hatta pankreas kanserine kadar ilerleyen şekilde devam etmektedir [1, 24] , [28]. Bu kadar ciddi klinik seyir göstermesine rağmen; hastalığın altında yatan patofizyolojisi ile ilgili bilgiler hala tam olarak netleşmemiştir. Günümüze kadar bu hastalık hakkında bilginin kısıtlı kalmasının nedenleri arasında; uzun bir dönem boyunca pankreas görüntüleme yöntemlerinin dokunun in-vivo koşullarda gereken ayrıntı ile değerlendirilmesine imkân sağlamamış olması, biyopsi imkânının kısıtlılığı, çalışmalar için yeterli miktarda pankreas dokusunun alınamaması ve in-vitro koşullarda pankreasın hızlı otoliz olması sayılabilir [3, 4].

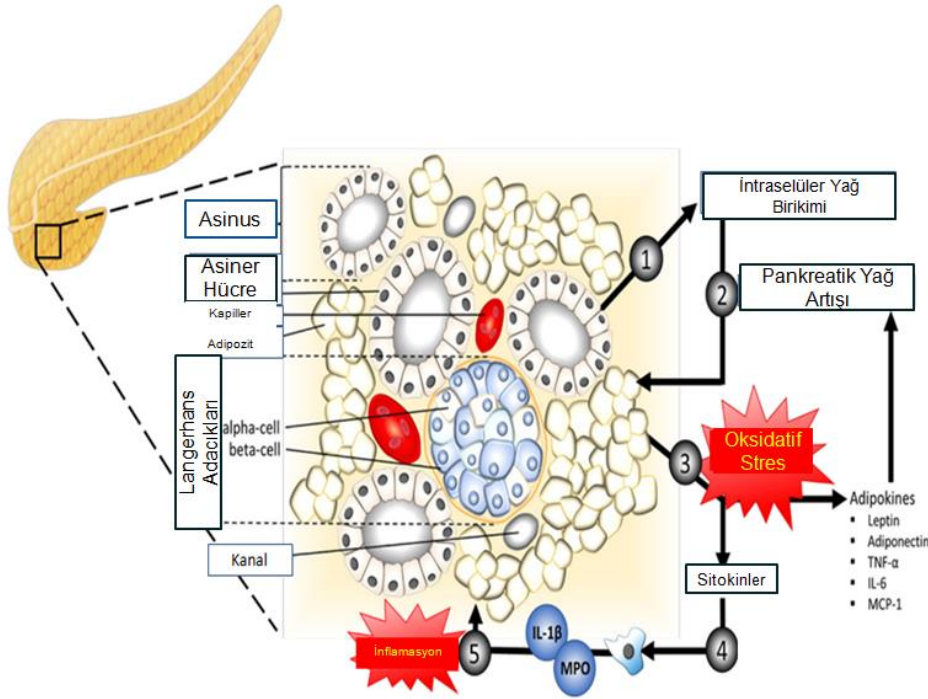
Yine de NAYPH'nın patofizyolojisinin açıklanmasına katkı sağlayacak bazı potansiyel mekanizmalar öne sürülmüştür. Çalışmaların bir kısmı pankreastaki yağlanmayı, çeşitli nedenlerle pankreas parankim dokusunun nekrozu ve daha sonra bu dokunun yağ ile yer değiştirmesi (fatty replacement) şeklinde açıklarken; bazı çalışmalar ise yağlı pankreasın yüksek yağlı beslenme sonucu hücre içinde trigliserid birikimi ile oluştuğunu söylemektedir [4, 15].

Non-alkolik yağlı karaciğer ile yağlı pankreas arasında epidemiyolojik olarak görülen korelasyon her ikisinin oluşum mekanizmalarının benzer olabileceğini düşündürebilir.

Karaciğer yağlanma paternine bakıldığında trigliserid birikiminin temelde intraselüler olduğu bilinmektedir. Benzer şekilde pankreasta da intraselüler yağ birikimi hem asiner hem de adacık hücrelerinde elektron mikroskopik ve immünohistokimyasal olarak ortaya konmuştur. Ancak histolojik olarak yapılan değerlendirmelerde karaciğerden farklı olarak pankreatik steatozisin altında yatan mekanizmanın adipozit sayısının artırılması ile olabileceği gözlemlenmiştir. Bazı çalışmalar intraselüler yağ birikiminin adipozit infiltrasyonundan önce meydana gelmiş olabileceği düşündürürken, diğer bir kısmı adipozit infiltrasyonunun öncelikle olduğunu öne sürmektedir [15].

İleri sürülen bir diğer mekanizma ise glukolipotoksisite kaynaklı pankreas beta hücrelerinin disfonksiyonu ile NAYPH oluştuğudur [4]. İleri sürülen bu mekanizmaya göre beta hücrelerinde hiperglisemi carnitin-palmitol transferaz-1'i inhibe eder. Bunun sonucunda mitokondri beta-oksidasyonu azalır ve intraselüler trigliserid birikimi tetiklenir. Ek olarak, insülin direnci periferik lipolizis üzerinde insülinin inhibitör etkisini azaltır; sonuç olarak dolaşımdaki serbest yağ asitleri artmış olur. Beta hücrelerinin artmış yağ asitlerine kronik maruziyeti ise apoptoz riskini artırarak beta hücrelerinin ölümüne neden olur. Bu hücrelerin ölümü ile intrapankreatik adipozit yer değişimi meydana gelerek NAYPH'na öncülük eder [29, 30]. Ancak bazı klinik çalışmalarda beta hücre disfonksiyonu ile NAYPH arasında ilişki olmadığının belirtilmesi bu mekanizma hakkında ileri çalışmalar gerekliliğini göz önüne sermektedir [4].

Günümüzde geline noktaı belki en iyi tanımlayacak ifade NAYPH'nın fizyopatolojisinin heterojen bir süreç olduğudur. Bu süreçte intraselüler yağ birikiminin artması ve bu artma ile pankreas dokusunda adipozitlerin infiltrasyonu gerçekleşir [31]. Adipoz hücrelerden salınan adipokinler ve sitokinler pankreas dokusunda oksidatif strese neden olur. Sitolinlerin salınımı sonucu indüklenen lokalize inflamatuvar süreç ile pankreas disfonksiyonu ortaya çıkmaya başlar (Şekil 2.3) [31]. İntraselüler ya da ekstraselüler trigliserid birikimi farklı klinik öneme sahipse de bu hala tam olarak bilinmemektedir. Ancak intraselüler lipidler lipotoksisiteye ve asiner hücre hasarına neden olurken; adipozitler asiner ve adacık hücrelerinin fonksiyonunu parakrin yol ile etkiler [15].



Şekil 2.3. Pankreas Yağlanması'nın Olası Mekanizması [31]

Vücudun birçok bölgesinde fazla yağ depolanmasının fonksiyonel sonuçları düşünüldüğünde, yağların hem sindirimi hem de depolanmasında primer role sahip olan pankreasın kendisinde oluşan yağlanmanın hem bu organın endokrin ve ekzokrin fonksiyonlarını doğrudan etkileyerek hem de bu fonksiyonlardaki bozulma nedeni ile vücudun geri kalan tüm bölümlerinde disfonksiyon yaratabileceği açıktır. Sonuç olarak, pankreastaki yağlanmanın fizyopatolojisi ve buna bağlı gelişen klinik tablonun ayrıntıları ile tanımlanması büyük öneme sahiptir.

2.2.4. Tanı ve tedavi

Klinikte NAYPH'nın tanısı için kabul görmüş ve genel geçer bir değerlendirme kriteri henüz bulunmamaktadır.

Literatürde pankreas yağlanması'nın değerlendirilmesi için altın standardın histopatolojik değerlendirmeler olduğu belirtilmektedir [23]. Histolojik inceleme hastalardan pankreas biyopsisi ve ince iğne aspirasyon yöntemi ile alınan dokular ile yapılabilir [15]. Ancak sıklıkla değerlendirme için yeterli miktarda pankreas dokusu alınamadığı ve alınabilen pankreas dokusunun hızlı otolizi nedeni ile histopatolojik değerlendirmeler pratikte

yapılamamaktadır [4]. Histolojik inceleme daha çok postmortem otopsi materyallerinde yapılmaktadır [20, 26].

Diğer taraftan aslında yağlı pankreasın histolojik olarak değerlendirilmesi için valide edilmiş ve genel kabul görmüş bir skora ve sınıflandırma sistemi bulunmamaktadır. Önerilen ilk sınıflandırma 1978 yılında Olsen tarafından geliştirilen her mikroskopik alanda gözlenen adipozitlerin yüzdelerinin hesaplanmasına dayanan pankreatik lipomatozis sınıflandırmasıdır. Bu sınıflamaya göre dört grup tanımlanmıştır; Grup1: %51 ve üzeri, Grup2: %26 - 50, Grup3: %15 - 25, Grup4: %8 -14. 2000 sonrası dönemde yağlı pankreasa ilginin artması ile skora/sınıflandırma ihtiyacı ön plana çıkmıştır. Bu amaçla sıklıkla hematoxilen&eozen ile boyanmış preparatlarda yağlanma miktarı, doku dejenerasyonu, immün hücre infiltrasyonu ve hemoraji gibi parametreler göz önünde bulundurularak önerilmiş birden fazla skora sistemi bulunmaktadır [32, 33].

Histolojik değerlendirme dışında yöntemlere bakıldığında; Singh ve arkadaşları, sağlıklı bireylerin pankreaslarını görüntüleme yöntemleri ile değerlendirmiş ve normal pankreatik yağ içeriğinin en fazla %6,2 olması gerektiğinden bahsetmiştir [34]. Ancak NAYPH'na sahip olmayan bireylerde yapılmış olan bu çalışmanın sonucu yağlı pankreasa sahip bireyler için genellenebilir bir eşik değer olarak görülmemiştir [24]. Bilindiği kadarı ile literatürde görüntüleme yöntemleri ile histopatolojik değerlendirmelerin korelasyonunu inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır [35]. Dolayısı ile histolojik incelemeler ile radyolojik değerlendirmeler arasında bir ilintiden henüz bahsetmek mümkün değildir.

NAYPH'nın tanısı için valide edilmiş bir sınır değeri olmadığı gibi görüntüleme teknikleri arasından hangisinin en uygun olduğu konusunda da henüz bir görüş birliği oluşmamıştır [36].

Pankreas transabdominal ya da endoskopik ultrasonografi (USG) kullanılarak değerlendirilebilir. Endoskopik USG pankreasın daha yakından gözlemlenmesine izin vererek tüm organın daha ayrıntılı görüntülenmesini sağlayabilir. Transabdominal USG bazı dezavantajlara (mide/ince bağırsakta bulunan gaz pankreasın görüntülenmesini olumsuz etkiler) sahip olsa da daha hızlı ve ucuz bir yöntemdir. Ancak, değerlendirme yapan kişiye bağlı bir yöntem olduğu için özellikle obez bireylerde pankreas her zaman gözlemlenemeyebilir [36].

Yağlı bir pankreas, karaciğer ya da dalak ile kıyaslandığında daha az bir yoğunluğa sahiptir dolayısı ile bilgisayarlı tomografi (BT) ile diğer abdominal organlardan kolayca ayırt edilebilir [34]. Yağlı alanların arasında bulunan normal pankreas parankimi BT görüntülemesinde kontrast yardımı ile görüntülenebilir böylece yağ bölgeleri kolayca tespit edilebilir [15]. Hatta Saisho ve arkadaşları tarafından pankreatik steatozisin tanısında kullanılmak üzere BT görüntüleri üzerinden yağ/parankim oranını hesaplamışlardır [26].

Non-invaziv, duyarlı ve güvenli bir yöntem olan MRG pankreas yağ içeriği değerlendirme çalışmalarında en sık kullanılan yöntemdir. Manyetik Rezonans Spektroskopi (MRS) non-invaziv yolla pankreatik yağ miktarının belirlenmesi için altın standart olarak önerilmektedir [36]. Bu teknik histolojik ve biyokimyasal değerlendirmelere denk bir çıktı sağlar.

Tedavisi

NAYPH'nın patofizyolojisinin, hastalığın altında yatan mekanizmaların ve klinik öneminin henüz netleşmemesinden dolayı uzlaşmış klinik bir yönerge ve herhangi bir ilaç tedavisi bulunmamaktadır. Buna karşın, yağlı pankreasın erken tedavisi ise oldukça önemlidir; yağlanma sonucu oluşan inflamasyon apoptozise, fibrozise ve hatta kansere kadar ilerleyebilmektedir.

Literatürdeki bilgilere dayanarak yağlı pankreasa sebep olabilecek faktörlerin ortadan kaldırılması ile ilgili önlemler önerilmektedir. NAYPH için en önemli risk faktörlerinden olan obezitenin önlenmesi ve sağlıklı kilo kaybının gerçekleşmesi pankreatik yağlanma üzerinde olumlu etkili olacaktır. Bunlara ek düzenli egzersizin ve kalori kısıtlamalı beslenme diğer öneriler arasındadır [31, 37, 38].

Hayvan çalışmalarında oral hipoglisemik ajanların (metformin, DPP-4 inhibitörleri ve thiazolidinedion gibi) NAYPH'da etkili olabileceği belirtilmiştir. Metformin verilen sıçanlarla yapılan bir çalışmada metforminin pankreatik adacık hücrelerindeki oksidatif stresi azalttığı kanıtlanmıştır. Bir başka çalışmada ise metforminin yüksek yağlı diyetle kompanse edilebilir beta hücre hiperplazisini baskıladığı bulunmuştur. Sonuç olarak visceral yağ hücrelerini de azaltabileceği söylenebilir. T2DM için troglitazone uygulanan fare modellerinde pankreasın ıslak ağırlığında, protein içeriğinde önemli derecede artışa neden

olmuştur. Troglitazone, inflamatuvar hücre infiltrasyonundan ve fibrozisten ya korumuş ya da süreci olumlu yönde tersine çevirmiştir. Kombine sitagliptin ve telmisartanın ise pankreatik steatozisi kontrol altına aldığı ve lipotoksisite kaynaklı pankreatik hastalığın morbid sürecinden koruduğu hayvan çalışmalarında gösterilmiştir [1, 32, 34]. Berberin ve sinamik asit ile yapılan in vitro çalışmalarda, bu takviyelerin pankreatik beta hücre kültürlerinde lipid birikim inhibisyonu yaptığı gösterilmiştir [39]. Tüm bu çalışmalar, yağlı pankreasın farmakolojik tedavisi için ileri çalışmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

2.3. Çalışmanın Amacı

NAYPH'nın etkileri ve klinik seyrinin ciddiyeti, pankreastaki yağlanmanın fizyopatolojisinin ve buna bağlı gelişen klinik tablonun ayrıntıları ile tanımlanmasının büyük öneme sahip olduğunu göstermektedir. Hastalığın tedavisi için alternatiflerin geliştirilebilmesi ve hatta uygulanacak herhangi bir tedavinin etkinliğinin doğru şekilde değerlendirilebilmesi için bu öncelikli adım olmalıdır. Fizyopatolojinin güvenilir bir şekilde açıklanabilmesi için literatürde sonuçların birbiri ile karşılaştırılarak değerlendirilebileceği çalışmalara ihtiyaç vardır. Dolayısıyla sonuçların kıyaslanması ve bir arada değerlendirilebilmesi için ilk aşama bu hastalıkla ilgili güvenilir ve geçerli bir hayvan modeli oluşturmak olmalıdır. Literatürde henüz NAYPH için oluşturulmuş bir hayvan modeli bulunmamaktadır. Literatürdeki pankreas çalışmalarının farklı yöntemlerle pankreasta yağlanma oluşturmaya çalışması, sonuçların birbirleriyle kıyaslanmasını önemli ölçüde sınırlamaktadır. Geçerli ve güvenilir bir hayvan modeli oluşturulması, yağlı pankreas çalışmalarına hız verecek ve birbiri ile karşılaştırılabilecek sonuçlar elde edilmesini sağlayacaktır. Bu yöndeki gereklilik konu hakkında yakın dönemlerde yayınlanan önemli derlemelerde de ısrarla vurgulanmıştır [5, 6].

Dolayısı ile bu tez çalışmasının amacı, alkolik olmayan yağlı pankreasta ekzokrin fonksiyonların incelenmesi için bir hayvan modeli oluşturmaktır.

Bu çalışma ile alkolik olmayan yağlı pankreasın oluşma süreci ve fizyolojik sonuçları ile birlikte pankreastaki yağlanmanın ekzokrin fonksiyonları üzerine etkisi incelenecek ve bu çalışma sonucunda literatürde bir 'ilk' olacak bir hayvan modeli oluşturularak; ileride yapılacak bilimsel çalışmalar için temel basamak oluşturmaya katkı sağlayacaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Etik kurul

Çalışmamız protokolünde kullanılacak hayvanların etik kurul izni Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınmıştır (Sayı numarası: E-66332047-604.01.02-254421, Kod numarası: G.Ü.ET-22.002). Bu çalışmanın in-vivo çalışmaları Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde (GÜDAM) yapılırken; in-vitro çalışmaları ise Gazi Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı'ndan hizmet alımı şeklinde ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ve Histoloji Anabilim Dalı Laboratuvarları'nda yürütülmüştür.

3.1.2. Deney hayvanları

Çalışmamızda ağırlıkları 18-30 gram aralığında olan 32 adet erişkin erkek C57BL/6 fare kullanılmıştır. Fareler normal oda sıcaklığında ve 12 saatlik aydınlık- karanlık döngüsünde barındırılmış olup; ad libitum beslenmişlerdir. İçme suyu olarak ise normal musluk suyu tüketmişlerdir.

3.1.3. Kullanılan laboratuvar aletleri ve cihazları

Bu çalışmada kullanılan laboratuvar gereçleri Gazi Üniversitesi Fizyoloji Araştırma Laboratuvarları'na ait olup; cihazların marka/model özellikleri Çizelge 3.1' de listelenmiştir.

3.1.4. Kullanılan kimyasallar

Çalışmada kullanılan çeşitli kimyasal sarflar, kullanılan kitler, imalatçı firma, katalog numaraları gibi özellikleri ile beraber ilgili Çizelge 3.2' de listelenmiştir.

Çizelge 3.1. Laboratuvarda kullanılan malzemeler

Alet/Cihaz Adı	Marka/Model
1. Santrifüj	MPW-350, Polonya
2. pH metre	Eutech Instruments, Singapur
3. Derin dondurucu (-80 °C)	Sanyo, Japonya
4. Buzdolabı (-20 °C)	Arçelik, Türkiye
5. Buzdolabı (+4 °C)	Arçelik, Türkiye
6. Distile su/Saf su cihazı	MES, mpMINIpure
7. Hassas terazi	Sartorius Basic, Almanya
8. Vorteks	Nüve NM 110-020488, Türkiye
9. Isıtıcı manyetik karıştırıcı	Asistent, TMA 2071
10. Steril enjektör (1-5 mL)	Genject
11. İnsülin enjektörü	Genject
12. Pastör Pipeti	Labor Teknik
13. Cerrahi malzemeler (Pens, makas, vb)	
14. Mikroskop	Leica DM-4000B
15. Görüntüleme Cihazı	Leica DM-4000B
16. Sarı Kapaklı (jelli) tüp	BD 367955
17. Nitril Eldiven	Dolphin
18. Lam	Patolab
19. Lamel	Microcult

Çizelge 3.2. Kullanılan kimyasal malzemeler

Kimyasal/malzeme adı	Katalog numarası	İmalatçı Firma
1. Yüksek yağlı yüksek sükrözlu özel diyet	C1090-45	Altromin
2. Sudan 3 boyası	LB.NOR.117300.0100	Norateks
3. Hematoksilen	BO05-06004/L	Bio-Optica
4. Eozin	6766007	Thermo

3.2. Yöntem

3.2.1. Araştırma planı

Fareler, her grupta 8 hayvan olmak üzere; 2 deney ve 2 kontrol grubu olarak 4 gruba rastgele ayrılmıştır. Gruplara ayrıldıktan sonra hayvan üretim odasından, devam etmekte olan çalışmalara ayrılmış hayvanların bulundurulduğu odaya alınan farelerin yeni ortamlarında 1 hafta uyum süreci geçirmeleri sağlanmıştır. Bu 1 haftalık süreç içerisinde deney gruplarının yüksek yağ yüksek sükroz (HFHSD)* diyetine alışmaları da sağlandıktan sonra aşağıda belirtilen beslenme protokolü ile deney grubundaki fareler yüksek yağ yüksek sükroz diyeti ile beslenirken; kontrol grubu hayvanlar standart diyet (SD) ile beslenmişlerdir. İçme suyu olarak tüm hayvanlar normal çeşme suyu tüketmişlerdir. Hayvanların yem tüketimi miktarları ve kilo takibi haftalık olarak gerçekleştirilmiştir.

* HFHSD enerji bazında %44 karbonhidrat (%16 sükroz), %42 yağ ve %14 protein içermekte (yaklaşık 20 kJ/g) iken GÜDAM'da kullanılmakta olan standart diyet %75 karbonhidrat, %18 protein ve %7 yağ (toplam 15.9 kJ/g) içermektedir.

Çizelge 3.3. Beslenme protokolü

n=8	DİYET TÜRÜ	SÜREÇ
Deney Grubu 1	HFHSD*	6-8 Hafta
Deney Grubu 2	HFHSD*	10-12 Hafta
Kontrol Grubu 1	SD #	6-8 Hafta
Kontrol Grubu 2	SD #	10-12 Hafta

3.2.2. Araştırma protokolü

Tüm deney süreci boyunca hayvanların haftalık yem tüketimi ve kilo takipleri yapılmıştır. Hayvanların kan şekeri kuyruk veninden alınan kandan glukometre kullanılarak protokole dâhil edildikleri ve protokolün sonlandırıldığı günlerde ölçüldü.

Beslenme protokolü tamamlanan hayvanlar sakrifiye edilmeden 1 saat kadar önce teker teker küçük, talaşsız, yeme ve suya ulaşımı sağlanan kafeslere alındılar. Her bir hayvan geytada yağ analizi için yeterli miktarlarda (yaklaşık 1-1,5gr) dışkılayana kadar takip edildi. Geytada yağ analizi aynı gün içerisinde Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ve Histoloji Laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

Gayta toplama işlemleri tamamlanan fareler intraperitoneal ketamin enjeksiyonu (45 mg/kg) ile anestezi altına alınıp intrakardiyak kanları alınarak eksanguine edildi. Sarı kapaklı jelli serum ayırma tüpüne alınan kan ile amilaz, lipaz değerleri ve lipidemik parametreler (kolesterol, trigliserid, HDL, LDL) Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı'ndan hizmet alımı şeklinde analiz edildi.

Farelerden çıkarılan pankreas dokusu ve visseral yağlanmanın bir belirteci olarak kullanılan periepididimal yağın (Resim 3.1.) ağırlıkları hassas terazi ile ölçüldü. Daha sonra pankreaslar histopatolojik değerlendirmelerde kullanılmak üzere formole alındı.



Resim 3.1. Periepididimal Yağ Görüntüsü

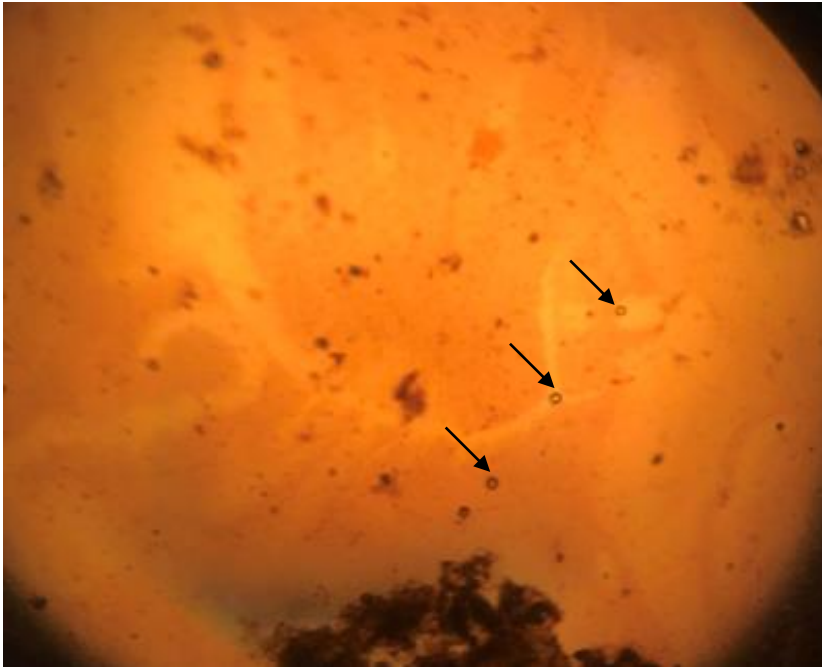
3.2.3. Geytada yağ analizi

Hayvandan toplanan geytalar küçük bir ependorfa alındı. Ependorfa alınan geytanın üzerine geyta miktarı kadar distile su eklendi. Fare geytası yoğunluğunun insan geytasına kıyasla daha yoğun olması sebebiyle bir süre suyun içinde yumuşak bir kıvam alması beklendi. Daha sonra ependorf ağzı kapalı bir şekilde geyta ve distile su tamamen karışana kadar

vortekslendi. Karışma işlemi tamamlanan gaitalar aynı ependorf içerisinde 3000 rpm hızda 5 dk süre ile santrifüj edildi.

İki tabaka haline gelen gaitanın en üstteki sulu kısmından bir miktar pastör pipeti ile alındı ve lama damlatıldı. Üzerine 1 damla Sudan-3 boyası eklenerek pastör pipetinin ucu ile yavaşça homojen hale gelene karıştırıldı. Lam üzerinde homojen hale gelen sıvı karışımı mikroskop altında x10'luk büyütme ile incelendi.

Gaita yaymasında yağın tanımlanması için kullanılan kriterler; damlacığın hatları belirgin, yuvarlak şekilde ve saydam olmasıdır (Resim 3.2).



Resim 3.2. Gaitada Yağ Mikroskopik Görüntüsü

Gaita yaymasının rastgele seçilen 10 farklı alanı tarandı. Her bir alanda tespit edilen yağ partikülleri Küçük, Orta ve Büyük olarak sınıflandırıldı ve kaçar tane görüldüğü not edildi. Sonrasında birim alandaki ağırlıklandırılmış yağ miktarı aşağıdaki skorum yöntemi kullanılarak hesaplandı.

Gaitada Yağ Skoru= (Küçük yağ adet x1 + Orta yağ adet x 2 + Büyük yağ adet x 4) / taranan alan sayısı (Eş. 3.1.)

3.2.4. Kan biyokimya analizleri

Derin anestezi altındaki farelerden intrakardiyak yöntemle sarı kapaklı serum ayırma tüplerine alınan kandan amilaz, lipaz, kolesterol, trigliserid, HDL ve LDL ölçümleri Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarında hizmet alımı şeklinde yapılmıştır.

3.2.5. Histolojik değerlendirmeler

Pankreas dokusu %10'luk nötral formalinle tespit edildikten sonra artan derecelerde etil alkol serilerinden (%70, %80, %90, %96, %100) geçirilerek dehidrate edildi. Ksilolde şeffaflandırma işlemi yapılan pankreas dokusu parafine gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom ile 4 µm kalınlığında kesitler alınarak uygun deparafinizasyon ve rehidratasyon aşamalarını takip ederek doku kesitleri histopatolojik inceleme için hazır hale getirildi. Kesitler, hematoksilin-eozin ile boyanarak lamalar entellan ile kapatıldı. Boyanan doku örneklerinden Leica DM 4000B bilgisayar destekli ışık mikroskobunda görüntülendi.

3.2.6. İstatistiksel analiz

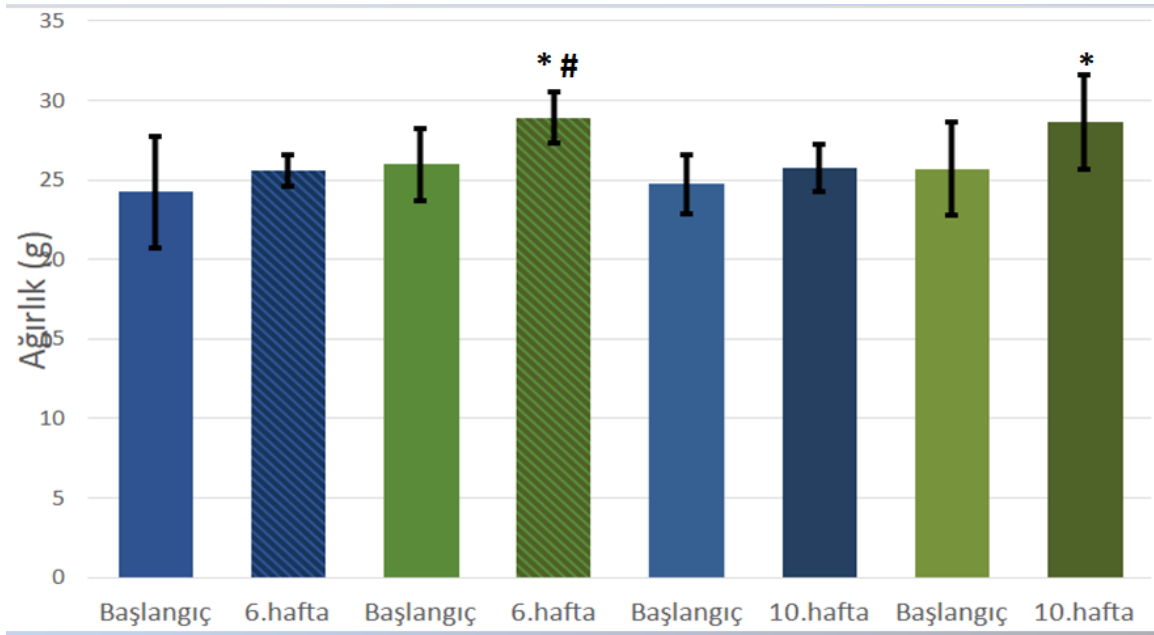
Deneyler sonucu elde edilen veriler Jamovi istatistik programı kullanılarak değerlendirildi. Veriler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilip, $p < 0.05$ bulunduğunda gruplar arasındaki fark anlamlı kabul edildi. Çoklu grup karşılaştırmaları Kruskal-Wallis testi ile yapılmış anlamlılık bulunduğu takdirde post-hoc test olarak Dwass-Steel-Critchlow-Fligner testi kullanılmıştır. İkili grup karşılaştırmaları Mann-Whitney U testi ile analiz edildi.

4. BULGULAR

Bu tez çalışmasında NAYPH'da ekzokrin fonksiyonların incelenmesi için hayvan modeli oluşturmak amacı ile günümüzde sıklıkla tercih edilen batı tarzı diyetle benzerlik gösteren HFHSD (yüksek yağ ve yüksek sükrözlu diyet; **H**igh **F**at **H**igh **S**ucrose **D**iet) kullanılmıştır. Süreç boyunca gelişen ekzokrin pankreas fonksiyonlarındaki değişiklikler kan ve gayta örnekleri kullanılarak analiz edildi. Ayrıca pankreas dokusu histopatolojik olarak incelendi.

4.1. Ağırlık Değişimleri

Hayvanların çalışmaya dâhil edildiği günden sakrifikasyonun gerçekleştiği güne kadar her hafta ağırlıkları ölçülerek kaydedilmiştir.



Şekil 4.1. Farelerin başlangıç ve son ortalama ağırlık değişimleri.

K6-8; standart diyet ile 6-8 hafta boyunca beslenen kontrol grubu ve D6-8. HFHSD ile 6-8 hafta boyunca beslenen diyet grubu, K10-12. Standart diyet ile 10-12 hafta boyunca beslenen kontrol grubu ve D10-12.

HFHSD ile 10-12 hafta beslenen diyet grubu *Başlangıç ile son ağırlık ölçümleri arasındaki anlamlılığı;

Aynı haftalardaki kontrol ile diyet grupları arasındaki anlamlılığı göstermektedir.

Protokolün başlangıcında gruptaki hayvanların ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktaydı. Grupların protokol öncesi ve sonrası ağırlıkları kendi

aralarında karşılaştırıldığında ise sadece D6-8 grubunda anlamlı fark yakalanmıştır ($p=0,015$).

Ayrıca 6. hafta sonunda K hayvanları ile D hayvanlarının ağırlıkları arasında ($p=0,006$) ve 10. hafta sonunda K hayvanları ile D hayvanlarının ağırlıkları arasında ($p=0,04$) istatistiksel olarak anlamlı artış fark edildi.

Çizelge 4.1. Farelerin başlangıç ve son ortalama ağırlık değerleri (g)

	K6-8		D6-8		K10-12		D10-12	
	Başlangıç	6.hafta	Başlangıç	6.hafta	Başlangıç	10.hafta	Başlangıç	10.hafta
Ort	24.22	25.61	25.98	28.92* [#]	24.72	25.77	25.68	28.66*
STD	3.49	0.99	2.26	1.61	1.83	1.48	2.92	2.96

*Başlangıç ile son ağırlık ölçümleri arasındaki anlamlılığı;

[#] Aynı haftalardaki kontrol ile diyet grupları arasındaki anlamlılığı göstermektedir.

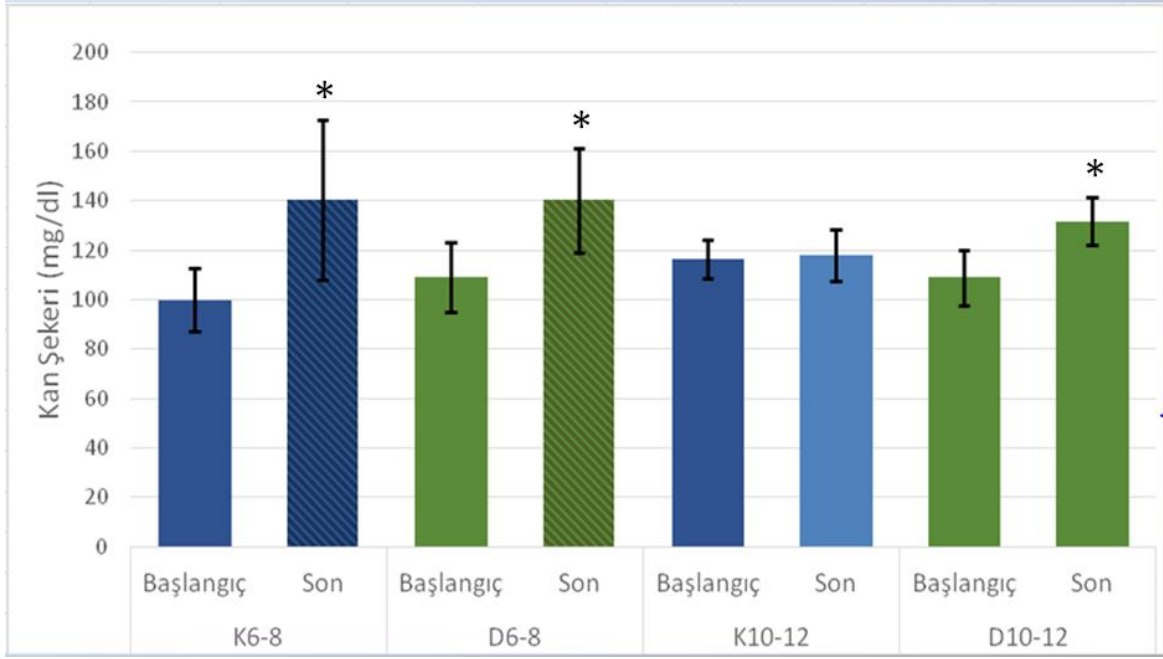
4.2. Kan Şekeri Düzeyleri

Hayvanların çalışmaya dâhil edildikleri gün ve sakrifikasyon günü anestezi verilmeden önce ölçülen kan şekeri değerleri kaydedildi. Hayvanların başlangıç kan şekeri düzeyleri istatistiksel olarak Kruskal-Wallis testi ile analiz edilip ve gruplar arasında fark görülmemiştir. Hayvanların protokole dâhil edildikleri gün ve sakrifikasyon günü anestezi öncesi ölçülen ortalama kan şekeri değerleri Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Farelerin başlangıç ve son ortalama kan şekeri değerleri (mg/dL)

Gruplar	K6-8 (n=7)	D6-8 (n=7)	K10-12 (n=7)	D10-12 (n=8)
Başlangıç	99,9±12,95	109±13,9	116,4±7,82	108,8±11,12
Son	140,4±32,46 *	140,3±21,16*	118±10,61	131,6±9,65*

*Her grubun kendi içinde başlangıç ölçümüne göre anlamlılık



Şekil 4.2. Farelerin başlangıç ve son ortalama kan şekeri değişimleri.

K6-8; standart diyet ile 6-8 hafta boyunca beslenen kontrol grubu ve D6-8. HFHSD ile 6-8 hafta boyunca beslenen diyet grubu, K10-12. Standart diyet ile 10-12 hafta boyunca beslenen kontrol grubu ve D10-12. HFHSD ile 10-12 hafta beslenen diyet grubu *Başlangıç ile son şeker ölçümleri arasındaki anlamlılığı göstermektedir.

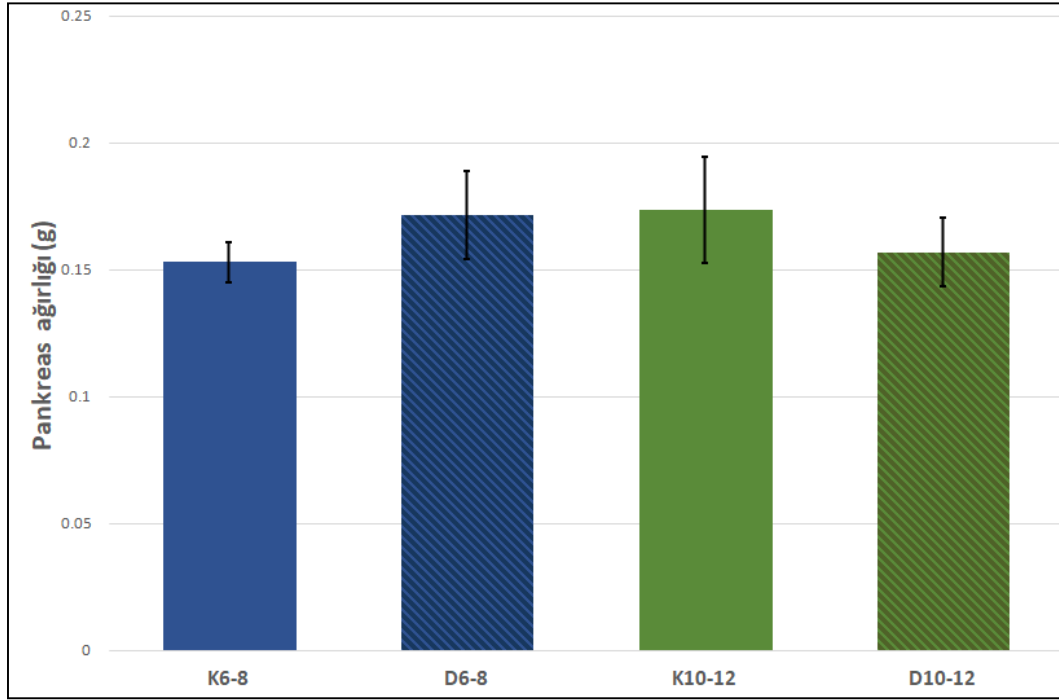
Her grubun kendi içinde başlangıç ve son değerleri olmak üzere ikili grup karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Analiz sonucunda K6-8, D6-8 ve D10-12 gruplarında anlamlı artış görülmüştür (K6-8 başlangıç-son $p=0,009$, D6-8 başlangıç-son $p=0,021$ ve D10-12 başlangıç-son $p=0,005$). K10-12 grubunun başlangıç ve son ortalama kan şekeri düzeyleri arasında ise anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=1$).

4.3. Pankreas Ağırlık Ölçümleri

Deney sonunda, hayvanlar derin anestezi altındayken çıkarılan pankreas dokusunun ağırlığı hassas terazi ile ölçüldü. Hayvanların ortalama pankreas ağırlıkları istatistiksel olarak Kruskal-Wallis testi ile analiz edilip, kontrol ve diyet gruplarının ikili grup karşılaştırılmasında ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. Diyet uygulaması pankreas ağırlıklarında anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır.

Çizelge 4.3. Farelerin ortalama pankreas ağırlıkları (g)

	Pankreas ağırlığı(g)			
	K6-8	D6-8	K10-12	D10-12
Ort	0.15	0.17	0.17	0.15
STD	0.021	0.046	0.055	0.038



Şekil 4.3. Kontrol ve diyet grubu hayvanların ortalama pankreas ağırlıkları (gram)

K6-8; standart diyet ile 6-8 hafta boyunca beslenen kontrol grubu ve D6-8. HFHSD ile 6-8 hafta boyunca beslenen diyet grubu, K10-12. Standart diyet ile 10-12 hafta boyunca beslenen kontrol grubu ve D10-12. HFHSD ile 10-12 hafta beslenen diyet grubu

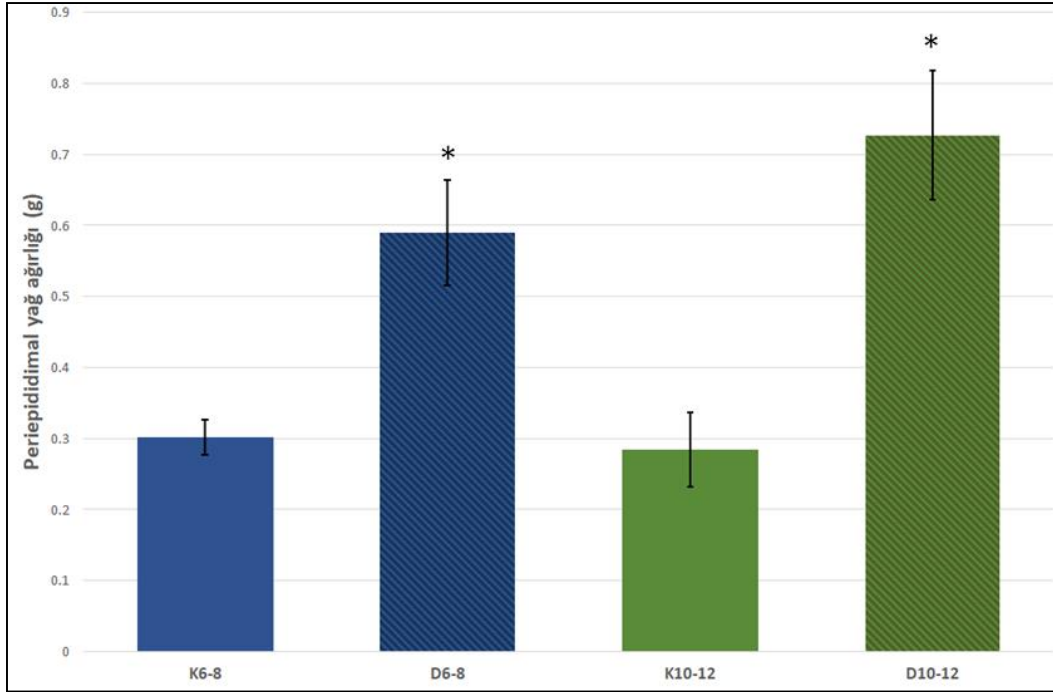
4.4. Periepididimal Yağ Ağırlık Ölçümleri

Deney sonunda, hayvanlar derin anestezi altında iken epididimisin etrafındaki yağ dokusu ayrıldı ve ağırlığı hassas terazi ile ölçüldü. Hayvanların ortalama periepididimal ağırlıkları istatistiksel olarak Kruskal-Wallis testi ile analiz edildi ($p < 0,001$), kontrol ve diyet gruplarının ikili grup karşılaştırılmasında ise Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Çizelge 4.4. Farelerin ortalama periepididimal yağ ağırlıkları (g)

	Epididimal yağ ağırlığı(g)			
	K6-8	D6-8	K10-12	D10-12
Ort	0.3	0.58*	0.28	0.72*
STD	0.05	0.197	0.137	0.256

*Diyet gruplarının kontrol gruplarına kıyasla anlamlılığını göstermektedir.



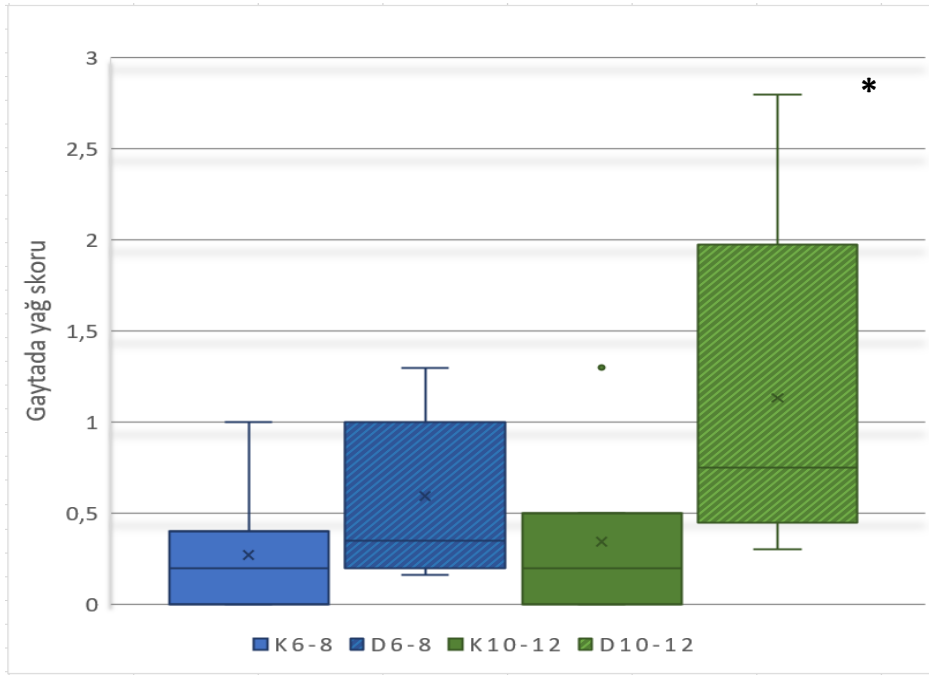
Şekil 4.4. Kontrol ve diyet grubu hayvanların ortalama periepididimal yağ ağırlıkları (gram)

K6-8; standart diyet ile 6-8 hafta boyunca beslenen kontrol grubu ve D6-8. HFHSD ile 6-8 hafta boyunca beslenen diyet grubu, K10-12. Standart diyet ile 10-12 hafta boyunca beslenen kontrol grubu ve D10-12. HFHSD ile 10-12 hafta beslenen diyet grubu *Kontrol ve diyet grupları arasındaki anlamlılığı göstermektedir.

D6-8 grubunun K6-8 grubuna kıyasla ortalama periepididimal yağ ağırlığında anlamlı artış gözlemlenmiştir ($p=0,006$). Aynı şekilde D10-12 grubunun ortalama periepididimal yağ ağırlığı K10-12 grubuna kıyasla anlamlı derecede artmıştı ($p=0,002$).

4.5. Gaitada Yağ Analizi

Yapılan mikroskopik inceleme sonu hesaplanan ağırlıklandırılmış gaita yağ düzeyleri ikili gruplar arasında Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiş ve K10-12 ile D10-12 grupları arasında anlamlı fark görülmüştür ($p=0,038$)



Şekil 4.5. Kontrol ve diyet grubu hayvanların gaitada yağ skoru

K6-8; standart diyet ile 6-8 hafta boyunca beslenen kontrol grubu ve D6-8. HFHSD ile 6-8 hafta boyunca beslenen diyet grubu, K10-12. Standart diyet ile 10-12 hafta boyunca beslenen kontrol grubu ve D10-12. HFHSD ile 10-12 hafta beslenen diyet grubu *Kontrol ve diyet grupları arasındaki anlamlılığı göstermektedir.

4.6. Kan Lipaz Düzeyleri

Protokol sonunda hayvanlardan alınan kan lipaz düzeyleri tüm gruplar arasında Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildi ve gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür.

Çizelge 4.5. Farelerin kan lipaz düzeyleri (U/L)

	Lipaz			
	K6-8	D6-8	K10-12	D10-12
Ort	48.6	46.5	36.5	43
STD	5.23	3.97	9.44	7.56

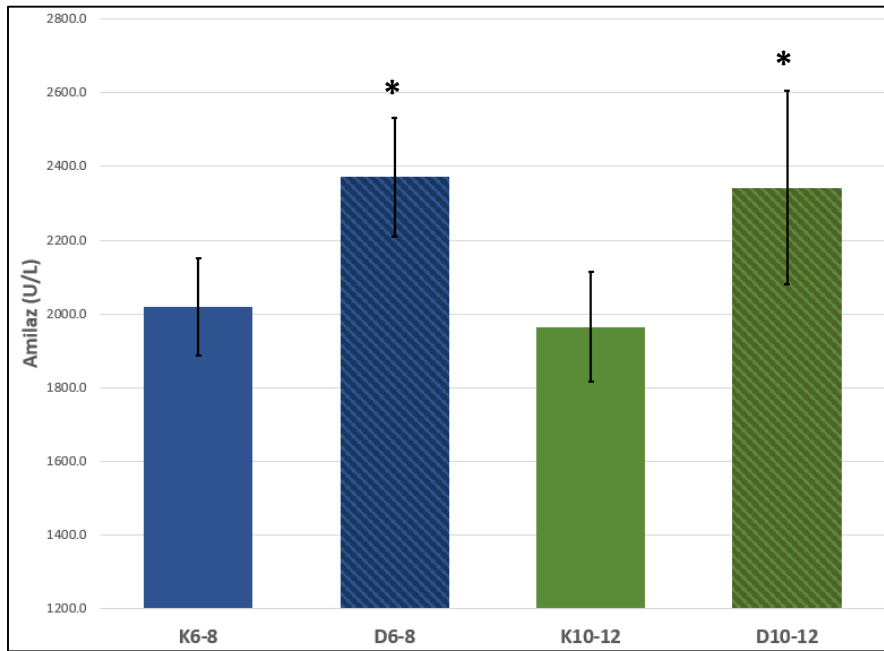
4.7. Kan Amilaz Düzeyleri

Hayvanların amilaz düzeyleri tüm gruplar arasında Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırıldı ve $p=0.004$ bulunduğu için post-hoc test olarak Dwass-Steel-Critchlow-Fligner testi uygulanarak hem K6-8 ile D6-8 grupları arasında hem de K10-12 ile D10-12 grupları arasında anlamlı fark bulundu (sırasıyla $p=0.041$; $p=0.02$).

Çizelge 4.6. Farelerin kan amilaz düzeyleri (U/L)

	Amilaz			
	K6-8	D6-8	K10-12	D10-12
Ort	2019,0	2371,3*	1965,3	2342,7*
STD	132,86	160,24	148,4	261,83

*Diyet gruplarının kontrol gruplarına kıyasla anlamlılığını göstermektedir.



Şekil 4.6. Kontrol ve diyet grubu hayvanların kanda amilaz düzeyleri

K6-8; standart diyet ile 6-8 hafta boyunca beslenen kontrol grubu ve D6-8. HFHSD ile 6-8 hafta boyunca beslenen diyet grubu, K10-12. Standart diyet ile 10-12 hafta boyunca beslenen kontrol grubu ve D10-12. HFHSD ile 10-12 hafta beslenen diyet grubu *Kontrol ve diyet grupları arasındaki anlamlılığı göstermektedir.

4.8. Kolesterol Düzeyleri

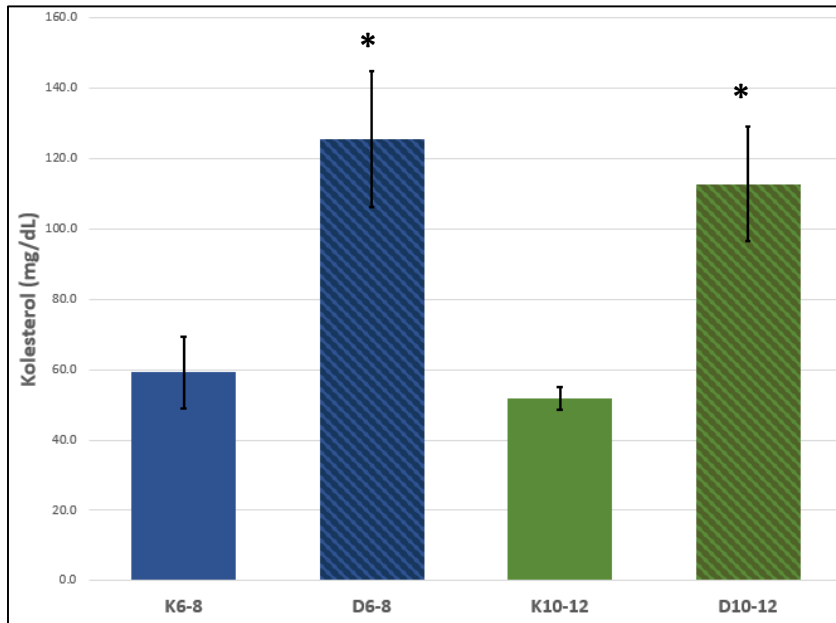
Protokol sonunda hayvanlardan alınan kan kolesterol düzeyleri tüm gruplar arasında Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildi ve $p<0.001$ bulunduğu için post-hoc test olarak

Dwass-Steel-Critchlow-Fligner testi uygulanmış ve hem K6-8 ile D6-8 grupları arasında hem de K10-12 ile D10-12 grupları arasında anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla $p=0.014$; $p=0.007$).

Çizelge 4.7. Farelerin kolesterol düzeyleri (mg/dl)

	Kolesterol (mg/dl)			
	K6-8	D6-8	K10-12	D10-12
Ort	59.2	125.6*	51.8	112.7*
STD	10.29	19.26	3.23	16.26

*Diyet gruplarının kontrol gruplarına kıyasla anlamlılığını göstermektedir.



Şekil 4.7. Kontrol ve diyet grubu hayvanların kolesterol düzeyleri

K6-8; standart diyet ile 6-8 hafta boyunca beslenen kontrol grubu ve D6-8. HFHSD ile 6-8 hafta boyunca beslenen diyet grubu, K10-12. Standart diyet ile 10-12 hafta boyunca beslenen kontrol grubu ve D10-12. HFHSD ile 10-12 hafta beslenen diyet grubu *Kontrol ve diyet grupları arasındaki anlamlılığını göstermektedir.

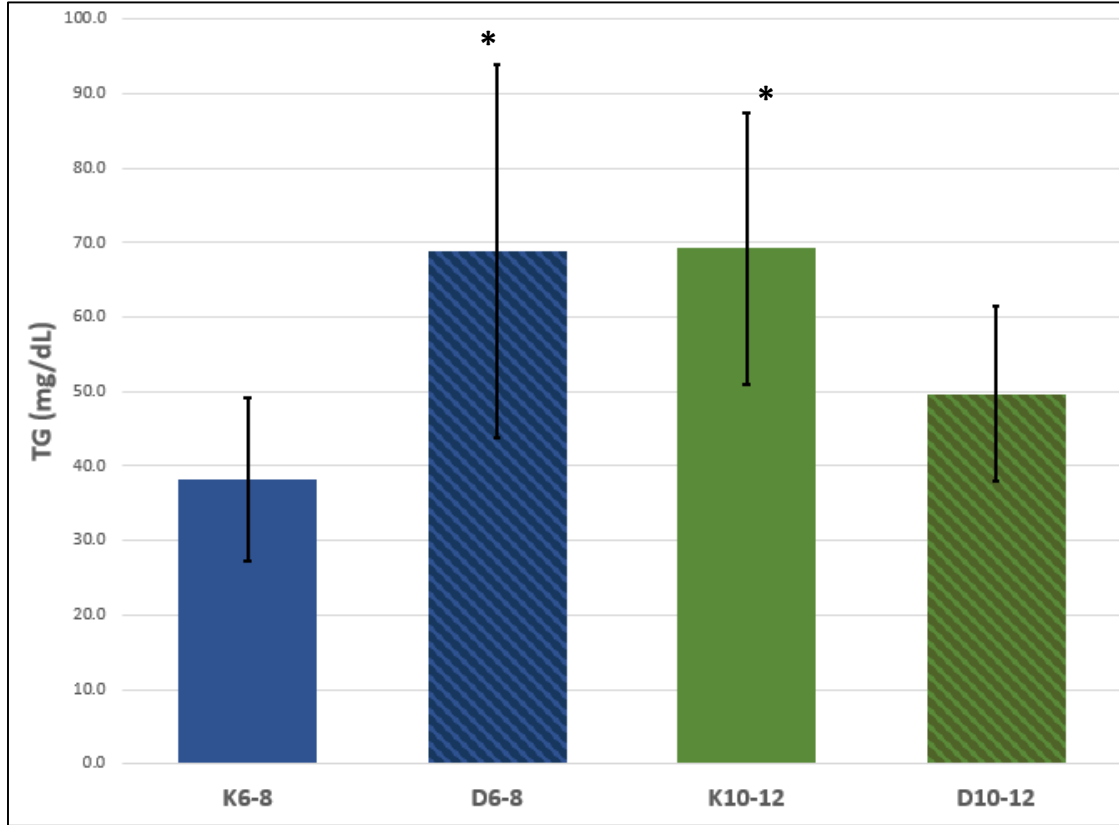
4.9. Triglicerid Düzeyleri

Protokol sonunda hayvanlardan alınan kan trigliserid düzeyleri tüm gruplar arasında Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildi ve $p=0.008$ bulundu. Devamında Mann-Whitney U testi kullanılarak yapılan ikili grup karşılaştırmalarında hem K6-8 ile D6-8 grupları arasında hem de K10-12 ile D10-12 grupları arasında anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla $p=0.022$; $p=0.029$).

Çizelge 4.8. Farelerin trigliserid düzeyleri (mg/dl)

	Trigliserid (mg/dl)			
	K6-8	D6-8	K10-12	D10-12
Ort	38.2	68.9*	69.2	49.7*
STD	10.9	25.03	18.17	11.81

*Diyet gruplarının kontrol gruplarına kıyasla anlamlılığını göstermektedir.



Şekil 4.8. Kontrol ve diyet grubu hayvanların trigliserid düzeyleri

K6-8; standart diyet ile 6-8 hafta boyunca beslenen kontrol grubu ve D6-8. HFHSD ile 6-8 hafta boyunca beslenen diyet grubu, K10-12. Standart diyet ile 10-12 hafta boyunca beslenen kontrol grubu ve D10-12. HFHSD ile 10-12 hafta beslenen diyet grubu *Kontrol ve diyet grupları arasındaki anlamlılığı göstermektedir.

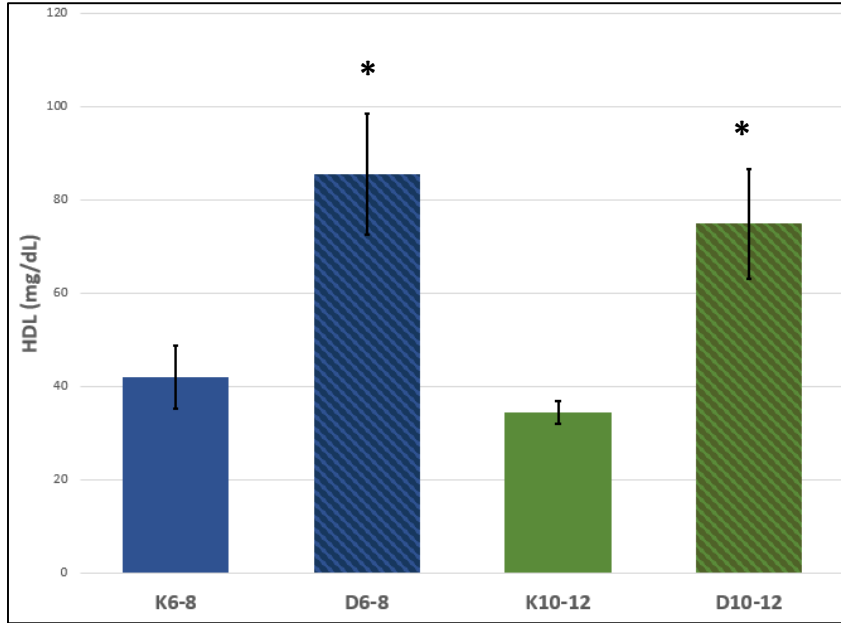
4.10. HDL Düzeyleri

Protokol sonunda hayvanlardan alınan kan HDL düzeyleri tüm gruplar arasında Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildi ve $p < 0.001$ bulunduğu için post-hoc test olarak Dwass-Steel-Critchlow-Fligner testi uygulanmış ve hem K6-8 ile D6-8 grupları arasında hem de K10-12 ile D10-12 grupları arasında anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla $p=0.014$; $p=0.007$).

Çizelge 4.9. Farelerin HDL düzeyleri (mg/dl)

	HDL (mg/dl)			
	K6-8	D6-8	K10-12	D10-12
Ort	41.92	85.55*	34.44	74.93*
STD	6.68	12.94	2.5	11.82

*Diyet gruplarının kontrol gruplarına kıyasla anlamlılığını göstermektedir.



Şekil 4.9. Kontrol ve diyet grubu hayvanların HDL düzeyleri

K6-8; standart diyet ile 6-8 hafta boyunca beslenen kontrol grubu ve D6-8. HFHSD ile 6-8 hafta boyunca beslenen diyet grubu, K10-12. Standart diyet ile 10-12 hafta boyunca beslenen kontrol grubu ve D10-12. HFHSD ile 10-12 hafta beslenen diyet grubu *Kontrol ve diyet grupları arasındaki anlamlılığı göstermektedir.

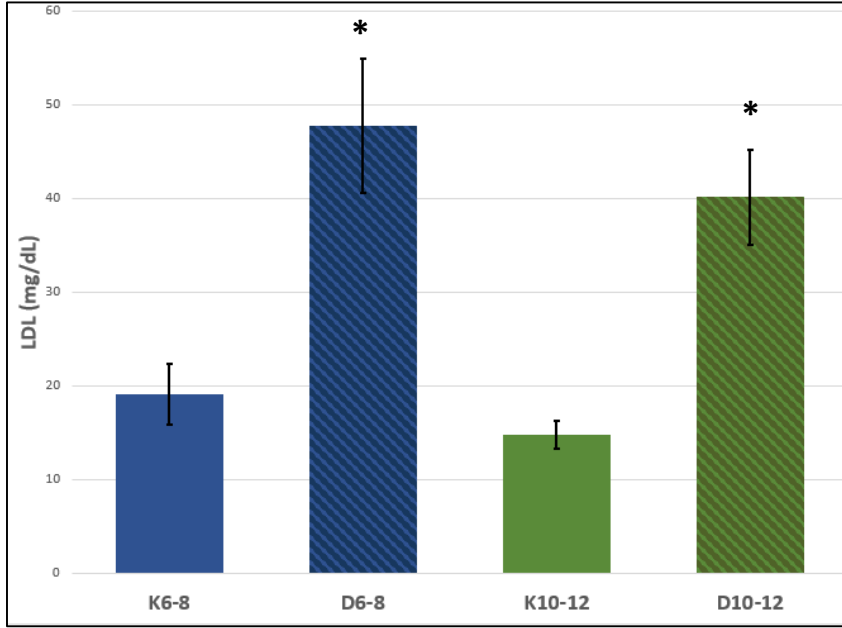
4.11. LDL Düzeyleri

Protokol sonunda hayvanlardan alınan kan LDL düzeyleri tüm gruplar arasında Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildi ve $p < 0.001$ bulunduğu için post-hoc test olarak Dwass-Steel-Critchlow-Fligner testi uygulanmış ve hem K6-8 ile D6-8 grupları arasında hem de K10-12 ile D10-12 grupları arasında anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla $p = 0.014$; $p = 0.006$).

Çizelge 4.10. Farelerin LDL düzeyleri (mg/dl)

	LDL (mg/dl)			
	K6-8	D6-8	K10-12	D10-12
Ort	19.1	47.8*	14.75	40.13*
STD	3.21	7.15	1.52	5.02

*Diyet gruplarının kontrol gruplarına kıyasla anlamlılığını göstermektedir.

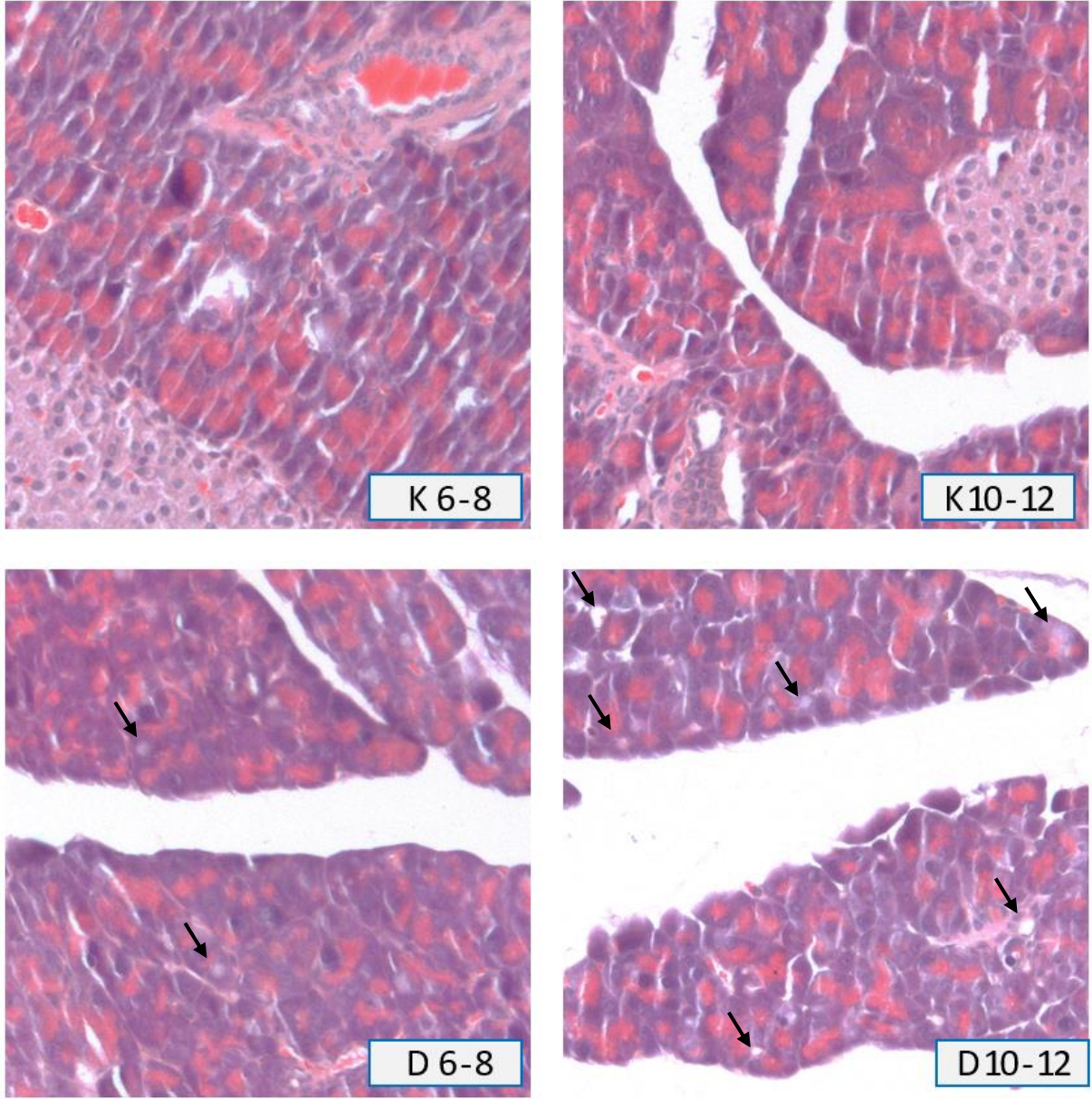


Şekil 4.10. Kontrol ve diyet grubu hayvanların LDL düzeyleri

K6-8; standart diyet ile 6-8 hafta boyunca beslenen kontrol grubu ve D6-8. HFHSD ile 6-8 hafta boyunca beslenen diyet grubu, K10-12. Standart diyet ile 10-12 hafta boyunca beslenen kontrol grubu ve D10-12. HFHSD ile 10-12 hafta beslenen diyet grubu *Kontrol ve diyet grupları arasındaki anlamlılığı göstermektedir.

4.12. Histolojik Gözlemler

Çalışma sürecinde tüm hayvanların pankreasları alınarak gerekli protokoller çerçevesinde parafin bloklara gömülmüştür. Hematoksilen-eozin (H&E) boyaması sonrası yapılan incelemelerde K6-8 ile K10-12 arasında belirgin bir fark göze çarpmadı. Diğer taraftan D6-8 kesitlerinde hücre içi daha fazla olmak üzere hem hücre içi hem de hücre dışı yağ birikimleri bazı alanlarda göze çarparken, D10-12 kesitlerinde hemen tüm alanlarda belirgin yağlanma gözlemlendi.



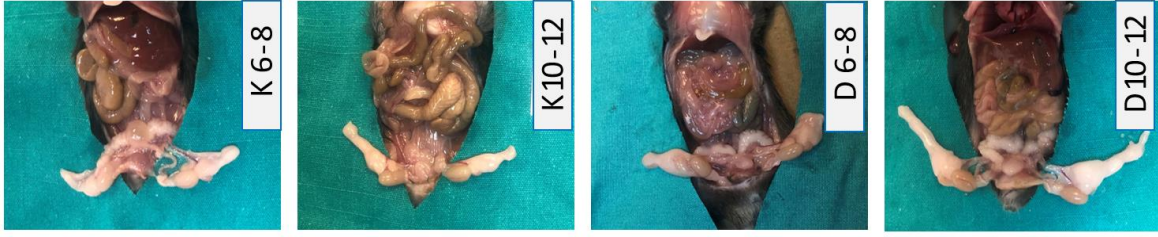
Resim 4.1. H&E boyaması yapılmış pankreas kesitlerinin mikroskop görüntüleri (↘)
Okların ucu yağ birikim alanlarını göstermektedir.

5. TARTIŞMA

5.1. Yönteme Yönelik

NAYPH genel popülasyonda %35 ve obez bireylerde %60'lara kadar çıkan bir yaygınlığa sahiptir[4, 17]. Pankreasın sahip olduğu hayati fonksiyonlar bu hastalığın ne kadar önemli olduğunu göstermektedir. Klinik seyri ciddi endokrin ve ekzokrin fonksiyon kayıplarına ve hatta kansere kadar ilerleyebilmesine rağmen günümüzde halen tedavisi için etkin bir yöntem geliştirilememiştir. Bu durumun öncelikle sebebi pankreas patolojilerinin araştırılmasındaki zorluklar yanında literatürde biriken çalışmaların standart bir prosedür kullanmamasından dolayı sonuçlarının genellenememesidir. Bu tez çalışmasında yağlanmanın pankreasın ekzokrin fonksiyonlarının incelenebilmesi için bir yöntem tanımlanmaya çalışılacaktır.

Bu tez çalışmasında C57BL/6 fareleri ve beslenme için HFHSD türünü tercih etmemizin önemli nedenleri bulunmaktadır. Öncelikle literatürde bu hayvan türü ile yapılmış çalışmalarda C57BL/6 farelerin obezite ve komorbiditeleri için en sık kullanılan hayvan türü olduğu gözlemlenmiştir [40–43]. Wistar albino sıçanlar ile C57BL/6 farelerin kıyaslandığı bir çalışmada, HFHSD ile beslenen C57BL/6 farelerde sıçanlara kıyasla retroperitoneal yağlanmanın anlamlı derecede daha az olduğu, epididimal yağlanmanın ve serum lipid düzeylerinin ise anlamlı derecede daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Bu bilgi bize farelerin bu diyet türü ile daha çok organ yağlanmasına hassas olduğunu, sıçanların ise dirençli olduğunu ifade ederken; aynı zamanda farelerin sıçanlara kıyasla metabolik sendrom geliştirmeye daha yatkın olduğunu göstermektedir [44, 45]. Bu çalışmada hayvanların periepididimal yağ miktarını hem ağırlık ölçümü ile değerlendirdik hem de eş büyütmeye fotoğrafladık (Resim 5.1). Literatürle uyumlu şekilde HFHSD ile beslediğimiz diyet grubu hayvanlarımızın periepididimal yağ miktarı kendi kontrol değerlerinden belirgin şekilde yüksekti. Diğer taraftan, D6-8 ile D10-12 gruplarının periepididimal yağ miktarı arasında gözlemlediğimiz artış (D6-8; 0.59 ± 0.2 , D10-12; 0.73 ± 0.26 g, $n=7-8$) istatistik anlamlılığa ulaşmadı.



Resim 5.1. Kontrol ve diyet grubu hayvanlarından periepididimal yağlanmadaki değişim görüntüleri

Chen ve arkadaşlarının çalışmasında ayrıca C57BL/6 farelerde yüksek yağlı diyet (HFD) ve HFHSD ile beslenme kıyaslanmış ve HFHSD ile beslenen farelerin HFD ile beslenen farelere göre kolesterol düzeylerinin anlamlı derecede daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Ek olarak, C57BL/6 farelerde kombine bir diyetin (yüksek yağ yüksek sükroz diyeti) etkinliğinin daha ayrıntılı değerlendirilmesi gerektiği de özellikle vurgulanmıştır [45]. Ayrıca bu diyet türü insanların sıklıkla kullandığı batı tarzı diyet türü ile benzerlik göstermektedir ki; günlük yaşamda insanlar sadece yağ ya da sadece karbonhidrat odaklı şekilde beslenmemektedirler. Uzun sürelerle HFHSD ile beslenen sıçanların insanlardakine benzer şekilde obezite, glukoz intoleransı, hiperglisemi ve alkolik olmayan karaciğer hastalığı geliştirdiği tespit edilmiştir [46]. Sonuç olarak, HFHSD türü ile beslenen C57BL/6 farelerin insanlarda gelişen patolojilerle benzer şekilde patoloji geliştirmesi ve bu diyet türü ile diğer hayvan türlerine kıyasla organ yağlanmasına olan yatkınlığı ‘tür’ ve ‘diyet’ seçimimizde belirleyici olmuştur. Esas olarak yağlı pankreası değerlendirmek istediğimiz için farelerde diyabet gelişimi bu çalışmanın sonuçları için karıştırıcı bir faktör olarak karşımıza çıkabilirdi ki sadece yüksek yağ değil aynı zamanda yüksek sükroz bulunduran bir diyet bu riski artırabilirdi. Çalışmamızda bu olasılığı yine hayvan seçimimizle minimize etmeye çalıştık. Şöyle ki, literatürde C57BL/6 farelerin insülin sekresyonunun azalması nedeni ile glukoz intoleransı geliştirebildiklerini söyleyen çalışmalar olsa da bu tür genel olarak hiçbir zaman belirgin diyabet geliştirmemeleri ile göze çarpmaktadır [47]. Bu çalışma sırasında kaydedilen en yüksek kan glukoz değerlerine bakıldığında kan glukozu K6-8 grubunun bir hayvanında 197 mg/dl düzeyine ulaşmışken, bunun dışındaki hayvanlarımızda en yüksek kan glukoz değerleri 160-170 mg/dl arasında değişmiştir. Tüm bu değerler C57BL/6 fareler için bozulmuş glikoz toleransına işaret edebilse de diyabetik düzeye çıkmamaktadır.

Başlangıç ağırlık ve kan şekeri düzeyleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde hayvanların gruplara rastgele dağılımının uygun şekilde sağlandığını görülmektedir. Bu

homojen dağılım sonrası tüm grupların ortalama ağırlık değeri protokol boyunca beklendiği gibi artış gösterse de sadece D6-8 grubunda istatistiksel anlamlılık gösterilebilmiştir. Bu durumun nedenlerinden biri eşleştirilmiş test kullanamamamız olabilir. Şöyle ki, C57BL/6 farelerin kuyruk renginin koyu olması ve kuyruk yapısından kaynaklı olarak kafesteki hayvanların birbirinden ayrılabilmesine olanak sağlayan kuyruk numaralandırması yapılamamıştır. Bu nedenle haftalık kilo takipleri kafeslerdeki hayvanların ağırlıklarının ortalaması alınarak yürütülmüştür. Numaralandırmanın uygun şekilde yapılabilmiş olması istatistiksel yöntem olarak eşleştirilmiş testlerin kullanımına olanak sağlayarak grupların protokolün başlangıcından bitişine kadarki ağırlık değişimlerini daha sağlıklı değerlendirmemize imkan sağlayabilirdi.

Çalışmada literatürle uyumlu şekilde HFHSD ile beslenen hayvanlarda kan şekeri düzeylerinin arttığı gözlemlendi [48, 49]. Diğer taraftan K10-12 grubunda kan şekeri düzeylerinde anlamlı bir fark gözlemlenmemişken K6-8 grubunda belirgin bir anlamlılık kaydedildi. Bu sonuç beklenenin oldukça dışında kalmıştır ve gruba ait diğer veriler; ağırlık takibi, pankreas ve periepididimal yağ ağırlığı ile de uyumluluk göstermemektedir.

Bu çalışmada gruplar arasında pankreas ağırlıklarında da anlamlı bir fark saptanamadı. Bu yine beklemediğimiz bir sonuçu çünkü literatürde ilerleyen yaşla birlikte C57BL/6 farelerin pankreasında yağlanmanın arttığı gösterilmiştir [37]. Ayrıca HFHSD ile de pankreasta yağlanmanın artması beklenir [50]. Yağlanmadaki artışın pankreas ağırlığına yansımalarının beklenmesi şaşırtıcı olmamalıdır ancak bizim verilerimize göre pankreas ağırlığı anlamlı şekilde artmamanın ötesinde K10-12 grubunda $0,174 \pm 0,055$ olan değer D10-12 grubunda $0,157 \pm 0,038$ 'e gerilemiştir. Bu bulgu aslında yüksek yağlı diyetle beslenme sonucu oluşan yağlı pankreasta ilerleyen haftalarda fibrosiz gelişiminden kaynaklanıyor olabilir[51]. Diğer taraftan Nascimento ve arkadaşları bu çalışmaya benzer şekilde C57BL/6 fareleri HFHSD ile beslenmenin pankreas ağırlığını değiştirmedeğini rapor etmiştir [52].

Periepididimal yağlanma literatürde obezite ile yakından ilişkilendirilmektedir. Obezitenin de visseral yağlanma ile ilgisi bilindiği için bu çalışmada periepididimal yağlanmanın visseral pankreatik yağlanma ile ilişkisi olup olmadığını inceledik [50]. Periepididimal yağ miktarı hem D6-8 hem de D10-12 gruplarında kendi kontrollerine göre daha yüksek bulundu. Bu veri hayvanların ağırlık değişimleri ile uyumluydu. Yine histolojik

görüntülerimizde hem D6-8 hem de D10-12 gruplarında kendi kontrollerine göre yağlanmanın arttığı gösterilmiş olmasının periepididimal yağ verilerimiz ile uyumlu olduğunu düşünmekteyiz.

Bizim ulaşabildiğimiz kadarı günümüzde halen pankreas yağlanmasının ekzokrin fonksiyonları ne düzeyde etkilediğine yönelik dolaylı da olsa bir veri sağlayabilen çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bunlardan 4 insan çalışmasının 2'si radyolojik görüntülemeler ile tespit edilen yağlı pankreas hastalarının amilaz düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre daha düşük olduğunu rapor ederken, biri arada korelasyon olmadığını, biri ise yağlı karaciğerle beraber görülmesi halinde amilaz düzeyinin arttığını ifade etmiştir. 3 hayvan çalışmasının ikisinde yağlı diyet uygulaması ile amilaz düzeyinin değişmediği söylenirken, çalışmaların birinde amilaz düzeyini arttığı gösterilmiştir [53–56]. Bu kadar kısıtlı sayıda çalışma ile herhangi bir genellemenin yapılması mümkün olmasa da insan çalışmalarının çoğunda amilazın düşük bulunmasında radyolojik görüntüleme ile hastalığın ancak ileri evrelere ulaşıldığında tespit edilebiliyor olmasının etkisi olabilir. Ki ileri evre pankreas yağlanmasında asiner hücre kaybı olduğu daha önce gösterilmiştir [51]. Bizim sonuçlarımız Csonka ve arkadaşlarının bulguları ile örtüşmektedir. Onlar çalışmalarında tek sonlanım noktası olarak 12. haftayı kullanmış ve yüksek kolesterolü diyetle beslenen hayvanların amilaz düzeyinin arttığını göstermiştir [57]. Bizim sonuçlarımız ekzokrin pankreas fonksiyon bozukluğunun bir göstergesi olabilecek serum amilaz düzeyinin 6-8. haftalarda başladığını ve devam eden süreçte yüksek kaldığını göstermektedir.

Ekzokrin pankreas fonksiyonunun bir diğer göstergesi serum lipaz düzeyidir. Ancak bu parametreyi değerlendiren çalışma sayısı amilaza göre bile çok düşüktür. Ulaşabildiğimiz 2 insan çalışmasından biri yağlanma ile lipaz düzeyi arasında ilişki gösteremezken diğeri artış rapor etmiştir [28, 56]. Diğer taraftan 2 hayvan çalışması yüksek yağlı beslenme sonrası lipaz düzeylerinin değişmediğini göstermiştir [48, 57]. Bu çalışmanın sonuçları da literatürde bulunan hayvan çalışmaları ile uyumlu bulunmuştur.

Ekzokrin pankreas yetmezliğini tespit etmekte kullanılan önemli bir test gaita yağ analizidir. Pankreasın ekzokrin salgıları listelendiğinde etkinliği gastrointestinal sistemin diğer kısımları tarafından kompanse edilemeyen tek enzim lipazdır. Dolayısı ile ekzokrin pankreas yetmezliğinin belki de en önemli belirtisi steatore (yağlı gaita). Ancak klinik çalışmalar steatore görülmesi için pankreatik lipaz salgısının normalin %10'u ve altına

düşmesi gerektiğini göstermektedir [11]. Bu çalışmada D6-8 grubu hayvanlarının ağırlıklandırılmış gaita yağ analizinde kontrole göre bir artış görülse de istatistiksel olarak anlamlı değildi. Ancak D10-12 grubu hayvanlarının bulguları gaita yağ miktarının belirgin şekilde arttığını dolayısı ile bu hayvanların artık ekzokrin pankreas yetmezliğine girmiş olduklarını göstermektedir.

Kan yağ parametreleri incelendiğinde kolesterol, HDL ve LDL düzeylerinin HFHSD alan gruplarda 6-8. haftalarda yükseldiği ve devam eden süreçte yüksek kaldığı görülmektedir. Bu yüksek yağlı diyetle beslenmenin beklenen doğal bir sonucudur. Diğer taraftan TG düzeyi D6-8 grubunda aynı haftaya ait kontrol grubuna göre yüksek bulunurken D10-12'de kendi kontrolüne göre anlamlı derecede düşüş göstermiştir. Ekzokrin pankreas yetmezliğinin steatore yanında bir diğer bulgusu kanda lipid parametrelerinde düşüş görülmesidir[11]. Bu sonuç yine 10-12 haftaya uzayan süreçlerde yetmezlik gelişiminin görüldüğünü düşündürür. TG hidrolizinin %70'se kadar çıkan bir kısmından pankreatik lipazın sorumlu olduğu düşünüldüğünde ilk etkilenen yağ parametresinin bu olması şaşırtıcı değildir. TG düzeyi 10-12. Haftada anlamlı şekilde düşen tek kan yağ parametresi olsa da aslında kolesterol, HDL ve LDL düzeyleri de tablo ve grafiklerimizde görüldüğü gibi HFHSD alan gruplarda 6-8. haftalarda ulaştığı değerlerden 10-12. haftalarda daha aşağıya düşmektedir.

Sonuçlarımızın hepsi bir arada değerlendirildiğinde; kullandığımız hayvanda bu diyet türü pankreas ekzokrin fonksiyonunu etkilemiştir. 6-8.haftalarda görülen bulgular pankreas hasarının yağlanma düzeyinde kalmış olabileceğini gösterirken; 10-12.haftalardaki bulgular pankreas hasarının yağlanmanın ötesine geçtiğini düşündürebilir. Bu nedenle pankreas yağlanması ile ilgili yapılacak çalışmaların 6-8 haftalık protokollerin; ileri düzey pankreas hasarı çalışmaları için ise 10-12 veya daha ileri haftalık protokollerin kullanılması gerektiği görüşündeyiz.

5.2. Çalışmanın Kısıtlılıkları

Çalışmamızın kendi içinde bazı kısıtlılıkları mevcuttu. Çalışma sürecimiz yüksek lisans programı süresi ile kısıtlı olduğu için araştırma protokolüne ek gruplar eklenerek ekzokrin pankreas fonksiyonundaki değişimlerin zamanlaması daha ayrıntılı gözlemlenebilirdi. Ayrıca hastalığın fizyopatolojisini açıklamaya yönelik olarak doku düzeyinde inflamatuvar

süreçler ve oksidatif stres parametreleri değerlendirilebilirdi. Çalışmamızın bir diğer limitasyonu ise yine zaman kısıtlılığı nedeniyle histolojik olarak pankreas yağlanması hematoksilen & eozin boyalı preparatlar üzerinden skorlanması yapılamamış olmasıdır.

5.3. Geleceğe Yönelik Araştırma Planları

- i. Yukarıda bahsedilmiş limitasyonlardan bir tanesi olan ekzokrin pankreas fonksiyonlarındaki değişimlerin daha ayrıntılı şekilde incelenmesi ve bunların pankreastaki histolojik değişiklikler ile korele edilebilmesi için daha önceden HADYЕК'ten etik kurul izni alınmış ek hayvanlarımız ile 2-4-6-8-10-12. haftalardaki değişikliklerin ayrı ayrı gözlemlenmesi planlanmaktadır.
- ii. Bulgularımız arasında olan 10-12.haftalarda meydana değişimlerin pankreas dokusundaki fibrotik değişikliklerden kaynaklanıp kaynaklanmadığının değerlendirilebilmesi için pankreas kesitlerimizi Masson's Trichrome boyası ile değerlendirmeyi planlamaktayız.
- iii. NAYPH fizyopatolojisinde inflamatuvar süreçler ve oksidatif stresin rolünü değerlendirmek üzere pankreas dokusunda IL-6, TNF-alfa, total oksidan ve antioksidan status ölçümleri yapılması planlanmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız bu çalışmaya ait bulgularımız doğrultusunda şunları söyleyebiliriz;

- i. C57BL/6 fareler alkolik olmayan yağlı pankreas hastalığı modeli için uygun bir hayvan türüdür.
- ii. HFHSD yağlı pankreas çalışmalarında kullanmak için uygun bir diyet türüdür.
- iii. C57BL/6 farelerin 6-8 hafta HFHSD ile beslenmesi pankreasta yağlanma oluşumunu başlatmaya yeterli ve ekzokrin fonksiyonları olumsuz etkileyecek bir protokoldür.
- iv. C57BL/6 farelerin 10-12 hafta HFHSD ile beslenmesi ekzokrin pankreas yetmezliği oluşturmak için uygun bir protokoldür.

KAYNAKLAR

1. Shah, N., Rocha, J. P., Bhutiani, N., and Endashaw, O.(2019). Nonalcoholic Fatty Pancreas Disease. ***Nutrition in Clinical Practice***, 34(1), S49–56.
2. Wang, C., Ou, H., Chen, M., Chang, T., and Chang, C. (2014). Enigmatic Ectopic Fat : Prevalence of Nonalcoholic Fatty Pancreas. ***Journal of the American Heart Association*** , 3(1), S1–8.
3. Fujii, M., Ohno, Y., Yamada, M., Kamada,Y., and Miyoshi, E. (2019). Impact of fatty pancreas and lifestyle on the development of subclinical chronic pancreatitis in healthy people undergoing a medical checkup. ***Environmental Health and Preventive Medicine***, 24(10).
4. Yu, T.-Y., and Wang, C.-Y. (2017). Impact of non-alcoholic fatty pancreas disease on glucose metabolism. ***Journal of Diabetes Investigation***, 8(6), S735–747.
5. Silva, L. de L. S. E M., Fernandes, S. de S., Lima, E. A., Stefano, J. T., Oliveira,C. P., and Jukemura, J. (2021). Fatty pancreas: Disease or finding?. ***Clinics***, 76.
6. Bi,Y., Wang, J. L., Li, M. L., Zhou, J., and Sun, X. L.(2019). The association between pancreas steatosis and metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis. ***Diabetes / Metabolism Research and Reiewes***, 35(5).
7. Drake, R.L., Vogl, W., and Mitchell, A. W. M. (Editörler). (2007). *Tıp Fakültesi Öğrencileri İçin Gray's Anatomi*. Ankara: Güneş Kitabevi, S288-289.
8. Nath J., Martini F., and Bartholomew E. (2012). *Fundamentals of Anatomy&Physiology* (Ninth Edition). San Francisco, S620-621, 888-890.
9. Cumhur, M. (Editör). (2006). *Temel Anatomi*. Ankara: ODTÜ Yayıncılık, S248-250.
10. Junqueira, L.C, and Carneiro, J. (Editörler). (2006). *Temel Histoloji*. İstanbul: İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, S328-331.
11. Alkaade, S, and Vareedayah, A. A. (2017). A primer on exocrine pancreatic insufficiency, fat malabsorption, and fatty acid abnormalities. ***American Journal of Managed Care***, 23(12), S203–209.
12. Sherwood L.(2010). *Fundamental's of Human Physiology* (Fourth Edition). Belmont, S457-463.
13. Strang K.,W. E., and Raff H. (2014). *Vander's Human Physiology: The Mechanisms of Body Function* (Thirteenth Edition). New York, S538-547, 555-557.

14. Costanza L.S. (2014). *Physiology* (Fifth Edition). Philadelphia, S358-372
15. Catanzaro, R., Cuffari, B., Italia, A., and Marotta, F. (2016). Exploring the metabolic syndrome: Nonalcoholic fatty pancreas disease. *World Journal of Gastroenterology*, 22(34), S7660–7675.
16. Smits, M. M., and Van Geenen, E. J. M. (2011). The clinical significance of pancreatic steatosis. *National Publication Journal*, 8 (march), S169–177
17. Li, S., Su, L., Lv,G., Zhao, W., and Chen,J. (2017). Transabdominal ultrasonography of the pancreas is superior to that of the liver for detection of ectopic fat deposits resulting from metabolic syndrome. *Medicine (United States)*, 96(37).
18. Pham YH, R. L., Bingham, BA., Bell, CS., Greenfield, SA., and John, SD.(2016). Prevalence of Pancreatic Steatosis at a Pediatric Tertiary Care. *South Medicine*, 109(3), S196–198.
19. Nakamura,T., Ichii, O., Irie, T., Kouguchi, H., Sotozaki, K., Chihara, M., Sunden, Y., Nagasaki, K., Tatsumi, O., Elewa, Y., and Hosny Ali,K. (2019). Cotton rat (*Sigmodon hispidus*) develops metabolic disorders associated with visceral adipose inflammation and fatty pancreas without obesity. *Cell and Tissue Research*, 375(2), S483–492.
20. Matsuda,Y. (2019). Age-related morphological changes in the pancreas and their association with pancreatic carcinogenesis. *Pathology International*, 69(8), S450–462.
21. Filippatos,T. D., Alexakis, K., Mavrikaki, V., and Mikhailidis, D. P. (2021). Nonalcoholic Fatty Pancreas Disease: Role in Metabolic Syndrome, ‘Prediabetes,’ Diabetes and Atherosclerosis. *Digestive Diseases and Sciences*, 1, S3
22. Lê, K., Ventura, E., Fisher, J., Davis, J., Weigensberg, M., Punyanitya, M., HuHNayak, K., and Goran, M. (2011). Ethnic Differences in Pancreatic Fat Accumulation and Its Relationship With other fat depots and inflammatory markers. *Diabetes Care*, 34(2), S485-490.
23. Ramkissoon, R., and Gardner,T. B. (2019). Pancreatic steatosis: An emerging clinical entity. *American Journal of Gastroenterology*, 114(11), S1726–1734
24. Wang,C. Y., Ou, H. Y., Chen, M. F., Chang, T. C., and Chang, C. J. (2014). Enigmatic ectopic fat: prevalence of nonalcoholic fatty pancreas disease and its associated factors in a Chinese population. *Journal of American Heart Association*, 3(1).

25. Lesmana, C. R. A., Pakasi, L. S., Inggriani, S., Aidawati, M. L., and Lesmana, L. A.(2015). Prevalence of Non-Alcoholic Fatty Pancreas Disease (NAFPD) and its risk factors among adult medical check-up patients in a private hospital: A large cross sectional study. **BMC Gastroenterology**, 15(1).
26. Saisho, Y., Butler, A. E., Meier, J. J., Monchamp, T., Allen-Auerbach, M., Rizza, R. A., Butler, Peter C. (2007). Pancreas volumes in humans from birth to age one hundred taking into account sex, obesity, and presence of type-2 diabetes. **Clinical Anatomy**, 20(8), S933–942.
27. Dite, P., and Blaho, M. (2020). Nonalcoholic Fatty Pancreas Disease : Clinical Consequences. **Digestive Diseases**, S143–149.
28. Alempijevic,T., Dragasevic, S., Zec, S., Popovic,D., and Milosavljevic, T. (2017). Non-alcoholic fatty pancreas disease. **Postgraduate Medical Journal**, 93, S226-230.
29. Van Der Zijl,N. J., Van Der, J., Goossens, G H., Moors, C C M., Raalte, D H., Van Muskiet, M H A., Pouwels, P J W., Blaak, E E., and Diamant, M. (2011). Ectopic Fat Storage in the Pancreas, Liver, and Abdominal Fat Depots: Impact on beta-Cell Function in Individuals with Impaired Glucose Metabolism. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 96(February), S459–467.
30. Poitout, V., Amyot, J., Semache, M., Zarrouki,B., and Hagman, D.(2010). Biochimica et Biophysica Acta Glucolipotoxicity of the pancreatic beta cell. **Molecular and Cell Biology of Lipids**,1801(3), S289–298.
31. Sakai, N. S., Taylor, S. A., and Chouhan, M. D.(2018). Obesity, metabolic disease and the pancreas-Quantitative imaging of pancreatic fat. **British Journal of Radiology**, 91(1089), S1–9.
32. Van Geenen, E. J. M., Smits, M. M., Schreuder,T. C. M. A., Van Der Peet,D. L., Bloemena, E., and Mulder, C. J. J. (2010). Nonalcoholic fatty liver disease is related to nonalcoholic fatty pancreas disease. **Pancreas**, 39(8), S1185–1190.
33. Binker, M. G., Binker-cosen, A., Richards, D., Gaisano, H., Cosen, R., Cosen-binker, L., Binker, M., and Richards, D. (2010). Chronic stress sensitizes rats to pancreatitis induced by cerulein: Role of TNF- α . **World Journal of Gastroenterology**, 16(44), S5565–5581.
34. Pinte,L., Balaban, D. V., Băicuș, C. and Jinga, M. (2019). Non-alcoholic fatty pancreas disease - practices for clinicians. **Romanian Journal of Internal Medicine**, 57(3), S209–219.
35. Singh, R. G., Yoon, H. D., Wu, L. M., Lu, J., Plank, L. D., and Petrov, M. S. (2017). Ectopic fat accumulation in the pancreas and its clinical relevance: A systematic

- review, meta-analysis, and meta-regression. *Metabolism.*, 69, S1–13.
36. Taylor, S. A., and Carucci, L. R. (2018). The role of imaging in obesity special feature,” *British Journal of Radiology*, 91(1089).
 37. Takahashi, M., Hori,M., Ishigamori, R., Mutoh, M., Imai, T., and Nakagama, H.(2018). Fatty pancreas: A possible risk factor for pancreatic cancer in animals and humans. *Cancer Science*, 109(10), S3013–3023.
 38. Khoury, T., Asombang, A., Tyler, Berzin, M., Cohen, J., Pleskow, D., and Mizrahi, M. (2017). The Clinical Implications of Fatty Pancreas: A Concise Review,” *Digestive Diseases and Sciences*, 62(10), S2658-2667.
 39. Li, Z., Shu-jun, J., Fu-er, L. U., and Li-jun, X. U. (2016). Effects of Berberine and Cinnamic Acid on Palmitic Acid-Induced Intracellular Triglyceride Accumulation in NIT-1 Pancreatic β Cells. *Chinese Journal of Integral Medicine*, 22(7), S496–502.
 40. Surwit, R. S., Kuhn, C. M., Cochrane , C., McCubbin,J. A., and Feinglos, M. N. (1988). Diet-Induced Type II Diabetes in C57BL/6J Mice. *Diabetes*, 37(9), S1163–1167.
 41. Sö Rhede Winzell, M., and Ahré, B. (2004). The High-Fat Diet-Fed Mouse A Model for Studying Mechanisms and Treatment of Impaired Glucose Tolerance and Type 2 Diabetes. *Diabetes*, 53(3), S215-219
 42. Omar, B., Pacini, G., and Ahrén, B. (2012). Differential development of glucose intolerance and pancreatic islet adaptation in multiple diet induced obesity models. *Nutrients*, 4(10), S1367–1381.
 43. Fraulob, J. C., Ogg-Diamantino, R., Fernandes-Santos, C., Aguila, M. B., and Mandarim-de-Lacerda, C. A. (2010). A mouse model of metabolic syndrome: Insulin resistance, fatty liver and Non-Alcoholic Fatty Pancreas Disease (NAFPD) in C57BL/6 mice fed a high fat diet,” *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrients*, 46(3), S212–223,.
 44. Casteilla, L., Pénicaud, L., Cousin, B., and Calise, D. (2008). Choosing an Adipose Tissue Depot for Sampling Factors in Selection and Depot Specificity. *Methods in Molecular Biology*, 456, S23-38.
 45. Chen,G. C., Huang, C., Chang, M., Chen, C., Chen, S., Huang, C., and Chao, P. (2011). Two unhealthy dietary habits featuring a high fat content and a sucrose-containing beverage intake, alone or in combination, on inducing metabolic syndrome in Wistar rats and C57BL/6J mice. *Metabolism.*, 60(2), S155–164.
 46. Zhou, X., Han, D., Xu, R., Li, S., Wu, H., Qu, C., Wang, F., Wang, X., and Zhao, Y.

- (2014). A model of metabolic syndrome and related diseases with intestinal endotoxemia in rats fed a high fat and high sucrose diet. *Public Library of Science One*, 9(12), S1–22,
47. Fajardo, R. J., Karim, L., Calley, V. I., and Bouxsein, M. L. (2014). A Review of Rodent Models of Type 2 Diabetic Skeletal Fragility. *Journal of Bone and Mineral Research*, 29(5), S1025–1040.
 48. Fernandes-Santos, C., Evangelista Carneiro, R., De Souza Mendonca, L., Barbosa Águila, M., and Alberto Mandarim-De-Lacerda, C. (2009). Rosiglitazone aggravates nonalcoholic fatty pancreatic disease in C57BL/6 mice fed high-fat and high-sucrose diet. *Pancreas*, 38(3)S80–86.
 49. Kurita, Y., Ohki, T., Soejima, E., Yuan, X., Kakino, S., Wada, N., Hashinaga, T., Nakayama, H., Tan, J., Tajiri, Y., Hiromatsu, Y., Yamada, K., and Nomura, M. (2018). A High-Fat / High-Sucrose Diet Induces WNT4 Expression in Mouse Pancreatic β -cells. *Kurume Medical Journal*, 65, S55–62.
 50. Fraulob, J. C., Ogg-Diamantino, R., Fernandes-Santos, C., Aguilá, M. B., and Mandarim-de-Lacerda, C. A. (2010). A mouse model of metabolic syndrome: Insulin resistance, fatty liver and Non-Alcoholic Fatty Pancreas Disease (NAFPD) in C57BL/6 mice fed a high fat diet. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrients*, 46(3), S212–223.
 51. Zhang, X., Cui, Y., Fang, L., and Li, F. (2008). Chronic high-fat diets induce oxide injuries and fibrogenesis of pancreatic cells in rats. *Pancreas*, 37(3), S31–38.
 52. Nascimento, F. A. M., Barbosa-da-Silva, S., Fernandes-Santos, C., Mandarim-de-Lacerda, C. A., and Aguilá, M. B. (2010). Adipose tissue, liver and pancreas structural alterations in C57BL/6 mice fed high-fat-high-sucrose diet supplemented with fish oil (n-3 fatty acid rich oil). *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62(1), S17–25.
 53. Cross, D. A., Study, S., Milovanovic, T., Dragasevic, S., Lalošević, M. S., and Zgradic, S. (2019). Ultrasonographic Evaluation of Fatty Pancreas in Serbian Patients with Non Alcoholic Fatty Liver. *Medicina (Lithuania)*, 55(10), S1–12.
 54. Wu, W., and Wang, C. (2013). Association between non-alcoholic fatty pancreatic disease (nafpd) and the metabolic syndrome : case – control retrospective study. *Cardiovascular Diabetology*, 12(1), S1.
 55. Ataog, I. H. E., Ünsal, A., and Ataoğlu, H. (2019). Prediabetes and Type 2 Diabetes are Independent Risk Factors for Computed Tomography-Estimated Nonalcoholic Fatty Pancreas Disease. *Clinics*, 74, S1–6.

56. Sepe, P. S., Ohri, A., Sanaka, S., Berzin, Tyler M., Sekhon, S., Bennett, G., Mehta, G., Chuttani, R., Kane, R., and Pleskow, D. (2011). ORIGINAL ARTICLE : Clinical Endoscopy A prospective evaluation of fatty pancreas by using EUS. ***Gastrointestinal Endoscopy Journal***, 73(5), S987–993.
57. Csonka, C., Baranyai, T., Tiszlavicz, L., Fébel, H., Szucs, G., Varga, Zoltán V.Sárközy, M., Puskás, László G., Antal, O., Siska, A., Földesi, I., Ferdinandy, P., Czakó, L., and Csont, T. (2017). Isolated hypercholesterolemia leads to steatosis in the liver without affecting the pancreas. ***Lipids Health and Disease***, 16(1), S1-14.

EKLER

Ek-1. Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 04.01.2022-E.254421



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : E-66332047-604.01.02-254421
Konu : Değerlendirme ve Onay

04.01.2022

Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Meltem SEVGİLİ
Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Ayşe Meltem SEVGİLİ, Pelin ASLAN, Sevtap KILINÇ ve Zeynep YİĞMAN'dan oluşan, G.Ü.ET-22.002 kod numaralı ve "*Alkolik Olmayan Yağlı Pankreasta Ekzokrin Fonksiyonların İncelenmesi İçin Hayvan Modeli Oluşturma Çalışması*" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-22.002 and entitled "*Animal Modeling Study For Examination of Exocrin Functions of Non-Alcoholic Fatty Pancreas*" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

Hayvan Türü : Fare C57BL/6
Hayvan Sayısı : 72

Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Ek:1 Liste

Ek-1. (devam) Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 04.01.2022-E.254424

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM
LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 10/12/2021	TOPLANTI SAYISI : 08
ADI-SOYADI	İMZA
Prof.Dr.Abdulkadir BEDİRLİ (Başkan)	
Doç.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)	
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU	
Prof.Dr.Tuncay PEKER	
Prof.Dr.Fatma AKAR	
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK	
Prof.Dr.Mecit Orhan ULUDAĞ	
Prof.Dr.İpek SÜNTAR	
Prof.Dr.Neşet Volkan ASAR	
Doç.Dr.Emre BARIŞ	
Öğr.Gör.Dr.Şeyda DİKER	
Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM	
Vet.Hek.Burcu AVCI	
Osman İÇ	

Bu belge,güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ŞAHİN Pelin
Uyruğu : T.C.

Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet yılı
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi / Fizyoloji AD	Devam ediyor
Lisans	Başkent Üniversitesi / Fizyoterapi ve Rehabilitasyon (%30 İngilizce)	2019
Lise	Ankara (Anadolu) Lisesi	2010

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2022	Altınçatı Gordion Yaşlı Bakım Merkezi	Fizyoterapist

Yabancı Dil

- İngilizce (ileri düzey konuşma ve yazma)
- İspanyolca (başlangıç düzeyi)
- Almanca (başlangıç düzeyi)

Yayınlar

Sözel Sunum

AM SEVGİLİ, P ASLAN, S KILINÇ, Z YIĞMAN, H ÖZYÜREK. Topiramatin eritrosit ozmotik fragilite ve tam kan viskozitesi üzerine etkisi. 13. Ulusal Epilepsi Kongresi 26-29 Mayıs 2022, Bodrum

Poster Sunumu

P KILIÇDAĞI, P ASLAN, S KILINÇ, AM SEVGİLİ, H ÖZYÜREK. Levetirasetamin eritrosit deformabilitesi üzerine etkisi. 13. Ulusal Epilepsi Kongresi 26-29 Mayıs 2022, Bodrum



GAZİ OLMAK AYRICALIKTIR..

