



**T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
ANATOMİ ANABİLİM DALI**

**PRE VE POSTNATAL DÖNEMDE YÜKSEK YAĞLI DİYETLE  
BESLENEN YAVRU FARELERDE DALAĞIN MORFOMETRİK  
YÖNTEMLERLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**FATMA TOPAL**

**DANIŞMAN**

**Prof.Dr. YÜKSEL AYDAR**

**2017**





**T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
ANATOMİ ANABİLİM DALI**

**PRE VE POSTNATAL DÖNEMDE YÜKSEK YAĞLI DİYETLE  
BESLENEN YAVRU FARELERDE DALAĞIN MORFOMETRİK  
YÖNTEMLERLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**FATMA TOPAL**

**DANIŞMAN**

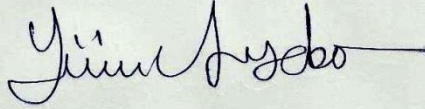
**Prof.Dr. YÜKSEL AYDAR**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

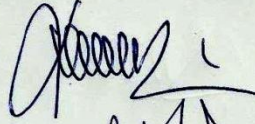
Fatma TOPAL'ın Doktora Tezi olarak hazırladığı "Pre ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyetle beslenen yavru farelerde dalağın morfolojik yöntemlerle değerlendirilmesi" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "KABUL" edilmiştir.

Tarih

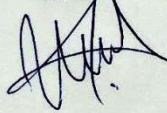
Üye : Prof. Dr. Yüksel AYDAR



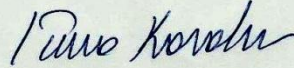
Üye : Prof. Dr. Ferruh YÜCEL



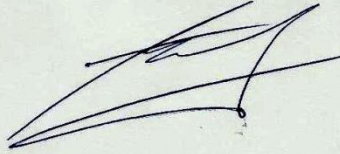
Üye : Prof. Dr. Varol ŞAHİNTÜRK



Üye : Prof. Dr. Süleyman Tuna KARAHAN

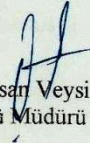


Üye : Doç. Dr. Ayhan CÖMERT



Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 30/01/2017 tarih ve 1119/..5348 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasan Veysi GÜNEŞ  
Enstitü Müdürü



## ÖZET

Modern yaşam tarzıyla birlikte hayatımıza giren yüksek kalorili gıda tüketiminin artması ve fiziksel aktivitenin azalması son yıllarda obezite insidansının artmasındaki en önemli nedenlerdir. Son yıllarda ucuz, lezzetli ve yüksek yağ içeren birçok gıda maddesinin hazırlanarak tüketime sunulması sonucu günlük diyetteki yağ miktarı da hızla artmıştır. Prenatal ve postnatal dönemlerde yağ içeriği yüksek diyet tüketiminin yavrunun gelişimini ve sağlığını olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir. Obezitenin insidansı son yıllarda özellikle çocuklar arasında oldukça artmıştır. Bu durum gelişme çağındaki çocuklarda tüm vücudu olumsuz yönde etkileyerek birçok hastalığın ön hazırlayıcısı olmaktadır. Son yıllardaki araştırmalar; obezitenin başta kardiyovasküler, metabolik ve nörolojik hastalıklar olmak üzere birçok hastalığın ortaya çıkmasını tetiklediğini ortaya koymuştur.

Yüksek yağlı diyet tüketimi; obezite gelişimine, kan glikozunda yükselişe, yağ dokusunda ve vücut ağırlığında artışlara yol açar. Bunun yanında, yüksek yağlı diyetle beslenme insanlarda metabolik sendromun gelişimine de neden olur. Metabolik sendrom; obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, sinir sistemi hastalıkları gibi birçok sistemik bozuklukların birbirine eklendiği ölümcül bir endokrinopatidir.

Benzer şekilde, yüksek yağlı diyet alımının kemirgenlerde de obezite ve metabolik hastalıkların gelişimini tetiklediği rapor edilmiştir. Araştırmacılar yüksek yağlı diyet alımının canlı sağlığını direkt olarak etkilemenin yanında bağışıklık sistemini de zayıflatarak insan ve hayvanları hastalıklara karşı daha savunmasız hale getirdiğini bildirmişlerdir.

Bu araştırmada, anne karnında (prenatal dönem) ve doğum sonrası erişkinliğe kadar olan dönemde (postnatal dönem) yüksek yağ düşük karbonhidrat içerikli ve yüksek karbonhidratlı düşük-yag içerikli diyet ile beslenmenin yavrunun dalağında ne gibi değişikliklere sebep olduğu incelendi. Bu çalışmada dalak immünohistokimyasal markırlar kullanılarak işaretlendikten sonra hücresel ve stereolojik yöntemlerle değerlendirilmiştir. Dalak; immün sistemin kan ile taşınan antijenlere karşı yanıt geliştirdiği en önemli belki de tek organıdır. Bu nedenle dalaktaki moleküler, hücresel ve stereolojik seviyelerde tespit edilen değişiklikler immün sistemin etkilenme düzeyleri hakkında bilgilendirici olacaktır. Bu amaçla prenatal ve postnatal dönemlerde yavru fareler; a)yüksek yağlı diyet b) standart diyet grubu olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Yavrular süttten kesildikten sonra 6 hafta daha yüksek yağlı ve standart diyetle beslendi. Süttten kesildikten sonra haftalık boy, kilo, karın çevresi ölçümleri yapıldı. Kan glikoz konsantrasyon değerleri glikoz stripleri yardımıyla ölçüldü. Postnatal 63. günde genel anestezi altında yavruların dalakları alındıktan sonra, yavrular sakrifiye edildi. Gerekli histolojik takip sonrası dalak

kesitleri hematoksilin eozin (HE) ve immünohistokimyasal boyama işlemlerine tabi tutuldu.

Boyama sonrası elde edilen numunelerin morfometrik ve istatistiksel değerlendirilmeleri yapıldı. Intraperitoneal yağ dokusu, kan glikoz konsantrasyonu, beden kitle indeksi, karın çevresi değerleri ( $p<0,001$ ), dalak ağırlığı ( $p=0,002$ ) ve dalak hacmi ( $p=0,001$ ) değerleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulundu. Öte yandan beyaz pulpa /dalak oranı ( $V_v$ ), PALS/beyaz pulpa oranı ( $V_v$ ), total beyaz pulpa hacmi, total PALS hacmi, germinal merkez hacmi ve germinal merkez alanında ( $p<0,001$ ) yüksek yağlı diyetle beslenen grupta kontrol grubuna göre ileri düzeyde artış olduğu tespit edildi. Bununla birlikte germinal merkezin ortalama çapı, T hücrelerinin ortalama nüklear çapı, PALS' teki total T hücre sayısının, B hücrelerinin ortalama nüklear çapı ( $p<0,001$ ) ve germinal merkez sayısında ( $p=0,02$ ) artış varken birim hacimdeki T hücre ve B hücre sayısında ( $1\text{mm}^{-3}$ 'teki  $N_{vt}$  ve  $N_{vb}$ ) değişiklik olmadığı tespit edildi. Bu veriler yüksek yağlı diyet alımının; kan glikoz seviyesinin yükselmesine, vücutta yağ dokusunun artmasına buna bağlı olarak beden kitle indeksinin artmasına neden olduğu tespit edilmiştir ki bu bilgiler daha önceki çalışmalar ile uyum içerisindedir. Diğer taraftan; yüksek yağlı diyetle beslenen yavruların dalağındaki beyaz pulpa/dalak ve PALS/beyaz pulpa oranlarındaki, total beyaz pulpa, total PALS ve germinal merkez hacimlerindeki, germinal merkez alan ve sayılarındaki anlamlı artışlar dalak düzeyinde oluşturulan hem humoral (sıvısal) hem de sellüler (hücresele) yanıtların olumsuz yönde etkilediğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Yüksek yağlı diyet, prenatal dönem, postnatal dönem, dalak, morfometrik analiz

## **ABSTRACT**

Increase in the consumption of high-caloric foods and decrease in physical activities with modern life styles are among the main factors causing the upsurge in the incidence of the obesity around the globe. Production and consumption of cheaper, tasteful, and high-fat foods have markedly increased in recent years; subsequently, amount of fat taken with diets has also increased considerably. Excessive consumption of diet with high fats is demonstrated to adversely affect the development and health of baby. Obesity is not only one of the most common health problems among the children but also it predisposes development of several diseases. Furthermore, obesity increases the risk of developing metabolic, neurological, and cardiovascular diseases.

High-fat diets yield to increase in body weights, amount of adipose tissue, level of blood glucose and development of obesity. Similar to the metabolic syndrome in humans, high-fat diets are shown to trigger development of obesity and metabolic disorders in rodents as well. Metabolic syndrome is a fatal endocrinopathy in which many systemic disorders such obesity, diabetes, cardiovascular neurological diseases as are linked to each other. Researchers have demonstrated that high fat diet not only directly and adversely affects the health of humans and animals but it also makes them defenseless against various diseases through attenuating their immune system.

In the present study, we aimed to analyze the impact of feeding the mice with the diet containing high fat low carbohydrate (HFLC) and with high carbohydrate low fat (HCLF) during the prenatal and postnatal periods on the molecular and cellular changes in the spleen of them. That is to say, The mothers were fed with high fat low carbohydrate and high carbohydrate low fat diets during their pregnancies and the babies of these mothers were also fed with the same diet from their birth to the their adulthood. In the current study, the spleens were stained immunohistochemically and were analyzed using cellular and stereological methods. The spleen is the major, perhaps the only organ developing immune response to the blood borne antigens in the body. Consequently, the changes in the spleen determined at molecular, cellular and stereological levels are going to be informative regarding the degree of influence of the immune system. The baby mice were divided into two groups at prenatal and postnatal periods. The mice in Group 1 were fed with high fat diet; the mice in Group 2 were fed with the standard diet. The baby mice in both groups were fed with high fat and standard diet for 6 weeks after their weaning. At the end of the weaning; changes in the height, body weights and abdominal circumferences of the baby mice were weekly measured and recorded. Furthermore, blood glucose concentrations were analyzed using glucose strips. Ultimately, after removing the spleen of the baby mice at the postnatal 63<sup>rd</sup> day under

anesthesia, they were sacrificed. After the routine histological processes, the spleen samples were stained with hematoxylin eosin and immunohistochemical procedures.

After the staining, the morphometrical measurements and statistical analyses of the samples were performed. The amount of the intraperitoneal adipose tissue, blood glucose concentrations, body mass index, abdominal circumference ( $p < 0,001$ ), weight of spleen ( $p = 0,002$ ) and volume of spleen ( $p = 0,001$ ) in the high fat diet group significantly increased when compared with the standard group. On the other hand, white pulp to whole spleen ratio, PALS to white pulp ratio, total PALS volume, total white pulp volume, germinal center area, germinal center volume ( $p < 0,001$ ) in the high fat diet group augmented meaningfully when compared with the standard group. Nevertheless, while the mean diameter of the germinal centers, total number of T cells at PALS, the mean nuclear diameters of T cells and B cells ( $p < 0,001$ ) and the number of germinal centers ( $p = 0.02$ ) considerably enlarged in the high fat diet group when compared with the standard group, there was no noteworthy difference between numerical density for per unit volume of T cell and B cell ( $1\text{mm}^{-3} N_{vt}$  and  $N_{vb}$ ) in the high fat diet group when compared with the standard group. These data indicated that intake of high fat diet increased blood glucose levels and amount of body fat tissue thereby the body mass index, a finding consistent with other comparable studies. Moreover, meaningful increase in the white pulp to whole spleen ratio, PALS to white pulp ratio, total PALS volume, total white pulp volume, germinal center area and germinal center volume pointed out that consumption of the high fat diet poorly affect the humoral and cellular immune responses generated in the spleen in response to blood borne antigens.

**Key words:** High fat diet, prenatal period, postnatal period, spleen, morphometrical analysis



# İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT .....	v
TABLO DİZİNİ .....	x
ŞEKİL DİZİNİ .....	xi
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiii
1.GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Dalak .....	3
2.1.1. <i>Dalağın embriyolojisi</i> .....	3
2.1.2. <i>Dalağın yapısı, fonksiyonu ve histolojisi</i> .....	4
2.1.3. <i>Kırmızı pulpa</i> .....	6
2.1.4. <i>Beyaz pulpa</i> .....	7
2.1.5. <i>Germinal merkez</i> .....	9
2.1.6. <i>Zona marginalis</i> .....	11
2.2. İmmün Sistem .....	12
2.2.1. <i>Doğal immün sistem</i> .....	12
2.2.2. <i>Kazanılmış (Adaptif) immün sistem</i> .....	13
2.2.3. <i>İmmün yanıt</i> .....	13
2.2.4. <i>MHC proteinlerinin sınıflandırılması ve fonksiyonu</i> .....	15
2.3. İmmün Sistem Hücreleri .....	15
2.3.1. <i>B hücreleri</i> .....	15
2.3.1.1. <i>B hücrelerinin gelişimi</i> .....	15
2.3.1.2. <i>B hücrelerinin migrasyonu</i> .....	16
2.3.1.3. <i>Antijen yanıtı</i> .....	16
2.3.1.4. <i>Antikor üretimi</i> .....	17
2.3.1.5. <i>B hücre aktivasyonu</i> .....	18
2.3.1.6. <i>B hücre matürasyonu</i> .....	20
2.3.1.7. <i>B hücrelerinin alt grupları</i> .....	20
2.3.1.7.1. <i>Saf B hücreleri</i> .....	21
2.3.1.7.2. <i>B1 ve B2 hücreleri</i> .....	21
2.3.1.7.3. <i>Plazma hücreleri ve hafıza hücreleri</i> .....	23
2.3.2. <i>T hücreleri</i> .....	25
2.3.2.1. <i>T hücre gelişimi</i> .....	25
2.3.2.2. <i>T hücrelerinin sınıflandırılması</i> .....	26
2.3.2.2.1. <i>Saf T hücreleri</i> .....	26
2.3.2.2.2. <i>T helper hücreleri (yardımcı T hücreleri)</i> .....	27
2.3.2.2.2.1. <i>T foliküler helper hücreleri</i> .....	28
2.3.2.2.2.2. <i>T helper hücrelerinin aktivasyonu</i> .....	28

2.3.2.2.3. T foliküler regülatör hücreler.....	29
2.3.2.2.4. T regülatör hücreler.....	29
2.3.2.2.5. CD8+ T Hücreleri .....	29
2.3.2.2.6. Natural killer T hücreleri.....	29
2.3.2.3. T hücre hafızası .....	30
2.3.2.4. İmmunolojik sinaps .....	31
2.3.2.5. Antijen tanıma.....	31
2.3.2.6. T hücre aktivasyonu .....	32
2.3.2.7. Hücre dışında T hücre aktivitesinin sınırlandırılması .....	32
2.3.3. Dendritik hücreler.....	33
2.3.3.1. Dendritik hücrelerin fonksiyonu.....	34
2.3.3.2. Dendritik hücrelerin lokalizasyonu .....	35
2.3.4. Foliküler dendritik hücreler .....	35
2.3.5. Makrofajlar.....	36
2.4. Obezite ve Obezitenin Komplikasyonları .....	36
2.5. Prenatal ve Postnatal Dönemlerde Yüksek Yağlı Diyetle Beslenmenin Etkileri .....	38
2.6. Yüksek Yağlı Diyet ve Obezitenin İmmün Sistem ve İmmün Sistem Hücreleri Üzerindeki Etkileri.....	41
2.7. Yüksek Yağlı Diyet ve Obezitenin Metabolizma ve Diğer Sistemler Üzerindeki Etkileri .....	46
2.8. Stereolojik Metodlar .....	47
2.8.1. Sistematik rastgele örnekleme .....	48
2.8.2. Sayım alanı ve tarafsız sayım çerçevesi.....	49
2.8.3. Cavalieri prensibi ve hacim hesaplaması.....	50
2.8.4. Noktalı alan ölçüm cetveli.....	50
2.8.5. Volume density (Hacim yoğunluğu).....	52
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER .....	53
3.1. Deney Hayvanları.....	53
3.2. Grupların Oluşturulması ve Deney Protokolü.....	53
3.3. Histolojik Çalışmalar .....	56
3.3.1. Doku takibi ve kesitlerin alınması .....	56
3.3.2. Deparafinizasyon yöntemi .....	57
3.3.2.1. İmmünohistokimyasal boyamalar için deparafinizasyon işlemi .....	57
3.3.3. Hematoksilin eozin (Eozin Y alkollü) boyama protokolü.....	57
3.3.4. İmmünohistokimyasal boyama .....	58
3.3.4.1. Boyama öncesi hidrasyon .....	58
3.3.4.2. Antijeniteyi açığa çıkarma (Antijen Retrieval) işlemi.....	58
3.3.4.3. Boyama işlemi .....	58
3.3.4.4. Dehidrasyon işlemi .....	59
3.4. Morfometrik Değerlendirme.....	59
3.4.1. Volüm dansite ( $V_V$ ) .....	60

3.4.2. Cavalieri prensibi ile hacim hesabı .....	62
3.4.3. T hücresi ortalama nüklear çapının (d) hesaplanması .....	63
3.4.4. B hücresi ortalama nüklear çapının ve germinal merkezin ortalama çapının (d) hesaplanması.....	63
3.4.5. T hücrelerinin birim hacimdeki sayısı ( $N_{vt}$ ), PALS'teki total T hücre sayısı ve B hücrelerinin birim hacimdeki sayısının hesaplanması ( $N_{vb}$ ) .....	65
3.4.6. Germinal merkez alanı ve germinal merkez hacminin hesaplanması .....	67
3.5. İstatistiksel Değerlendirme.....	68
4. BULGULAR .....	69
4.1. Yüksek Yağlı Diyetin Beden Kitle İndeksi, Karın Çevresi Ölçümü Üzerindeki Etkileri .....	69
4.2. Yüksek Yağlı Diyetin İntraperitoneal Yağ Dokusu ve Kan Glukoz Konsantrasyonu Üzerindeki Etkileri .....	70
4.3. Yüksek Yağlı Diyetin Dalak Hacmi ve Dalak Ağırlığı Üzerindeki Etkileri .....	71
4.4. Morfometrik Analiz Bulguları .....	72
4.4.1. Beyaz pulpa/dalak ve PALS/beyaz pulpa oranları (Volume Fraction).....	72
4.4.2. Germinal merkez alanı ve germinal merkez hacmi .....	73
4.4.3. Germinal merkezin ortalama çapı ve germinal merkez sayısı ..	75
4.4.4. Total beyaz pulpa ve total PALS hacmi .....	77
4.4.5. PALS'teki T hücrelerinin ortalama nüklear çapı, birim hacimdeki T hücre sayısı ve PALS'teki total T hücre sayısı .....	79
4.4.6. B hücrelerinin ortalama nüklear çapı ve birim hacimdeki B hücre sayısı .....	81
5.TARTIŞMA .....	84
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	97
7. KAYNAKLAR DİZİNİ .....	98
8- ÖZGEÇMİŞ.....	122

## TABLO DİZİNİ

- Tablo 2.1.** :Obezite ve Kilo Fazlasında; BKİ ve Bel Çevresi Ölçümünün Hastalıklarla İlişkisi
- Tablo 4.1.** :Grupların BKİ ve karın çevresinin karşılaştırılması ve istatistiksel analiz sonuçları
- Tablo 4.2.** :Grupların intraperitoneal yağ dokusu ve kan glukoz konsantrasyonunun karşılaştırılması ve istatistiksel analiz sonuçları
- Tablo 4.3.** :Grupların dalak hacmi ve dalak ağırlığının karşılaştırılması ve istatistiksel analiz sonuçları
- Tablo 4.4.** :Grupların beyaz pulpa/dalak oranı ve PALS/beyaz pulpa oranının karşılaştırılması ve istatistiksel analiz sonuçları
- Tablo 4.5.** :Grupların germinal alanının, germinal merkez hacminin ve germinal merkezin ortalama çapının karşılaştırılması ve istatistiksel analiz sonuçları
- Tablo 4.6.** :Grupların germinal merkez ortalama çapının ve germinal merkez sayısının karşılaştırılması ve istatistiksel analiz sonuçları
- Tablo 4.7.** :Grupların beyaz pulpa hacmi ve PALS hacminin karşılaştırılması ve istatistiksel analiz sonuçları
- Tablo 4.8.** :Grupların PALS'teki T hücrelerinin ortalama nükleer çapı,  $N_{vt}$   $mm^{-3}$  (birim hacimdeki T hücre sayısı)'ün ve PALS' teki total T hücre sayısının karşılaştırılması ve istatistiksel analiz sonuçları
- Tablo 4.9.** :Grupların B hücrelerinin ortalama nükleer çapı ve  $N_{vb}$   $mm^{-3}$  (birim hacimdeki B hücre sayısı)'ün karşılaştırılması ve istatistiksel analiz sonuçları

## ŞEKİL DİZİNİ

- Şekil 2.1.** :Dalağın embriyolojisi  
**Şekil 2.2.** :Dalağın makroskopik şematizasyonu  
**Şekil 2.3.** :Beyaz pulpa ve kırmızı pulpanın şematizasyonu  
**Şekil 2.4.** :3 boyutlu yapının 2 boyutlu görüntüsü  
**Şekil 2.5.** :Tarafsız sayım çerçevesi  
**Şekil 2.6.** :Cavalieri prensibi ve organ hacim hesaplaması  
**Şekil 3.1.** :Diyet içeriği grafiği  
**Şekil 3.2.** :Deney Protokolü  
**Şekil 3.3.** :Glukometre, hassas terazi ve intraperitoneal yağ dokusunun görüntüsü  
**Şekil 3.4.** :Çizim tüpü ataçmanlı ışık mikroskobu  
**Şekil 3.5.** :Beyaz pulpa/dalak oranının ( $V_v$ ) hesaplanması  
**Şekil 3.6.** :PALS/beyaz pulpa oranının ( $V_v$ ) hesaplanması  
**Şekil 3.7.** :Dalak dokusunun hacminin hesaplanması  
**Şekil 3.8.** :T hücre ortalama nüklear çapının ölçülmesi  
**Şekil 3.9.** :Germinal merkezin ortalama çapının ölçülmesi  
**Şekil 3.10.** :B hücre ortalama nüklear çapının ölçülmesi  
**Şekil 3.11.** :Birim alana düşen T hücre sayısının hesaplanması  
**Şekil 3.12.** :Birim alana düşen B hücre sayısının hesaplanması  
**Şekil 3.13.** :Germinal merkez alanı ve hacminin hesaplanması  
**Şekil 4.1.** :Yüksek yağlı diyet ve standart diyetle beslenen yavruların BKI ve karın çevresi ortalamalarının karşılaştırılmasını gösteren grafik  
**Şekil 4.2.** :Yüksek yağlı diyet ve standart diyetle beslenen yavruların intraperitoneal yağ dokusu ve kan glukoz konsantrasyonu ortalamalarının karşılaştırılmasını gösteren grafik  
**Şekil 4.3.** :Yüksek yağlı diyet ve standart diyetle beslenen yavruların dalak hacmi ve dalak ağırlığı ortalamalarının karşılaştırılmasını gösteren grafik  
**Şekil 4.4.** :Standart diyet ve yüksek yağlı diyetle beslenen yavruların dalak kesitinin ışık mikroskobu görüntüsü  
**Şekil 4.5.** :Yüksek yağlı diyet ve standart diyetle beslenen yavruların beyaz pulpa/dalak oranı ve PALS/beyaz pulpa oranı ortalamalarının karşılaştırılmasını gösteren grafik.  
**Şekil 4.6.** :Yüksek yağlı diyet ve standart diyetle beslenen yavruların germinal merkez alanı, germinal merkez hacmi ortalamalarının karşılaştırılmasını gösteren grafik.  
**Şekil 4.7.** :Standart diyet ve yüksek yağlı diyet grubuna ait dalak kesitinde germinal merkezin ışık mikroskobu görüntüsü  
**Şekil 4.8.** :Yüksek yağlı diyet ve standart diyetle beslenen yavruların germinal merkez ortalama çapı ve germinal merkez sayısı ortalamalarının karşılaştırılmasını gösteren

- grafik.
- Şekil 4.9.** :Dalak kesitinde germinal merkezin ışık mikroskobu görüntüsü
- Şekil 4.10.** :Yüksek yağlı diyet ve standart diyetle beslenen yavruların beyaz pulpa hacmi ve PALS hacmi ortalamalarının karşılaştırılmasını gösteren grafik
- Şekil 4.11.** :Standart diyet ve yüksek yağlı diyet grubuna ait dalak kesitinde beyaz pulpa ve PALS'in ışık mikroskobu görüntüsü
- Şekil 4.12.** :Yüksek yağlı diyet ve standart diyetle beslenen yavruların PALS'teki T hücrelerinin ortalama nükleer çapı (A),  $N_{vt}$   $\text{mm}^{-3}$  (birim hacimdeki T hücre sayısı)'ün (B) ve PALS' teki total T hücre sayısının (C) ortalamalarının karşılaştırılmasını gösteren grafik
- Şekil 4.13.** :Standart diyet ve yüksek yağlı diyet grubuna ait dalak kesitinde T hücrelerinin ışık mikroskobu görüntüsü
- Şekil 4.14.** :Yüksek yağlı diyet ve standart diyetle beslenen yavruların B hücrelerinin ortalama nükleer çapı ve  $N_{vb}$   $\text{mm}^{-3}$  (birim hacimdeki B hücre sayısı)'ün ortalamalarının karşılaştırılmasını gösteren grafik
- Şekil 4.15.** :Standart diyet ve yüksek yağlı diyet grubuna ait dalak kesitinde B hücrelerinin ışık mikroskobu görüntüsü

## SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>A</b>	:Arteria
<b>Aa</b>	:Atreriolae
<b>AEC</b>	:Aminoetil Karbazil
<b>APC</b>	:Antijen Sunan Hücre
<b>ASH</b>	:Antijen Sunan Hücre
<b>BCR</b>	:B Hücre Reseptörü
<b>BKI</b>	:Beden Kitle İndeksi
<b>CCR7</b>	:Kemokin Reseptörü 7
<b>CD1, CD2</b>	:Yüzey Proteini
<b>CD23</b>	:Düşük Afiniteli IGE Reseptörü
<b>CVID</b>	:Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik
<b>CXCL13</b>	:B Hücre Kemoatraktantı
<b>CXCR5</b>	:Kemokin Reseptör 5
<b>DAB</b>	:Diaminobenzidine
<b>DOCK8</b>	:Dedicator Sitokin Proteini 8
<b>DNA</b>	:Deokrisibo Nükleik Asit
<b>Fc reseptörü</b>	:Yüzey Reseptörü
<b>FDC</b>	:Foliküler Dendritik Hücre
<b>Foxp3</b>	:DNA'ya Bağlanmış FOX Proteini Familya Transkripsiyon Faktörü
<b>GATA3</b>	:Transkripsiyon Faktörü
<b>Gr</b>	:Gram
<b>HE</b>	:Hematoksilen Eozin
<b>HEV</b>	:Yüksek Endotelyal Venül
<b>HPA</b>	:Hipotalamo-Hipofizier- Adrenal
<b>HVCN1</b>	:Hidrojen Voltaj Kapılı Kanalları 1
<b>ICOS</b>	:Uyarılabilir T Hücre Kostimülatörü
<b>IFN</b>	:İnterferon
<b>Ig</b>	:İmmunglobulin
<b>IgD</b>	:İmmunglobulin D
<b>IgG</b>	:İmmunglobulin G
<b>IgM</b>	:İmmunglobulin M
<b>IL-4</b>	:İnterlökin-4
<b>IL-10</b>	:İnterlökin-10
<b>IL-21</b>	:İnterlökin-21
<b>JAK</b>	:Janus Kinaz Enzimi
<b>µm.</b>	:Mikrometre
<b>mm</b>	:Milimetre
<b>mm<sup>2</sup></b>	:Milimetre Kare
<b>mm<sup>3</sup></b>	:Milimetre Küp
<b>mRNA</b>	:Mesajcı Ribo Nükleik Asit
<b>NKT</b>	:Natural Killer T Hücresi
<b>NTP</b>	:Ulusal Toksikoloji Programı
<b>Ort</b>	:Ortalama

<b>PALS</b>	:Periarteriolar Lenfatik Kılıf
<b>PBS</b>	:Fosfat Tamponu
<b>PRRs</b>	:Tanıma Reseptörleri
<b>SCS</b>	:Subkapsüler Sinüs
<b>SD</b>	:Standart Diyet
<b>SRÖ</b>	:Sistemik Rastgele Örneklem
<b>STAT</b>	:Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Faktörü
<b>T-bet</b>	:T Beta
<b>TCR</b>	:T Hücre Reseptörü
<b>Tfr</b>	:T Foliküler Regülatör
<b>Th</b>	:T Helper
<b>Th 17</b>	:T Helper 17
<b>TLR</b>	:Toll Like Reseptör
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	:Tümör Nekroz Faktör- $\alpha$
<b>TRAF</b>	:Doku Nekroz Faktör Reseptörü
<b>T reg</b>	:T Regülatör
<b>V</b>	:Vena
<b>YYD</b>	:Yüksek Yağlı Diyet



# 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Son yıllarda modern yaşam tarzıyla birlikte gündelik diyet ile alınan yüksek kalorili gıdaların tüketiminin artması buna karşın ulaşımda motorlu araçların kullanımına bağlı olarak fiziksel aktivitenin azalması insanlarda obezite insidansını artıran en önemli nedenlerdendir (Ding vd., 2013). Obezitenin kendisi; insanların hareket kapasitesini azalttığı ve metabolizmasını bozduğu için ciddi bir sağlık problemidir. Bunun yanı sıra obezitenin birçok hastalığın gelişimine uygun bir zemin oluşturarak da insan sağlığını riske ettiği gösterilmiştir. Obezite kişinin çalışma kapasitesini düşürmesinin yanı sıra obezite ve obezite kaynaklı sağlık problemlerinin tedavisi dünya çapında büyük miktarlarda ekonomik kayıplara da neden olur (Yi vd., 2014). Yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda obezitenin; visceral yağ dokusu ve serumdaki serbest yağ asitlerinde artışa neden olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda obezitenin, periferel dokudaki insulin direncini ve proinflamatuvar sinyali uyardığı da gösterilmiştir (Da Silva vd., 2012). Klinik ve deneysel çalışmalarda fazla yağ alımının; biyokimyasal reaksiyonlarda, immün hücreler ve dokularda fonksiyonel değişikliklere sebep olduğu gösterilmiştir. Bunların yanında, klinik çalışmalarda doymamış yağ asitlerini içeren diyetle gebelik boyunca beslenmenin yavrunun immün yanıtlarının bir fonksiyonu olan markırları da etkilediği bildirilmektedir. Doymamış yağ asitlerinin yüksek oranda kullanılmasının çocukluk döneminde immün disfonksiyona sebep olarak hastalıklara yatkınlığı arttırdığı tespit edilmiştir (Childs vd., 2010).

Obezite özellikle çocuklarda daha çok görülen önemli sağlık problemlerinden biridir ve birçok hastalığın ön hazırlayıcısıdır (Purcell vd., 2011). Yüksek yağlı diyet, obezitenin gelişimi ve vücut ağırlığında artış gibi durumlara yol açabilmektedir (Li vd., 2014). Yüksek yağlı diyetle beslenme insan metabolik sendromuna benzer şekilde kemirgenlerde de obezite ve metabolik hastalıkları indükleyebilmektedir (Buettner vd., 2007).

Prenatal dönem, gebeliğin başlangıcından doğum sürecine kadar fetüsün rahim içi yaşantısını tanımlamaktadır. Birçok hastalığın kaynağının fetal yaşamdaki etkilenmeler olduğuna ilişkin kanıtların artması ile beraber prenatal dönemin tüm yaşam üzerindeki etkilerinin önemi daha da belirginleşmiştir. Fetüsün geliştiği ve olgunlaşmasının büyük bir kısmını tamamladığı bu dönemde annenin beslenme alışkanlıkları bebeği direk olarak etkilemektedir. Birçok araştırmacı maternal diyetin içeriği ve kalitesinin fetüs üzerinde majör etkiye sahip olduğunu savunmaktadır. Aynı zamanda gestasyon ve laktasyon boyunca yüksek yağlı diyet ile beslenmenin yavruların sağlığını olumsuz yönde etkilediği ve ileriki yaşamda birçok hastalığa yatkınlığı arttırdığı tespit edilmiştir (Odeka vd., 2010). Endüstriyel ülkelerde yüksek yağlı diyetle beslenmenin metabolik hastalıkların sıklığının artmasında büyük bir rol oynadığı bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda gestasyon ve laktasyon döneminde yüksek yağlı

diyete maruz kalmanın, hastalıkların gelişmesinde önemli bir etkisi olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda metabolik sendromun belirtilerine de rastlanmıştır (Kruse vd., 2013). Maternal obezite; intrauterin yaşamı etkiler ve bebekte fazla kiloya neden olur (Masuyama&Hiramatsu, 2014). Prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyete maruz kalmanın yavrunun immün yanıtını olumsuz etkilediği de gözlemlenmiştir (Myles vd., 2013).

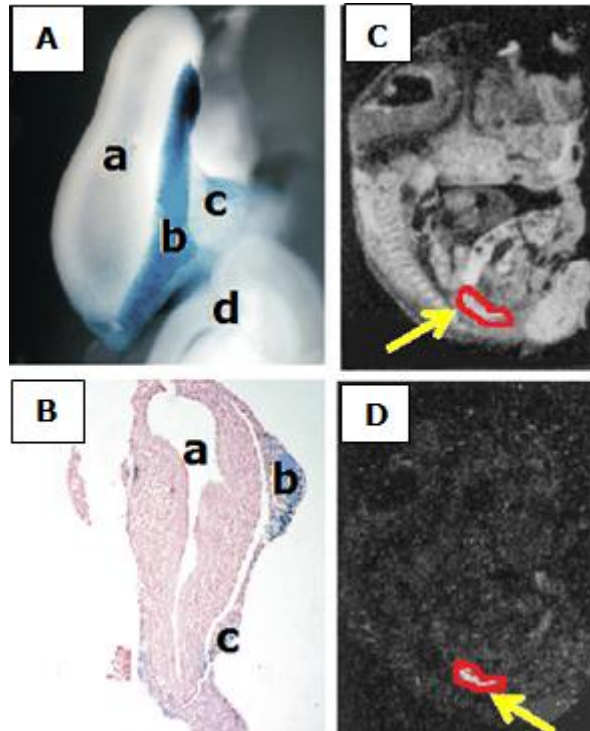
Bu çalışmalar yüksek yağlı diyetin metabolizmada ne gibi değişikliklere yol açabileceğini göstermektedir. Yüksek yağlı diyet ile beslenmenin dalak dokusunda oluşturduğu morfolojik değişiklikleri inceleyen çalışmalar oldukça sınırlı sayıdadır. Dalak, immün sistemin oldukça kritik fonksiyonlara sahip önemli bir organı olup kanla taşınan antijenlere karşı immün yanıtın oluşturulduğu yerdir. Yüksek yağlı diyetin karaciğer ve dalağı olumsuz yönde etkilediğini bildiren çalışmalar vardır (Da Silva vd., 2012). Yüksek yağlı diyetle beslenen anneden doğan yavrunun immün sisteminin nasıl etkilendiğini ve immün sistem etkilenmesine bağlı olarak ortaya çıkabilecek komplikasyonların çalışılması önemlidir. Bu nedenle bu çalışmada, yaşamın erken dönemlerinde ve erişkinliğe kadar olan dönemde yüksek yağlı diyet ile beslenmenin yavrunun immün sistemi üzerine olan etkileri; dalak yapısında meydana gelen moleküler ve hücrel değişiklikler incelenerek ortaya konulması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Dalak

#### 2.1.1. Dalağın embriyolojisi

Embriyonik yaşamın 4. haftasının sonunda, mesenterium dorsale içinde ve cauda pancreatis'in yakınındaki mesoderm kalınlaşır. Mesoderm bu bölgedeki primitif retiküler hücrelerin toplanmasıyla oluşmaya başlar (Varga vd., 2009). Dalak, embriyogenezis ve daha sonraki gelişim aşamalarında, hematolojik ve immun fonksiyonları bünyesinde barındırır. Bu yapılar vasküler kanallar, retiküler hücrelerin girişi aynı zamanda bu hücrelerle ilgili filtrasyon görevi bulunan yapılardır. (Jones, 1983, Cesta, 2006). Sıçanlarda gestasyonun 17. gününde, ilk hücrelerin görünümü hematopoetiktir. Farelerde dalak dokusu ilk olarak gestasyonun 12.5. gününde ışık mikroskopunda görülebilir. Gestasyonun 15.5. gününde ilk hematopoetik hücreler görülebilir (Cesta, 2006). Bunun yanı sıra dalağın farklılaşmasındaki süreçler hâlâ tam olarak bilinmemektedir. Mezenseşimal hematopoetik ve endotelial hücrelerinin birbirleriyle olan iletişimleri hala tam olarak keşfedilmemiş olan bu sinyal yolları dalak dokusunun ne kadar komplike olduğunu göstermektedir (Şekil 2.1); (Tarantino vd., 2013).



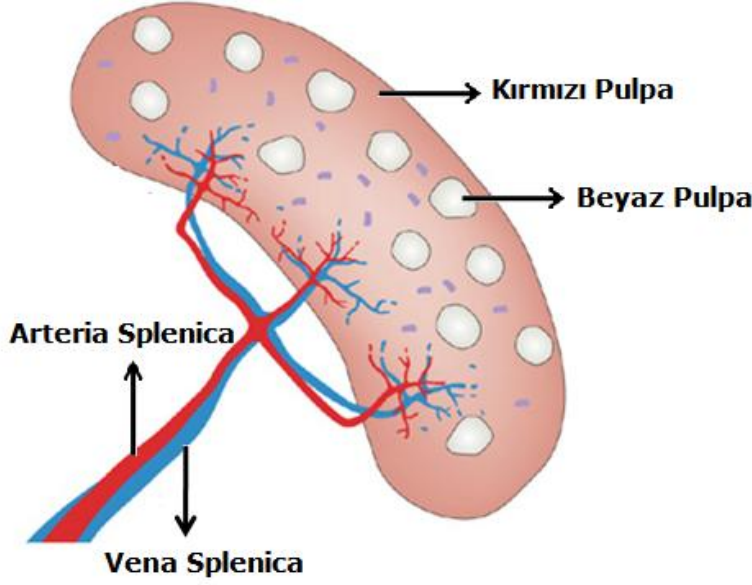
**Şekil 2.1.** Dalağın embriyolojisi, A ve B; embriyoda midenin sol-lateral duvarının görüntüsü. a: mide, b: dalak, c: dorsal pankreas, d: duodenum (Burn vd., 2008, s. 305). C ve D; fare embriyosunun parasagittal kesiti, ok ile gösterilen dalak (Greene vd., 1998, s. 7035).

### **2.1.2. Dalağın yapısı, fonksiyonu ve histolojisi**

Dalak, sol kadranın üst kısmında yer alır. Diaphragmanın alt yüzüne yaslanır ve diaphragma aracılığıyla sol taraftaki 9-11. costa'larla (kaburgalarla) komşuluk yapar (Varga vd., 2009). Memelilerde diaphragma ile midenin fundusu arasında abdominal kavitede yerleşmiş sekonder periferik lenfoid bir organdır (Tarantino vd., 2013).

Koyu kırmızı- mavi- siyah renktedir. Lenfositlerin resirkülasyonunda görev alan en önemli organ olarak bilinir. Dalak esasen kırmızı kan hücrelerinin yıkımında büyük bir role sahiptir. Bunun yanı sıra, immün yanıtta, anormal ve yaşlı hücrelerin, antijenik partiküllerin kandan filtrasyonunda da fonksiyonu vardır. Dalak; hücrelerin kemik iliği, timüs gibi organlara migrasyonu ve hücrelerin matürasyonu gibi kritik görevler de üstlenir (Jones, 1983, Pabst, 1986, Cesta, 2006, Tarantino vd., 2013). Dalak, prenatal dönemde kan hücrelerini üretirken postnatal dönemde bu hücrelerin kontrolünü sağlamakla kalmaz (Varga vd., 2009) immün sistemin modülasyonunda da önemli rol oynar (Tarantino vd., 2013).

Sistemik dolaşımda önemli fonksiyonları vardır. Afferent lenf damarları yoktur. Fonksiyonel ve morfolojik olarak; kırmızı ve beyaz pulpa olmak üzere 2 bölümden oluşur (Şekil 2.). Kırmızı pulpa; yabancı antijenleri eski ve zarar görmüş eritrositleri ortadan kaldırır; bir diğer deyişle kan filtrasyonu görevi vardır. Aynı zamanda plateletler, eritrositler ve demirin depolandığı yerdir. Kemirgenlerde; özellikle fetal ve neonatal dönemde hematopoezis (kan hücrelerinin yapımı) alanıdır. (Pabst, 1986, s. 233-7, Cesta, 2006, s. 455- 65, Aoshi vd., 2008, 476-86). Beyaz pulpa; bünyesinde T ve B hücrelerini barındırır. Central arteriollerin etrafında yer alır. Periarteriolar lenfoid kılıf (PALS), folliküller ve zona marginalis olmak üzere üç alt kompartmandan oluşur (Aoshi vd., 2008, s. 476-86, Cesta, 2006, s. 455- 65).



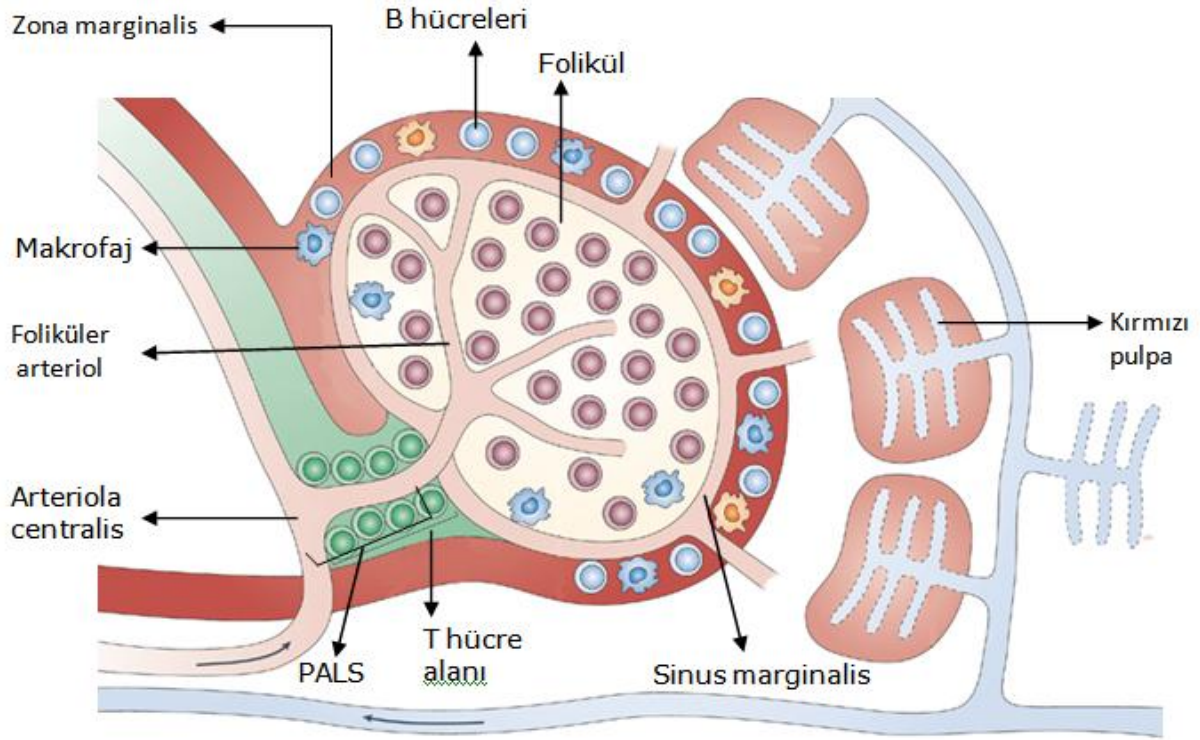
**Şekil 2.2.** Dalağın makroskopik şematizasyonu (Kiel&Morrison, 2008).

Dalak; düz kas, elastik lifler ve yoğun fibröz dokudan oluşmuş bir kapsül ile sarıdır. Dalak kapsülünün en dıştaki kısmı mezotelyal hücrelerden oluşur. Irregüler olarak yerleşmiş trabekülanın, düz kasları ve fibroelastik dokusu kapsülden geçerek splenik parankimin içine doğru uzanır. Bu trabeküla; sinirleri, kan ve lenf damarlarını içerir. Lenf damarları, lenfositleri splenik lenf nodlarına taşıyan efferent damarlardır. Dalak kan filtrasyonu yapan vasküler bir organdır. Kan dalağa a. splenica yoluyla hilum splenica'dan geçerek gelir (Şekil 2.2.). A. splenica, trabeculadan splenik parankime geçen aa. trabeculares'leri oluşturur. Aa. trabeculares'den ayrılan küçük dallar kırmızı pulpaya geçer ve aa. centralis'leri (central arterioller) oluşturur. Bu arterioller, lenfoid doku tarafından çevrelenir. Central arteriollerden ayrılan daha küçük dallar beyaz pulpadaki kapiller yatağı besler. Bu dalların bazıları sinüs marginalis, bazıları zona marginalis'te sonlanır. Sinüs marginalis ve zona marginalis'e giren kan, zona marginalis boyunca ilerleyerek kırmızı pulpaya ulaşır ve bu bölgede filtre edilir. Daha sonra ya komşu venöz sinüslere geçerek hızlı bir şekilde ya da kırmızı pulpadaki retiküler ağa (meshworke) geçerek yavaş olarak dolaşıma katılır (Cesta, 2006, Mitchell, 1973). Sonuç itibariyle a. splenica'dan ayrılan dallar kırmızı pulpada geniş sinozoidlerde ve beyaz pulpada, central arterioller oluşturur. Beyaz pulpadaki central arterioller, T hücrelerini içeren periarteriolar lenfoid kılıf olarak (PALS) adlandırılan kılıf tarafından çevrelenmiştir. Bu yapılar foliküller ile bağlantı kurar, bu bölgeye büyük oranda T ve B hücreleri yerleşir (Tarantino vd., 2013).

Dalak yüksek endotelyal venüllere (HEV) ihtiyaç duymadan kayma gerilimiyle lenfositlerin mikrosirkülasyonuna izin veren tek donanıma sahip kritik bir organdır (Steiniger vd., 2001). Antijenlere karşı antikor yanıtını

başlatan en önemli alanlardan biri dalaktır (Cinamon vd., 2008). Mikroorganizmalar dalağın sinus marginalis'inden girer. Daha sonra makrofajlar, dendritik hücreler ve granülositler gibi splenik fagositlerle iletişim kurar. Dendritik hücreler antijen taşınmasında önemli rol oynar (Aoshi vd., 2008).

Beyaz pulpa küçük arteriollerin dalları tarafından beslenir. Arter dalları, komşu arter dalları ile anastomoz yapmaz. Toplamda kan akışının %90'ı; kırmızı pulpadaki retiküler ağa uğramadan venöz sinüslere yakın geçer. Lenfatik nodüllerden çıkan arter dalları oldukça ince dallar verirler. Bu dallar a. penicillaris'i oluşturur. A. penicillaris, kırmızı pulpa tarafından çevrelenir. Kemirgenlerde arterial kapillerler kırmızı pulpadaki retiküler ağda sonlanır. Kırmızı pulpadaki kan, venöz sinüslerde toplanır. Venöz sinüsler, trabeküler venlerin birleşmesiyle oluşur. Trabeküler venler v. splenica'ya dökülür, v. splenica da hepatik portal sisteme dahil olur (Cesta, 2006, Kraal vd., 1989).



**Şekil 2.3.** Beyaz pulpa ve kırmızı pulpanın şematizasyonu (Pillai&Cariappa, 2009).

### **2.1.3. Kırmızı pulpa**

Kırmızı pulpa, PALS ve foliküller aynı zamanda büyük hafıza B hücreleri içeren zona marginalis tarafından çevrelenmiştir. (Tarantino vd., 2013). Kırmızı pulpa; venöz sinüsler ve 3 farklı boyutta splenik kordların ağından oluşur. Splenik kordlar retiküler liflerden, retiküler hücrelerden ve makrofajlardan oluşur. Retiküler hücreler myofibroblastlardan oluşur. Bu

yapıların splenik konsantrasyonda rolü olduğu düşünülmektedir. Retiküler lifler; kollojenlerden, myelinize olmamış adrenerjik sinir lifleri, retiküler hücrenin basal laminası, myofibriller ve elastik liflerden oluşur. Kordlar ve kan hücreleri arasındaki boşlukta eritrositler, granülositler, mononükleer hücreler bulunur. Splenik kordlarda aynı zamanda; plazma hücreleri ve plazmablastlar antijene özel farklılaşma sonrası PALS'in dışından ve foliküllerden göç ederler (Cesta, 2006, Steiniger vd., 2001).

Kırmızı pulpa; kan hücreleri, vasküler hücreler ve makrofajları içerir (Ngo vd., 2001). Kırmızı pulpa makrofajları; artık maddeleri, yaşlı ve zarar görmüş eritrositleri fagosite eder. Kemirgenlerin özellikle fetal ve neonatal dönemlerinde extra medullar hematopoezis kırmızı pulpada gerçekleşir. Hemosiderin bazen beyaz pulpada fakat genellikle kırmızı pulpadaki makrofajların sitoplazmalarında birikir. Hemosiderin ve ferritin gibi demir pigmentleri daha yoğun olarak kırmızı pulpanın makrofajlarının pigmentidir. Eritrositlerin fagosite edildiği hemoglobindeki demir, dalakta depo edilen hemosiderini değiştirir (dönüştürür). Bu sayede makrofajlar yoluyla elde edilen demir metabolizması kullanılarak bakterilere karşı bir savunma mekanizması oluşturulur. NTP (National toxicology program)'nin verilerine göre, hemosiderin pigmentasyonu kadınlarda erkeklere oranla daha yaygındır. Seroid ve lipofuskin lipidlerin oksidasyonu sonucu ortaya çıkar. Aynı zamanda dalakta bulunur fakat hemosiderine oranla daha azdır. Melanin içeren melanositler özellikle siyah farelerde genellikle kırmızı pulpadaki trabeküla yada kırmızı pulpanın merkezinde bulunur (Cesta, 2006, Tarantino vd., 2013).

#### **2.1.4. Beyaz pulpa**

Beyaz pulpa; PALS, foliküller ve zona marginalis olmak üzere alt gruplara ayrılır (Cesta, 2006, Steiniger vd., 2001). Bu bölgede içte T bölgesi, dışta B hücre folikülleri yer alır (Lo vd., 2003, s. 353-61). T ve B lenfositlerinin depolandığı bölgedir. Beyaz pulpada; antijenle savaşmak için T ve B hücrelerinin gelişimi ve B hücreleri tarafından antijenik savunma için immünglobulinlerin salınımı sözkonusudur. Bu antikolar, T ve B hücrelerinin farklılaşması ve aktivasyonunda, dolaşımdaki apoptotik hücrelerin tasfiyesinde de görev alır. Aynı zamanda bakterinin tasfiyesi için immün mediatörlerden opsoninler (normal kan serumunda bulunan bakterileri fagosite eden madde), properdinler (serumda bulunan bakterileri tahrip eden bir globulin) ve tuftsiner (enfeksiyonlu dokuda IgG nin Fc parçasının enzimatik bir etkiyle yıkılmasıyla oluşan bir oligopeptid) üretilir (Tarantino vd., 2013).

Dalakta beyaz pulpada, lenfositler; arteriollerin etrafındaki kılıfta organize olurlar. Bu lenfositler sinus marginalis tarafından kırmızı pulpadan ayrılır. T hücreleri PALS de lokalize iken B hücreleri, T bölgesi etrafındaki B foliküllerinde toplanır (Ngo vd., 2001, Steiniger vd., 2001, Kelsoe vd., 1996). T hücrelerinin aktivasyonu PALS'de gerçekleşir.

PALS'deki antijen-driven T hücre proliferasyonu postimmünizasyonun 5. gününde zirveye ulaşır. T hücreleri bu bölgede aktive olduktan sonra, seçilmiş T ve B hücreleri foliküllere veya lenfoid dokular içerisine göç eder. B hücreleri aynı zamanda dış PALS'de proliferere olduktan sonra akabinde ya PALS de kalır veya germinal merkeze geri döner. (Kelsoe vd., 1996). Beyaz pulpa; kırmızı pulpaya oranla oldukça az kapillerler, arteriollerden ve plazma hücreleri, dendritik hücreler, makrofajlar ve lenfositlerden oluşur. Central arterioller kırmızı pulpadan girer PALS'ın etrafını dolanır ve T hücreleri tarafından çevrelenir (Cesta, 2006, Den Haan vd., 2012, Steiniger vd., 2001). Central arteriollerin küçük dalları beyaz pulpa boyunca uzanır. Arteriyel kanın birçoğu T ve B hücre bölgelerini çevreleyen alandaki sinozoid sistemde sonlanır. Bu sınır aynı zamanda zona marginalis ile beyaz pulpa arasındaki anatomik sınırdır (Den Haan vd., 2012).

PALS boyunca az miktarda B hücreleri bulunur (Steiniger vd., 2001). PALS; yağ yakan retiküler hücreler ve retiküler liflerden oluşan konsantre tabakalardan ve lenfositlerden oluşur. PALS, iç PALS ve dış PALS olmak üzere ikiye ayrılır. İç PALS'de T hücreleri bulunur. Dış PALS de ise ağırlıklı olarak küçük lenfositlerin hücrel kompozisyonu vardır. İç PALS'de dış PALS'e oranla daha fazla lenfosit bulunur. İç PALS'de büyük oranda CD4+ T hücreleri, daha az sayıda CD8+T hücreleri bulunur. Aynı zamanda göç eden B hücreleri ve birbirine kenetlenmiş dendritik hücreler bulunur. Bu hücreler T hücrelerine antijen sunarlar (Kelsoe vd., 1996, Cesta, 2006). T hücreleri PALS'in içindeki zona marginalisten hareket eder (Kraal vd., 1989). PALS boyunca az miktarda B hücreleri bulunur (Steiniger vd., 2001).

Dış PALS içerisinde; küçük ve orta lenfositler (hem B hem de T hücreleri), makrofajlar, plazma hücreleri bulunur. Burası lenfosit trafiği için önemli bir alandır. Foliküller PALS ile birlikte devam eder. Genellikle Central arteriollerin birleşme sahasında bulunurlar. Foliküller primer B hücreleriyle birlikte az sayıda foliküler dendritik hücreler ve CD+4 T hücrelerinden oluşur. Foliküler dendritik hücreler yüzeylerinde ifade etmiş oldukları reseptörler yardımıyla antijenleri immün kompleks formunda alıkoyarlar. Uzun periyotta onların yüzeyindeki antijen-komplement veya antijen-antikor kompleksleri durumunu devam ettirirler. İmmünizasyondan sonraki saatler içerisinde antijen-spesifik B hücreleri dış PALS'den girer ve spesifik T helper hücreleriyle kostimulusa bağlı etkileşimi başlatır (Kelsoe vd., 1996, Cesta, 2006)

Foliküller; foliküler merkezde daha büyük lenfositlere sahiptir. Foliküler merkez, küçük lenfositleri orta lenfositlere dönüştüren corona veya manto tabakası tarafından çevrelenmiştir. Foliküller, antijenik stimülasyonun olduğu bir germinal merkez içerir (Cesta, 2006, Kelsoe vd., 1996).



### **2.1.5.Germinal merkez**

Germinal merkez ilk defa 1884 yılında Walther Flemming tarafından tanımlanmıştır. Lenf nodları ve diğer sekonder lenfoid organların foliküllerindeki büyük lenfositlerin mitozise uğramasıyla keşfedilmiştir. Aynı zamanda bu bölge vücudtaki bütün B lenfositlerinin major kaynağıdır. Germinal merkez, sekonder lenfoid organlar içerisinde yer alan bir yapıdır. Sekonder lenfoid organlarda antijen ret yanıtı germinal merkezde gerçekleşir (Gatto vd., 2010). Germinal merkez yabancı antikora spesifik aktive olmuş B hücreleri tarafından immün yanıtın başlamasından sonra birkaç gün içinde aktive olur. Bu aktive olmuş B hücreleri öncelikle sekonder lenfoid organlardaki B hücre foliküllerinin merkezine hareket eder. FDC ağı içerisinde proliferasyon ederler. FDC radyasyona dayanıklı stromal hücrelerdir. Bu hücreler ağ şeklinde bir yapı oluştururlar. B hücre foliküllerinde işleme tabi tutulurlar. Yüksek miktarda antijen yakalama kabiliyeti vardır (Allan vd., 2007). Germinal merkezde, T ve B hücreleri denge içerisinde (Kelsoe, 1996).

Germinal merkezin iki kompartmandan oluştuğuyla ilgili ilk çalışmalar 1930 yılında kedi lenf nodunda yapılmıştır. Bu kompartmanlar karanlık bölge (dark zon) ve aydınlık bölge (light zon) olarak adlandırılmıştır (Allen vd., 2007, Beltman, 2011).

Germinal merkezde foliküler kabuk bölgesi (mantle zone) denilen bölge en dışta kalır ve aydınlık bölgeyi çevreler. Sırasıyla en dışta kabuk bölgesi, aydınlık bölge en içte de karanlık bölge yer alır. Karanlık bölgede bölünen B hücreleri ve sentroblastlar bulunur. Aydınlık bölgede FDC, CD4+ T hücreleri ve B hücreleri bulunur. Germinal merkezde ayrıca T helper hücreleri ve makrofajlar da bulunur. Bu bölgede T ve B hücreleri etkileşim halindedir. Germinal merkez B hücrelerinin FDC ve T foliküler hücrelerle olan etkileşimi B hücrelerinin hafıza B hücreleri ve uzun ömürlü plazma hücrelerine farklılaşmasına sebep olur. Bu etkileşim germinal merkez reaksiyonunu sürdürmek için gereklidir. B hücreleri karanlık bölgede proliferasyon olduktan sonra tekrar aydınlık bölgeye geçer. Germinal merkez reaksiyonu humoral hafızanın üretimidir (Kelsoe, 1996, Good-Jacobson, 2014, Küppers vd., 1993, Gatto vd., 2010).

Germinal merkez, karanlık bölgede yerleşen FDC ağından bazı proliferatif B hücrelerinin uzaklaşmasıyla gelişir. Germinal merkezin aydınlık bölgesi antijenlerin dokuya geçtiği sinüs marginalisin proximalinde yer alır. Germinal merkez karanlık ve aydınlık bölgedeki B hücreleri sırasıyla sentrositler ve sentroblastlar olarak tanımlanır (Allen vd., 2007). Germinal merkez B hücreleri hareket ederek dendritik morfoloji sunarlar ve yüksek oranda motildirler. Bu motilite oranı kemokinlere bağlıdır (Allen vd., 2007). Kemokinler: sitokin ailesindedir. G proteine bağlanmış reseptörlere bağlanarak rol oynarlar. Kemokinlerin immün sistemdeki

fonksiyonu, lökositlerin aktivasyonu ve yer değiştirmesini koordine etmektedir (Gatto vd., 2010).

Aydınlık ve karanlık bölgedeki hücrelerin motilite ve morfolojisi benzerdir. Germinal merkez, hafıza B hücre gelişiminin olduğu ve uzun ömürlü plazma hücrelerinin oluştuğu bölgedir. (Allen vd., 2007, Kerfoot vd., 2011). Antijenle karşılaştığında B hücreleri, başlangıçta B hücre folikülleri ve T hücre alanındaki T helper hücreleri arasındaki sınırdaki birikirler. Matür B hücreleri, sekonder lenfoid organlardan vucüt için tehlike arz eden patojenleri araştırmak için dolaşıma katılır. Öte yandan immatür plazma hücreleri T hücrelerine antijen sunarlar. Bir plazmablast plazma hücresi içerisinde farklılaşabilir. Bu hücreler en son olarak B hücresine farklılaşırlar. Yanıt almış B hücresi ektrafoliküler alanda T-B sınırından göç eder. Bu arada plazmablastlar ve plazma hücreleri içerisinde farklılaşırlar. Antijenle karşılaşan B hücreleri B hücre foliküllerinde lokalize olarak kalırlar. Germinal merkez, hümoral yanıtın oluşturulmasında kritiktir. Germinal merkezin fonksiyonu patojenlere karşı savunmada oldukça önemli olan nitelikli antikör üretimidir. Germinal merkezin reaksiyonunun antikör yanıtının matürasyonunda da fonksiyonu vardır (Gatto vd., 2010).

Germinal merkezde yüksek afiniteli B hücre klonları için pozitif seleksiyon gerçekleşir. Ig sınıfının anahtarlaşması germinal merkez reaksiyonu için önemlidir. Bazı seçilmiş sentrositler, plazmablastlar ve hafıza B hücreleri içerisinde farklılaşır. Hafıza B hücreleri veya plazmablastlar mutasyona uğramış Ig exprese eder (Dubois vd., 1999).

Germinal merkez organizasyonu ve fonksiyonunu; doğal seleksiyon ve aydınlık bölgedeki FDC'ye sentrositlerin sıkı adhezyonunun yarışı belirler. Bu bölgede B hücrelerinin migrasyonu oldukça hızlıdır. CD4+ T hücreleri aydınlık bölgede bol miktarda bulunur. T hücreleri, seleksiyon için germinal merkez B hücrelerine ihtiyaç duyar. Germinal merkezdeki yanıt, T helper ve CD40'a bağlıdır (Allen vd., 2007). CD40 TNF reseptör ailesinden B hücrelerinden eksprese edilir. T helper hücreleri tarafından aktive edilirler. Germinal merkezin formasyonu için kritiktir (Gatto vd., 2010). Aynı zamanda T hücrelerinin ko-stimulator molekülleri olan CD28 ve ICOS oldukça önemlidir. Sitokinler, IL-4 ve IL-21 germinal merkez yanıtına katkıda bulunur. Germinal merkez B hücreleri, saf B hücrelerinden daha hızlı MHC sınıf II antijen işlemi içindeki antijenin endositozunu yapar (Allen vd., 2007). Germinal merkez aynı zamanda bazı hafıza T hücrelerini içerir. Hafıza T hücrelerinin, germinal merkez B hücrelerinin apoptozise uğramasının ve bunun sonucu olarak ortaya çıkacak farklılaşmanın gerçekleşmesi için kritik olduğu gözlemlenmiştir (Dubois vd., 1999).

### **2.1.6. Zona marginalis**

Zona marginalis anatomik olarak dalaktaki kırmızı pulpa ile beyaz pulpa arasındadır ve foliküler bölgeyi çevreler (Craxton vd., 2003, Lo vd., 2003). Kırmızı pulpa ile birlikte PALS ve foliküller arasında konumlanmıştır. Kırmızı pulpa ile kaynaşmıştır. Antijen işlenmesinde önemli rol oynar. Antijenler ve patojenlerin sistemik sirkülasyonunda fonksiyonu vardır (Cesta, 2006). Makrofajdan zengin kırmızı pulpayı lenfden zengin beyaz pulpadan ayırır. Herbir beyaz pulpa nodülünü çevreler (Kang vd., 2003).

Bu bölgede B hücreleri, makrofajlar ve dendritik hücreler yer alır. Zona marginalis'teki B hücreleri sinüs marginalis'in bitişiğindedir. Arteriyel kan dalağa zona marginalis'den girer (Craxton vd., 2003, Lo vd., 2003, McGaha vd., 2011).

Zona marginalis'in dışında zona perifolikularis bulunur (Steiniger vd., 2001). Dalakta zona perifolikularis kırmızı pulpanın bir bölümüdür (Steiniger vd., 1997). Bu bölgede splenik sirkülasyona katılan kan oluşur (Steiniger vd., 2001). Zona perifolikularis'te kan damarları sonlanır ve makrofajlar bulunur (Den Haan vd., 2012). Ayrıca bazı durumlarda bu bölgede B hücreleri bulunur (Steiniger vd., 1997). Zona marginalis'ten kan venöz sinüslerle kırmızı pulpaya geçer (Den Haan vd., 2012). Birçok küçük foliküler arteriol, zona marginalis'teki sinüs marginalis'te sonlanır. Dalağa giren birçok lenfosit zona marginalis'ten ayrılır (Lo vd., 2003, s. 353-61). Sinüs marginalis'in periferi zona marginalis'in dış kısmını kalın bir yüzük gibi çevreler. Sinüs marginalis retiküler fibroblastlar, zona marginalis makrofajları, dendritik hücreler ve orta boyutta zona marginalis B hücrelerinden oluşur (Cesta, 2006).

Zona marginalis B hücreleri, IgM+/IgD- fenotipine sahiptir (Cesta, 2006). Zona marginalis B hücreleri antikor üretirler (Kang vd., 2003). Bu hücrelerin esas fonksiyonu doğal bağışıklıktadır. Kapsülü olmayan bakterinin tekrarlayan saldırılarına karşı savunma gücü söz konusudur (Tarantino vd., 2013). Kandan gelen antijen, zona marginaliste ilk olarak B hücresi ile karşılaşır (Gatto vd., 2010). Bu bölgedeki B hücreleri immünglobulin gen hipermutasyonuna uğrar (Steiniger vd., 1997). Hafıza B hücreleri splenik marginal bölgede lokalizedir (Gatto vd., 2010).

Antijen sunan dendritik hücreler, zona marginaliste, T bölgelerinde daha çok bulunur (Ngo vd., 2001). Dendritik hücreler geçici bir süre zona marginaliste ikamet eder. Antijen alımı ve stimulasyondan sonra beyaz pulpa içinde göç ederler (Den Haan vd., 2012). Bu hücreler foliküldeki T hücre bölgesine göç edebilmek için CD8'e ihtiyaç duyarlar (Morelli vd., 2003). Hem dendritik hücreler hem de lenfositler makrofajlarla iletişime geçebilir (Den Haan vd., 2012).

Zona marginalis makrofajları, mikroorganizmalar ve virüslerin fagositozu için oldukça önemlidir. Makrofajların bandı, zona marginalis'in metallofilik makrofajları ile sinüs marginalis, PALS ve foliküllerden zona marginalis'i ayırır. Zona marginalis'in metallofilik makrofajları makrofajların tek altkümesidir. Bu makrofajlar; TLRs (toll-like reseptör) ve kollajen yapısıyla makrofaj reseptörleri gibi reseptörleri tanıyarak süreci başlatır (Cesta, 2006). Dolaşımdaki mikroorganizmaları ve immün kompleksleri fagozite eder. Sistemik enfeksiyon boyunca bakteriyi kandan uzaklaştırır ve sepsisten korur (Tarantino vd., 2013).

## **2.2. İmmün Sistem**

İmmün sistem, vücudumuzun tekrarlayan bakteri, virüs ve diğer hastalık yapıcı ajanlara karşı savunmasını gerçekleştirir. Bu sistem birçok patojenin vücudumuza tekrarlayan saldırılarını hücreler, organlar ve dokular vasıtasıyla önleyen kompleks bir sistemdir. İmmün sistem bakteri gibi vücuda zararlı yabancı maddeleri belirler ve tehditin nasıl ortadan kaldırılacağı veya etkisiz hale getirileceğine karar verir (Kaur vd., 2013). İmmün sistem farklı hücresel ve moleküler mekanizmalarla koruma sağlar. Bu mekanizmalar vasıtasıyla organizmaya giren yabancı organizmaları tanıyarak, bloke eder akabinde yok eder (Marti vd., 2001).

İmmün sistem doğal ve adaptif (kazanılmış) immün sistem olmak üzere 2 dala ayrılır. Bu sistemler arasındaki iletişim özelleşmiş sensörler ve sinyaller ile gerçekleşir (Kaur vd., 2013). Her iki sistemin de görevi patojenlere karşı savaşacak immün yanıtı oluşturmak ve düzenlemektir. Aynı zamanda her iki sistemde birbiriyle etkileşim halindedir. Doğal bağışıklıktaki dendritik hücreler, monositler, makrofajlar, granülositler natural killer hücreler ve epitelyal hücreleri hızlı bir şekilde düzenlenir. Bu düzenlemeyi ideal tanıma reseptörleri (PRRs) organize eder (Cerutti vd., 2011). Fagositozlar ve antijen sunan hücreler (APC), makrofajlar doğal ve kazanılmış bağışıklıkta önem arz eder. Makrofajlar doku homeostazisinde merkezi rol oynar. Hemeopoetik hücrelerin bakımını ve ölü hücrelerin eliminasyonunu sağlar (Lin vd., 2005).

Lenfositler antijenleri tanıyarak ve onlara özgü bir immün yanıt oluştururlar. Lenfositlerin ana tipleri T ve B hücreleri ve natural killer hücreleridir (Calder vd., 2002). Enfeksiyonlar veya aşı, immün sistemde kalıcı bir etki bırakır. Bu etki germinal merkezdeki yüksek benzerlik gösteren antikolar, uzun ömürlü plazma hücreleri ve B hafıza hücrelerinin önceden oluşmuş reaksiyonlarıyla meydana gelir (Capolunghi vd., 2013).

### **2.2.1. Doğal immün sistem**

Doğal immün sistem tekrarlayan patojenlere karşı savaşır. Bu savunmayı makrofajların ve dendritik hücrelerin fagositozuyla yapar (Akira

vd., 2006). Doğal bağışıklık lokal inflamatuvar reaksiyonu başlatarak acil koruma sağlar (Wandemann vd., 2002).

Doğal bağışıklık sistemi komplement sistem, lizozim, fagositoz ve natural killer hücreler gibi birçok mekanizmayla önceden maruziyet gerektirmeden yabancı organizmayı yok eder (Marti vd., 2001). Doğal immünette oluşan yanıt tamamen non spesifiktir. Yanıt patojenin vücuda ait olup olmaması durumu ayırt edilerek oluşturulur. Doğal immün sistem eşey hücre öncülleri (germline)yle şifrelenmiş patojen tanıyan reseptörler kullanarak mikroorganizmaları tanır (Akira vd., 2006). Toll-like reseptörleri doğal bağışıklıkta kritik rol oynar. Bu reseptörler, mikroorganizmalara karşı proinflamatuvar sinyal yollarını aktive eder. Toll-like reseptörler patojenleri yok ederek ilk savunmada önemli rol oynar (Kim vd., 2012).

### **2.2.2. Kazanılmış (Adaptif) immün sistem**

Kazanılmış yada adaptif immün sistemde; önceden tanıma ve hafıza söz konusudur. Immünolojik hafızayı kullanarak geç dönem enfeksiyonlardaki patojenlerin eliminasyonunu sağlar. Kazanılmış immünette, antijene özgü reseptör taşıyan lenfositler, geniş repertuarı sayesinde spesifik karakterli bir bağışıklık kazanılmasını sağlarlar. Adaptif immünette, geniş repertuarlı yeniden düzenlenen reseptörler kullanılır (Akira vd., 2006). Adaptif immün sistem CD4+T hücreleri, regülatör T hücreleri, CD8+T hücreleri ve B hücrelerini içerir. Bu hücrelerin sitokin sekresyonu, bireysel tekrar aktivasyonu, infekte hücrelerin yok edilmesi ve antikor üretimi gibi kritik fonksiyonları vardır (Wali vd., 2014).

### **2.2.3. İmmün yanıt**

Lenfositler, adaptif (kazanılmış) immün sistemin özelleşmiş hücreleridir (Cooper&Alder, 2006). Lenfositler kandan lenfoid organlara göç eder. Yabancı antijen girdiğinde sistemik immün yanıt başlatırlar (Matsuma vd., 1999). Bu hücrelerin yüzeylerinde patojene özgü reseptör bulunur. Bu reseptör sayesinde patojeni tanır. Böylece hücrel farklılaşma, klonal amplifikasyon vasıtasıyla antijene karşı yanıt oluşmasına neden olur (Cooper&Alder, 2006). Adaptif (kazanılmış) immün sistem, lenfoid organlardaki antijene özel T ve B hücrelerinin yayılımını sağlar. Uzun süreli koruma sağlar hafıza T ve B hücrelerini üreterek enfeksiyonlara karşı savunur (Wandemann vd., 2002).

Kazanılmış immünette, humoral ve hücrel yanıt oluşur. Hücre-geçişli (hücrel) immünette; timüsde işlenen lenfosit altkümeleri (T hücreleri) ve onların ürünleri, tekrarlayan antijene maruziyete karşı etkili lenfokinlerdir. Humoral yanıtta bir başka deyişle humoral immünette; B hücreleri sentezlenir ve farklı immünglobülin alt tipinden meydana gelen spesifik antikorlar salınır (Marti vd., 2001). Antijene özel humoral yanıtın ilk aşaması B hücrelerinin yüzeyindeki immünglobülinlere (B hücre

reseptörleri) antijenin bağlanmasıyla başlar. Antijene bağlanan B hücre reseptörleri, B-T hücre alanları arasındaki sınırdaki B hücrelerine doğru migrasyonu indükler. Benzer bir şekilde antijene özel CD4+ T hücreleri dendritik hücreler tarafından aktive edilir. Dendritik hücreler geçici olarak yüzeylerinde CXCR5 eksprese ederler. Aynı zamanda bu durum B -T hücre alanları arasındaki sınıra doğru migrasyona sebep olur (Chang&Chung, 2014).

Aynı anatomik lokalizasyonlu antijenle stimüle edilmiş B ve T hücrelerinin migrasyonu B ve T hücrelerinin antijene özel etkileşimi yada iletişimi olasılığını artırır. Bu B-T hücre etkileşimi başlangıç B hücre proliferasyonunu indükler. Başlangıçta aktive edilmiş B hücrelerinin bazıları ileriki aşamada T hücre alanı sınırı (dalaktaki kırmızı pulpa) na doğru göç eder. Ve aynı zamanda ileriki zamanda kısa süreli plazma hücreleri ve plazmablastlar içerisinde farklılaşacakları extrafoliküler odaklara şekillenmek üzere göç ederler. Bu tip extrafoliküler B hücre yanıtı enfeksiyon süresince hızlı antikor üretimi için kritiktir. Fakat bu durum T hücre yardımının yetersiz kalmasına sebep olur. Extrafoliküler B hücre antikorlarının yanıtları nispeten biraz yavaştır (Chang&Chung, 2014).

Sekonder lenfoid organlardaki T helper hücreleri ve B hücreleri arasındaki antijene özel etkileşim T hücre bağımlı hümoral immün yanıtlar için önemli bir adımdır. Erken dönemde B hücre-T hücre etkileşimi foliküller ve T bölgesi arasındaki sınırdaki olur. Bu olay B ve T hücrelerinde sırasıyla T hücre bölgesi ve B hücre foliküllerindeki antijen sunumundan sonra gerçekleşir. Doğuştan B-T etkileşimi boyunca, B hücreleri helper T hücrelerine özel bir antijen sunar. Farklılaşması, proliferasyonu ve ömrü için gerekli olan sitokin sinyallerini alır. Antijenle karşılaşan B ve T hücrelerinin yer değiştirmesi birbirlerine yakın olarak gerçekleşir (Okada vd., 2005).

T ve B hücreleri ve aralarındaki etkileşim, immünitede önemli rol oynar. Lenf nodlarında, B hücreleri foliküler alanda, T hücreleri parakortikal veya interfoliküler alanlarda ikamet ederken, dalakta, beyaz pulpanın periarteriolar bölgesinde bulunur (Timens&Poppema, 1985, s. 443-54). Lenf nodları, başlangıçtaki yabancı antijenlere karşı immün yanıtın oluşturulmasını kolaylaştırır. Antijenler dendritik hücreler tarafından iletilerek veya afferent lenfler yoluyla nod içerisine drene olur. Lenf nodunun farklı kompartmanlarının hücrel etkileşimi hem hücrel hem de hümoral immün yanıtın gelişimini kontrol eder. Dalaktaki zona marginalis B hücreleri, folikül içerisine antijen taşır (Rozenaal vd., 2009).

B ve T hücrelerinin lenf nodu ve dalağın beyaz pulpasındaki göçü antijene özel immün yanıtın oluşmasında oldukça önem arz eder. Bu organlarda lenfositler ve antijen taşıyan dendritik hücreler birbirleriyle etkileşim halindedirler ve aynı zamanda özel antikor yanıtı oluştururlar.

Periarteriolar lenfatik kılıfta (PALS) T hücreleri oldukça yoğun olarak bulunur. Germinal merkezde B hücreleri bulunur (Förster vd., 1996).

Saf antijenler, antijen sunan hücreler (APC) ile iletişim kurarak kökeni aynı olan antijenleri ararlar. Antijenler ya HEV (yüksek endotelial venül) yoluyla organa lenfositlerin geçişinde lenf sıvısı drenajıyla ya da dendritik hücrelerle afferent lenfatiklerle lenf noduna ulaşır. Lenfositler HEV boyunca göç eder. Beyaz pulpa spesifik immün yanıtların gelişiminde kritik rol oynar. Dalak HEV gibi damarlar içermez. Lenfositler beyaz pulpaya sinüs marginalisden geçer (Nolte vd., 2002).

#### **2.2.4. MHC proteinlerinin sınıflandırılması ve fonksiyonu**

MHC II; B lenfositleri, makrofajlar, monositler ve dendritik hücrelerin üzerinde ekprese edilir. MHC II nin rolü intraselüler proteinlerden derive olan antijenik peptidlerin sunulmasıdır. CD4+ T helper hücrelerine antijeni sunar. MHC I birçok hücreden ekprese edilir ama farklı hücre tipleri arasındaki ekspresyon düzeyi farklılık arz eder. MHC I'in rolü intraselüler proteinlerden derive olan antijenik peptidlerin sunulmasıdır. CD8+ T sitotoksik hücrelere antijeni sunar (Calder vd., 2002).

### **2.3. Immün Sistem Hücreleri**

#### **2.3.1. B hücreleri**

B hücreleri immün sistemin major komponentlerinden biridir. 1890'ların sonunda Emil von Behring ve Baron Kitasato Shibasaburo vücuda giren yabancı antijenlere karşı koruyucu antikör varlığından bahsetmişlerdir. Aynı zamanda bu araştırmacılar immün sistem ile ilgili çok önemli çalışmalar yapmışlardır. Herbir lenfosit, yüzeyinde, spesifik immunglobulinler taşır. 1956 yılında B hücreleri ilk olarak tavuklarda yapılan çalışmalarda Glick ve Chang tarafından belirlendi (Fettke vd., 2014). B hücrelerinin keşfi 1960'ların ortası 1970'lerin başında hayvan deneyleri, immün hastalığı olan hastalar değerlendirilerek ortaya çıkmıştır. Cooper ve arkadaşları T ve B hücrelerini keşfetmişlerdir (Leiben vd., 2008).

##### **2.3.1.1. B hücrelerinin gelişimi**

Deney hayvanlarında gestasyonun erken dönemlerinde B hücrelerinin ana kaynağı karaciğerdir. Gestasyonun ileri dönemlerinden itibaren bu görevi kemik iliği üstlenir (Delassus vd., 1998). B lenfositleri pluripotent hematopoetik prekürsör hücrelerden kemik iliğinde şekillenir. B hücreleri kemik iliğinden periferik lenfoid dokuya göç eder (Fettke vd., 2014). Periferik lenfoid dokularda anatomik olarak farklı alt bölgelerde ve fonksiyonel olarak farklılaşırlar (Song vd., 2003). Kemik iliğindeki hematopoetik progenitörler pro B hücreler içerisinde farklılaşırlar. Ig zinciri

yeniden düzenlenmesi burada başlar (Henderson vd., 2010). Kemik iliğindeki gelişimin erken fazında, B hücreleri sadece IgM eksprese eder. İmmatür B hücreleri düşük yoğunluklu IgM ye sahiptir (Loder vd., 1999).

#### *2.3.1.2. B hücrelerinin migrasyonu*

Lenfoid organlardaki B hücre folikülleri 2 şekilde geçer. Primer (pasif) foliküller; kökeni aynı olan antijen aramak için migrate olan saf B hücrelerini içerir. Sekonder (aktif) foliküller; B hücre blastlarıyla dolu germinal merkezi içerir bu bölgede antikor afinite maturasyonu olur. Hem primer hem de sekonder foliküller B hücreden zengindir. Foliküler dendritik hücreler primer foliküllerdedir. Germinal merkez B hücreleri germinal merkez içerisinde antijenle savaşır (Allen vd., 2008).

#### *2.3.1.3. Antijen yanıtı*

Antijenler dalak ve lenf noduna lenf ve kan yoluyla taşınır. Foliküler dendritik hücreler B hücrelerine antijen taşınmasında anahtar rol oynar. Germinal merkez reaksiyonunu başlatır ve daha sonra hızlı bir şekilde antijene spesifik, yüksek afiniteli antikor üretirler (Carrasco vd., 2007, Loder vd., 1999).

Foliküler B hücreleri dalaktaki T hücre bölgesine yakın lokalize olur. B ve T hücresindeki etkileşimde görev alır. Foliküler B hücreleri T-bağlı protein antijenlerine yanıt oluşturur. Foliküler B hücreleri T hücrelerine antijen sunar. Foliküler B hücreleri germinal merkezde yer alan kısa ömürlü plazmablastlardan antikor üretimini arttırarak ek aktive olmuş sinyalleri alır. Bu durumda, germinal merkezdeki B hücreleri hızlı yayılıma maruz kalır, çeşitli bölgelerdeki immünglobulinlerin somatik hipermutasyonu boyunca matüre olur (Cerutti vd., 2011).

Antijenler aynı zamanda lenf nodundaki periferik dokulardan taşınır. Dendritik hücreler periferdeki antijenleri içine çeker ve tutsak eder. Yapılan çalışmalarda bu hücrelerin B hücrelerine antijen tanıttığı savunulmaktadır. Antijen dendritik hücrelerin üzerindeki Fc reseptörüne bağlanır. Antijen yüklü dendritik hücreler HEV e yakın lokalizedir (Carrasco vd., 2007).

Hücreler antijenlere özel yanıt oluşturmak için klonal olarak hücre yüzeyinden antijene özel immünglobulin reseptörleri eksprese eder. Kemik iliğindeki IgM+ ve IgD+ B hücreleri periferdeki maturasyon süreci tamamlanan B hücreleridir. Matür B hücreleri sirkülasyonu için kemik iliğine geri döner (Loder vd., 1999).

Antijenle aktive edilmiş B hücrelerinin farklılaşması, proliferasyonu ve aktivasyonu boyunca immün yanıt hem hücresel hem de moleküler düzeyde düzenlenir. Immün yanıt boyunca B hücre davranışı hem



extrinsik hem de intrinsik mekanizmalar tarafından regüle edilir. B hücreleri sitokinler, hücre yüzeyi ligand/ reseptör eşleşmesi kemokinler ve hücre survival molekülleri gibi faktörleri içeren mikroçevredeki sinyallere yanıt verir (Good-Jacobson, 2014). Birçok B hücresi antikor sekrete eden plazma hücrelerine farklılaşır. Antijene ilk maruziyet hafıza B hücreleri ve plazma hücrelerinden sekrete edilen IgM üretimiyle sonuçlanır. Aynı antijen yüksek afiniteli, monospesifik IgG antikor üretimine de sebep olur. Bu antikorlar arasındaki fark, kategorileri ve otoimmünitelerdeki rolleridir (Fettke vd., 2014).

B hücreleri lenf nodülleri içerisinde serbest dolaşan çözünebilir antijenler elde edebilirler. B hücreleri lenf sistemini bir yolak olarak kullanabilir. Saf B hücreleri ile dendritik hücreler arasında iletişim vardır. Lenf nodu subkapsüler sinüs makrofajları (SCS) foliküler B hücrelerine antijen ile ilgili bilgi sunan hücrelerin varlığında daha fazla görülür (Mcheyzer vd., 2011).

B hücreleri subkapsüler sinüs makrofajları tarafından sunulan farklı antijenlerin yok edilmesinde farklı reseptörler kullanır. B hücreleri bu farklı antijenleri foliküler bölgelere taşır ve foliküler dendritik hücrelere transfer eder. Foliküler dendritik hücreler öncül saf B hücreleri için antijen kaynağı gibi hizmet eder. Buna karşın aynı kökenli antijenler öncelikle subcapsüler sinüs makrofajlarıyla karşılaşılır. Daha sonra bu makrofajlar antijenleri antijen spesifik B hücrelerine oradan da B - T hücre sınırına taşır. Ve antijene özel B hücre yanıtı başlar böylelikle antijen hapsedilir. Sonuç olarak subkapsüler sinüs makrofajları lenfatik sıvıdan filtre edilir. Sadece sistemik enfeksiyondan korumaz. Aynı zamanda T helper hücresi tarafından regüle edilen antijene özel B hücre immünitelerini etkin bir biçimde başlatır (Mcheyzer vd., 2011).

#### *2.3.1.4. Antikor üretimi*

Antikorlar 5 alt gruba ayrılır. Bu antikorlar fiziksel 2 formdadır. Solübl antikor ve membran bağlı antikorlar olmak üzere sınıflandırılırlar. Membran bağlı immünglobülinler, B hücre üzerindeki B hücre antijen reseptör kompleksinden şekillenir. Plazma hücrelerinden derive olan B2 hücreleri başlangıç olarak IgM'nin şekillenmesindeki adaptif antikorları sekrete eder. Sonuç olarak yüksek afiniteli, somatik olarak mutasyon olmuş IgG şekillenir. IgG tip antikorlar antijenlere yüksek affiniteye bağlanırlar ama yabancı antijenlerin yıkımını kolaylaştıran mekanizmaların başlatılmasında başarısızdır (Fettke vd., 2014).

Her iki durumda antijen stimülasyonuna bağlıdır. IgM sekresyonu antijene bağlı değildir. Doğal IgM, B1 hücreleri tarafından sekrete edilir (Fettke vd., 2014). Sekrete edilen IgM adaptif hümoral immün yanıtın başlatılmasında önemli rol oynar (Ferguson vd., 2004).

Antijenle indüklenen IgM ve IgG genelde B2 hücreleri tarafından üretilir. B hücrelerinin patojenik T hücreleriyle etkileşimi olumsuz immün yanıt oluşmasını engeller. IL-10'nun etkileri proinflamatuvar sitokin TNF- $\alpha$  üretiminin inhibisyonu gibi birçok mekanizma tarafından düzenlenir. CD4+ T hücrelerinin proliferasyonunun azalmasında B hücreleri antijen sunan hücreler gibi davranır (Fettke vd., 2014).

Antikor üretiminde B hücrelerinin antijen tanıma rolü, B hücrelerinin T hücre immün yanıtının başlaması için antijen sunan hücreler gibi fonksiyon görmesiyle alakalıdır. Immün sistemi ile ilgili olumsuz durumlarda B hücrelerinin onarım açısından önemli fonksiyonları vardır. B hücreleri yüzeylerindeki transmembran reseptör proteini olan BCR (B hücre reseptörü) tarafından antijen sunan hücre (APC) rolü oynar. B hücreleri immünomodülatör sitokinleri sekrete ederek T hücre ve dendritik hücrelerin çeşitli fonksiyonlarını düzenler. B hücrelerinden salınan sitokin üreten efektör hücrelerin T hücre farklılaşmasında rolü vardır (Fettke vd., 2014).

Antikorlar enfeksiyöz ajanlara karşı savunmada önemli rol oynar. Antikorlar virüsleri nötralize eder. Mikroorganizmalardan derive olan toksinleri inaktive eder. Fc reseptörleri boyunca fagositik hücreler tarafından non-self antijenlerin tanınmasını kolaylaştırır. Antikorlar komplement aktivasyonunun klasik yoluna aracılık eder (Chang&Chung, 2014, s. 227-36). B hücreleri antijene özel antikor üreterek immün yanıtı pozitif yönde regüle eder. Aynı zamanda CD4+ T hücre aktivasyonunun indüklenmesine yardım eder. B hücreleri aynı zamanda antijen sunan hücreler gibi de hizmet eder. B hücre-spesifik eksprese olan ko-stimülatör moleküller (CD80, CD86 ve OX40L) aynı zamanda T hücre aktivasyonu için önemlidir (Noh vd., 2011, s. 168-77).

#### *2.3.1.5. B hücre aktivasyonu*

B hücre yanıtı sekonder lenfoid dokulardaki T hücre bölgesinde başlar. Bu durum hümmoral immünitede temeldir. Hümmoral yanıtta, B hücreleri öncelikle T hücreden zengin bölgelerde proliferere olurlar. Plazmablastlar içerisinde gelişirler. Primer foliküllerde kolonize olan B hücreleri germinal merkezde şekillenir (Dubois vd., 1999, Wykes vd., 1998). Hafıza B hücrelerinin gelişimi ve maturasyonu germinal merkezde gerçekleşir (Ferguson vd., 2004). Ama bu olay antikor yanıtı için düşük affinite arz eder. Bir sonraki hüccresel karşılaşma germinal merkez reaksiyonunda gerçekleşir (Kelsoe, 1996).

B hücre yanıtının başlaması farklı olaylarla gerçekleşir. İlk olarak B hücre reseptörü ile antijene özel tanımlama gerçekleşir. B hücre reseptörleri intrasellüler sinyal alımı ve antijenin bu hücreler tarafından kendi bünyesine alınmasını tetikler. B hüccresi reseptörleri T helper hüccresiyle iletişim kurarak gen ekspresyonu programlarını tetikler.

Antijenin membranıyla kurulan bağ (dinamik iletişim) ile antijene ilk maruz kalınma sonucu ne kadar saf B hücrelerinin birikeceği belirlenir. Etketif hücrelerin iletişim kurabilmesi için sinyal adaptörü DOCK8 (Dedicator (tahsis eden) sitokin protein 8) in ekspresyonuna ihtiyaç vardır. DOCK8 mutasyonları B hücre reseptörlerinin sinyallerini değiştirmeksizin immün sinapttaki integrin ligandlarının birikimine engel olur (Mcheyzer vd., 2011).

B hücre reseptörüyle birlikte hareket eden hidrojen voltaj kapılı kanalları 1 (HVCN1) B hücrelerinin erken programlanma dönemini kapsar. B hücreleri tarafından uyarılan kısa süreli BCR (B hücre reseptörü) sinyali sadece nükleer faktör- kB'yi aktive eder. MHC sınıf II molekülleri ve CC-kemokin reseptörü 7 (CCR7)'nin ekspresyonu artar. Böylece bu moleküller, CD40'a cevap verme yeteneğini artırır ve sonuç olarak aynı kökenli T hücre etkisi dahada artmış olur. Başlangıçta antijenin tanınması, alımı, prosesi ve sunumu B hücrelerinin erken dönem gelişimindeki akıbet için oldukça önemli bir etkiye sahiptir (Mcheyzer vd., 2011).

İkincisi, B hücre aktivasyonu, T helper hücrelerine antijenin tanımlanarak sunumu ve işleme tabi tutulmasını maksimum oranda kolaylaştırır (Harwood&Batista, 2010). T hücre bağımlı B hücre yanıtı, B hücrelerinin proliferere olması ve farklılaşmasıyla hafıza B hücrelerine ve uzun ömürlü plazma hücrelerine dönüşmesini sağlar. T hücreleri dendritik hücrelerin aktivasyonu ile üretilen sitokinlerle Toll like reseptörleriyle üçüncü sinyal başlatır (Lanzavecchia&Sallusto, 2009).

B hücrelerinin bazıları başlangıçta B hücre ve T hücre alanları arasındaki sınırda B-T hücre etkileşimi sonrası aktive olur ve germinal merkezde şekillenmek için B foliküllerine geri döner. Germinal merkez sadece aktive olmuş B hücrelerini içermez aynı zamanda foliküler dendritik hücreler ve T foliküler hücrelerini de içerir. Foliküler dendritik hücreler non-hematopoetik orijinli stromal hücrelerdir. CXCL13 çeşitli tiplerde Fc reseptörleri komplement reseptörlerinden CR1 ve CR2 ekprese eder. Aynı zamanda hücre içine alma durumu olmaksızın uzun süreli antijen-antikor-komplement kompleksi tuzağına izin verir. Foliküler dendritik hücreler B hücre proliferasyonu sağlayabilen antijenlerin ana kaynağıdır aynı zamanda germinal merkezdeki klonal seleksiyonda fonksiyonu vardır (Chang&Chung, 2014).

Son olarak üretilen plazma hücrelerinin antikor sekresyonu yapabilmesi gerekir. Lenf nodları lenf sıvısı kaynağıdır. Lenfatik sıvı interstisiyel sıvıda bulunan solubl ve hücre bağlı anjijenleri içerir. Lenfatik sıvı noda girişinde cortex etrafında kolaylaştırılmış difüzyondan ziyade traböler sinüs boyunca central medullar bölgeye doğru sinüs subkapsularis civarında hareket eder. Foliküler B hücreleri önce antijenle karşılaşır ve aktive olur. Sinüs subkapsularis civarında foliküler B hücreleri antijenle karşılaşmış olur yada antijen edinir ve sonuç olarak CD4+ T hücrelerinden yardım alan T hücre

bölgesinin sınıra göç eder (Harwood&Batista, 2010). CD4+ T hücreleri aynı kökten B hücreleriyle birbirlerini etkilerler. Böylece germinal merkez ve hafıza için gereken efektif T hücre yardımı dağıtımı engellenir (Lanzavecchia&Sallusto, 2009).

Aktive olmuş B hücreleri ya düşük afiniteli antikor üreten extrafoliküler plazma hücrelerinde şekillenir yada germinal merkeze girer (Harwood&Batista, 2010). Germinal merkezdeki B hücreleri somatik ve affinite mutasyonuna uğrar, bu yüksek afiniteli B hücreleri uzun ömürlü hafıza yada plazma hücrelerine farklılaşabilirler (Carrasco vd., 2007). Germinal merkez yüksek afiniteli antikor üretir. B hücreleri germinal merkeze, lenfatik sıvıdaki ilk antijen dalgasından sonra geçer. Foliküler B hücrelerine antijen sunumu devam eder ve B hücreleri foliküler dendritik hücreleri (FDC) nin yüzeyinde biriken antijenler için afinite oluşturur. Germinal merkezdeki B hücreleri nadir bir morfolojiyle geçer ve yüksek oranda motildir, nadiren foliküler dendritik hücrelerle uzamış bir iletişim kurarak geçer. Foliküler dendritik hücrelerin B hücrelerine antijen sunumu farklı mekanizmalarla olur. Bu sunum makrofajlarla yada meduller dendritik hücrelerle gerçekleşir (Harwood&Batista, 2010).

#### *2.3.1.6. B hücre matürasyonu*

B hücre matürasyonu yüksek afiniteli Ig üretir ve bu olay germinal merkezde olur. Sekonder lenfoid organlardaki germinal merkezdeki B hücre foliküllerinde T hücre bağımlı antikor yanıtı boyunca Ig üretir. T helper hücreleri ve antijenlere yanıt için B hücreleri başlangıçta sekonder lenfoid organlarda aktive edilir. Aktive olmuş B hücreleri primer foliküllerde kolonize olur. B hücreleri daha sonra germinal merkezin aydınlık bölgesinde somatik hipermutasyona uğrar. Aynı zamanda çeşitli bölgelerdeki Ig'nin afinitesini değiştirmek içinde hipermutasyona uğrar. Germinal merkez T hücreleri somatik hipermutasyonda oldukça önemli rol oynar (Lim vd., 2004). Immün yanıt sürecinde, extrafoliküller odaklardaki plazma hücrelerinde azalma olur, öte yandan uzun ömürlü plazma hücreleri ve hafıza B hücreleri görülmeye başlar. Birçok uzun ömürlü plazma hücreleri kemik iliğinde bulunur. Bu hücreler birkaç hafta veya daha fazla antikor sekrete ederler (Allen vd., 2007).

#### *2.3.1.7. B hücrelerinin alt grupları*

B hücreleri humoral immünite hücreleridir. B hücreleri aynı zamanda immün homeostazis için birçok fonksiyonun düzenlenmesinde rol alır. T hücre immün yanıtını başlatır (Leiben vd., 2008, Fettke vd., 2014). Dolaşımdaki lenfositlerin % 5 ila onbeşi kadardır (Fettke vd., 2014). Dolaşımdaki B lenfositleri foliküller ile lenfoid organlar arasında göç eder. Küçük B hücreleri yüzeylerinde hem IgM hem de IgD eksprese eder. Zona marginaliste yer alan B hücrelerinin yüzeylerinde IgM bulunur. Bu hücreler morfolojik olarak IgD+ foliküler B hücrelerinden büyük hücrelerdir (Gray

vd., 1984). B hücrelerinin ana fonksiyonu tekrarlayan antijenlere karşı antikor üretmektir (Fettke vd., 2014).

#### *2.3.1.7.1. Saf B hücreleri*

Fonksiyonel olarak immatür B hücreleri saf B hücreleri olarak bilinir (Fettke vd., 2014). Immatür B hücre yüzeyindeki B hücre reseptörleri (BCR) B hücre migrasyonuna yardımcı olur. Immatür B hücreleri kemik iliğinden dalağa göç ederler. Kandan geçen B hücresi öncelikle dalağın kırmızı pulpasına ve zona marginalise girer. Daha sonra beyaz pulpadaki sinüs marginalis sınır (lining) hücreleri karşısında göç eder. Burada bu hücreler IgD eksprese eder ve hücrelerin maturasyonu bu bölgede olur. Buna rağmen zona marginalis B hücreleri esasen dalaktaki zona marginalisde ikamet eder. B hücre gelişimi ve matür B hücre fonksiyonu için hücre migrasyonu oldukça önem arz eder (Cariappa vd., 2007, Henderson vd., 2010). Dalağa göç eden ve burada farklılaşan B hücreleri, foliküler B hücreleri yada marginal bölge B hücreleri adını alırlar (Fettke vd., 2014). Saf foliküler B hücreleri yüksek düzeyde IgD ve CD23 eksprese ederler (Cariappa vd., 2007).

Saf B hücreleri HEV boyunca kandan lenf noduna girer ve T hücre bölgesi boyunca göç eder. Efferent lenf boyunca geçmeden önce yaklaşık 24 saat foliküllerde vakit geçirir. Antijenle karşılaştığında, B hücresi antijene özgü Ig molekülü eksprese eder ve folikül ve T hücre bölgesi arasındaki çizgide göç eder. Bu bölgede antijene özgü CD4+ T helper hücresi MHCII molekülü bağlamında antijenden türetilmiş peptidler antijene özgü B hücreleri T helper hücrelerinden sinyal alırlar, proliferer olur. (Pape vd., 2007).

#### *2.3.1.7.2. B1 ve B2 hücreleri*

Fetal ve yetişkin dönemde, B hücreleri anatomik lokalizasyonu, gelişimi, migrasyon kabiliyeti, yüzey markır ekspresyonu ve fonksiyonuna göre alt gruplara ayrılır. B hücre popülasyonunun major 2 alt grubu vardır. Bu hücreler immün yanıtın oluşturulmasında oldukça önem arz eder (Leiben vd., 2008). Bu grupta B1 ve B2 hücreler yer alır. B1 hücreleri B1a ve B1b altgruplarına ayrılır (Fettke vd., 2014, Leiben vd., 2008).

Foliküler B hücreleri ve zona marginalis B hücreleri B2 hücre popülasyonunu oluşturur. Foliküler B hücreleri kemik iliğindeki prekürsörlerden üretilir ve dalakta, lenf nodu folikülleri ve diğer periferik lenfoid dokularda kolonize olurlar (Fettke vd., 2014, Song vd., 2003).

B2 hücreler adaptif(kazanılmış) humoral immün yanıtta merkezi rol oynar. Hipermutasyona uğramış antikorları üretme kabiliyeti vardır. Immatür B2 hücreleri kemik iliğinde gelişir, dalağa göç eder ve geçici B hücresi olarak bilinir (Noh vd., 2011). Foliküler B hücrelerinin antijene

maruziyetiyle T hücre bağımlı maturasyon geçirir. Bu maturasyon hafıza B hücreleri ve plazma içerisinde farklılaşma, hipersomatik mutasyon ve immunglobulinlerin anahtarlaşmasıyla şekillenir. B2 hücreleri kısa ömürlü olup antijen stimülasyonu sonucu proliferer olur. Zona marginalis B hücreleri doğuştan kazanılmış lenfositler gibidir. Antijen stimülasyonu olmaksızın doğal antikor üretir. Patojenik antijenlere karşı T hücre bağımsız antikor yanıtı oluşturur. Antijen yakalama, taşıma ve sunma görevleri vardır. B2 hücrelerinin aksine zona marginalis B hücreleri dolaşmaz dalağın sinüs marginalisinin yakınında ikamet ederler. B2 hücreleri erken dönemde farklılaşmış antikor sekrete eden plazma hücrelerine yol açarak hümmoral immünitenin ana oyuncularındandır. Antikor immün yanıtı oldukça komplekstir. Sekrete edildiklerinde antijenleri tanır ve antijenleri yıkar. Antijen-antikor kompleksi oluştururlar. B2 hücreleri regülatör B hücreleri olarak bilinir. Aşırı inflamatuvar yanıtı inhibe ettikleri gözlemlenmiştir (Fettke vd., 2014, Cerutti vd., 2011).

B hücrelerinin fizyolojisi antikor üretimindeki rollerinde üstlendiği yeni fonksiyonlarıyla değiştirilir. B hücrelerinin yeni popülasyonu olarak bilinen regülatör B hücreleri immün yanıtı baskılar. Böylece patojenik otoimmunitiyi engeller. Bu hücrelerin fonksiyonlarındaki değişiklikler, immün homeostazisi olumsuz yönde etkileyerek sinyali artırır (Jamin vd., 2008, Noh vd., 2011). Regülatör B hücrelerinin ana ayırıcı özelliği IL-10'nun üretimidir (Noh vd., 2011). IL10'nun pleiotropik (birden fazla etkisi olan bir gene veya mutasyona dair) immünoregülatör aktivitesiyle antiinflamatuvar gücü vardır. B2 hücreleri, splenik B hücrelerinin %1 ila 3'ünü oluştururlar. T hücre bağılı inflamatuvar yanıtı kontrol ederler (Fettke vd., 2014).

B hücre popülasyonunun fonksiyonel farklılığı yaşamın erken dönemlerinde gelişir. Öncelikle B2 hücreleri daha sonra B1 hücreleri gelişir. B1 hücreleri primer olarak periferel kanda yerleşke edinir. Bu hücrelerin yüzey markerları CD45, IgM, CD23-, CD43+, IgD'dir (Marti vd., 2001, Cerutti vd., 2011).

Matür periferel B hücreleri, B1 hücrelerini içerir. B1 hücreleri, daha çok plevral kavite ve peritoneal kavitede ikamet ederler. Bunun yanı sıra dalakta da bulunurlar (Song vd., 2003, Cerutti vd., 2011). Matür B hücrelerinin; antijen tanıtımı, hafıza hücresi ve plazma hücresi üretimi gibi önemli fonksiyonları mevcuttur (Marti vd., 2001, s. 617-29). B1 hücreleri, zona marginalis, germinal merkez B hücre altgruplarında, kazanılmış bağışıklıkta immün yanıtın oluşturulmasına katkıda bulunur (Leiben vd., 2008). IL-10 sekrete eden B hücreleri regülatör B hücrelerinin bir tipidir. Bu hücreler inflamatuvar yanıtı baskırlar. Aynı zamanda bu hücreler akut enflamasyon boyunca Th1/Th7 hücreleri inhibe ederken T regülatör hücrelerini indükler (Cerutti vd., 2011).

B1 hücreleri otoimmünitede major rol oynar. B1a ve B1b hücreleri yetişkinlerdeki, yenidoğandaki ve fetüsteki doğal antikor üretiminden sorumludur. Otoimmün hastalıklarda otoantikor üretimini arttırır (Noh vd., 2011). B1 hücreleri doğal immün yanıtın bir parçasıdır ve doğal antikorlar üretirler. Bu hücreler hafıza B hücreleri içerisinde gelişmez (Fettke vd., 2014). B-1a B hücrelerinin temelde 3 ana fonksiyonu vardır. İlki, T hücre bağımsız immün yanıtta görev almalarıdır. İkincisi, doğal antikorlar üreterek bakteriyel ve viral enfeksiyonlara karşı doğal immün sistem ile koordineli bir şekilde hareket etmeleridir. Üçüncüsü ise immünglobülinlere dönüşebilmektedirler. Yeni yapılan çalışmalarda B1a B hücrelerinin dalakta üretildiği, splenektomi yapılan farelerde B1a popülasyonunda azalma olduğu tespit edilmiştir (Tarantino vd., 2013).

### *2.3.1.7.3. Plazma hücreleri ve hafıza hücreleri*

Uzun ömürlü plazma hücreleri genellikle yüksek afinitelidir. Bu plazma hücreleri yüksek afiniteli antikorlar sekrete ederler, patojenlerle savaşır. Hafıza B hücreleriyle birlikte immüniteye katkıda bulunurlar (Good-Jacobson, 2014, Cerutti vd., 2011).

Hafıza B hücreleri spesifik yüzey antijen reseptörüyle ifade edilir. Antijen bu hücrelerin hatırlama tepkisi için gereklidir. Tekrarlayan enfeksiyon boyunca hafıza B hücreleri hızlı bir şekilde farklılaşır. Sayıca oldukça fazla olan yüksek benzerlik gösteren antikorlar serumda hazırırlar. Böylece etkin bir şekilde saldırı bloke edilmiş olur. Uzun ömürlü plazma hücreleri seçilmiş immünglobulin düzeyini sabit tutar. Ama tekrarlayan enfeksiyon durumunda özellikle faydalı antikorların konsantrasyonu artar. Çünkü hafıza B hücreleri eylemdeki görevine çağrılır. Koruyucu antikorlar genellikle IgG izotipleridir (Capolunghi vd., 2013).

Yavru hayvanlarda plasenta yoluyla IgG antikorlarının geçişiyle immünolojik bir hafıza oluşması mümkündür. Yavru, annesinden aldığı bu immünolojik deneyim ile postnatal yaşamın ilk ayında bütün enfeksiyonlara karşı korunacaktır. Yenidoğan aynı zamanda anne sütüyle ve ilk süt olarak bilinen kolostrum sayesinde maternal IgA antikorlarının da alacaktır. IgA antikorları plazma hücrelerinden üretilir. Bağırsaklarda antijenlere karşı maternal immün yanıtı geliştirir. Süt antikorları yenidoğan metabolizmasındaki bakteriyel kolonizasyonu kontrol eder. Yenidoğanı enterik enfeksiyonlara karşı korur (Capolunghi vd., 2013).

Yetişkinlerin ve yavruların korunması sıklıkla IgG ve IgA antikorları ve hafıza B hücreleriyle sağlanır. Hafıza B hücreleri doğal enfeksiyon veya aşılama ile örtüşen anahtar gibi bir vazife üstlenerek indüklenir. Periferik kandaki hafıza B hücrelerinin diğer popülasyonu IgM hafıza olarak adlandırılır. IgM hafıza B hücreleri, doğal hafıza veya doğal efektör hafıza olarak bilinir. Germinal merkezlerde bulunmazlar. Bu hücreler, doğal

antikorlar ve extra-foliküler-timus-bağımsız yanıtlar üretirler (Capolunghi vd., 2013).

Sağ kalan hafıza B hücreleri sadece spesifik tekrarlayan uyarıya bağlıysa nadir bulunan patojen ile karşılaştığında hafıza hücrelerinin kademeli olarak kaybı beklenir. Bu durum organizma için oldukça kötü bir durumdur. Yapılan çalışmalarda hafıza B hücrelerinin fonksiyonu ve hayatta kalmasıyla ilgili uyumsuzluk B hücrelerinde birçok tabakanın varlığını gösterir. Antijene bağlı ve bağımsız hafıza B hücreleri aynı anda bulunurlar. Bu hücreler farklı hayatta kalma gereksinimleri ve efektör fonksiyonlara sahiptir (Capolunghi vd., 2013). Hem IgM hem de anahtarlanmış hafıza B hücreleri somatik mutasyonlu immünglobülinleri taşır. Bu yüzden hafıza B hücreleri diye adlandırılırlar (Capolunghi vd., 2013). B hücreleri germinal merkezden önce somatik mutasyon taşımalıdır ki bu yüzden hafıza hücresi adını alırlar (Capolunghi vd., 2013).

IgM hafıza, anahtarlanmış hafızadan farklıdır. Anahtarlanmış hücreler VH1 ailesi ve VH3 genlerini kullanır. Hafıza B hücrelerinin iki popülasyonu aynı antijene yanıt oluşturmamayan farklı mekanizmalara sahip olarak üretilirler. IgM hafıza hücreleri, anahtarlanmış hafıza B hücreleriyle birlikte üretilir. Bu hücreler germinal merkezdeki antijene T bağımlı reaksiyonda üretilir. IgG antikorları, aşı, antijen ve enfesiyöz ajanlara karşı özeldir. Ve anahtarlanmış hafıza B hücreleri tarafından üretilirler. IgM hafıza B hücreleri, daha az mutasyona sahiptir. Bundan dolayı, germinal merkezin reaksiyonunun erken dönemlerinden elde edilirler (Capolunghi vd., 2013). IgM hafıza B hücrelerinin çoğalması periferal kanda bulunan anahtarlanmış hafıza B hücrelerine bağlıdır. Öncelikle IgM ve daha sonra IgG yi ifade eden hafıza B hücreleri antijene yanıt veren germinal merkezden üretilir (Capolunghi vd., 2013).

Hafıza B hücreleri, doğal sinyallerle tetiklenerek oluşur. Yenidoğanlarda, IgM hafıza B hücreleri ve antikoru savunmada ilk seçenektir. IgM hafıza B hücreleri antijenle karşılaşınca antijene özel yanıt oluşturur. IgM hafıza B hücreleri, yenidoğanda, konjenital asplenik ve splenektomi olmuş bireylerde ve yaygın değişken immün yetmezliği (CVID) olan hastalarda yoktur. Gebelik boyunca anneden yenidoğana IgG pasif olarak geçer. Yapılan in vitro çalışmalarda IgM hafıza B hücrelerinin antibakteriyel antikorlar ürettiği tespit edilmiştir. IgG insanlarda bol miktarda bulunur ve koruyucu bir antikordur. Yenidoğana gebeliğin son aylarında anneden geçer. Maternal IgG antikorları sistemik enfeksiyonları önler. Sadece anne sütüyle beslenme solunum ve gastrointestinal enfeksiyonların sıklığını ve şiddetini azaltır. Gelişmekte olan ülkelerde anne sütüyle beslenme mortaliteyi oldukça düşürmüştür (Capolunghi vd., 2013).

Yenidoğanlarda hafıza B hücreleri yoktur. Bu hücreler aşı ve enfeksiyon deneyimiyle oluşur. Anahtarlanmış hafıza B hücrelerinin



fonksiyonu maternal IgG tarafından yerine koyulur. Yenidoğanlarda T-bağımsız immün yanıtın düzenlenmesi olanaksızdır ve bu durumda koruyucu IgM üretilmez. Yenidoğanların intestinal enfeksiyonlara yakalanma riski daha fazladır. İnsan IgM hafıza B hücreleri farelerdeki B-1a B hücreleriyle bazı fonksiyonlar açısından benzerlik gösterir. Bu hücreler tıpkı insandaki gibi doğal IgM üretirler. İmmün sistem organlarından timus, dalak, kemik iliği, lenf nodları savunmamızda tamamlayıcı komponentlerdir. Dalak ile timus en eski lenfoid organlardır (Capolunghi vd., 2013). İnsanlarda bütün hafıza B hücreleri tekrar kan dolaşımına katılırlar ama rezervuar kaynakları dalak, kemik iliği gibi lenfoid dokulardır (Lanzavecchia&Sallusto, 2009).

Dalak, sekonder lenfoid organların en büyüğüdür. Hafıza B hücreleri için bir rezervuardır. Normalde zona marginaliste lokalizedirler. Stratejik olarak lokalize olmaları zona marginalisteki makrofajlar tarafından yakalanan patojenlerle hızlı bir şekilde karşı kaşıya gelmeleri için bir avantajdır. Bu sayede hızlı bir immün yanıt gerçekleşir (Capolunghi vd., 2013, Leiben vd., 2008).

Birçok B hücresi dalaktaki beyaz pulpanın içindeki foliküllerde yerleşmiştir. Bu hücreler foliküler dendritik hücrelerin antijeni sunmasından sonra göç eder. Foliküler dendritik hücreler aynı zamanda B hücreleri için güçlü bir kemoatraktandır. Zona marginalis B hücreleri, dalaktaki sekonder major B hücre popülasyonunu oluşturur. Bu popülasyon kırmızı pulpa ile beyaz pulpa arasındaki zona marginaliste lokalizedir. Zona marginalis, sinüs marginalis tarafından beyaz pulpadan ayrılır. Sinüs marginalis terminal arteriollerin açıldığı kanın ayrıldığı bir bölgedir. Bu sinüsün dış sınırı deliklidir. Kan kırmızı pulpaya ulaşmadan önce zona marginalis boyunca geçer. Zona marginalis'teki hücreler antijenlere hızlı bir şekilde maruz kalır. Zona marginalis B hücrelerinin yüzey fenotipi tektir. Yüksek oranda nonklasik MHC molekülü, CD35 (CR1) ve CD21 (Cr2) gibi komplement reseptörleri ekprese eder (Cinamon vd., 2008, s. 54-62). Yapılan çalışmalarda B hücrelerinin dalakta kritik rol oynadığı tespit edilmiştir. B hücreleri splenik T bölgesi stromal hücre gelişimi ve kemokin ekspresyonunu artırır. B hücreleri 2 tip sinyal oluşturur. Dalaktaki CD4+ ve CD8+ T hücre birikimini sağlar. Dendritik hücrelerin birikmesini indükler (Ngo vd., 2001).

### **2.3.2. T hücreleri**

#### **2.3.2.1. T hücre gelişimi**

Kemik iliğinde pluripotent hücreler gelişip farklılaşarak pre-T hücrelerini oluştururlar. Pre- T hücreleri, farklılaşarak timusa göç ederler. Bu hücreler hızla çoğalarak olgunlaşırlar. Timusta T hücreleri bazı spesifik yüzey molekülleri (TCR, CD) edinerek antijene yanıt verecek yeteneğe sahip olurlar (Calder vd., 2002).

Timositler, matür T hücrelerini dışarıya aktarır. Timositler timik epitelyal hücreler ve diğer timik ASH'ler ile yüksek aviditede T hücre reseptörü-peptid MHC kompleksi oluşturuyorsa timositler apoptozise uğrar. Bu duruma negatif seleksiyon denir. Negatif seleksiyon immün tolerans gelişimi için önemli bir mekanizmadır ancak %100 etkili bir sistem değildir. Timustan ayrılan T hücrelerinin periferde efektör fonksiyonlarını ortadan kaldırmaya yönelik bir mekanizma ise T regülatör hücrelerinin (Treg) gelişimidir. Treg'lerin bir alt grubu da timusta gelişir ve yüzeylerinde CD4 ve CD25 ekspresyonu vardır ve transkripsiyonu Foxp3'e bağlıdır (Palmer, 2003).

Genel olarak periferel T hücreleri, normal immün sistem fonksiyonlarında çok aktif değildir. CD4+ ve CD8+ T hücreleri timustan salınır ve farklılaşması durumunda mikroçevreden etkilenir. Özelleşmiş stromal hücreler, her aşamada immatür T hücre öncülleri (prekürsörlerini) nin maturasyonunu etkiler (Anderson&Jenkinson, 2001).

Vücuda giren patojenlerin yok edilmesi için farklı stratejiler gerekir. T hücrelerinin hem hücre içi hem de hücre dışı patojenlerin kontrolünde farklı alt grupları ile kilit görevi vardır. CD4 yüzey markırı eksprese eden T hücreleri hücre dışı patojenleri, CD8 yüzey markırı eksprese eden T hücreleri hücre içi patojenleri kontrol eder. Uyarılmış CD4+ T hücreleri sitokin ve çözünür medyatörler üreterek hücre dışı patojenleri temizler. CD8+ T hücreleri hücre içi organizmalarla enfekte hücreleri doğrudan yok eder. Bir antijenik peptidin CD4+ veya CD8+ T hücrelerinden hangisini uyaracağını peptidi sunan MHC proteinleri belirler (Calder vd., 2002).

#### *2.3.2.2. T hücrelerinin sınıflandırılması*

Timüste işlenen lenfosit altkümeleri (T hücreleri) ve onların ürünleri: tekrarlayan antijene maruziyete karşı etkili lenfokinlerdir. Fonksiyonel olarak T lenfositleri major anlamda T helper hücreleri (CD4+) ve T sitotoksik/supresör hücreler (CD8+) olmak üzere 2 alt gruba ayrılır (Marti vd., 2001).

##### *2.3.2.2.1. Saf T hücreleri*

Saf T hücreleri, dendritik hücreler tarafından sunulan antijeni aramak için sekonder lenfoid organlardaki T hücre bölgelerinde seyahat eder. Aktive edildiğinde hızlı bir şekilde proliferer olurlar ve inflame dokuya ya da B hücre bölgesine göç edebilen efektör hücreleri üretirler (Sallusto vd., 1999).

Saf T hücreleri bir günde antijen aramak için 10000 milin üzerinde dolaşır. Herbir dendritik hücre bir saatte 5000 T hücrelerine dokunur. Tarama yapmak için 1 milyonun üzerinde birikir. Sürekli değişen geçici hücre-hücre etkileşimlerinin muazzam ağı adaptif immün sistem

fonksiyonları boyuncadır. Bu yoğun tarama bulguları, T hücre antijen reseptörü (TCR) ve dendritik hücreler ve antijen arasında olur. Bu etkileşim T hücre deselerasyonu (yavaşlama)nun telaffuzuyla uzayabilir. Sonuç olarak uzun süreli etkileşim immunolojik sinaps olarak bilinir (Batista&Dustin, 2013).

#### 2.3.2.2.2. T helper hücreleri (yardımcı T hücreleri)

T helper (Th) hücreleri temel olarak IL-2 sentez ederler. Th hücreleri Th1 ve 2 olmak üzere alt gruplara ayrılır. Th1, natural killer hücreleri, makrofajlar ve T sitotoksik hücreleri aktive ederek antijenlerle savaşır. Th1 hücreleri, IL-2 ve interferon (IFN) gamayı sentez ederek farklılaşır. Th1 hücrelerinin proinflamatuvar rolü vardır. Intraselüler patojenler Th1 aktivitesiyle indüklenirler, çünkü antijen sunan hücrelerin major kaynağı IL-2'dir (Calder vd., 2002).

Th2 hücreler; hücre dışı antijenlere karşı immün cevapta kritiktir. Th 2 hücreleri, IL-4, 5 ve 13'ü üretirler (Wan&Flavell, 2009, s. 20-36). Paraziter enfeksiyonların giriş yeri olan deri, akciğer ve bağırsaklardaki epitelyal hücreler ve doğal immün sistemin residan hücreleri parazit ürünlerini tanıyarak timik stromal lenfoprotein, IL-4, IL-25 ve IL-33 dahil Th2 tetikli sitokinleri üretir. Bu sitokinler doğal immün sistem hücrelerini örneğin bazofil ve dendritik hücreleri etkiler veya doğrudan saf T hücrelerinin Th2'e farklılaşmasını sağlar (Wan&Flavell, 2009). IL-4 reseptörü ile etkileşerek STAT6'yı aktiveleştirir. STAT6 Th2 hücrelerinin farklılaşma sürecinde oldukça önemli roller üstlenir. STAT6 aktivasyonu, nükleer translokasyon ve GATA3 denilen transkripsiyon faktörünün indüksiyonunu güçlendirir. GATA3, Th2 farklılaşmasında başlıca düzenleyicidir. GATA3 IL-4,5,13'ü kodlayan genleri de kapsar. Th2'ye bağlanır ve Th2'yi aktiveleştirir. Böylece Th2 sitokin üretimini düzenler. GATA3 fonksiyonu bozulduğunda Th2 farklılaşması gerçekleşmez. Fareler üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda, TCR'nin peptid ligandlarına afinitesi azaldığında azalan uyarımın Th2 hücre farklılaşmasına yol açtığı tespit edilmiştir. CD28 veya CD80/86 eksik farelerde Th2 cevabında defekte sebep olduğu gösterilmiştir (Wan&Flavell, 2009).

Olgun Th2 hücrelerinden üretilen IL-4, antijenle karşılaşma sonrası daha fazla saf T hücrelerinin Th2 hücrelerine farklılaşmasını indükler. IL-4, B hücrelerinde IgE sınıf dönüşümüne aracılık eder. Th2 hücrelerinden üretilen IL-5 eozinofilleri toplar ve Th2 kaynaklı IL-13, helmintlerin atılmasına ve havayolu aşırı duyarlılığının artmasına neden olur. Aşırı Th2 yanıtı alerji ve havayolu duyarlılığı ile ilişkilidir (Wan&Flavell, 2009, Calder vd., 2002).

#### 2.3.2.2.2.1. T foliküler helper hücreleri

T foliküler helper (Tfh) hücreleri germinal merkezin B hücre foliküllerinde lokalizedir. Bu hücreler ilk olarak tonsillerde farkedilmiştir. T hücrelerinden CXCR5 ekspresyonu B hücre foliküllerinde bu hücrelerin migrasyonu için oldukça önemlidir (Chang&Chung, 2014). CXCR5, CXCL13 kemokin reseptörüdür (Crotty, 2011). Başlangıçta aktive edilmiş CD4+ T hücreleri geçici olarak CXCR5 eksprese eder. Bazıları da CXCR5 eksprese eden Tfh hücreleri içerisinde farklılaşır. Bu yüzden Tfh hücreleri B hücre folikülleri içerisinde göç eder. Foliküler dendritik hücreler ve Tfh hücrelerin bu yüzden yüksek afiniteli antikorlar ve uzun ömürlü hafıza B hücreleri üretimi kaçınılmazdır. Bu hücreler B hücrelerine kostimülatör sinyal görevi gören IL-21 gibi sitokinleri sağlayarak B hücreleri, hafıza B hücreleri ve uzun ömürlü plazma hücrelerinde farklılaşır (Chang&Chung, 2014). Böylece Tfh hücreleri B hücreleri ile etkileşerek fonksiyonlarını gösterir. Tfh hücreleri diğer T hücre alt gruplarından daha fazla miktarda CD40L, ICOS, ve OX40 gibi eşuyaran molekülleri eksprese eder. Bu eş-uyaran moleküller B hücre farklılaşmasına yol açtığından Tfh hücrelerde bu molekülün yüksek ekspresyonu B hücrelerinin antikor üretimini artırır (Crotty, 2011, s. 621-63). Hümorale immün yanıtlardaki, Tfh hücreleri, germinal merkezin B foliküllerine göç etme yeteneğine sahip efektör T hücrelerinin altunitidir. Kontrol edilemeyen Tfh yanıtları otoimmüniteyi tetikler (Chang&Chung, 2014).

#### 2.3.2.2.2.2. T helper hücrelerinin aktivasyonu

Antijenlerin ürettiği lenfokinler vasıtasıyla T helper lenfositleri stimüle olur. Bu durum Th ve B lenfositlerinin etkileşimiyle makrofajların farklılaşması ve proliferasyonunu artırır. Ve immünglobulin üretimine neden olur. Antijen sunan hücreler hem T hem de B hücrelerine antijenin girişini kolaylaştırır (Marti vd., 2001).

CD4+ T helper hücreler sitokinlere bağlı fonksiyonel özelliklerin olduğu farklı alanlarda gelişme kabiliyetine sahiptir. B hücre farklılaşması plazma ve hafıza hücrelerinde foliküler helper T hücreleri, T bağlı antijene maruziyeti takiben gerçekleşir. Bu farklılaşmaya aracılık ederek farklılaşan B hücreleri hümorale yanıtı CD4+ T hücreleri yanıtı için regüle eder. Antijenin ilk girişi sonrası saf B hücreleri antijenle karşılaşır MHCII kompleksi antijeni içine alır sonra Tfh hücrelerden yardım almak için T-B hücre sınırına hareket eder. Tfh hücrelerin yardımıyla antijen spesifik B hücreleri germinal merkezde proliferasyon gösterir. Daha sonra plazma yada hafıza B hücreleri içerisinde gelişir. Tfh genellikle germinal merkezde ikamet eder. Ana fonksiyonu germinal merkez B hücrelerinin klonal seleksiyonunun regülasyonudur. Immünglobulin üretimi için B hücrelerine sinyal sağlar. Foxp3 eksprese eden Tfh alt popülasyonu germinal merkez reaksiyonunu inhibe eder (Chen vd., 2012).

#### 2.3.2.2.3. *T foliküler regülatör hücreler*

T foliküler regülatör (Tfr) hücrelerinin ekprese ettiği CXCR5, ICOS ve Pd-1 germinal merkezin antikör afinite maturasyonu plazma hücrelerinin farklılaşması gibi fonksiyonları içeren reaksiyonunu baskılar. Tfr hücrelerinin immüno-supresif etkisi vardır. Doku nekroz faktör reseptörleriyle ilgili faktörler (TRAF) sitoplazmik adaptör proteinlerdir ve hem doğal hem de kazanılmış immün hücrelerin aktivasyonunda önemli rol oynarlar. Traf ailesindeki moleküller çeşitli inflamatuvar yanıtta yolakların aktivasyonunu indükler. Bu aileye mensup CD40 T hücreleri T hücre reseptörünün sinyali için kritiktir (Chang&Chung, 2014).

#### 2.3.2.2.4. *T regülatör hücreler*

T regülatör hücreler fizyolojik ve patolojik immün yanıtın negatif kontrolünde rol oynarlar. T regülatör ve natural killer hücreler doğal ve kazanılmış bağışıklıkta immün yanıtı düzenler (Ma vd., 2007). T regülatör hücreleri immün sistemde oldukça önemlidir. Beklenmedik veya aşırı immün yanıtı baskılayarak immün homeostazise katkıda bulunur (Kim vd., 2008). T regülatör hücreleri immün sistemi çeşitli yollarla düzenler (Issazadeh vd., 2012). CD8+ T reg hücreler CD8+ T hücrelerinin supresör etkiye sahip alt popülasyonudur (Chang&Chung, 2014, s. 227-36). Timustan derive olan T regülatör (Treg) hücrelerinin yaklaşık %5- %10'u periferik CD4+ T hücrelerinden oluşur (De Rosa vd., 2007, Ma vd., 2007).

T hücre yanıtını inhibe eder. T regülatör hücreler Foxp3 (forkhead ailesi transkripsiyon faktör) eksprese eder. Foxp3, Treg hücrelerinin en fazla eksprese olan spesifik yüzey markıdır. T hücrelerinin gelişimi ve fonksiyonu için anahtar kontrol genidir (De Rosa vd., 2007, Ma vd., 2007). Foxp3+ Treg hücreler CD4+ T hücrelerinin alt ünitesidir. T helper hücrelerinin sitokin üretimini ve proliferasyonu inhibe etme yeteneği vardır. Yapılan birçok çalışmada, T reg hücrelerinin T helper hücreleri suprese ettiği tespit edilmiştir. T reg hücrelerindeki Foxp3 ile beraber herhangi bir transkripsiyon faktörünün ekspresyonu gerekir (Chang&Chung, 2014).

#### 2.3.2.2.5. *CD8+ T Hücreleri*

CD8+ T hücreleri hücre immün yanıtın kritik bileşenlerinden olup viral enfeksiyonun kontrolünde kritik rol oynarlar. Mikroorganizma ile karşılaştığında MHC I vasıtasıyla antijeni tanır ve sitotoksik ya da supresör etki gösterir (Gülzar&Copeland, 2004).

#### 2.3.2.2.6. *Natural killer T hücreleri*

Natural killer T hücreleri immün hücrelerin nadir alt ünitesindedir. Karaciğerdeki toplam lenfositlerin %30-50'sini teşkil eder. Bu hücreler, MHC I'in sunduğu glikolipid yapısındaki antijenleri tanıyan yarı-değişmez T

hücre reseptörü eksprese ederler. T hücre reseptörlerinin aktivasyonu ile natural killer hücreleri hem Th1 hem de Th2 sitokinlerini (IL-4 ve interferon gama gibi) üreterek immünoregülatör fonksiyonları kullanırlar. Aynı zamanda natural killer hücreler birçok hastalığa karşı korur (Martin-Murphy vd., 2014). Natural killer T hücreleri hem natural killer hem de T hücrelerinin karakteristik özelliklerinin birleşimidir. Bu hücreler glukolipidi tanıyan T hücre alt grubudur (Strodhoff vd., 2013).

Natural killer T (NKT) hücreleri yarı-sabit T hücre antijenleri eksprese ederler. MHC I antijen kompleksi tarafından sunulan glukolipit antijenleri tanırırlar. Natural killer hücrelerinin salgıladığı sitokinler adaptif immün yanıtın şekillenmesinde oldukça önemli rollere sahiptir. Aynı zamanda bu hücreler adaptif immün sistemde önemli savunma görevleri üstlenir. Kalitatif ve kantitatif çalışmalar diyetin immün yanıtı direkt etkilediğini gözlemlemişlerdir. Diyetin allerjenler/antijenler gibi rol alması, immün sistemdeki beslenme/enerji metabolizmasındaki modülasyonu immün yanıtındaki değişiklikleri açıklar. Yüksek yağlı diyetle maruz kalmış farelerdeki natural killer hücrelerin sitokin profili antijen sunan hücrelerin fonksiyonunu etkiler (Miyazaki vd., 2008).

Natural killer T hücrelerinin doğal immün sistemde önemli görevleri olup hem T hücre yüzey markırı hem de natural killer hücre yüzey markırını eksprese eder. Bu hücreler timusta orijinlenir ama karaciğerde birikir, diğer mononükleer hücreler vasıtasıyla lokal proinflatuar (Th-1) ve antiinflatuar (Th-2) sitokin üretimini regüle ederler. Hepatik NKT hücrelerdeki azalma, anti inflamatuar sitokinlerin ekspresyonunun azalması ve proinflatuar sitokinlerin aktivitesi ve hepatik ekspresyonunun artmasıyla ilgilidir. Yüksek yağlı diyet, hem NKT hücre apoptozisinde artışına hem de IL12 de artışa sebep olmaktadır. IL-12'deki artış hepatik NKT hücrelerinde azalmaya sebep olur (Li vd., 20055).

### *2.3.2.3. T hücre hafızası*

Enfeksiyonun kontrolü sağlandıktan sonra antijene özgü T hücrelerinin küçük bir kısmı olduğu gibi kalır. Bu hücreler uzun ömürlü T hücreleridir. Ayrıca bu hücreler, saf ve aktif T hücrelerinden farklıdır. Homeostatik çoğalma ile kendini yenileme ve antijenle tekrar karşılaştığında hızla çoğalma gibi efektif fonksiyonları vardır. Saf T hücrelerinden nasıl hafıza hücresi geliştiği tam olarak bilinmemektedir. Bir teori modeline göre, hafıza T hücreleri aktif efektör T hücrelerinden gelişir. Diğer teori modeline göre ise, saf T hücreleri aktifleştğinde rastgele olacak şekilde efektör veya hafıza hücrelerine dönüşürler. Hafıza hücreleri, efektör hafıza ve merkezi hafıza olmak üzere 2 gruba ayrılır. Efektör hafıza hücrelerinde, CD62L ve CCR7 molekül ekspresyonu yoktur. Bu moleküller, lenf noduna hafıza hücrelerini yönlendirir. Efektör hafıza hücreleri, antijenle tekrar karşılaştığında hızla sitokin üretir. Bu hücreler daha çok akciğer ve bağırsak mukozası gibi antijen giriş alanlarında bulunur.

Merkezi hafıza hücreleri ise yüksek oranda CD62L ve CCR7 eksprese ederler. Bu hücreler lenfoid dokularda bol miktarda bulunur. Antijenle karşılaşınca hızla çoğalır. IL-2 hafıza hücre farklılaşması için gerekli iken, IL-7 ve IL-15 hafıza hücrelerinin devamlılığı için gereklidir (Zhu &Paul, 2010).

#### 2.3.2.4. İmmunolojik sinaps

İmmunolojik sinapsın gerçekleşmesi için ilk adım, T hücre yüzeyindeki integrinlerle antijen sunan hücrelerin yüzeyindeki ligandlar arasındaki etkileşimdir. Bu sayede iki hücre birbirine yaklaşır. Bu etkileşim kurulduktan sonra T hücre reseptörleri gelişen sinapsın ortasında birikir ve integrinler kümelenen T hücre reseptörlerinin etrafını bir yüzük gibi sarar. Bu sırada T hücrenin aktin sitoskeletonu yeniden organizasyon meydana gelir ve yapı stabilize hale gelir. İmmunolojik sinaps, dinamik bir yapıdır ve aynı zamanda T hücre reseptörleri ve integrinler dışında birçok sinyal molekülünü de kapsayan kompleks bir olaydır. İlk tanımlandığında immünolojik sinapsın T hücre reseptörleri kümelenmesi ve inaktif sinyal moleküllerinin başlatılmasına yol açtığı düşünülmüştür. Fakat T hücre reseptörlerinin sinyali, immünolojik sinapsın önce gerçekleşir ve aktif reseptörler internalize edilerek cevap verme kabiliyetleri durdurulduğu düşünülmektedir. T hücre reseptörleri ligand aviditesinin düşük olduğu durumlarda, sinaps ile olan temasını koruyarak sinyali geliştirir. Sinapsın bir diğer önemli fonksiyonunun, T hücrelerinden sitokin salınımına odaklanması ve bu sayede efektör fonksiyonlarını gösterme yeteneklerini arttırmak olduğu düşünülmektedir (Dustin vd., 2011)

#### 2.3.2.5. Antijen tanıma

T hücreleri, MHC proteinleri üzerindeki antijen sunan hücreler olarak bilinen hücrelere bağlı peptid antijenleri tanır (Calder vd., 2002). MHC kortikal epitelyal hücrelerden eksprese olur. T hücre reseptörü (TCR), MHC I veya II'ye antijenin tanıtılmasında kullanılır. Aynı zamanda CD4+ veya CD8+ koreseptörleri eksprese edilir. MHC ligandlarına yüksek oranda afinite yani benzerliği olan T hücre reseptörlerini taşıyan timositlerin maturasyonu negatif seleksiyon yoluyla engellenir. (Grubin vd., 1997). MHC I, sitotoksik CD8+ T hücrelerine antijen sunarak aktive eder. MHC II CD4+ T hücrelerini (T regülatör yada helper hücreleridir) aktive eder ve profesyonel antijen sunan hücrelerdir. Antijen sunulan T hücresi T hücre reseptörüne bağlanarak aktivasyonun ilk adımını başlatır. T hücresi daha sonra T hücre membranına bağlanan antijen sunan hücrelerle ikinci sinyali alır (Montes vd., 2013). Ekstrasellüler patojen tanıldıktan sonra antijen sunan hücre tarafından fagosite edilir. Bu süreçte patojen komplemant yada antikorlar ile kaplanır. Bu süreçten sonra patojen, MHC-II'nin hücre yüzeyine lokalize olur. Ve T lenfositleri yüzeyindeki T hücre reseptörüne sunulur. MHCII ve T hücre arasındaki etkileşim CD4+ tarafından stabilize edilir (Calder vd., 2002).

### 2.3.2.6. T hücre aktivasyonu

Saf T hücreleri kan ve lenf nodu arasından antijen aramak için dolaşıma geçer. T hücre antijen reseptörü tarafından MHC intranodal karşılaşma olur (Mempel vd., 2004). T hücre yanıtı dendritik hücreler tarafından kontrol edilir. Dendritik hücreler antijen sunan hücrelerdir (Yamazaki vd., 2008). Matur dendritik hücreler, T hücrelerine antijeni sunar. Bu profesyonel antijen sunan hücreler, periferel dokulardaki antijenleri toplar ve lenf damarlarından lenf noduna doğru migrate olur. Dendritik hücreler tarafından ateşlenen T hücresi, proliferasyon, sitokin sekresyonu ve aktivasyon markırlarını indükler (Mempel vd., 2004).

T lenfositlerinin stimülasyonu için sitokinler sekrete edilir. Sitokinler, T lenfositlerinin sayısını, farklılaşmasını B lenfositleri, natural killer hücreleri ve makrofajlar gibi birçok hücreyle aktivasyonunu artırır (Calder vd., 2002). T hücreleri immün tarama yapmak için belirli zamanlarda kan dolaşımını kullanarak dokulara ulaşır. T hücresi uygun antijen sunan hücrelerle (APC) iletişim halindedir. Bu iletişim, klonal yayılıma sebep olan T hücre antijen reseptörü boyunca kademeli olarak biyokimyasal bir süreç başlatır ve böylece immün yanıt oluşur (Negulescu vd., 1996).

Etkili bir immün yanıtın gelişimi için kostimulasyon genelde kritiktir. T hücrelerinin tamamen aktive olabilmesi için iki sinyal gerekir. İlk sinyal, antijene özel yani antijen sunan hücrelerin (APC) üzerindeki peptid-MHC molekülleriyle iletişim kuran T hücre reseptörüyle sağlanan antijene özel yanıttır. İkinci sinyal ise, ko-stimülator sinyaldir. Bu sinyal, antijen nonspesifik bir sinyaldir yani T hücresi ve antijen sunan hücrelerin (APC) membranı üzerindeki ko-stimülator moleküller arasındaki etkileşim yada iletişim ile sağlanır (Kelsoe, 1996).

Lenf nodundaki T hücre aktivasyonu, MHC II kompleksinin tanımayla gerçekleşir. Antijeni alan subkutanöz dokudaki dendritik hücreler subkapsüler sinüs içerisinde göç eder ve bu sinüs arasından geçen hücreler T bölgesine, T hücresine antijen sunulduğunda gelir (Pape vd., 2007).

### 2.3.2.7. Hücre dışında T hücre aktivitesinin sınırlandırılması

T hücrelerinin fonksiyonu ve aktivasyon durumu, ekstrinsik faktörler tarafından sınırlandırabildiği gözlemlenmiştir. IL-10 ve TGF- $\beta$  gibi sitokinler T hücrelerini olumsuz etkiler. IL-10, immün efektör fonksiyonlarını negatif etkiler. Aktivasyon sırasında hem doğal hem de adaptif immün sistem hücrelerinden salınır. IL-10'un reseptörüne bağlanması JAK aracılı sinyali tetikler. Böylece STAT proteinlerin nükleer translokasyonuna ve inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunda azalmaya yol açacak transkripsiyonel programın başlamasına yol açar. IL-10, monositlerde inflamatuvar medyatör üretimi ve antijen sunumunu azaltır. T hücrelerinde



çoğalma kapasitesini ve sitokin salma kapasitesini azaltır. TGF- $\beta$ , Treg'lerdeki Foxp3 upregulasyonu için önemlidir. Bu sitokin immün baskılanmaya yönelik değişikliklere neden olur. TGF- $\beta$  hücre yüzey reseptörüne bağlanarak fosforilasyonu, hücre içi Smad proteinlerin aktivasyonu ve nükleer transportunu sağlar. TGF-  $\beta$  IL-10'a benzer şekilde efektör T hücre farklılaşmasını baskılar, saf T hücrelerinin Treg'e dönüşümünü tetikler. T hücrelerinden IL-2 çoğalma ve üretimini baskılar (Wan&Flavell, 2009).

### **2.3.3. Dendritik hücreler**

Dendritik hücreler, 1972 yılında keşfedilmiştir. Dendritik hücrelerin keşfiyle antijen sunumunun nasıl gerçekleştiği hakkında oldukça önemli bir adım atılmıştır (Steinman, 2007). Dendritik hücreler; hematopoetik hücrelerdir. Bu hücrelerin fonksiyonu lenfositlere antijen sunmaktır (Gatto vd., 2010). Dendritik hücreler, bütün lenfoid ve lenfoid olmayan organlarda bulunan, hem doğal hem de kazanılmış bağışıklıkta önemli rol oynayan, profesyonel antijen sunan hücrelerdir (Dieu vd., 1998, Stefanovic vd., 2012). Aynı zamanda bu hücreler, immün yanıtta makrofajların aktivasyonunu ve güçlendirilmesini sağlarlar (Stefanovic vd., 2012). T hücre bölgesindeki kemik iliğinden derive olan dendritik hücreler, T hücrelerine antijen sunarlar (Inaba vd., 1997).

İmmatür dendritik hücreler periferel dokularda lokalize olur. Dendritik hücreler antijenleri endositoz makro ve mikropinositoz ile reseptörler aracılığıyla yakalar ve saf CD4+ T hücrelerine sunar. Dendritik hücrelerin aktivasyonu toll like reseptör (TLR) ailesi gibi özel yapılı tanıma özelliği olan reseptörler vasıtasıyla olur. TLR tetiklendiğinde dendritik hücreler CD86, CD80, CD40 ve MHCII yüzey ekspresyonunu upregüle eder ve inflamatuvar sitokinler salgınır. Dislipidemi inflamatuvar sitokinlerin üretimi ve aktivasyonunu inhibe eder (Shamshiev vd., 2007).

Dendritik hücreler, MHC moleküllerini antijen sunumunda kullanır. İlk olarak T hücreleri aktive olur. Dendritik hücreler lenfoid dokunun T hücre bölgesine antijen sunar. MHC komplekslerini kullanarak dendritik hücreler T hücrelerinin antijeni tanımasına olanak sağlar. Dendritik hücre maturasyonu T hücre bağlı doğal ve adaptif immünite arasında kritiktir (Steinman, 2012).

Dendritik hücreler yüksek düzeyde hem MHC sınıf I hem de II antijenleri eksprese eder. T hücrelerinin stimülasyonunda etkilidir (Vremec vd., 1992). Dendritik hücreler adaptif immün yanıtın başlatılmasında görev alan antijen tanıtıcı hücrelerdir. Dendritik hücreler, CD4+ helper veya CD8+ sitotoksik T hücrelerine MHC II veya MHC I'i sırasıyla kullanarak antijeni tanıtır. MHC II farklı endotoksik mekanizmayı kullanarak eksojen antijeni MHC I ise tam tersi birçok hücre tipindeki endojen antijeni tanıtır. Dendritik hücreler, MHCI yoluyla eksojen antijenin tanıtımında alternatif

yollar ile bu olayın gerçekleşmesinde rol alabilecek özelleşmiş hücrelerdir (Zietara vd., 2013).

MHC moleküllerinin tanınması antijen spesifik T helper hücreleri tarafından adaptif immüitenin regülasyonunda merkezi rol oynar. Antijenle karşılaşmış dendritik hücreler sekonder lenfoid organların T hücre bölgesinde lokalizedir. Antijen spesifik T helper hücreleri ilk immün sinapsında şekillenir (Mcheyzer vd., 2001).

Dendritik hücreler doğal ve kazanılmış bağışıklık için oldukça önemlidir. Hem doğal hem de kazanılmış bağışıklıkta primer immün yanıtın başlamasında belirgin bir rolü vardır. Bu hücrelerin T ve B lenfositleriyle birlikte etkileşimi süresince immün yanıtın indüklenmesinde de belirgin bir rolü vardır. T hücresinin uyarılabilmesi için dendritik hücreler mature olmuş olmalıdır. Dendritik hücrelerin maturasyonu için birçok koşul gerekir. Bunlar, yüzey MHC sınıf II'nin ve kostimülatör moleküllerin upregülasyonu yani hücre yüzeyindeki reseptörlerinin artması, immünoregülatör sitokinlerin ekspresyonu, sekonder lenfoid organlardaki T hücrelerinin bulunduğu alanlara doğru migrasyonudur (Den Haan&Kraal, 2012).

Dendritik hücreler patojenleri alır ve saf T hücrelerini aktive eder. CD8+ dendritik hücreler daha çok kırmızı pulpaya yakın olan T hücre alanında lokalizedir. CD8- dendritik hücreler zona marginalisin dışında yüzük şeklinde bulunur. Antijen beyaz pulpa içerisine taşınır ve bu aşamada marginal metalofilik makrofajlar rol oynar. Antijenler kendilerinin komplement reseptörleriyle B hücreleri tarafından zona marginalise gelir. Antijen B hücre foliküllerinde foliküler dendritik hücreye transfer edilir. Bu bölgede B hücrelerinin aktivasyonu gerçekleşir. Dendritik hücreler, zona marginalisteki antijeni alır (Den Haan&Kraal, 2012).

Dendritik hücreler periferel dokudaki antijeni yutar ve inflamatuvar sinyal yanıtı oluşturur. Dolaşımdaki T hücrelerine MHC bağlı peptid antijenleri sunulan lenf nodlarına göç eder. Lenf nodunun parakorteksindeki antijen taşıyan dendritik hücreler ve saf CD4+T hücreleri arasında doğal fiziksel etkileşimi adaptif immün yanıtı tetikler (Miller vd., 2004).

#### *2.3.3.1. Dendritik hücrelerin fonksiyonu*

Dendritik hücrelerin gelişimi, fonksiyonu, maturasyonu T ve B hücrelerini etkiler. Dendritik hücrelerin fonksiyonunun şekillenmesinde T hücrelerinin önemli bir rolü vardır. B hücreleri dendritik hücrelerin fonksiyonel maturasyonunun modülasyonunda görülebilir. B hücrelerinin yokluğu dendritik hücrelerden IL-12 ekspresyonunu arttırarak Th1'e doğru T hücre yanıtını yönlendirir. Regülatör fonksiyonlar sitokinler yoluyla olur.

Dendritik hücreler tolerans ve otoimmünite arasında dengeyi kurar ve koruyucu T hücre yanıtını denetler (Zietara vd., 2013).

Dendritik hücreler, T hücre stimülasyonunda görev alır. Aynı zamanda B hücre gelişimi ve Igs'nin sekresyonunu da düzenler (Bayry vd., 2005). Dendritik hücreler, çeşitli fonksiyonlara sahip hücre ağından oluşur. Bu fonksiyonlar; immün yanıtın modülasyonu, T ve B hücrelerine antijen sunumu, immün taramadır. Dendritik hücreler, B ve T hücreleri arasında iletişim kurulması açısından önem arz eder (Crowley vd., 1999).

Dendritik hücreler T ve B hücre fonksiyonunda önemli rol oynar. Özellikle proliferasyonda ve antikor izotipinde rolleri vardır (Wykes&MacPherson, 2000). Dendritik hücrelerin, makrofajların ve B hücrelerinin antijen tanıtıcı özellikleri vardır. Ve antijen tanıtıcı hücreler (APC) popülasyonuna girerler. T hücre geçişli immün yanıtın başlatılması, sürdürülmesi ve şekillenmesinde antijen sunan hücreler önemli bir role sahiptir. Dendritik hücrelerin primer T hücre yanıtının sürdürülmesinde önemli bir fonksiyonu vardır. Bu hücreler hem doğal hem de kazanılmış bağışıklıkta oldukça önemli role sahiptir (Mann&Li, 2014).

Hem doğal hem de kazanılmış immün yanıtın efektör hücreleri olan dendritik hücreler, makrofajlar ve B hücrelerinin patojene karşı koruyucu özelliklerinin yanısıra enflamasyonu önleyici özellikleride vardır. Dendritik hücreler primer T hücre yanıtlarını stimüle eder ve T hücre yanıtının immünojenik (tekrarlayan patojenle savaşma) mi yoksa tolerojenik (tekrarlayan kommensal bakteriyel antijenler) mi olduğunu belirler (Mann&Li, 2014).

#### *2.3.3.2. Dendritik hücrelerin lokalizasyonu*

Dendritik hücreler vücutta herbir dokunun yanında gözlemlenmiştir esasen en yoğun buldukları yer sekonder lenfoid organlardır. Dendritik hücreler dalakta zona marginalis T hücre sınırında yer alır. Dendritik hücreler venöz sinüsler vasıtasıyla dalağa girer beyaz pulpada sinyal alır ve immün yanıtın başladığı yerde lokalize olurlar (Crowley vd., 1999). Tamamen mature olmuş dendritik hücre, T bölgesi içinde göç eder. Dolaşan T hücreleriyle etkileşimi boyunca gerekli sinyalleri alır. İn vitro dendritik hücre üretiminin saf ve CD40 aktive olmuş B hücrelerinin proliferasyonunu arttırdığı gözlemlenmiştir. Plazma hücresinde aktive olan B hücresinin farklılaşmasını indükleyen faktörleri üretir (Crowley vd., 1999).

#### **2.3.4. Foliküler dendritik hücreler**

Foliküler dendritik hücreler antijeni yakalar. Immün yanıtta önemli rol oynar (Ferguson vd., 2004). Foliküler dendritik hücreler T hücrelerinin bulunduğu bölgenin distalinde aydınlık bölgede daha çok bulunur. Foliküler

dendritik hücre ağı büyük oranda aydınlık bölgede antijen depolar. Foliküler dendritik hücrelerin yüzeyindeki antijenin tanınması sadece aydınlık bölgede meydana gelir. Foliküler dendritik hücreler antijen ile mücadele ederek B hücresine antijeni sunar. Germinal merkezde en dıştan içe foliküler bölge, kabuk dış bölge (outer zone), aydınlık bölge, aydınlık/karanlık bölge arayüzü ve en içte karanlık bölge yer alır (Hauser vd., 2007, Inaba vd., 1997). Foliküler dendritik hücreler germinal merkez siklusunda önemli rol oynar (Mcheyzer vd., 2001).

### **2.3.5. Makrofajlar**

Makrofajlar, hem doğal hem de kazanılmış bağışıklıkta enfeksiyon yanıtında anahtar rol oynayan heterojen hücre popülasyonudur. Patojenlere saldırarak fagositozda önemli rol oynarlar. Periferik mononükleer kan hücreleri kemik iliğinden meydana gelir. Fagositozda; bu hücreler kemotaksis ve doku makrofajlarının farklılaşmasıyla enfeksiyon alanına göç ederler. Saldırıya uğramış patojenler fagosom ile içeri çekilirler. Lizozomlar, fagozom ile kaynaşır ve fagolizozom adını alırlar. Fagolizozomlar, enzimlerle patojenleri tahrip ederler ve atıkların dışarıya atılmasını sağlarlar. Aktive olmuş bu makrofajlar sitokinleri üretirler. Sitokinler, diğer makrofajları enfeksiyon bölgesine çekerler. Aynı zamanda proinflamatuvar yanıtın başlamasını sağlarlar. Makrofajlar, nekrotik hücrelerden ortaya çıkan hücresel artıkların uzaklaştırılması ve/veya dokunun yeniden şekillenmesinden sorumludurlar. Bu süreç immün uyarıdan bağımsız meydana gelir ve bu süreçte orada ikamet eden doku makrofajları rol oynar. Makrofajlar, adaptif immünetteki rollerinden dolayı profesyonel antijen sunan hücreler olarak da adlandırılırlar. Makrofajlar, dendritik hücreler, B ve T hücrelerini içeren bir grup hücrenin bir parçasıdır. Antijen fagosite olur ve makrofajların üzerindeki MHC sınıf II molekülüne bağlanır. T hücreleri MHC sınıf II molekülü/antijen kompleksini tanır ve makrofajın yüzeyine bağlanır. Makrofaj, T hücresinin aktive olabilmesi için ko-stimulatör sinyalin ortaya çıkmasını sağlar. Bu süreç, adaptif immün yanıtın diğer T hücrelerine ulaşarak, T hücrelerinin aktivasyonunu tetikler (Harford vd., 2011).

### **2.4. Obezite ve Obezitenin Komplikasyonları**

Obezite, fazla miktarda artan yağ dokusu ile karakterizedir (Alam vd., 2016). Vücut yağ artışı, enerji alımı ve enerji tüketimi arasındaki dengesizlikten kaynaklanır (Lyznicki vd., 2001). Dünya Sağlık Örgütü obeziteyi tanımlarken beden kitle indeksi (BKI) ve bel çevresi ölçümünün kullanılmasını uygun görmektedir (Alam vd., 2016, Lyznicki vd., 2001). Beden kitle indeksi, kilogram olarak vücut ağırlığının metrekare olarak boya bölünmesinin hesaplanmasıyla ölçülür (Lyznicki vd., 2001). 1997'de Dünya Sağlık Örgütü tarafından toplanan Uluslararası Obezite Birimi'ne göre, beden kitle indeksi 25 ile 29.9 arasında olanlar fazla kilolu, beden kitle indeksi 30 veya daha fazla olanlar obez olarak tanımlanmıştır.

Yetişkinlerde abdominal yağ artışı ve beden kitle indeksindeki artış hastalıkların gelişmesi için riski artırır. Beden kitle indeksi 25'in üzerinde olan kişilerde kardiyovasküler ve diğer obeziteye bağlı hastalıkların gelişme oranı önemli ölçüde artar. Eğer beden kitle indeksi 30'un üzerinde ise tablo daha dramatiktir. Bel çevresi erkeklerde 102 cm, kadınlarda ise 89 cm'in üzerinde ise obeziteye bağlı komorbiditelerin görülme riski artar (Tablo 2.1.); (Lyznicki vd., 2001).

**Tablo 2.1.** Obezite ve Kilo Fazlasında; BKİ ve Bel Çevresi Ölçümünün Hastalıklarla İlişkisi

		Bel çevresi ve kilonun hastalık riskiyle karşılaştırılması	
<b>Kilo Kategorisi</b>	<b>BKİ (kg/m<sup>2</sup>)</b>	<b>Bel Çevresi (Risk)</b> Erkeklerde ≤102cm Kadınlarda ≤89cm	<b>Bel Çevresi (Yüksek Risk)</b> Erkeklerde >102cm Kadınlarda >89cm
Az Kilolu	<18.5	Düşük	-
Normal Kilolu	18.5 - 24.9	-	*
Fazla Kilolu	25.0 - 29.9	Artmış	Yüksek
Obez Sınıf I	30.0 - 34.9	Yüksek	Çok Yüksek
Obez Sınıf II	35.0-39.9	Çok Yüksek	Çok Yüksek
Obez Sınıf III (morbid obez)	≥40	Aşırı Derecede Yüksek	Aşırı Derecede Yüksek

\* Bel çevresi artarsa hastalıklar için risk teşkil eder.

Obezite dünya çapında alarm teşkil edecek şekilde artmaktadır (Souza vd., 2014). Son 40 yılda, sedanter yaşam ve yüksek yağlı diyet alımı her altı insandan birinin fazla kilolu ya da obez olmasına sebep olduğu bildirilmiştir (Samaan vd., 2014). Genetik yatkınlık ve beslenme gibi birçok faktör obezitenin ön hazırlayıcısıdır. Yapılan çalışmalarda obezitenin dünya çapında kısa sürede artmasında genetik faktörlerden ziyade başta diyet olmak üzere çeşitli çevresel faktörlerin etkin rol oynadığı tespit edilmiştir. Diyetle yağ alımının artması adipoziteyi artırır. Yapılan klinik çalışmalarda yüksek yağlı diyetin kısa sürede obeziteye sebep olduğu tespit edilmiştir. Epidemiyolojik çalışmalar, diyetle yağ alımının artmasıyla obezitenin ortaya çıkmasının daha etkin olduğunu gözlemlemişlerdir (Hariri&Thibault, 2010).

Dünya Sağlık Örgütü 2015 yılında 2.3 milyar yetişkinin fazla kilolu, 700 milyon kişinin de klinik olarak obez tanısı konulmuş kişiler olduğunu öngermektedir (Karlsson vd., 2010, Harford vd., 2011). Dünya sağlık örgütü verilerine göre, 2013'te 5 yaş altı 42 milyon çocuğun da fazla kilolu veya obez olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar obezitenin global bir sorun olduğunu göstermektedir (Cho vd., 2015). Son yıllarda obezitenin prevalansındaki artış, araştırmacıları obeziteye sebep olan faktörlere ve obezitenin komplikasyonlarını anlamaya yöneltmiştir (Behan vd., 2013). Obezite ile ortaya çıkan komplikasyonlar, birçok sağlık problemini

beraberinde getirir. Böylelikle obezite, ekonomik açıdan da yük getiren bir problemdir (Shaikh vd., 2015).

Obezite; demans (bunama), paralizi, alzheimer, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, hipertansiyon, osteoartrit, dislipidemi, safra taşları, karaciğer hastalıkları, tip 2 diyabet gibi birçok hastalığın ortaya çıkmasını tetikleyerek sağlığı tehdit eden en önemli sağlık sorunlarından biri olarak kabul edilmektedir (Baumgarner vd., 2014, Nieman vd., 1999, Kim vd., 2014, Exley vd., 2014, Verwaerde vd., 2006, Wali vd., 2014). Bu sebeple mortalite bakımından ilk beşteki ve % 5 oranında ölümlerle sonuçlanan global sağlık sorunları arasında yerini alır (Long vd., 2014). Kanser vakalarının yaklaşık %20'sinin sebebinin obezite ve fazla kilo olduğu gözlemlenmiştir. Epidemiyolojik çalışmalarda, kolon, meme ve karaciğer gibi kanser tipleri için obezitenin büyük risk oluşturduğu tespit edilmiştir (Cho vd., 2015). Obezite ve obeziteyle ilgili komorbiditelerinin insidansı, dünya genelinde hem çocukluk hem de yetişkinlikte önemli ölçüde artan bir sağlık sorunu haline gelmiştir (Fantuzzi, 2005, De Souza vd., 2014).

Obezitede, inflamatuvar markırları arttığı tespit edilmiştir (Fantuzzi, 2005, De Souza vd., 2014). Obez hastalarda ikincil enfeksiyonların ve komplikasyonların gelişme olasılığı daha yüksektir. Yağ dokusu yüksek ve fazla kilolu hastalarda cerrahi insizyon bölgesinde enfeksiyon ve diğer yara komplikasyonlarının gelişme oranı yüksektir. Aynı zamanda obezite, pulmoner fonksiyonları olumsuz etkiler ve solunum yolları enfeksiyonlarına yatkınlığı artırır (Karlsson vd., 2010).

Obezite nörolojik hastalıkların oluşmasını arttıran bir risk faktörüdür. Obezite merkezi sinir sistemi enflamasyonunun ön hazırlayıcısıdır. Ve dolayısıyla birçok nörolojik hastalığa yatkınlığı artırır. Yapılan çalışmalarda obezitenin merkezi sinir sistemi enflamasyonunda önemli rollere sahip olan mikroglialar ve astrositlerin aktivasyonunu tetiklediği tespit edilmiştir (Buckman vd., 2014).

Genetik obez farelerde (ob/ob) büyüme hormonlarının sekresyonunun baskılandığı buna bağlı olarak glukokortikoid sirkülasyonunun düzeyinde artış olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda bu farelerde infertilite olduğu da tespit edilmiştir (Faroogi vd., 2002).

## **2.5. Prenatal ve Postnatal Dönemlerde Yüksek Yağlı Diyetle Beslenmenin Etkileri**

Intrauterin çevre fetal gelişim için kritiktir. Bu dönemde maruz kalınan diyet, stres gibi olumsuz etkenler bebeğin ileriki yaşamında hastalıklara yatkınlığını artırır (Kruse vd., 2013). Kadınlarda üretkenlik yaşında obezite görülme sıklığı artmıştır. Gebelik boyunca obezite durumu

hem anneyi hem de bebeği etkileyen kritik bir risk faktörüdür. Obezite gebelikte (preeklemsi, gestasyonel diyabet gibi) hem anneyi hem de bebeği derinden etkileyen birçok hastalığı indükler ve sonuç itibariyle bebekte konjenital anomali riskini arttırır (Segovia vd., 2014).

Gebelik boyunca diyetle yağ alımının yavruda dislipidemiye, insülin direncine, endotelial disfonksiyona ve hipertansiyona sebep olduğu gösterilmiştir (Chechi vd., 2010). Aynı zamanda gebelikte yüksek yağlı diyetle maruziyet yavruda hepatik glukoz üretimini olumsuz yönde etkiler. Aynı zamanda oksidatif stresi indükler (Plata Mdel vd., 2014). Intrauterin dönemde yüksek yağlı diyetle maruziyet sadece postnatal dönemde bu diyetle maruziyete oranla yetişkinliğin erken döneminde hepatosteozis, hiperkolestrol ve yağlanmaya sebep olur (Kruse vd., 2013).

Erken dönemde besleme merkezi ve periferik mekanizmaların gelişiminde önem arz eder. Bu durum yeme ve metabolizmayı düzenleyerek obezite veya fazla kiloluğa yatkınlığa sebep olur. Neonatal aşırı besleme, HPA aksında ve immün sistemde disfonksiyona sebep olur. Obezite çocuklarda büyüme döneminde immün ve HPA aksının olumsuz etkilenmesinden dolayı sıkıntı yaşamalarına sebep olur. Neonatal aşırı besleme periferik ve merkezi enflamasyonun gelişimine öncülük eder, proinflatuar yanıtı şiddetlendirir ve akut proinflatuar sirkülasyon yanıtını etkiler (Cai vd., 2015).

Maternal dönem, fetal gelişim için oldukça önem arz eder. Bu dönemde tüketilen sağlıksız gıdalar, fetal gelişimi olumsuz etkiler. Maternal dönemde tüketilen yüksek yağlı diyet yavrunun genel anlamda tüm vücudunu etkiler (Plata Mdel vd., 2014). 1980'den bu yana maternal obezite insidansı artmıştır (Desai vd., 2014). Maternal obezite, gestasyonel metabolizmayı değiştirerek, plasental ve embriyonik büyüme ve gelişmeyi etkiler (Bruce vd., 2009). Aynı zamanda maternal obezite, bebeğin vücut kompozisyonu ve metabolik hastalıklara yatkınlığını arttırır. (Desai vd., 2014).

Kadınlar fazla kilolu olmasa bile gebelik boyunca sağlıksız beslenerek fazla kilo almaktadır. Bu durum direk olarak bebeği de etkilemektedir. Yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda, gebelik boyunca sağlıksız beslenmenin, yavrunun çocukluk ve yetişkinlik döneminde, obez olma riskinin artmasına yol açtığı tespit edilmiştir (Desai vd., 2014, s. 1-10). Yapılan deneysel çalışmalarda, maternal obezitenin, yavruda hipotalamik nöronal yolları etkileyerek gıda alımını arttırdığı dolayısıyla tokluk merkezinin geç uyarıldığı tespit edilmiştir. Gebelik boyunca ve laktasyon döneminin sonuna kadar yüksek yağlı diyetle maruziyetin bebekte, beyin enflamasyon markırlarının eksprese ettiği, plazma kortikosteroid düzeyini ve vücut yağ oranını arttırdığı gözlemlenmiştir (Desai vd., 2014, Del Bas vd., 2015, Masuyama&Hiramatsu, 2014).

Epidemiyolojik ve deneysel çalışmalar, maternal obezitenin, yavruda ileriki dönemde metabolik hastalıklara yatkınlığın artmasına sebep olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda obezite, kronik düşük dereceli enflamasyon süreciyle birlikte seyreden metabolik hastalıkların gelişme oranını arttırır. Dolayısıyla enflamasyon sürecinin tetiklenmesi kanser, diyabet gibi hayatı tehdit eden hastalıkların ortaya çıkmasını kaçınılmaz hale getirir. Maternal obezite, artmış adipoz doku, sistemik proinflatuar sitokinlerin artması ve adipoz doku makrofaj birikimine yol açarak metabolik enflamasyonu tetikler. Yapılan çalışmalarda maternal obezitenin gelişim boyunca fetüsün inflamatuvar süreçten etkilenmesine sebep olduğu tespit edilmiştir. Bu süreç ileriki dönemde yavruda gelişen metabolik enflamasyonu açıklar. Yapılan deneysel çalışmalarda maternal obezitenin fetal enflamasyonu indüklediğini tespit etmişlerdir. Barker, fetal ortamın yetişkinlik döneminde hastalıklara yatkınlığı etkilediğini göstermiştir (Segovia vd., 2014).

Obezitenin; immün sistemi zayıflatarak birçok hastalığın oluşmasına sebep olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (Odaka vd., 2010). Obezite anormal sitokin sentezine sebep olarak enflamasyon sinyal yolaklarını aktive eder. Obezite hem anneyi hem de yavruyu olumsuz etkiler (Gray vd., 2015). Maternal obezitenin, alerjik astım gibi birçok alerjik hastalığa yatkınlığı arttırdığı bildirilmektedir. Interlökin 2, T hücrelerinin proliferasyonunda ve antikörlerin tanıtımında önemli roller üstlenir. Obezitede, interlökin 2 üretiminde azaldığı bildirilmektedir. Bu alışmalar obezitenin immün yanıtın oluşma sürecinin olumsuz yönde etkilenmesine sebep olduğunu vurgulamaktadır (Odaka vd., 2010).

Maternal dönemde yüksek yağlı diyet alımı, yavruda kardiyometabolik durumu olumsuz etkileyerek obezite gelişmesini indükler. Maternal yüksek yağlı diyet, yavruda, hipertansiyon gibi çeşitli kardiyovasküler problemlerin ortaya çıkmasını tetikler (Gray vd., 2015, Del Bas vd., 2015). Maternal dönemde sağlıksız beslenme bebeğin yaşamının ileriki dönemlerini olumsuz etkiler (Del Bas vd., 2015). Anne karnında yüksek yağlı diyet maruziyet ileriki dönemlerde yavruda birçok sağlık problemini beraberinde getirir. Maternal obezite, yavruda ileriki yaşamda obezite, tip 2 diyabet ve metabolik sendrom gibi sağlığı tehdit eden hastalıkların gelişmesi için risk teşkil eder (Masuyama&Hiramatsu, 2014).

İmmün fonksiyon birçok hastalığın patolojik sürecinde önemli rol oynar. Yapılan çalışmalarda yüksek yağlı diyete bağlı ve genetik olarak obezite modellerinde immün fonksiyonun bozulduğu tespit edilmiştir (Odaka vd., 2010).

Beslenme, pubertal gelişimi etkileyen faktörlerden biridir. Puberte dönemi; biyolojik, fiziksel ve fizyolojik değişikliklerin olduğu ve aynı zamanda seksüel olgunluğa erişilen önemli bir dönemdir. Bebeklik,



çocukluk ve ergenlik dönemlerini kapsayan büyüme ve gelişmenin aşamalarında yeterli ve dengeli beslenme oldukça önem arz eder. Çocukluk dönemindeki beslenmedeki değişiklikler ergenlik sürecini etkileyerek ergenlik sürecinin daha erken olmasına sebep olur (Soliman vd., 2014). Gelişme dönemlerinde ve yaşamın erken dönemlerinde yüksek yağlı diyetle maruziyet yavrunun yetişkinlik döneminde enflamasyon ve hepatik steatozise yatkınlığını artırır (Bruce vd., 2009).

## **2.6. Yüksek Yağlı Diyet ve Obezitenin İmmün Sistem ve İmmün Sistem Hücreleri Üzerindeki Etkileri**

İmmün sistem patojenlere karşı vücudu korur. İmmün sistem için lenfositlerin hem faydalı hem de zararlı etkileri vardır. Yüksek yağlı diyet lenfositlerin fonksiyonunu olumsuz etkiler (Calder vd., 2002). Yetersiz veya aşırı beslenme immünolojik mekanizmaları içeren tüm organizmayı etkiler. Hem insanlarda hem de genetik olarak obez hayvanlarda (ob/ob veya db/db) yapılan çalışmalarda, immün fonksiyonların olumsuz etkilenerek immün disfonksiyonun ortaya çıktığı tespit edilmiştir (Marti vd., 2001, Smith vd., 2007).

Yapılan çalışmalarda obezitede, kanda lökosit, nötrofil ve monosit düzeyinin arttığı tespit edilmiştir (Nieman vd., 1999). T ve B hücrelerinin fonksiyonunun azalması, monosit ve granülositlerin fagositozunun artmasına neden olmaktadır. Aynı zamanda obezite inhibitör faktörlerin migrasyonuna ve IL-6 ve TNF  $\alpha$  mRNA ekspresyonunun artmasına neden olur. Yapılan çalışmalarda obeziteye bağlı karaciğer hasarında doğal bağışıklığın olumsuz yönde etkilendiği tespit edilmiştir (Federico vd., 2010, Nieman vd., 1999).

Makrofaj, doğal bağışıklık için önemli bir korunma mekanizmasıdır. Sitokinleri sekrete ederek immüniteyi regüle eder. Vücuda giren bakterinin sindirilmesi ve nonspesifik fagositoz yapar. Yapılan çalışmalarda obez farelerde antijen stimülasyonun veya makrofajların fagositozusunda azalmanın olduğunu tespit etmişlerdir. Obezite doğal bağışıklığın baskılanmasına sebep olur. Yüksek yağlı diyetle bağlı obezite modelinde proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunda artış söz konusudur. Yüksek yağlı diyet kronik enflamasyona sebep olur ve beraberinde birçok sağlık problemini getirir. Obez farelerde proinflamatuvar sitokinlerde artma makrofaj fonksiyonlarında azalma, granülositlerin fonksiyonunun azaldığı, matür monositlerin defekti, enfeksiyon yanıtındaki sitokin ekspresyonunda azalma söz konusudur (Park vd., 2014, Chandra vd., 2002, Zhou vd., 2009). Obezitede proinflamatuvar sitokin salınımındaki artış enfeksiyonlara yatkınlığı arttırmaktadır (Strandberg vd., 2009).

Natural killer hücrelerinin lipid ve insülin metabolizmasını düzenlediği gözlemlenmiştir. Yüksek yağlı diyetin natural killer hücrelerinin

aktivasyonunu değiştirdiğini ve natural killer hücrelerine özel T hücre reseptörlerinin uyarımını etkilediği belirtilmiştir (Strodthoff vd., 2013). Natural killer T hücreleri yarı-sabit T hücre antijenleri eksprese ederler. MHC I antijen kompleksi tarafından sunulan glukolipit antijenleri tanır. Lipid ile aktive olan NKT hücreleri büyük oranda sitokin sekrete eder. Bu sitokinler (IL-4, IFN-gama, gibi) doğal ve adaptif immünitede köprü görevi gören regülatör fonksiyonları olan sitokinlerdir. NKT hücreleri, adaptif immün sistemde önemli savunma görevleri üstlenirler. Yapılan çalışmalarda yüksek yağlı diyetle beslenmenin NKT hücrelerinde değişikliğe sebep olduğu gözlemlenmiştir (Miyazaki vd., 2008, Ji vd., 2012).

Natural killer hücrelerinin lipid ve insülin metabolizmasını düzenlediği gözlemlenmiştir. Yüksek yağlı diyetin natural killer hücrelerinin aktivasyonunu değiştirdiğini ve natural killer hücrelerine özel, T hücre reseptörlerinin uyarımını etkilediği belirtilmiştir (Strodthoff vd., 2013). Yüksek yağlı diyete maruz kalmış farelerdeki natural killer hücrelerin sitokin profili antijen sunan hücrelerin fonksiyonunu etkiler (Miyazaki vd., 2008).

Lenfatik sistem doku sıvısı homeostazisin düzenlenmesinde önem arz eder. Lenfatik damarlar ve adipoz doku arasında yakın etkileşim olduğu gözlemlenmiştir. Klinik çalışmalarda obez hastalarda lenfatik fonksiyonun olumsuz etkilendiği tespit edilmiştir. Obez farelerin ekstremitelerdeki lenfatik damarlarında morfolojik ve fonksiyonel değişiklikler olduğu tespit edilmiştir (Blum vd., 2014). Lenf nodları sekonder lenfoid organlardan biridir. İçerisinde lenfositler, makrofajlar ve dendritik hücreleri barındırır. Bu hücreler immün yanıtı düzenlerler. Adipoz doku içerisinde de lenf nodları vardır. Lenf nodlarını saran yağ dokusu immün hücrelere enerji sağlar böylece yabancı antijenlere karşı etkili ve hızlı bir yanıt ortaya çıkar (Kim vd., 2008). Obezitede ve yüksek yağlı diyet ile beslenmede, lenf nodlarının etrafındaki perinodal yağ lenfosit aktivasyonunu azaltır. Yapılan çalışmalarda yüksek yağlı diyet ile beslenmenin perinodal yağ adipositlerinin lipolizisini arttırdığı tespit edilmiştir (De Vries vd., 2009).

Araştırmacılar, obez farelerde, mezenterik adipoz dokunun, mezenterik lenf nodlarındaki mevcut hücrelerin sayı veya yapı bakımından niteliğini ve atrofiye olmalarını olumsuz yönde etkilediğini gözlemlenmişlerdir. Yapılan çalışmalarda yüksek yağlı diyetin lenf nodunda atrofiye sebep olduğu gözlemlenmiştir (Kim vd., 2008). Obezite, mezenterik lenf nodu hücrelerinde serbest yağ asitlerinin, visseral yağ dokusunun artışına ve oksidatif strese neden olur. Bu durum T hücrelerinin apoptozisini indükler (Kim vd., 2008, Strissel vd., 2010). Obez farelerin mezenterik lenf nodlarındaki regülatör T hücrelerinin popülasyonunda da azalma olduğu tespit edilmiştir (Kim vd., 2008).

Enflamasyon, enfeksiyon yada irritasyona karşı vücudun gösterdiği ilk immün yanıttır (Kaur vd., 2013). Obez hastalarda immün yanıtın bozulmasıyla enfeksiyonlara yatkınlığın arttığı gözlemlenmiştir (Verwaerde vd., 2006). Yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde, makrofajların ve T lenfositlerinin birikimi nedeniyle enflamatuar yanıtın regülasyonu etkilenmektedir (Wang vd., 2010).

Yapılan klinik çalışmalarda yüksek yağ içeren gıda alımının sonrasında plazma endotoksin düzeyi ve proinflamatuar faktörlerde artış olduğu bildirilmiştir (Chen vd., 2013). Obezitede, enflamasyon markerları olan TNF- $\alpha$ , IL-6 ve C reaktif protein seviyesi artar (Caspar vd., 2006). Bu proteinlerin, hücre metabolizmasını direk etkilediği bilinmektedir (Weisberg, 2003). Yüksek yağlı diyetle beslenen makrofajları izole edilmiş farelerle kontrol grubu karşılaştırıldığında interlökin 1 beta salınımının azaldığı belirtilmiştir (Baumgarner vd., 2014).

Obezite hastalıklarının patogenezisinde önemli rol oynayan düşük dereceli kronik enflamasyonu tetikler (Wu vd., 2012). Kronik enflamasyonda; obez kemirgenlerin ve insanların adipoz dokusunda T hücreleri, makrofajlar ve diğer immün hücrelerin olduğu gözlemlenmiştir (Guo vd., 2013). Obezite kronik enflamasyonda anahtar rol oynar (Wolf vd., 2012). Obeziteye bağlı gelişen kronik enflamasyon metabolizmayı olumsuz etkileyerek birçok hastalığın ortaya çıkmasını tetikler. Yapılan çalışmalarda enflamasyonlu obez farelerin zayıflara oranlara visseral adipoz dokudaki proinflamatuar immün hücrelerinde artış olduğu gözlemlenmiştir (Han vd., 2014). Obezitede immün sistemin baskılanması sonucu sistemik enflamasyona, metabolik ve kronik hastalıklara yatkınlığın arttığı tespit edilmiştir. Bu yüzden obezite, ortalama yaşama süresi için risk faktörüdür. Obezite aynı zamanda hematopoetik onarıcı ve rejeneratif potansiyeli olumsuz etkiler (Adler vd., 2014, Dib vd., 2014).

Yüksek yağlı diyet ve obezitenin, yaranın iyileşme sürecinde tekrarlayan enfeksiyonların oluşmasını engelleyen savunma mekanizmalarını olumsuz yönde etkilediği, ilaçların toksisitesini ve farmakokinetiğini değiştirdiği tespit edilmiştir (Baumgarner vd., 2014, Wisniewski vd., 2015). Klinik ve epidemiyolojik çalışmalar obez bireylerin zayıf bireylere oranla enfeksiyona daha yatkın olduğunu tespit etmişlerdir (Nieman vd., 1999). Obezitede; yanma veya ameliyat sonrası yara iyileşme sürecinin daha uzun olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte obezite, ameliyat sonrası enfeksiyona yatkınlığı arttırmaktadır (Baumgarner vd., 2014, Zhou vd., 2009).

Yüksek yağlı diyetle beslenme karaciğer, kaslar ve pankreasta lipid birikimine yol açarak lipotoksisiteye neden olur. Lipotoksisite, makrofajların birikmesine yol açar. Aynı zamanda makrofaj aktivasyonunu da arttırarak pro-enflamatuar sinyali arttırır (Swindell vd., 2010).

Obezite, adipoz dokunun enflamasyonu ile karakterize proinflatuar bir durumdur. Adipoz dokudaki kortikosteroid etkisi hem glukokortikoid hem de mineraloreseptör vasıtasıyla olur. Glukokortikoid reseptörler antiinflatuar yanıtta katkıda bulunur, mineralokortikoid reseptör aktivasyonu proinflatuar ve diyabetogenik adipokin ekspresyonunu artırır (Kuhn vd., 2014).

Adipoz doku immün yanıt ve metabolik fonksiyonların modülasyonunda önem arz eder (Subramanian vd., 2013). Obezitede, adipositlerin içindeki trigliserid birikimi adipositlerde hipertrofiye sebep olur (Fabrizi vd., 2014). Obezitede adipositlerdeki artış akabinde immün hücrelerin sayısı ve fonksiyonunda da değişiklik meydana gelir. Bu değişiklik lokal ve sistemik düşük-dereceli enflamasyonun başlamasına katkıda bulunur. CD4+ T hücrelerindeki artış sitokin sekresyonunu tetikleyerek enflamasyon sürecinde oldukça önemli bir role sahiptir (Wasinski vd., 2013). Yapılan çalışmalarda obez farelerin adipoz dokularında aktive olmuş makrofajların birikmesi için NK hücreleri, T ve B hücrelerine ihtiyaç olmadığı gözlemlenmiştir. Bu aktivasyon için adipositlerin varlığının yeterli olduğu tespit edilmiştir (Behan vd., 2013). Adipoz doku makrofajları proinflatuar yanıtta katkıda bulunur. Makrofajlar, IL-1 beta'nın yüksek kalitelerdeki ürünleri olarak bilinir (Harford vd., 2011). Obezitede anormal sitokin salınımı inflammatuar sinyal yollarının aktivasyonunu tetikler (Fabrizi vd., 2014).

Obezitede, adipoz dokuda proinflatuar yanıtı makrofajlar ve T hücreleri başlatır. Aynı zamanda bu hücreler adiposit insülin aksiyonunu bloke ederler ve diyabet gibi hastalıkların oluşmasına katkıda bulunurlar (Harford vd., 2011). Matür adipositler neredeyse makrofajlar gibi T hücrelerini aktive ederler. Obezitede T hücre proliferasyonunu stimüle eden major kostimülatör moleküllerin ekspresyonunda artış söz konusudur. Adipoz IL-10 adipoz doku makrofajları adaptif immün aktivitesini baskılar. Yüksek yağlı diyetle hem adipositler hem de adipoz doku makrofajları T hücre aktivasyonunun gecikmesine katkıda bulunur (Deng vd., 2013). MHC II kompleksleri profesyonel antijen sunan hücreleri (özellikle dendritik hücreler, makrofajlar ve B hücreleri)'nin üzerinden eksprese edilir. Yapılan çalışmalarda obez farelerde adipositler tarafından MHCII moleküllerinin ekspresyonunun indüklendiği tespit edilmiştir (Ferrante, 2013, Strodthoff vd., 2013).

Nishimura ve arkadaşları yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde adipoz dokudaki CD8+ T hücrelerinden önce insülin direncini tetikleyen M1 makrofajların biriktiğini gözlemlemişlerdir. Antikora birlikte CD8+ T hücrelerinin azalması inflammatuar sürecin ve insülin direncinin ortaya çıkmasını tetikler. Bu durum obezitedeki sitotoksik T hücrelerindeki artışı ve insülin direncinin ortaya çıkışını açıklar. Yapılan çalışmalarda obez farelerde adipoz dokuda CD4+ T helper ve antiinflatuar T regülasyon hücrelerinin daha az olduğu tespit edilmiştir. Obez farelerin adipoz

dokusunda proinflamatuvar Th17 hücreleri tespit edilmiştir (Harford vd., 2011, Montes vd., 2013, Shaikh vd., 2015, Priceman vd., 2013, Kim vd., 2014, Strodthoff vd., 2013).

Obezitede, adipositlerin artışı, makrofajların artmasına ve makrofajlardan ve lenfositlerden TNF- $\alpha$ , IL-6'nın salınımına neden olur. TNF- $\alpha$  ve IL-6 adiponektin transkripsiyonunu baskılar (Federico vd., 2010, Deng vd., 2013, Harford vd., 2011). CD8+ T hücreleri ve B hücreleri obezitede glukoz homeostazisini regüle eder. T-bet hücreleri obez hayvan modelinde insulin rezistansının gelişmesinde kritik rol oynar (Wali vd., 2014).

Yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde, adipoz dokudaki natural killer hücre aktivasyonu, proinflamatuvar sitokinlerin salınımıyla metabolik fonksiyonların bozulmasına ve diğer patojenik immün hücrelerin güçlenmesine sebep olur. Aynı zamanda obezitede, natural killer hücrelerinin aktivasyonu, glukoz toleransını ve adipoz dokudaki makrofaj infiltrasyonunu olumsuz yönde etkiler. Yapılan çalışmalarda diyete bağlı obezitenin natural killer T hücrelerinin düzenleyici rolünü engellediğini tespit edilmiştir (Martin-Murphy vd., 2014, Federico vd., 2010, Kondo vd., 2013, Caspar vd., 2006).

Obezitede, natural killer hücreler visseral adipoz dokudaki kronik enflamasyonu artırır. Aynı zamanda metabolik rahatsızların ortaya çıkmasına katkıda bulunur (Federico vd., 2010). Obezitede, visseral adipoz dokuda, CD4+ Th1 hücreleri, CD4+ T hücreleri, CD8+ T hücreleri, B hücreleri, nötrofiller, proinflamatuvar makrofajlar ve mast hücreleri biriktiği tespit edilmiştir. Aynı zamanda obezite boyunca visseral adipoz dokuda IL-10 salınımının azalması, Treg hücrelerinde azalma ve fonksiyonunun baskılanması gibi faktörler immün disregülasyona sebep olur. Antijen sunan hücreler ile T hücreleri arasındaki etkileşim boyunca kostimülasyon sinyali oluştuğu gözlemlenmiştir. Diyete bağlı obez farelerde, insulin direnci, lokal ve sistemik enflamasyona yatkınlık artar (Molofsky vd., 2013, Yi vd., 2014, Han vd., 2014, Shaikh vd., 2015, Deilulis vd., 2011).

Yapılan çalışmalarda yüksek yağlı diyetle beslenme B hücrelerinden sekrete edilen, visseral adipoz doku enflamasyonu ve anormal glukoz metabolizma sebep olan IgG sekresyonunun arttığı tespit edilmiştir (Kawasaki vd., 2013). Yapılan klinik çalışmalarda subkutanöz yağ dokusunda MHCII ekspresyonunda artış olduğu tespit edilmiştir (Shaikh vd., 2015). Obezitede; visceral adipoz dokuda, proinflamatuvar makrofajlar, nötrofiller, mast hücreleri, CD8+ ve CD4+T hücrelerinin sayısının arttığı gözlemlenmiştir. Obezitede, immün hücreler adipositleri salgırlar. Bu hücreler, adipoz dokuda yağ depolanırken oluşan insulin yanıtını değiştirerek insulin direncini artırırlar (Guo vd., 2013, Molofsky vd., 2013, Kim vd., 2012).

Dalak birçok önemli hematolojik fonksiyonlara sahiptir. Dolaşımdaki plateletleri seçebilir dolayısıyla plateletleri depolayabilir yada lenfositler vasıtasıyla yıkıma uğratabilir dalak vücuttaki plateletlerin üçte birini depolayabilir (Tarantino vd., 2013). Yapılan çalışmalarda extra medullar hematopoezis sıçanlara göre farelerin dalağında daha yaygındır (Cesta, 2006). Yapılan çalışmalarda zona marginalisteki makrofajların, doğal immünitede önemli fonksiyonlarının olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanısıra bu makrofajların, adaptif immün yanıtta da olumlu etkisi olduğu aynı zamanda doğal ve adaptif immünitede köprü görevi gördüğü belirlenmiştir (Den Haan vd., 2012).

## **2.7. Yüksek Yağlı Diyet ve Obezitenin Metabolizma ve Diğer Sistemler Üzerindeki Etkileri**

Araştırmacılar, yüksek yağlı diyetle beslenmenin karaciğerde yağlanmaya neden olduğunu tespit etmişlerdir (Ma vd., 2007). Yapılan çalışmalarda obezitede karaciğerdeki dendritik hücrelerde artış, natural killer T hücre popülasyonunda azalma ve karaciğerdeki kupfer hücrelerinden salınan IL-12 nin serum düzeyinde artma olduğu tespit edilmiştir (Stefanovic vd., 2012, Subramanian vd., 2013, Strodthoff vd., 2013, Federico vd., 2010). Hem ob/ob hem de yüksek yağlı diyetle bağlı obezite modelinde natural killer T hücrelerinin karaciğerdeki sayısı azalır. Ob/ob farelerde natural killer T hücreleri karaciğere transfer edildiğinde, steatozisin azaldığı tespit edilmiştir (Martin-Murphy vd., 2014). Natural killer hücrelerindeki bu azalışın lipid metabolizması ve adipoz dokunun homeostazisini etkilediğini gözlemlemişlerdir (Strodthoff vd., 2013).

Diğer benzer çalışmalarda, 9 hafta boyunca yüksek şekerli ve yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde, karaciğerdeki natural killer T hücrelerinin apoptozisinde artış olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde, karaciğerdeki regülatör T hücrelerinin sayısında azalma olduğu gözlemlenmiştir. Bu azalmanın normal diyet ile beslenerek düzeltilebileceği bildirilmektedir (Wang vd., 2013). Yapılan çalışmalarda yüksek yağlı ve yüksek kolestrollü diyetin karaciğerdeki lenfositleri ve kupfer hücrelerini arttırdığı tespit edilmiştir (Shono vd., 2011).

Yapılan çalışmalarda, yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde, karaciğerdeki regülatör T hücrelerinin sayısında da azalma olduğu gözlemlenmiştir. Bu azalmanın normal diyet ile beslenerek düzeltilebileceği bildirilmektedir (Wang vd., 2013). Yüksek yağlı diyet karaciğerdeki hepatosit-lökosit dengesini olumsuz yönde etkiler. Karaciğerdeki lökosit girişini arttırır (Swindell vd., 2010).

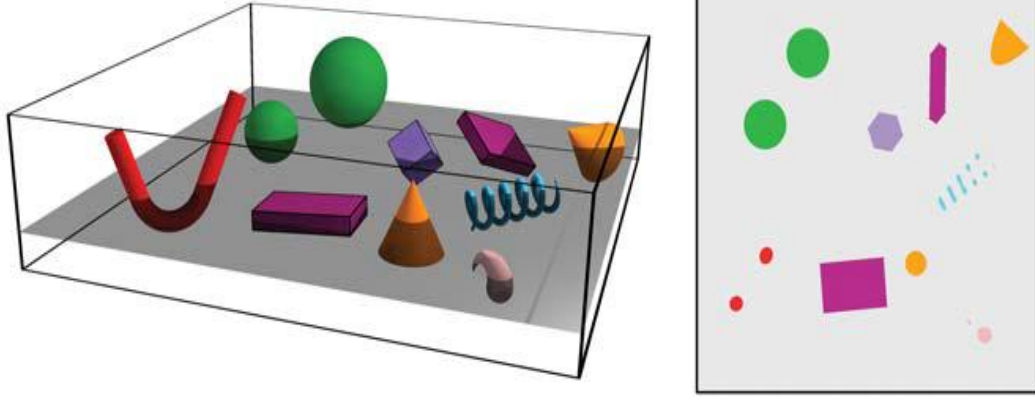
Yüksek yağlı diyet gastrointestinal antijenlerin intestinal absorpsiyonunu arttırır. Bu durum doku içerisindeki T lenfositlerinin erken infiltrasyonuna neden olur (Wang vd., 2010).

Obezite kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörüdür (Wang vd., 2010). Proinflamatuvar makrofajların birikmesi obez kişilerde kardiyovasküler sistemin olumsuz etkilenmesine sebep olur (Montes vd., 2013). Yüksek yağlı diyetin monositlerde artışa sebep olarak aterosklerotik plakların oluşumunu tetiklediği gözlemlenmiştir (Swindell vd., 2010, Ji vd., 2012).

Yüksek yağ içeren diyetle beslenme alerjik astıma yatkınlığı artırır. Deneysel ve klinik çalışmalarda obezitenin, akciğer fonksiyonlarını olumsuz etkilediği ve astıma yakalanma oranını arttırdığı tespit edilmiştir. Diyete bağlı obezitenin CD4+ T helper hücrelerinin aktivitesini arttırdığı tespit edilmiştir. Yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde kontrole oranla akciğer eozinofilleri daha azdır. Yüksek yağlı diyetle beslenme immün sistemi etkiler. Johnson ve ark., obezitenin, havayolu eozinofillerinin sayısını azalttığını tespit etmişlerdir. İnsanlarda obezitenin astımın şiddetini arttığı gözlemlenmiştir. Obez çocuklarda serum IL-6 seviyesi artmıştır (De Vries vd., 2009).

## **2.8.Stereolojik Metodlar**

Stereoloji terimi ilk defa 1961 yılında kullanılmıştır. Stereolojik metodlar, dokulardan alınan histolojik kesitlerdeki yapısal değişikliklerin kuantitatif olarak hesaplanmasına olanak sağlar. Dokular uzunluk, en ve ağırlığa sahiptir, bu durum dokuların üç boyutlu kompleks geometrik yapılar olduğunu bize gösterir. Kesit alındığında dokular 2 boyutludur. Bu durumda dokuyu tamamen değerlendirmek olanaksız gözükmektedir. Stereoloji, iki boyutlu kesitten sanki üç boyutluymuş gibi, hacim, alan, uzunluk ve dokudaki hücrelerin sayımı gibi geometrik hesapların yapılmasını mümkün kılarak, tarafsız ve kesin sonuçlara ulaşılmasını sağlayan, geometri ve istatistiğe dayanan matematiksel bir bilimdir. Bu sayede stereolojik metodlar kullanılarak çalışılan dokunun alanı, hacmi, uzunluğu ve dokudaki hücrelerin sayımı gibi parametrelerden elde edilen niceliksel verilerde somut yapma imkanı sunar (Şekil 2.4.); (Kubinova vd., 2004, Boyce vd., 2010, Weibel vd., 2006).



**Şekil 2.4.** 3 boyutlu yapının 2 boyutlu görüntüsü. Şekilde 3 boyutlu kompleks yapının kesit alınında 3 boyutlu formunu kaybettiği ve 2 boyutlu görüntüsü resmedilmiştir (Boyce vd., 2010).

### **2.8.1. Sistemik rastgele örnekleme**

Stereolojik metotlarda kullanılan prensipler ve yöntemlerin etkinliği için sistemik rastgele örnekleme (SRÖ) stratejisi önem arz eder. Bu örnekleme, çalışılan dokunun alan hesaplamaları, tanecik sayımı, hacim ve alan oranlarındaki hesaplamaların her aşamasında kullanılır. Aynı zamanda SRÖ'nün temel özelliği, çalışılan dokunun her noktasına eşit örnekleme imkanı sunmasıdır (Gundersen vd., 1999).

Biyolojik yapılar, genel itibariyle büyük olduklarından, bu yapılardan alınan tüm kesitlerin değerlendirilmesi pratik açıdan pek mümkün olmamaktadır. Sistemiklik, önceden belirlenmiş ve sabit aralıklarla örnekleme yapılmasına olanak sağlar iken rastgelelik ise başlanılacak ilk noktanın rastgele seçilmesini sağlar. Böylelikle çalışmada incelenen dokunun her tarafında eşit derecede örnekleme yapılmış olur (Gundersen vd., 1999, Dorp-Peterson vd., 2000).

Dokudan elde edilen kesitlerin tümünün tek tek incelenmesi genellikle gereksiz yere zaman ve emek kaybına neden olacağından, çalışmanın etkinliğinden söz etmek mümkün olmayacaktır. Bu yüzden dokudan elde edilen kesitlerden belli bir oranda seçim yapmak gerekir. Bu amaçla incelenecek dokunun her noktasının eşit örnekleme şansına sahip olabilmesi için o dokuyu en iyi temsil edecek örneklerin seçilmesi istatistiksel bir zorunluluktur. Bu amaçla dokudan rast gele seçimler yapmak tek başına yeterli değildir. Bu yüzden önceden sabit bir örnekleme aralığı belirlemek önem arz eder. Belirlenen sabit örnekleme aralığındaki ilk aralıktan rastgele bir noktadan başlamak kaydıyla incelenen dokunun tamamının örnekleme yapılır. Böylece örnekleme sistematik kısmını, incelenen dokudan belirlenen örnekleme aralığı, örnekleme aralığından ilk aralık içinde rast gele başlanması ise rast gelelik özelliğini sunar. İstatistiksel olarak böyle bir örneklemede, çok sayıda örneğin olması, incelenen dokunun her noktasına eşit örnekleme şansı sunar. Bu durum



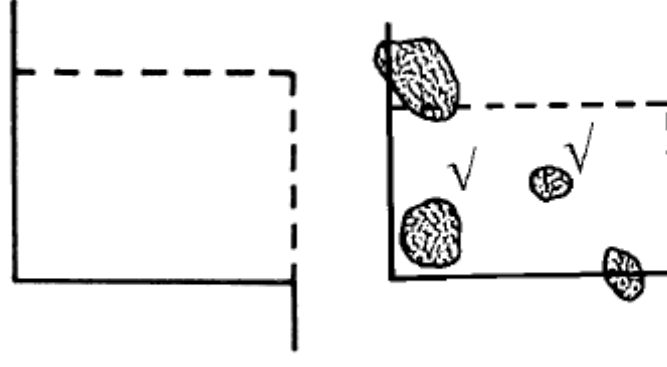
örneklemenin dokuyu temsil etmesi ve dokudan homojen ve verimli örneklemenin elde edilmesi durumunu arttırarak gerçek değere sistematik olarak yaklaşılmalarını sağlar (Mayhew&Gundersen, 1996).

### **2.8.2. Sayım alanı ve tarafsız sayım çerçevesi**

Tarafsız, gerçeğe en yakın sonuçların elde edilebilmesi için sayım esnasında her bir taneciğin yalnızca bir kere örneklenmesi gerekir. Bu amaçla her bir taneciğin sayımı yapılırken yalnız bir defa örneklenebilmesini mümkün kılmak için ise bir takım kurallar geliştirilmiştir (Mayhew, 1991)

Tarafsız sayım çerçevesi, 1977'de Gundersen tarafından geliştirilmiştir. Daha önceleri değişik sayım çerçeveleri kullanılmıştır. Bu çerçevelerden bazıları kare veya dikdörtgen şeklindeki çerçevelerdir. Bu metodlarda, çerçeveler, dokudan alınan kesitler üzerine yerleştirilip, doğrudan bu çerçeveler içine düşen taneciklerin izdüşümlerinin sayılması yöntemi uygulanmıştır. Böyle bir sayımın fazla tanecik sayısının elde edilmesine yol açtığı tespit edilince, köşegenlerinden birinin tüm kenarı boyunca ikiye ayrılmış olan bir sayım çerçevesi kullanılması uygun görülmüştür. Buna göre iki yasak kenarı ve iki de serbest kenarı olan bir sayım çerçevesi belirlenmiştir. Bu çerçevede yasak kenara isabet eden tanecikler sayım dışı bırakılırken, serbest kenara isabet eden taneciklerde sayım yapılmıştır. Ancak, bunların kullanımı sırasında taneciklerin bir defadan çok sayılabilmesi gibi hatalar ortaya çıkmıştır. Bu durum, bu çerçeveler kullanılarak gerçek tanecik sayısı değerine ulaşmanın mümkün olmadığını göstermektedir (Mayhew&Gundersen, 1996, Mayhew, 1991, Mandarim-De-Lacerda, 2003).

Tarafsız sayım çerçevesi, tanecik sayımı için en etkin ve güvenilir sayım çerçevesidir. Bu çerçevenin tanecik izdüşümlerini en doğru biçimde saymayı sağladığı, geometrik hesaplamalarla da kanıtlanmıştır. Tarafsız sayım çerçevesi temel olarak, bir ince ve kesikli, bir de kalın ve düz olmak üzere iki tip çizgi ile ifade edilen dörtkenara sahip basit bir dikdörtgen veya karedir. Tarafsız sayım çerçevesinin diğer sayım çerçevelerinden görünüşte pek fazla bir değişikliği yokmuş gibi görünür ama oldukça farklıdır. Bu çerçevede, ince ve kesikli çizgiler "serbest" kenarlar, kalın ve devamlı çizgiler de "yasak" kenarlar olarak belirlenmiştir. Yasak kenarlardaki uzantılar, çerçevenin yerleştirildiği görüntü alanının tamamını kaplayacak şekildedir. Bu uzantılardan biri kendi doğrultusunda diğeri ise serbest kenar doğrultusunda uzanır. Serbest kenara yani kesikli çizgilere isabet eden taneciklerin izdüşümleri sayılırken, yasak kenara yani devamlı çizgilere isabet eden taneciklerin izdüşümleri sayım dışı bırakılır (Şekil 2.5.); (Mayhew, 1991).



**Şekil 2.5.** Tarafsız sayım çerçevesi (Nyengaard, 1999).

### **2.8.3. Cavalieri prensibi ve hacim hesaplaması**

Cavalieri prensibi, ilk kez İtalyan matematikçi Bonaventura Cavalieri tarafından XVII. yüzyılda ortaya konmuş ve prensip olarak uygulanmaya başlanmıştır. Bu prensip, stereolojik yöntemlerde en sık kullanılan tarafsız (unbiased) hacimsel hesaplama yoludur (Mandarim-De-Lacerda, 2003). Makroskopik ve mikroskopik olarak düzensiz şekle sahip yapıların, toplam hacminin, hacim oranları ve hacim yoğunluğunun hesaplanmasında Cavalieri prensibi etkin bir stereolojik metoddur. Cavalieri prensibi ile hem makroskopik hem de mikroskopik ölçümler yapılabilmektedir (Mandarim-De-Lacerda, 2003).

Cavalieri prensibini uygulamak için, öncelikle ilk kesit rast gele olmalıdır. Daha sonra hacim hesaplanması yapabilmek için bütün kesitler eşit aralıklarla ve birbirine paralel kesitler olacak şekilde başından sonuna kadar dilimlere ayrılır (Nyengaard&Gundersen, 2006). Alınan her bir kesitin aynı yöne bakan kesit yüzeylerinde alanları hesaplanır (Mandarim-De-Lacerda, 2003).

### **2.8.4. Noktalı alan ölçüm cetveli**

Noktalı alan ölçüm cetveli alan hesaplaması için kullanılan en basit ve tarafsız yöntemdir. Noktalı alan ölçüm cetveli, sistematik (+) işaretlerinden oluşan ve birbirlerinden eşit aralıklarla ayrılmış noktaları temsil eden sistematik nokta dizgelerinden oluşmaktadır. Bahsi geçen noktalardan her biri, dört adet noktanın arasında kalan bir birim cetvel alanını temsil eder ( $P(a)$ ). Alanı hesaplanacak olan çalışılan kesit görüntüsü üzerine rastgele yerleştirilen bu cetvelin noktalarından kaç tanesinin çalışılan kesitin görüntüsünün üzerine tekabül edeceği, kesit alanının büyüklüğü ve noktalar arası mesafeyle doğru orantılıdır (Mayhew, 1991).

Kısacası, çalışılan kesitin alanı ne kadar büyükse içine o kadar fazla sayıda (+) tekabül edecektir. Herbir artıda belirlenen sabit bir nokta,

sayım için kullanılır. Dilimlerden kullandığımız ortalama kesit kalınlığı (t) ile tüm kesitlerden elde edilen toplam yüzey alanı çarpılırsa, yapının toplam hacmi tarafsız bir şekilde hesaplanmış olur. Bunu matematiksel olarak şu şekilde formüleştirebiliriz (Gundersen vd., 1999, Mandarim-De-Lacerda, 2003, Nyengaard&Gundersen, 2006).

Bir kesit görüntüsünün alanı (A), alana düşen toplam nokta sayısı ( $\Sigma p$ ) ile her bir noktanın temsil ettiği birim alanın [ $d^2$ ] çarpımı ile hesaplanabilir (Mandarim-De-Lacerda, 2003, Nyengaard&Gundersen, 2006).

$$A = \Sigma P \times d^2$$

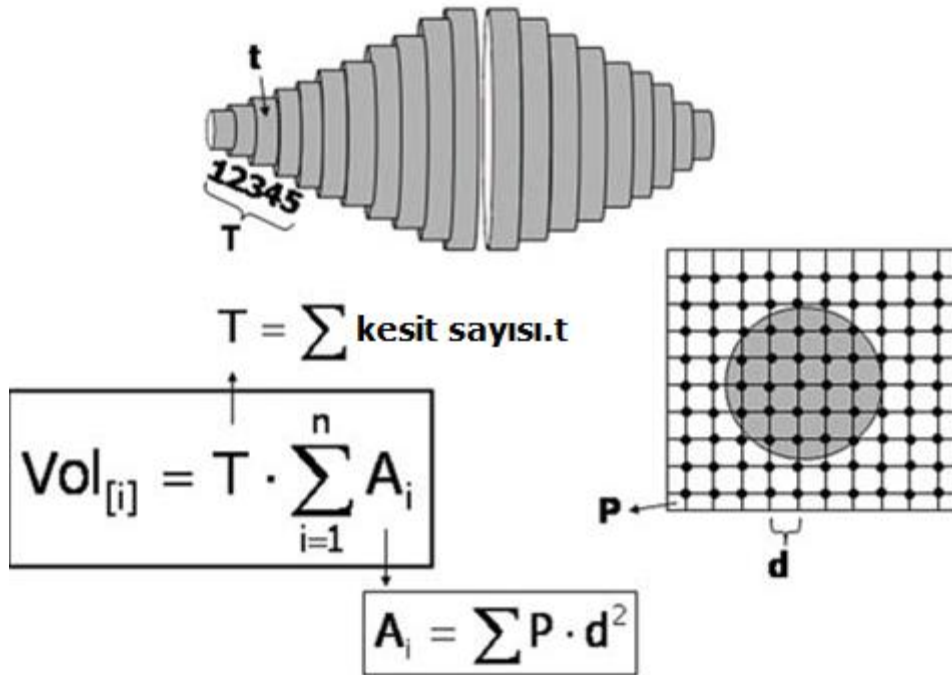
$$V = T \times \Sigma A$$

**V** : Hacim

**T** : Kesit kalınlığı

**d<sup>2</sup>** : Her bir noktanın temsil ettiği birim alan

**$\Sigma P$**  : Kesit yüzey alanındaki toplam nokta sayısını göstermektedir (Mandarim-De-Lacerda, 2003).



**Şekil 2.6.** Cavalieri prensibi ve organ hacim hesaplaması. Standartlaştırılmış kesit ile organ seri kesiti (t). Şekildeki örnekte çalışılan alanda her beş kesitte bir kesit ( $T=5t$ ) ölçülmesi resmedilmiştir. Nokta sayım metodunda d); noktalı alanlı test sistemindeki karede noktalar arasındaki mesafenin ölçümünü ifade eder (Mandarim-De-Lacerda, 2003, s. 469-86).

### **2.8.5. Volume density (Hacim yoğunluğu)**

Cavalieri prensibi tüm dokunun hacmini hesaplar dokunun içerisindeki yapıların hacmini hesaplayamaz. Dokunun içerisindeki yapıların hacmi,  $V_v/V_v$ , ışık mikroskopundaki alanın görüntüsünün sistematik rastgele örnekleme metodu ile hesaplanmasıyla bulunur. Bunun için, noktalı alan ölçüm cetveli kullanılarak doku içerisindeki yapılara isabet eden noktaların sayımının hesaplanması gerekmektedir (Mayhew, 1991).

## 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

### 3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamız; T.C. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurulunun 401-1 sayılı kararı ile onaylandıktan sonra Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Koordinatörlüğünün 2014-586 kodlu projesi ile desteklenerek gerçekleştirilmiştir. Hayvanların bakımı, beslenme süreci Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezinde (TİCAM) yapılırken, morfometrik değerlendirmeler ESOGÜ Tıp Fakültesi Anatomi ve Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dallarında yapılmıştır.

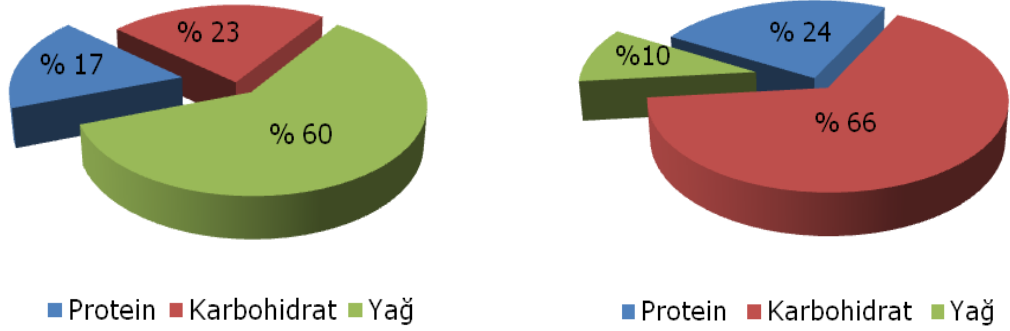
Araştırmamız Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezinden temin edilen, Swiss-Albino cinsi hiç çiftleştirilmemiş fareler kullanılarak gerçekleştirildi. Fareler deney süresi boyunca oda sıcaklığı  $22 \pm 2$  C°'de, 12 saat karanlık-12 saat aydınlık sirkadyen ritimde, tel kapakları olan plastik kafesler içerisinde, üzeri hava alabilecek şekilde tutuldu. Hayvanlar kontrol diyeti ve yüksek yağ diyeti içeren yem ile beslenirken, su ihtiyaçları çeşme suyundan karşılandı. Tüm hayvanlara yemlere ve suya serbest ulaşabilme imkânı sağlandı.

### 3.2. Grupların Oluşturulması ve Deney Protokolü

Çalışmamız, 12 dişi ve 6 erkek fare kullanılarak gerçekleştirildi. Hayvanlar 8 haftalık iken çalışmaya dahil edildi. Dişi farelerin gebe kalması sağlandıktan sonra fareler her kafeste 2 anne olacak şekilde 8 kafeste barındırıldı. Gebe annelerden 8 adeti yüksek yağlı diyet grubuna, 8 adeti de kontrol (standart chow) grubuna ayrıldı.

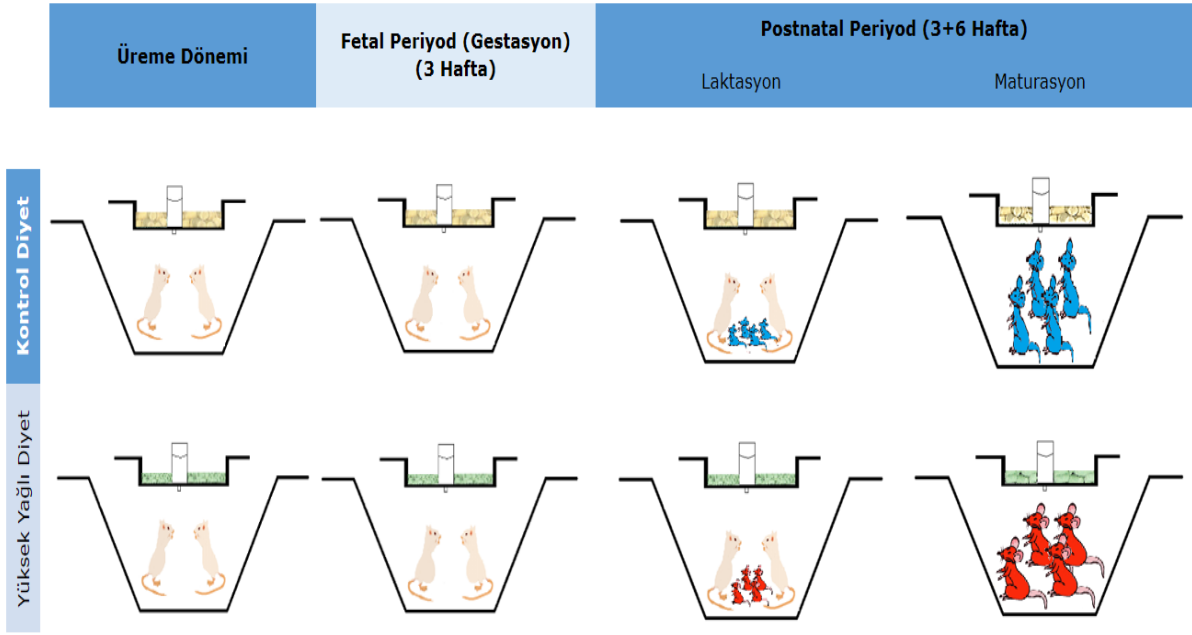
**1. Grup (Standart diyet grubu (SD)):** (Aynı diyetle beslenmiş anneden doğan yavrular) Deneyin başından sonuna kadar karbonhidrat oranı yüksek, yağ oranı düşük diyetle beslendi (Şekil 3.1.); (Altromin, C 1090-10, n=7).

**2. Grup (Yüksek yağlı diyet grubu (YYD)):** (Aynı diyetle beslenmiş anneden doğan yavrular) Deneyin başından sonuna kadar yağ oranı yüksek karbonhidrat oranı düşük diyetle beslendi (Şekil 3.1.); (Altromin, C 1090-60, n=8).



**Şekil 3.1.** Diyet içeriği grafiği (Orjinal çizim).

Farelere uygulanan diyetler, gerekli saklama koşullarına uyularak yurtdışından getirildi (Seyfried vd., 2013). Yemler -21 C°'de bekletildi ve hayvanların günlük maksimum ihtiyaçları belirlenerek hayvanlara verildi. Yüksek yağlı diyet yemiyle hayvanlar 1gr yem ile 5,24 kcal, standart diyet yemi ile de 1 gr da 3,52 kcal enerji aldı. Böylelikle hayvanların tükettikleri yem hakkında da bilgi sahibi olundu. Dişi fareler gebelik için çiftleştirilmeye bırakıldıkları ilk gün itibariyle yüksek yağlı ve standart diyet yemlerinden tüketmeye başladı. Vajinal tıkaç tayiniyle gebelik tespiti yapıldıktan sonra fareler, her bir kafeste iki anne olacak şekilde barındırıldı. Böylelikle doğacak olan yavruların anne karnında da yüksek yağlı ve standart diyet yemini almaları sağlandı. Laktasyon dönemi boyunca anneler, yüksek yağlı ve standart diyet ile beslendi. Laktasyon sonrası yavrular anneden ayrıldı ve her bir kafeste en fazla dört yavru olacak şekilde barındırıldı (Şekil 5).



**Şekil 3.2.** Deney Protokolü (Orijinal çizim).

Postnatal 21. günden itibaren yavruların karın çevresi, kilosu, boyu haftalık olarak takip edildi. Farelerin beden kitle indeksi değerleri, beden ağırlığı (g)/uzunluk<sup>2</sup> (mm<sup>2</sup>) olarak hesaplandı. Farelerin boyu ölçülürken burundan anüse kadar olan uzunluk (mm) hesaplandı (Sjögren vd., 2001). Yavrular süttten kesildikten sonra altı hafta daha yüksek yağlı diyetle beslendi.

Postnatal 63. günde farelere, 0,04 ml xylazin ve 0,2 ml ketamin karışımı intraperitoneal olarak enjekte edildi. Anestezi altında dalak çıkarıldıktan sonra hayvanlar servikal dislokasyon yöntemiyle sakrifiye edildi. Hayvanlar anestezi altındayken Finetest kan glukoz monitörü kullanılarak glukoz stripi yardımıyla kan glukoz konsantrasyonu ölçüldü (Smith vd., 2007). Dalak dokusu ve intraperitoneal yağ dokusu çıkarıldıktan sonra ağırlıkları Mettler Toledo marka hassas terazi ile tartılarak belirlendi (Şekil 3.3.).



**Şekil 3.3.** Glukometre, hassas terazi ve intraperitoneal yağ dokusunu göstermektedir. Ok ile gösterilen doku intraperitoneal yağ dokusunu ifade etmektedir.

### 3.3. Histolojik Çalışmalar

Dokular çıkartıldıktan sonra hemen %10'luk formaldehit solüsyonu içerisinde 24 saat tespit edildi. Dokular, formaldehitin uzaklaştırılması amacıyla bir saat akarsuda yıkandı. Tespit işlemi sonrası dokular doku takibi işlemine tabi tutuldu.

#### 3.3.1. Doku takibi ve kesitlerin alınması

%70 Alkol.....	:1 saat
%80 Alkol.....	:1 saat
%90 Alkol.....	:1 saat
%96 Alkol.....	:1 saat
%100 Alkol.....	:1 saat
Ksilen.....	:1 saat
Ksilen.....	:1 saat
Parafin.....	:1 saat
Parafin.....	:2 saat

Dokular parafin içinde bloklandı. Hazırlanan dalak blokları mikrotom cihazının blok tutucu yuvasına yerleştirildi. Dokunun önyüzü traşlanarak doku bütünlüğü sağlandı ve Shandon marka mikrotom ile kesit alındı. Kesitler, 3µm kalınlığında, sistematik ve rastgele örnekleme yöntemine uygun olacak şekilde alındı. Alınan kesitler, fırça yardımıyla 45 C° su banyosuna atıldı. Suda açılan kesitler lama alındı. Daha sonra parafini uzaklaştırmak amacıyla deparafizasyon işlemi uygulandı.



### **3.3.2. Deparafinizasyon yöntemi**

Kesitler, 70 C°' de 30 dakika kesitler etüv içinde bekletildi.

Ksilen.....	:10 dakika
Ksilen.....	:10 dakika
Ksilen.....	:10 dakika
%100 Alkol.....	:1 dakika
%96 Alkol.....	:1 dakika
%90 Alkol.....	:1 dakika
%80 Alkol.....	:1 dakika
%70 Alkol.....	:1 dakika

#### **3.3.2.1. İmmünohistokimyasal boyamalar için deparafinizasyon işlemi**

Kesitler, 60 C°'de 60dk kesitler etüv içinde bekletildi.

Ksilen.....	:5 dakika
Ksilen.....	:5 dakika
Ksilen.....	:5 dakika

Deparafinizasyon işlemi sonrası histolojik ve stereolojik değerlendirmeler için dokulara, hematoksilin&eoizin ve immünohistokimyasal boyamalar uygulandı.

### **3.3.3. Hematoksilin eoizin (Eozin Y alkollü) boyama protokolü**

Akan çeşme suyu.....	:1 dakika
Hematoksilen boyası.....	:2 dakika
Akan çeşme suyu.....	:1 dakika
Asit-Alkol (% 0.3).....	:1 kez batırıp çıkarıldı
Akan çeşme suyu.....	:1 dakika
Amonyak-su (% 1).....	:3 kez batırıp çıkarıldı
Akan çeşme suyu.....	:1 dakika
% 96 Alkol.....	:5 kez batırıp çıkarıldı (çalkalandı)
Eozin Y (Alkollük) .....	:2 dakika
% 70 Alkol.....	:10 kez çalkalandı
% 90 Alkol.....	:10 kez çalkalandı
% 96 Alkol.....	:10 kez çalkalandı
% 100 Alkol.....	:10 kez çalkalandı
Ksilen.....	:10 kez çalkalandı
Ksile:.....	:10 kez çalkalandı
Ksilen.....	:10 kez çalkalandı

Lam ortasına 3 damla entellan damlatıldı ve lamel ile 45 C° açı ile kapatma işlemi gerçekleştirildi.

### **3.3.4. İmmünohistokimyasal boyama**

İmmünohistokimyasal boyamalarda temel prensip, kimyasal ile fikse ederek doku kesitindeki antikorun görüntülemek amacıyla, antijen ile antikorun reaksiyonuna dayanır. Bu yöntem birçok soruya potansiyel cevap verebilen çok hassas ve özgün bir yöntemdir (Sofroniew vd., 1983). Yaptığımız immünohistokimyasal çalışmada dalağın beyaz pulpasındaki T ve B hücrelerinin bulunduğu bölgelerin boyanması planlanmıştır. Bu amaçla çalışmamızda primer antikor olarak B hücreleri için sadece B hücrelerini işaretleyen Rat Anti-Mouse CD45R, T hücreleri için ise sadece T hücrelerini işaretleyen Rat Anti-Mouse CD90.2 kullanılmıştır.

Parafin bloklardan alınan 3 mikronluk kesitler pozitif şarjlı lama alındı. Kesitler boyama öncesi deparafizasyon işlemi müteakibinde hidratasyona tabi tutuldu. Boyama öncesi deparafizasyon ve hidratasyon işlemi hem B hücresi hem de T hücresinin boyanacağı lamlara uygulandı.

#### *3.3.4.1. Boyama öncesi hidratasyon*

%100 Alkol.....	:1 dakika
%96 Alkol.....	:1 dakika
%90 Alkol.....	:1 dakika
%70 Alkol.....	:1 dakika
Akan çeşme suyu.....	:1 dakika
Distile su.....	:1 dakika

#### *3.3.4.2. Antijeniteyi açığa çıkarma (Antijen Retrieval) işlemi*

Bu aşamada amaç; Düdüklü tencere içinde basınç oluşturarak ve kimyasal madde kullanılarak antijeniteyi açığa çıkartmaktır. Bu amaçla, düdüklü tencerenin içine 1/10 dilue EDTA Buffer (PH:8) eklendi Daha sonra 200 ml EDTA Buffer ve Ph'ı 7 olan 1800 ml distile su konuldu.

#### *3.3.4.3. Boyama işlemi*

Bu işlem kapalı kutu içinde nemli ortamda yapılmıştır. Solüsyonlar, lam yüzeyindeki doku üzerini örtecek şekilde damlatılmıştır. Pap pen marka doku sınırlama kalemi ile dokuların etrafı çizildi. Boyama işlemi T ve B hücrelerine aynı şekilde uygulanmıştır. T hücreleri için T hücre primer antikor (Rat Anti-Mouse CD90.2), kromojen olarak AEC, B hücreleri içinde B hücre primer antikor(Rat Anti-Mouse CD45R) ve kromojen olarak DAB kromojeni kullanılmıştır.

Hidrojen peroksidaz (%3 Aqueouse).....	: 10 dk
Fosfat buffer salin (PBS, Tween 20'li).....	: 5 dk
Ultra V Blok.....	: 5 dk
Primer antikor (B/T Hücre).....	: 1 saat
(oda ısısında, kapalı kab içinde, nemli ortamda)	
PBS (Lama 3 kez sıkılmıştır).....	: 3 dk
Amplifier.....	: 20 dk
PBS (3 kez).....	: 3 dk
HRP Polimer.....	: 30 dk
PBS (3 kez).....	: 3 dk
Kromojen (DAB/AEC).....	: 3 dk
Akan çeşme suyu.....	: 30 sn
Hematoksilen boyası.....	: 1 dakika
Akan çeşme suyu.....	: 1 dakika

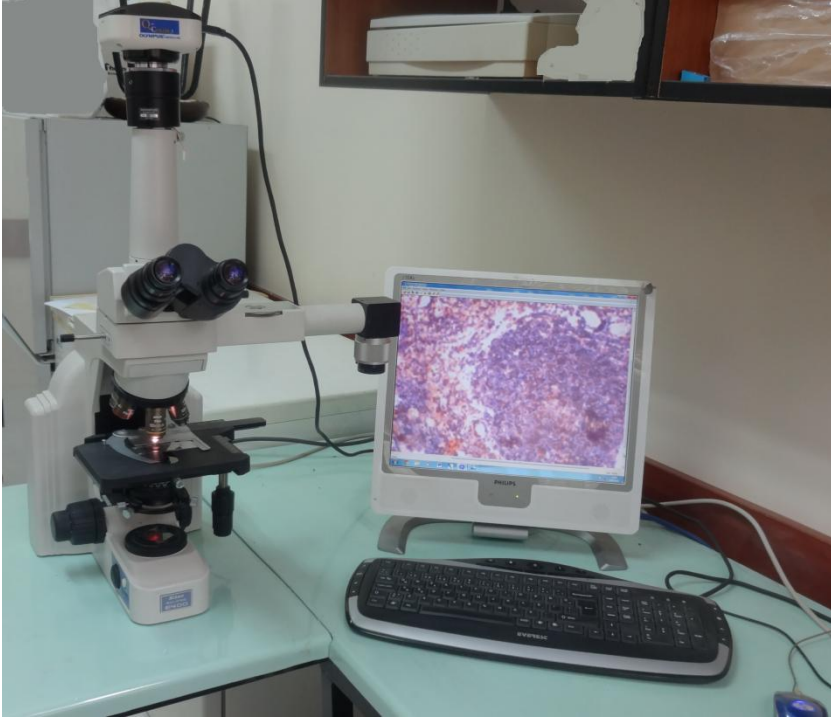
#### 3.3.4.4. Dehidratasyon işlemi

%70 Alkol.....	:10 kez çalkalandı
%90 Alkol.....	:10 kez çalkalandı
%96 Alkol.....	:10 kez çalkalandı
%100 Alkol.....	:10 kez çalkalandı
Ksilen.....	:10 kez çalkalandı
Ksilen.....	:10 kez çalkalandı
Ksilen.....	:10 kez çalkalandı

Lam ortasına 2 damla entellan damlatıldı ve lamel ile 45 C° açı ile kapatma işlemi gerçekleştirildi.

### 3.4. Morfometrik Değerlendirme

Morfometrik değerlendirme için preparatlar, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalında bulunan Nikon ECLİPSE E400 marka ışık mikroskobu yardımıyla çizim tüpü ataşmanı kullanılarak incelendi (Şekil 3.4.).

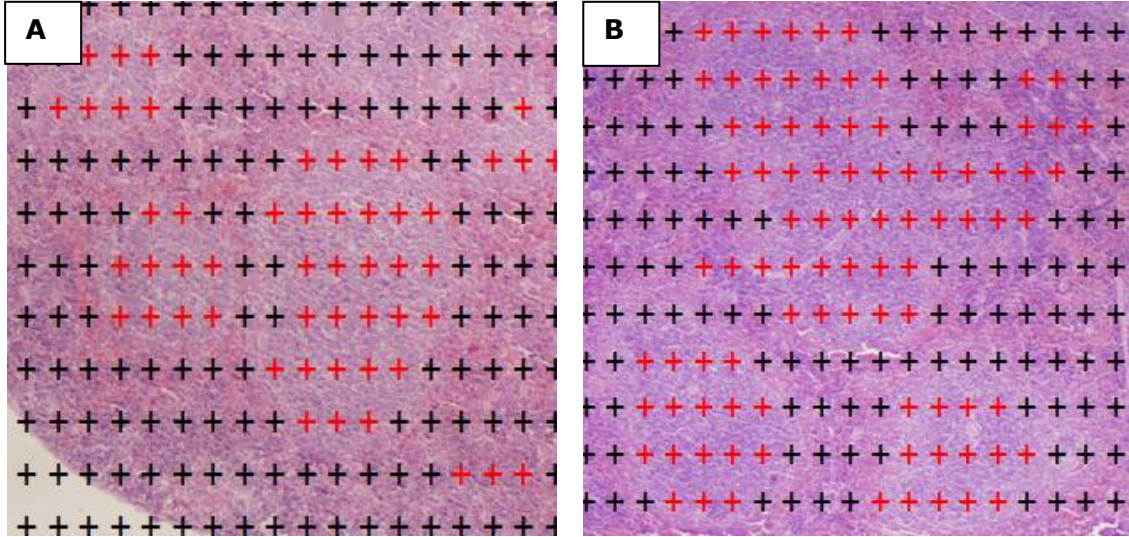


**Şekil 3.4.** Çizim tüpü ataçmanlı ışık mikroskobu

Analizlere başlamadan önce, ön çalışma yapılarak, uygun bir strateji belirlenerek planlama yapıldı. Buna göre çalışmada, tüm kesitler değerlendirilerek total germinal merkez sayısı hesaplandı. Cavalieri prensibini kullanarak; dalak hacmi, total beyaz pulpa hacmi ve T hücrelerinin bulunduğu total PALS hacmi ve germinal merkez hacmi hesaplandı. Öte yandan beyaz pulpanın tüm dalağa oranının volüm densitesi ( $V_{V_{beyaz\ pulpa/dalak}}$ ), PALS'in tüm beyaz pulpaya oranının volüm densitesi ( $V_{VPALS/beyaz\ pulpa}$ ), germinal merkez alanı, germinal merkezin ortalama çapı, T hücrelerinin ortalama nüklear çapları ( $D^-$ ), B hücrelerinin ortalama nüklear çapları ( $D^-$ ), birim hacimdeki T hücre ve B hücre sayısı ( $1mm^{-3}$ 'teki  $N_{vt}$  ve  $N_{vb}$ ) ile PALS'teki total T hücre sayısı hesaplandı.

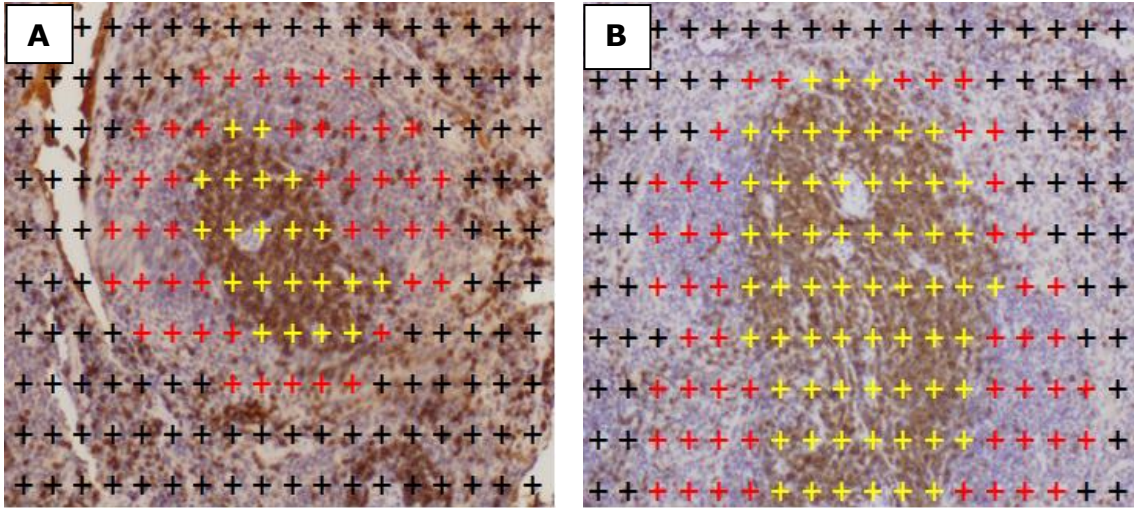
### **3.4.1. Volüm dansite ( $V_V$ )**

Dalaktan alınan  $3\ \mu m$ 'lik sistematik örnekleme yöntemiyle alınan kesitlerde  $7 \times 7$ 'lik noktalı sayım cetveli kullanılarak  $V_V$  hesaplandı.  $V_{V_{beyaz\ pulpa/dalak}}$ 'ni hesaplamak için, dalak içerisindeki beyaz pulpaya düşen nokta sayısı tüm dalağa düşen nokta sayısına bölündü.  $V_{VPALS/beyaz\ pulpa}$ 'ni ise beyaz pulpadaki PALS alanına düşen nokta sayısının, tüm beyaz pulpaya düşen nokta sayısına bölünmesiyle hesaplandı. Bu işlem, her bir hayvandaki her bir kesitten elde edilen değerlerin toplamının ortalaması alınarak hesaplandı (Şekil 3.5. ve 3.6.); (Ulupınar, Yücel & Ortug, 2006).



**Şekil 3.5.** Beyaz pulpa/dalak oranının ( $V_V$ ) hesaplanması  
**A:**Kontrol grubu  
**B:**Yüksek yağlı diyet grubu

Şekil 3.5.'te asetat üzerine işaretlenmiş noktali sayim cetvelinin preparat üzerine atılması gösterilmektedir. Kırmızı renkli noktalar beyaz pulpaya düşen noktaları, kırmızı renkli noktalar ve siyah renkli noktalar dalak üzerine düşen noktaları ifade etmektedir, bunun yanı sıra boşluğa gelen siyah renkli noktalar ise sayıma dahil edilmemiştir.



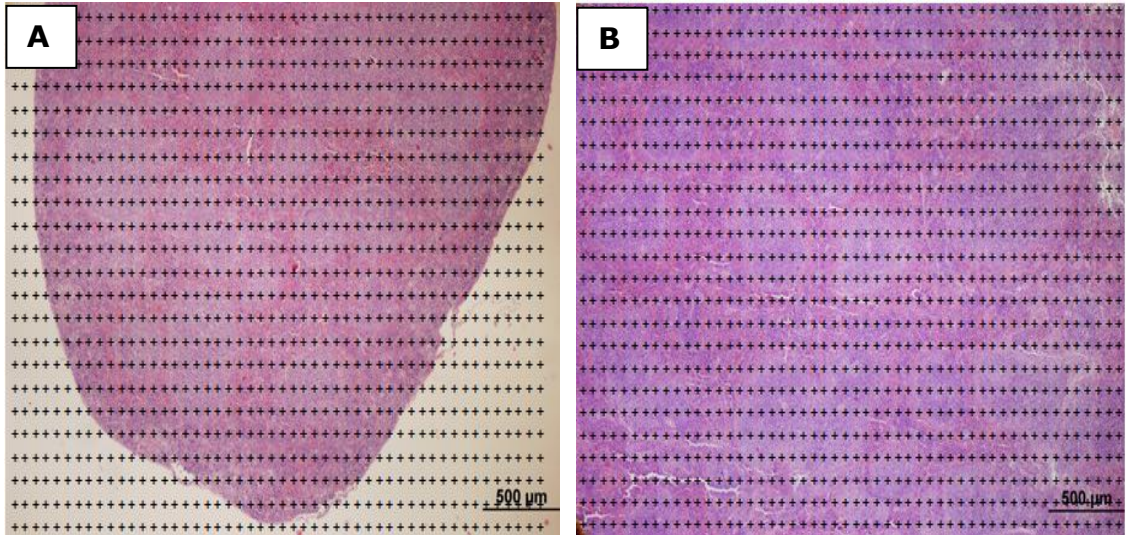
**Şekil 3.6.** PALS/beyaz pulpa oranının ( $V_V$ ) hesaplanması  
**A:**Kontrol grubu  
**B:**Yüksek yağlı diyet grubu

Şekil 3.6.'da asetat üzerine işaretlenmiş noktali sayim cetvelinin preparat üzerine atılması gösterilmektedir. Sarı renkli noktalar PALS bölgesine düşen noktalar, kırmızı renkli noktalar ve sarı renkli noktalar beyaz pulpa üzerine düşen noktaları ifade ederken, siyah renkli noktalar ise sayıma dahil edilmeyen noktaları ifade etmektedir.

### 3.4.2. Cavalieri prensibi ile hacim hesabı

Cavalieri prensibi ile, sistematik rastgele örnekleme yöntemiyle alınan 3 µm'lik kesitlerde, nokta sayım yöntemini kullanılarak hacim hesabı yapıldı. Herbir parafin blokta sistematik rastgele örnekleme yöntemiyle yirmiyedi kesitte bir kesit alındı. Yükseklik (h) değerini hesaplamak için alınan kesit aralığı ile kesit kalınlığı milimetreye çevrilerek çarpıldı. Böylelikle kesit kalınlığı yani T değerine ulaşıldı. Dalak kesitleri üzerine düşen toplam nokta sayısını ( $\Sigma pi$ ) hesaplamak için, 4X'lik objektifte tüm dalak kesitlerinin görüntüsü alındı. Daha sonra bilgisayar ekranındaki dalak kesiti görüntüsünün üzerine noktalı alan ölçüm cetveli (grit) rastgele yerleştirilerek dalak üzerine isabet eden noktaların sayımı yapıldı. Noktalı alan ölçüm cetvelinde iki nokta arasındaki uzaklık (L) 10 mm olarak hesaplandı. Tüm kesitlere aynı işlem uygulandı. Mikrometrenin 4X'lik objektifte görüntüsü alınarak magnifikasyon (mag) 230 mm olarak hesaplandı. İki nokta arasındaki uzaklık magnifikasyona bölünerek her bir noktanın karşılık geldiği birim alan (d) hesaplandı. Dalağın hacmini hesaplamak için her bir hayvanda Cavalieri prensibinin hacim hesabı formülü uygulanarak toplam dalak hacmi hesaplandı (Şekil 3.7.); (Mandarim-De-Lacerda, 2003).

Beyaz pulpanın total hacmini hesaplamak için, her bir hayvandaki  $V_{\text{beyaz pulpa/dalak}}$  değeri ile total dalak hacmi çarpıldı. PALS'in total hacmi ise,  $V_{\text{VPALS/beyaz pulpa}}$  ile total beyaz pulpa hacmi çarpılarak elde edildi.



**Şekil 3.7.** Dalak dokusunun hacminin hesaplanması

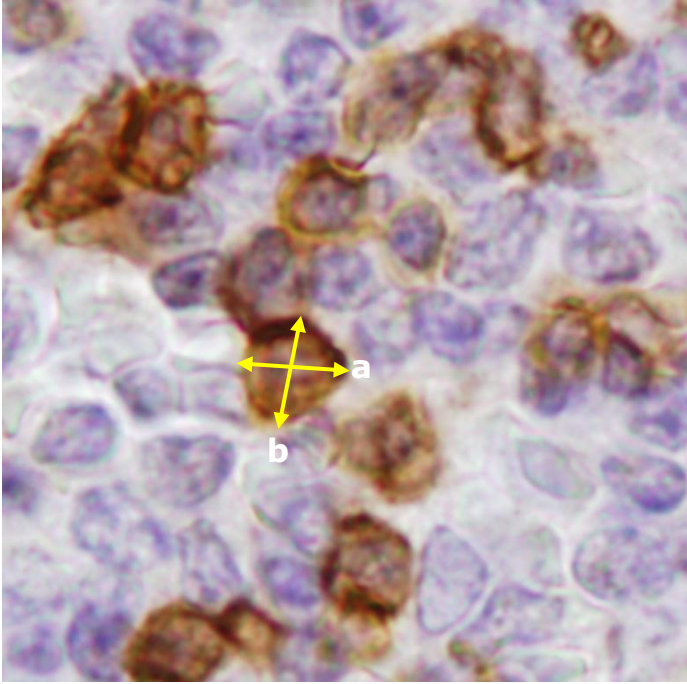
**A:**Kontrol grubu

**B:**Yüksek yağlı diyet grubu

Şekil 3.7.'de asetat üzerine işaretlenmiş noktalı sayım cetvelinin preparat üzerine atılması gösterilmektedir. Siyah noktalar tüm dalak dokusu üzerine düşen noktaları ifade etmektedir.

### **3.4.3. T hücrelerinin ortalama nüklear çaplarının ( $D^-$ ) hesaplanması**

Sistemik rastgele örnekleme metoduyla alınmış ve immünohistokimyasal boyama ile işaretlenmiş 3  $\mu\text{m}$ 'lik kesitlerde, T hücrelerinin nüklearleri, 100X objektifte, mikroskobun draw ayarında tarafsız sayım çerçevesi kullanılarak çizildi. Elde edilen çizimlerdeki nüklearlerin uzun ekseninden geçen majör çap (a) ile majör çapın ortasından çekirdeğin kısa ekseninden geçen minör çap (b) hesaplandı. Daha sonra  $D^- = \sqrt{axb}$  formülü kullanılarak ortalama çap hesaplandı. Magnifikasyonu hesaplamak için, mikrometrenin, mikroskobun 100X draw ayarında, değeri hesaplandı. Buna göre magnifikasyon 1100 olarak hesaplandı (Şekil 3.8.); (Ulupınar, Yücel & Ortug, 2006).



**Şekil 3.8.** T hücre ortalama nüklear çapının ölçülmesi.  
**a**; majör çap, **b**; minor çapı ifade etmektedir.

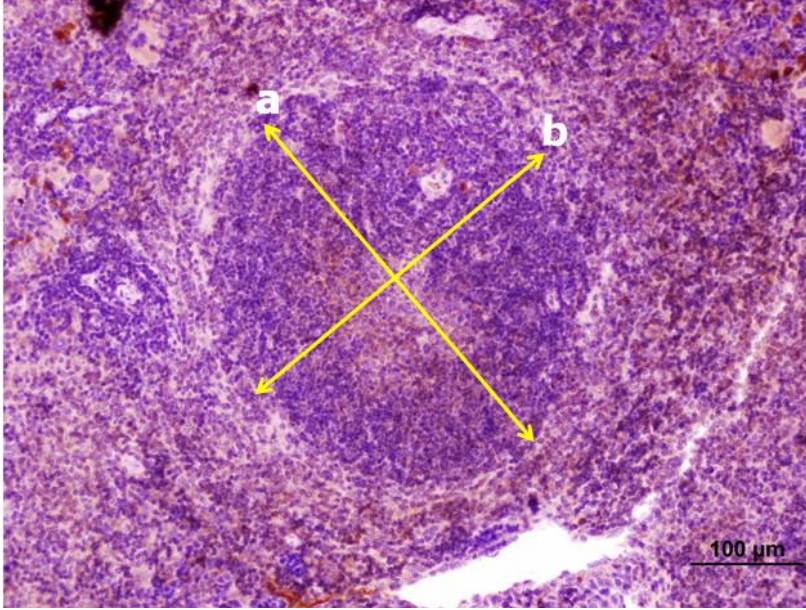
### **3.4.4. B hücrelerinin ortalama nüklear çaplarının ve germinal merkezin ortalama çapının ( $D^-$ ) hesaplanması**

Her hayvandan sistematik rastgele örnekleme yöntemiyle elde edilen B hücrelerinin işaretlendiği preparatların görüntüsü ışık mikroskobuyla alındı. Görüntülere skala bar eklendi. Elde edilen görüntülerde bir resim analiz programı olan Osiris (The Optical Spectrograph and Infrared Imager System) programı kullanılarak B hücrelerinin ve germinal merkezin ortalama çapları ölçüldü. Çalışmamızda, Osiris'in 4.18 sürümü kullanıldı.

Ekranaya yansıtılan görüntüler (CT, MRI, tomografi, histolojik görüntü) piksel adı verilen küçük birimlerden oluşur. Bu nedenle preparatların

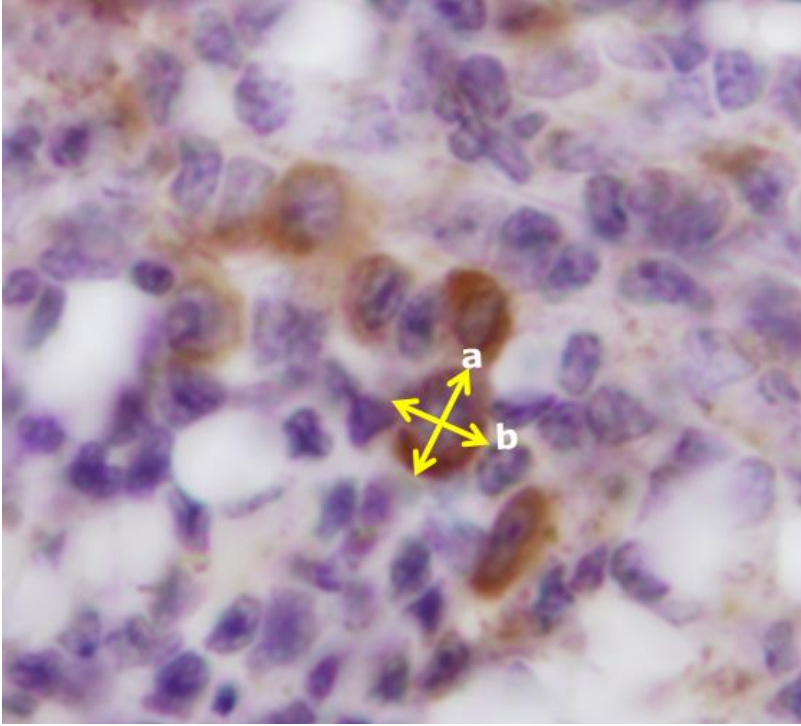
görüntülerinde, skala bar üzerinde 1 piksel'in kaç  $\mu\text{m}$ 'ye tekabül ettiği hesaplandı ve bu değer programa girilerek kalibrasyon yapıldı. Böylelikle bu hesaplama tüm ölçümlerin değerlerinin gerçek boyutlarında hesaplanmasına olanak sağladı (Kabay vd., 2009). Programda B hücrelerinin ve germinal merkezlerin büyük (a) ve küçük (b) çapları  $\mu\text{m}$  olarak ölçüldü (Şekil 3.9. ve 3.10.).

Daha sonra ölçülen değerlerin  $D^- = \sqrt[2]{axb}$  formülüne göre ortalama çapları bulundu (Ulupınar, Yücel & Ortug, 2006).



**Şekil 3.9.** Germinal merkezin ortalama çapının ölçülmesi **a**; majör çap, **b**; minor çapı ifade etmektedir.



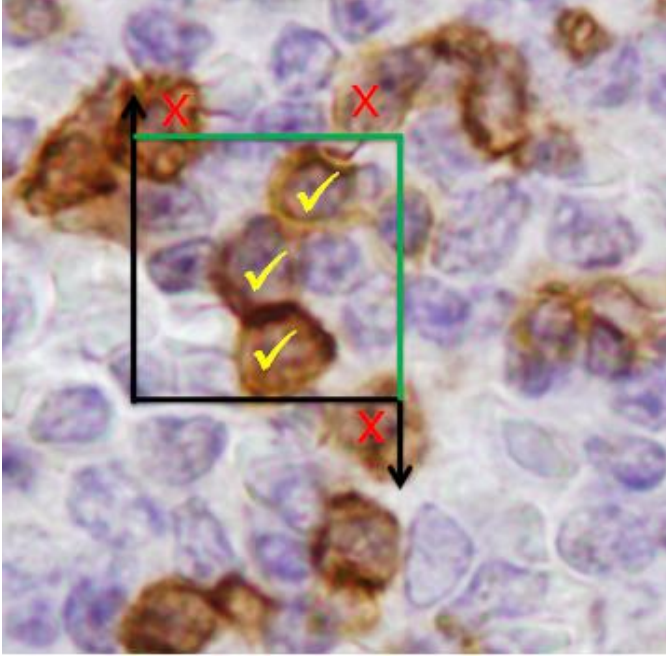


**Şekil 3.10.** B hücre ortalama nüklear çapının ölçülmesi **a**; majör çap, **b**; minor çapı ifade etmektedir.

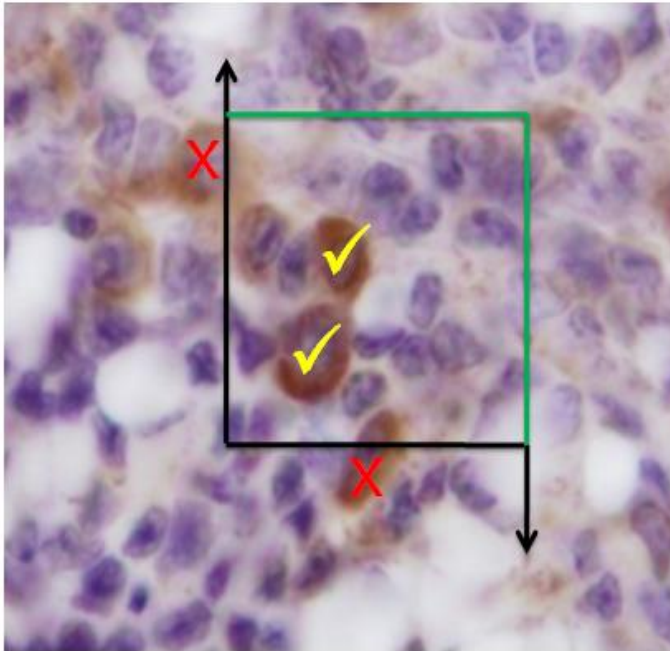
### **3.4.5. T hücrelerinin birim hacimdeki sayısı ( $N_{vt}$ ), PALS'teki total T hücre sayısı ve B hücrelerinin birim hacimdeki sayısının hesaplanması ( $N_{vb}$ )**

Birim hacimdeki T ve B hücre sayısını hesaplamak için,  $N_a/D^- + t$  formülü uygulandı. ' $N_a$ ' kesitteki birim hacimdeki hücre sayısı, ' $D^-$ ' ortalama nüklear çapı ve ' $t$ ' ise kesit kalınlığıdır. Bu amaçla kesitteki birim hacimdeki T hücre sayısını tespit etmek için, 100X objektifte, mikroskobun draw ayarında tarafsız sayım çerçevesi kullanılarak sistematik rastgele örnekleme yöntemiyle belirlenen farklı alanlarda birim alan içerisine düşen T hücre sayısı saptandı. Birim hacimdeki B hücre sayısını hesaplamak için ışık mikroskobuyla alınan sistematik rastgele örnekleme yöntemiyle alınan görüntülerde farklı alanlar belirlendi. Bu alanlarda tarafsız sayım çerçevesi kullanılarak birim alan içerisine düşen B hücre sayısı hesaplandı. Sayım çerçevesinin sağ ve üst çizgileri üzerine düşen T ve B hücreleri sayılırken; sol ve alt çizgileri üzerine düşen hücreler sayıma dahil edilmedi (Mayhew, 1991). Sayım işlemi her bir kesitte her bir hayvan için aynı işlem uygulanarak gerçekleştirildi. Büyütme faktörü göz önünde bulundurularak, tarafsız sayım çerçevesi alanına düşen T ve B hücre sayısı saptandıktan sonra, birim alana düşen T ve B hücre sayısı ( $N_a$ ) hesaplandı. Elde edilen veriler formüle yerleştirilerek birim hacimdeki T ve B hücre sayısı ( $1\text{mm}^{-3}$ 'teki  $N_{vt}$ ) tespit edildi (Şekil 3.11. ve 3.12.); (Ulupınar, Yücel & Ortug, 2006).

PALS'teki total T hücre sayısı; dalak hacmi, beyaz pulpanın tüm dalağa oranının volüm densitesi ( $V_{\text{beyaz pulpa/dalak}}$ ), PALS'in tüm beyaz pulpaya oranının volüm densitesi ( $V_{\text{VPALS/beyaz pulpa}}$ ) ve birim hacimdeki T hücre sayısı ( $1\text{mm}^{-3}$ 'teki  $N_{\text{Vt}}$ ) çarpılarak hesaplandı.



**Şekil 3.11.** Birim alana düşen T hücre sayısının hesaplanması  
✓: Tarafsız sayım çerçevesine düşen T hücre sayısını göstermektedir.  
X : Sayıma dahil edilmeyen T hücrelerini göstermektedir.

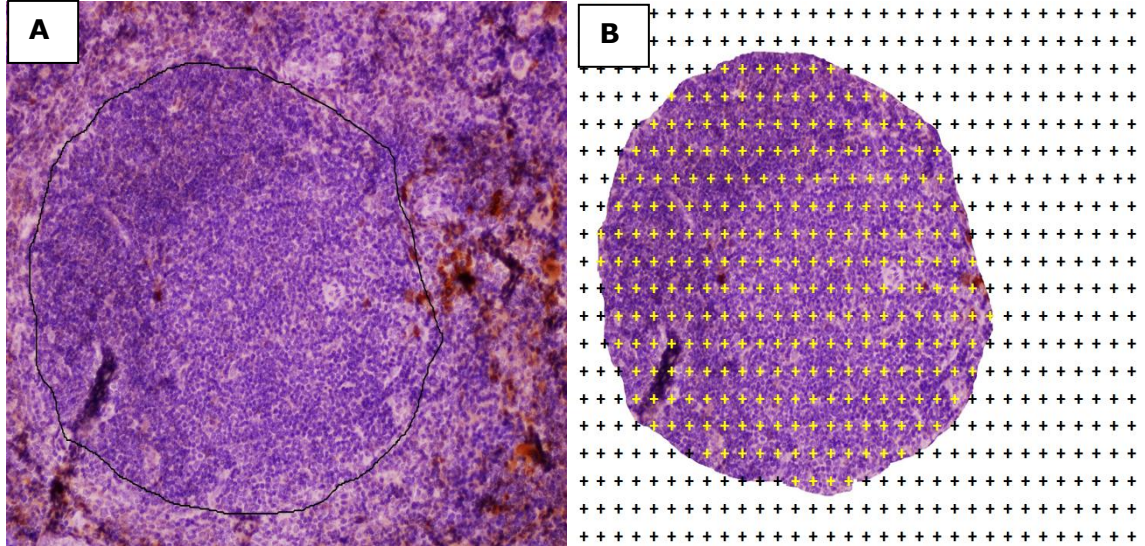


**Şekil 3.12.** Birim alana düşen B hücre sayısının hesaplanması  
✓: Tarafsız sayım çerçevesine düşen B hücre sayısını göstermektedir.  
X : Sayıma dahil edilmeyen B hücrelerini göstermektedir.

### 3.4.6. Germinal merkez alanı ve germinal merkez hacminin hesaplanması

Germinal merkezin alanını ve hacmini hesaplamak için, sistematik rastgele örnekleme yöntemiyle her bir hayvanda 10 adet germinal merkez incelendi. Bunun için mikroskobun draw ayarında sistematik rastgele örnekleme yöntemiyle belirlenen germinal merkezler çizildi. Bu görüntü üzerine noktalı alan cetveli rastgele atılarak germinal merkez üzerine düşen nokta sayısı ( $\Sigma pi$ ) hesaplandı. Noktalı alan ölçüm cetvelinde iki nokta arasındaki uzaklık (L) 10 mm olarak hesaplandı. Tüm kesitlere aynı işlem uygulandı. Mikrometrenin 20X'lik objektifte görüntüsü çizilerek magnifikasyon (mag) 280mm olarak hesaplandı. Böylece her bir noktanın karşılık geldiği birim alanı (d) hesaplamak için, iki nokta arasındaki uzaklık magnifikasyona bölündü. Germinal merkez üzerine düşen toplam nokta sayısı ( $\Sigma pi$ ) ile her bir noktanın karşılık geldiği toplam birim alan ( $d$ )<sup>2</sup> çarpılarak germinal merkezin alanı hesaplandı.

Dalaktan alınan kesit aralığı ile kesit kalınlığı milimetreye çevrilip çarpılarak T değerine ulaşıldı. Germinal merkezin hacmi ise, germinal merkez üzerine düşen toplam nokta sayısı ( $\Sigma pi$ ) ile her bir noktanın karşılık geldiği toplam birim alan ( $d$ )<sup>2</sup> ve kesit kalınlığı (T) çarpılarak elde edildi (Şekil 3.13.); (Mandarim-De-Lacerda, 2003, Altunkaynak vd., 2009).



**Şekil 3.13.** Germinal merkez alanı ve hacminin hesaplanması.

**A:** Germinal merkez ışık mikroskopik görüntüsü

**B:** Germinal merkez üzerine atılan gritdeki toplam nokta sayısını ifade etmektedir.

### **3.5. İstatistiksel Değerlendirme**

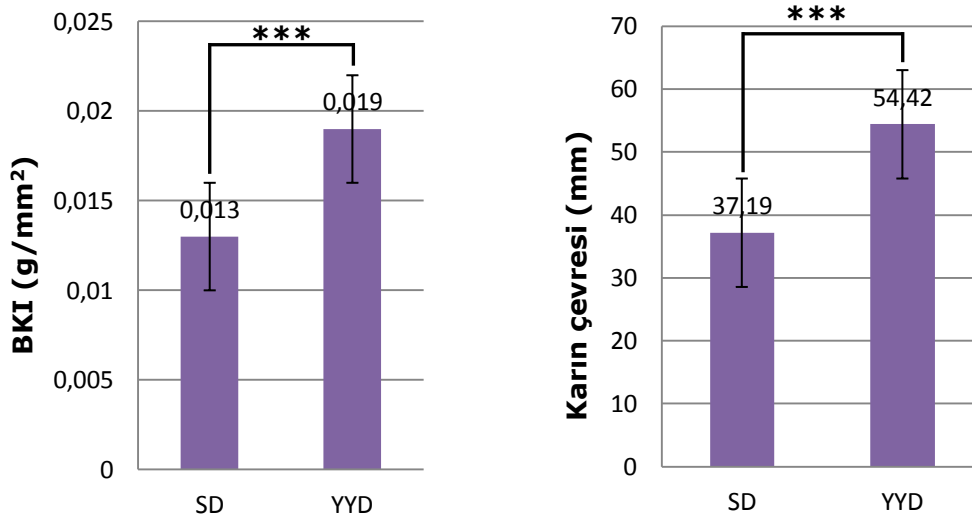
İstatistiksel değerlendirme için IBM SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 21 programı kullanıldı. Gruplara önce Shapiro-Wilk Normality Test kullanılarak normal dağılım gösterip göstermediğine karar verebilmek için ön test uygulandı. Ön test verilerine göre verilerimiz normal dağılım gösterdiği için independent T testi ile değerlendirildi. Sonuçlar %95'lik güven aralığında kabul edilip P değeri 0.05'den küçük olanlar anlamlı kabul edildi. Sonuçlar ort  $\pm$ SEM olarak ifade edildi.

## 4. BULGULAR

Bu çalışmada yüksek yağlı diyet grubu (YYD) ve standart diyet (SD) grubu olmak üzere 2 grup kullanılmıştır. İki grupta hem prenatal hem de postnatal dönemde hayvanlar toplamda 12 hafta boyunca YYD ve SD ile beslenmiştir. Laktasyon sonrası yavruların haftalık; boy, kilo ve karın çevresi takibi yapılmıştır. 12. hafta sonunda hayvanlardan anestezi altında alınan dokular morfometrik olarak değerlendirilmiştir. Tüm bu çalışmalar sonucunda elde edilen bulgular aşağıda sunulmuştur.

### 4.1. Yüksek Yağlı Diyetin Beden Kitle İndeksi, Karın Çevresi Ölçümü Üzerindeki Etkileri

Prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyete maruz kalan yavrularda, prenatal ve postnatal dönemlerde standart diyetle beslenen gruba göre beden kitle indeksi (BKI) ve karın çevresi uzunluğu istatistiksel olarak ileri düzeyde artmıştır (Şekil 4.1.; Tablo 4.1.)



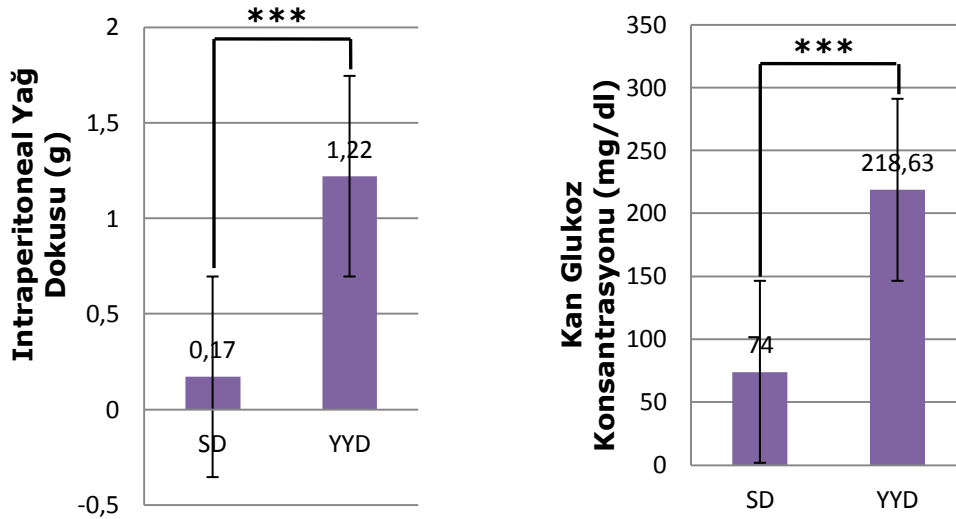
**Şekil 4.1.** Yüksek yağlı diyet ve standart diyetle beslenen yavruların BKI ve intraperitoneal yağ dokusu ortalamalarının karşılaştırılmasını gösteren grafik (Hata çubukları üzerindeki değerler ortalama değerlerdir. Değerler  $\text{ort} \pm \text{SEM}$  olarak ifade edilmiştir, SD; kontrol diyet, YYD; yüksek yağlı diyet, \*\*\* $p < 0,001$ ).

**Tablo 4.1.** Standart diyet ve yüksek yağlı diyet ile beslenen grupların BKİ ve karın çevresinin karşılaştırılması ve istatistiksel analiz sonuçları (Gruplar arasındaki farklılıklar independent T testi ile değerlendirilmiştir, n; deneyde kullanılan hayvan sayısını, \*\*\*;  $p < 0,001$  ifade etmektedir).

Yaş= 6 hafta	SD (n=7)	YYD (n=8)	P değeri	Anlamlılık düzeyi
	Ort±SEM	Ort±SEM		
BKİ (g/mm <sup>2</sup> )	0,013±0,0003	0,019±0,0009	$p < 0,001$	***
Karın çevresi (mm)	37,19±0,97	54,42±1,19	$p < 0,001$	***

## 4.2. Yüksek Yağlı Diyetin İntraperitoneal Yağ Dokusu ve Kan Glukoz Konsantrasyonu Üzerindeki Etkileri

Prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyetle maruz kalan yavrularda, prenatal ve postnatal dönemlerde standart diyetle beslenen gruba göre intraperitoneal yağ dokusunda ve kan glukoz konsantrasyonunda istatistiksel olarak ileri düzeyde bir artış olduğu tespit edildi (Şekil 4.2.; Tablo 4.2.).



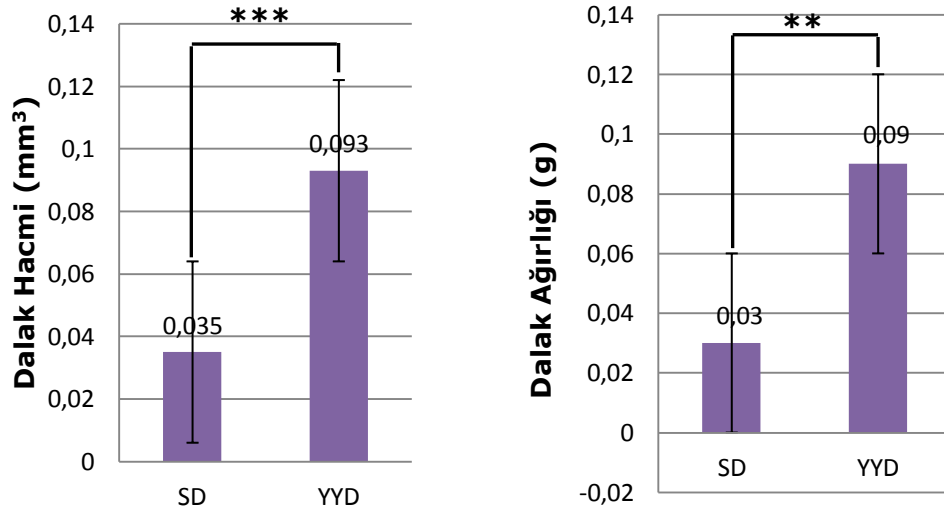
**Şekil 4.2.** Yüksek yağlı diyet ve standart diyetle beslenen yavruların intraperitoneal yağ dokusu ve kan glukoz konsantrasyonu ortalamalarının karşılaştırılmasını gösteren grafik (Hata çubukları üzerindeki değerler ortalama değerlerdir. Değerler ort±SEM olarak ifade edilmiştir, SD; standart diyet, YYD; yüksek yağlı diyet, \*\*\*;  $p < 0,001$ ).

**Tablo 4.2.** Standart diyet ve yüksek yağlı diyet ile beslenen grupların intraperitoneal yağ dokusu ve kan glukoz konsantrasyonunun karşılaştırılması ve istatistiksel analiz sonuçları (Gruplar arasındaki farklılıklar independent T testi ile değerlendirilmiştir, n; deneyde kullanılan hayvan sayısını, \*\*\*;  $p < 0,001$  ifade etmektedir).

Yaş= 6 hafta	SD (n=7)	YYD (n=8)	P değeri	Anlamlılık düzeyi
	Ort±SEM	Ort±SEM		
İntraperitoneal yağ dokusu (g)	0,17±0,101	1,22±0,055	$p < 0,001$	***
Kan glukoz konsantrasyonu (mg/dl)	74±4,73	218,63±12,43	$p < 0,001$	***

### 4.3. Yüksek Yağlı Diyetin Dalak Hacmi ve Dalak Ağırlığı Üzerindeki Etkileri

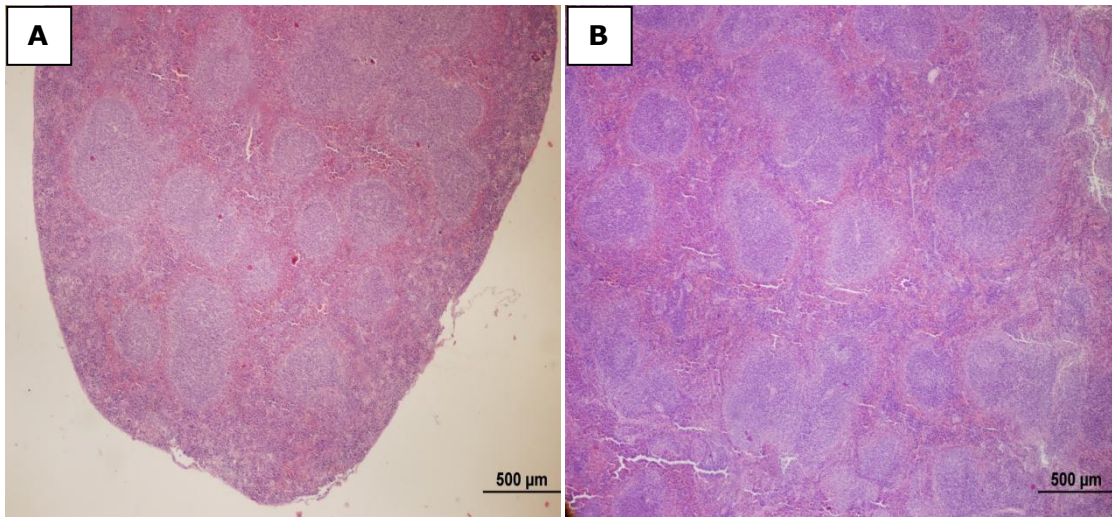
Hematoksilen-Eozin ile boyanan prenatal ve postnatal dönemde yüksek yağlı diyet ile beslenen grup ile prenatal ve postnatal dönemde standart diyetle beslenen gruba ait dalak kesitlerinden ışık mikroskobu görüntüsü alınmıştır (Şekil 4.4.). Buna göre yapılan analizler sonucunda prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyet ile beslenen yavrularda, prenatal ve postnatal dönemde standart diyetle beslenen gruba göre dalak hacmi ve ağırlığı artmıştır (Şekil 4.3.; Tablo 4.3.).



**Şekil 4.3.** Yüksek yağlı diyet ve standart diyetle beslenen yavruların ortalama dalak hacimleri ve dalak ağırlıklarının ortalamalarının karşılaştırılmasını gösteren grafik (Hata çubukları üzerindeki değerler ortalama değerlerdir. Değerler ort±SEM olarak ifade edilmiştir, SD; standart diyet, YYD; yüksek yağlı diyet, \*\*\*;  $p < 0,001$  \*\*;  $p < 0,01$ ).

**Tablo 4.3.** Standart diyet ve yüksek yağlı diyet ile beslenen grupların dalak hacmi ve dalak ağırlığının karşılaştırılması ve istatistiksel analiz sonuçları (Gruplar arasındaki farklılıklar independent T testi ile değerlendirilmiştir, n; deneyde kullanılan hayvan sayısını, \*\*\*; p<0,001 \*\*; p<0,01 ifade etmektedir).

Yaş= 6 hafta	SD (n=7)	YYD (n=8)	P değeri	Anlamlılık düzeyi
	Ort±SEM	Ort±SEM		
Dalak hacmi (mm <sup>3</sup> )	0,035±0,0093	0,093±0,0082	P=0,001	***
Dalak ağırlığı (g)	0,03±0,005	0,09±0,012	P=0,002	**



**Şekil 4.4.** Standart diyet ve yüksek yağlı diyet grubuna ait dalak kesitinin ışık mikroskobu görüntüsü (Skala = 500 µm, HE).

**A:** Standart diyet grubu, **B:** Yüksek yağlı diyet grubuna ait kesittir.  
Görüntüler her iki grupta da aynı bölgeden alınmıştır.

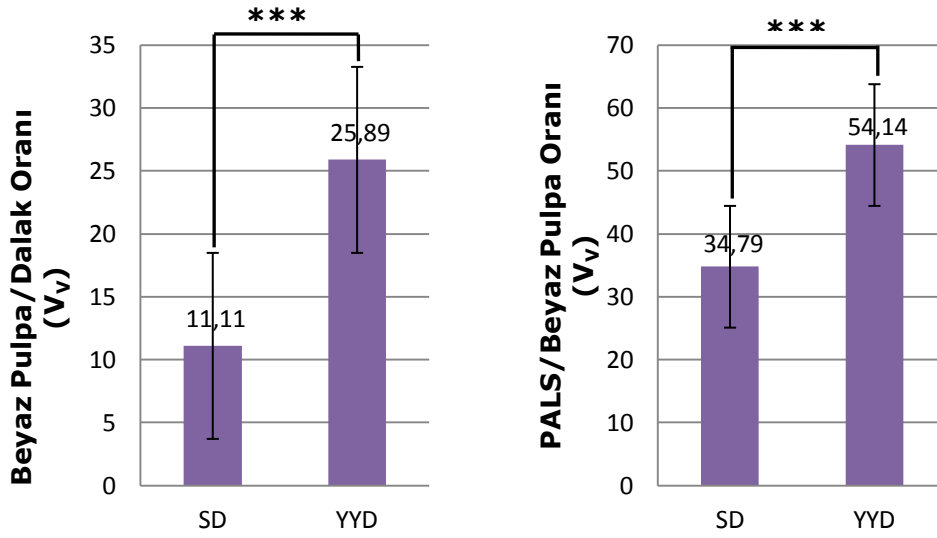
#### 4.4. Morfometrik Analiz Bulguları

##### 4.4.1. Beyaz pulpa/dalak ve PALS/beyaz pulpa oranları (Volume Fraction)

Tüm farelerde beyaz pulpa/dalak oranı ve PALS (periarteriolar lenfatik kılıf)/beyaz pulpa oranı volume fraction metoduna göre hesaplandı. Yani, kontrol grubunda beyaz pulpa/dalak oranı %11.11 olarak hesaplanırken, bu oran yüksek yağlı diyetle beslenen yavrularda %25.89 olarak hesaplandı. Bu değerler yüksek yağlı diyetin dalaktaki beyaz pulpa oranlarının ileri düzeyde arttırdığını (p<0,001) işaret etmektedir. PALS/beyaz pulpa oranı, kontrol grubunda %34.79 iken yüksek yağlı diyetle beslenen grupta ise %54.14 olarak hesaplandı. Bu bulgular beyaz



pulpadaki PALS alanlarının ileri düzeyde arttığını ( $p<0,001$ ) göstermektedir (Şekil 4.5.;Tablo 4.4.).



**Şekil 4.5.** Yüksek yağlı diyet ve standart diyetle beslenen yavruların beyaz pulpa/dalak oranı ve PALS/beyaz pulpa oranı ortalamalarının karşılaştırılmasını gösteren grafik (Hata çubukları üzerindeki değerler ortalama değerlerdir. Değerler  $ort\pm SEM$  olarak ifade edilmiştir, SD; standart diyet, YYD; yüksek yağlı diyet, \*\*\*;  $p<0,001$ ).

**Tablo 4.4.** Standart diyet ve yüksek yağlı diyet ile beslenen grupların beyaz pulpa/dalak oranları ve PALS/beyaz pulpa oranlarının karşılaştırılması ve istatistiksel analiz sonuçları (Gruplar arasındaki farklılıklar independent T testi ile değerlendirilmiştir, n; deneyde kullanılan hayvan sayısını, \*\*\*;  $p<0,001$  ifade etmektedir).

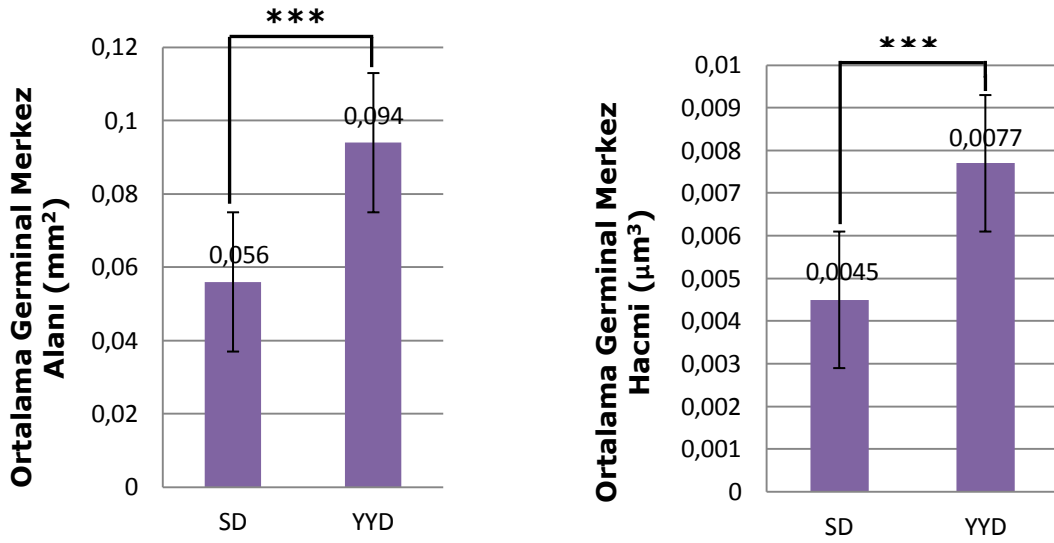
Yaş=6 hafta	SD (n=7)	YYD (n=8)	P değeri	Anlamlılık düzeyi
	Ort $\pm$ SEM	Ort $\pm$ SEM		
<b>Beyaz pulpa/Dalak dokusu (V<sub>v</sub>)</b>	11.11 $\pm$ 0,97	25.89 $\pm$ 0,76	$p<0,001$	***
<b>PALS/Beyaz pulpa (V<sub>v</sub>)</b>	34.79 $\pm$ 1,84	54.14 $\pm$ 1,32	$p<0,001$	***

#### 4.4.2. Germinal merkez alanı ve germinal merkez hacmi

İmmünohistokimyasal ile boyanan prenatal ve postnatal dönemde yüksek yağlı diyet ile beslenen grup ile prenatal ve postnatal dönemde standart diyetle beslenen gruba ait ışık mikroskopik kesitlerde germinal merkez belirlendi (Şekil 4.7.). Buna göre germinal merkez alanı ve hacmi nokta sayım (point counting)na göre hesaplandı. Buna göre, prenatal ve postnatal dönemlerde standart diyetle beslenen yavrularda ortalama germinal merkez alanı  $0,056 \text{ mm}^2$  olarak bulunurken, prenatal ve

postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyetle beslenen yavrularda ortalama germinal merkez alanı  $0,094 \text{ mm}^2$  olarak hesaplandı. Bu bulgular germinal merkez alanının ileri düzeyde arttığını ( $p < 0,001$ ) göstermektedir.

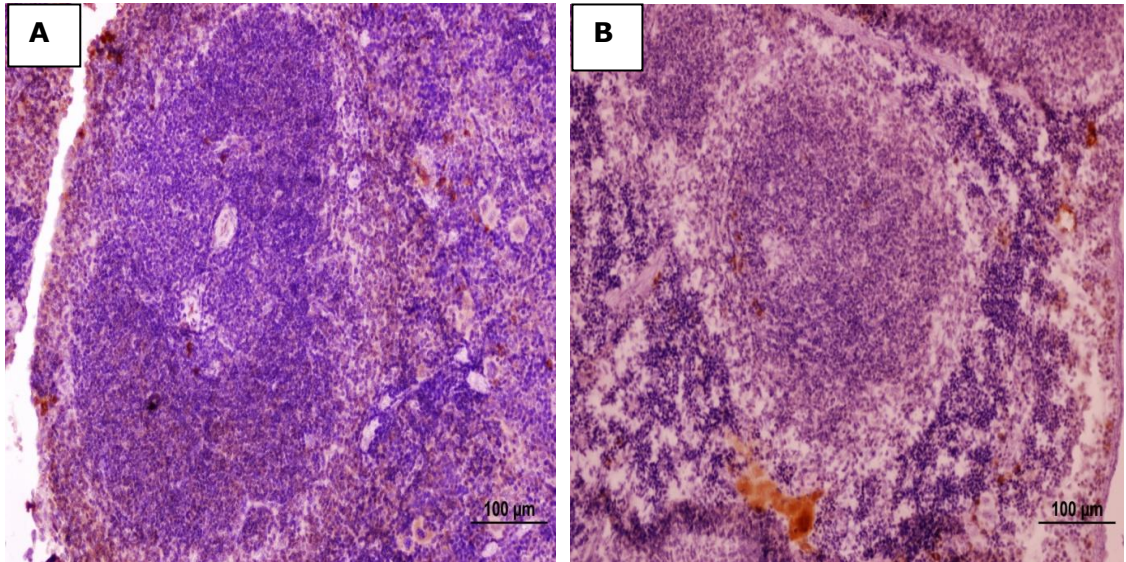
Ortalama germinal merkez hacmi ise prenatal ve postnatal dönemlerde standart diyetle beslenen grupta  $0,0045 \text{ } \mu\text{m}^3$  olarak hesaplanırken, prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyetle beslenen grupta ortalama germinal merkez hacmi  $0,0077 \text{ } \mu\text{m}^3$  olarak hesaplandı. Bu değerler yüksek yağlı diyetin germinal merkez hacmini ileri düzeyde artışa ( $p < 0,001$ ) neden olduğunu göstermektedir (Şekil 4.6.;Tablo 4.5.).



**Şekil 4.6.** Yüksek yağlı diyet ve standart diyetle beslenen yavruların germinal merkez alanı (A), germinal merkez hacmi (B) ve germinal merkezin ortalama çapı (C) ortalamalarının karşılaştırılmasını gösteren grafik (Hata çubukları üzerindeki değerler ortalama değerlerdir. Değerler  $\text{ort} \pm \text{SEM}$  olarak ifade edilmiştir, SD; standart diyet, YYD; yüksek yağlı diyet, \*\*\*;  $p < 0,001$ ).

**Tablo 4.5.** Standart diyet ve yüksek yağlı diyet ile beslenen grupların germinal alanının ve germinal merkez hacminin karşılaştırılması ve istatistiksel analiz sonuçları (Gruplar arasındaki farklılıklar independent T testi ile değerlendirilmiştir, n; deneyde kullanılan hayvan sayısını, \*\*\*;  $p < 0,001$  ifade etmektedir).

Yaş=6 hafta	SD (n=7)	YYD (n=8)	P değeri	Anlamlılık düzeyi
	Ort±SEM	Ort±SEM		
Ortalama Germinal merkez alanı (mm <sup>2</sup> )	0,056±0,0026	0,094±0,0047	$p < 0,001$	***
Ortalama Germinal merkez hacmi (µm <sup>3</sup> )	0,0045±0,00021	0,0077±0,00035	$p < 0,001$	***



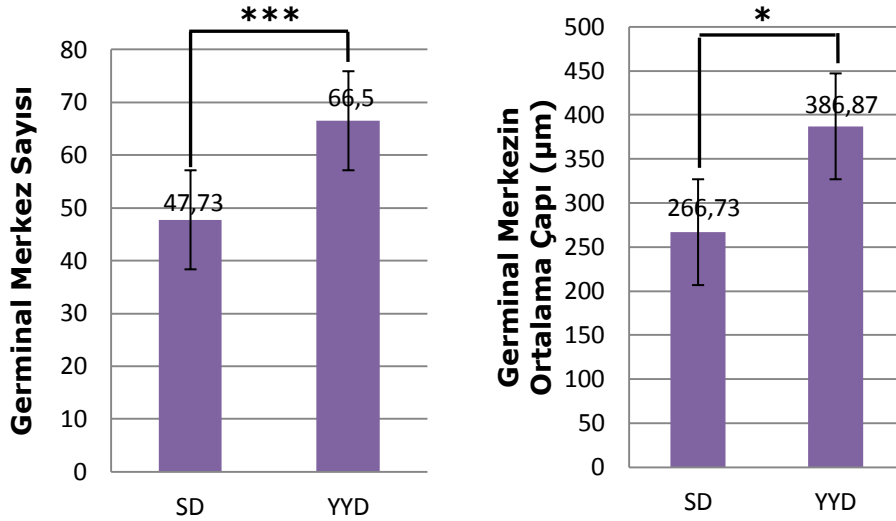
**Şekil 4.7.** Standart diyet ve yüksek yağlı diyet grubuna ait dalak kesitinde germinal merkezin ışık mikroskobu görüntüsü (Skala = 100 µm, immunohistokimyasal boyama).

**A:** Standart diyet grubu, **B:** Yüksek yağlı diyet grubuna ait kesittir.

#### **4.4.3. Germinal merkez sayısı ve germinal merkezin ortalama çapı ( $D^-$ )**

Hematoksilen-Eozin ile boyanan prenatal ve postnatal dönemde yüksek yağlı diyet ile beslenen grup ile prenatal ve postnatal dönemde standart diyetle beslenen grupta ışık mikroskopik kesitlerde germinal merkez sayıldı (Şekil 4.9.). Germinal merkez sayısı prenatal ve postnatal dönemlerde standart diyetle beslenen grupta 47,73 olarak bulunurken, prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyetle beslenen grupta ise 66,5 olarak hesaplandı. Buna göre prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyetle beslenen grupta standart diyetle beslenen gruba göre

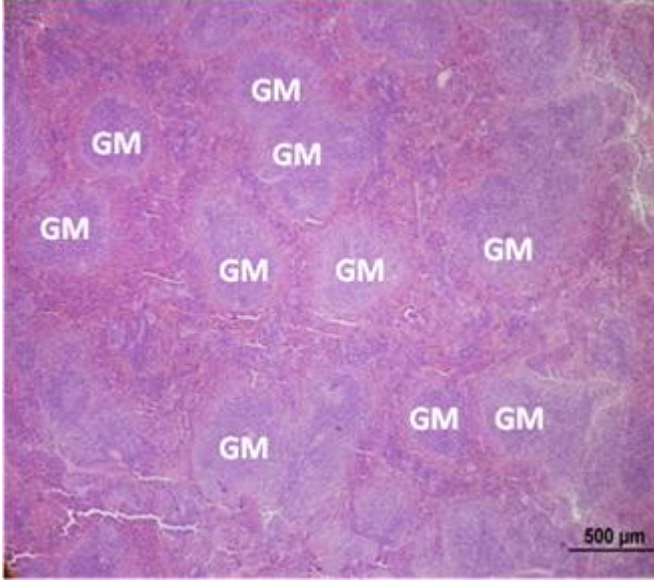
germinal merkez sayısında, istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ( $p=0,02$ ) artış olduğu bulundu. Öte yandan, germinal merkezin ortalama çapı prenatal ve postnatal dönemlerde standart diyetle beslenen grupta  $266,73 \mu\text{m}$  olarak bulunurken, prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyetle beslenen grupta ise  $386,87 \mu\text{m}$  olarak hesaplandı. Yüksek yağlı diyetle beslenen grupta germinal merkezin ortalama çapında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak ileri düzeyde artış ( $p<0,001$ ) olduğu tespit edildi. (Şekil 4.8.;Tablo 4.6.).



**Şekil 4.8.** Yüksek yağlı diyet ve standart diyetle beslenen yavruların germinal merkez sayısı ve germinal merkezin ortalama çapının ortalamalarının karşılaştırılmasını gösteren grafik (Hata çubukları üzerindeki değerler ortalama değerlerdir. Değerler  $\text{ort} \pm \text{SEM}$  olarak ifade edilmiştir, SD; standart diyet, YYD; yüksek yağlı diyet, \*\*\*;  $p<0,001$ , \*;  $p<0,05$ ).

**Tablo 4.6.** Standart diyet ve yüksek yağlı diyet ile beslenen grupların toplam germinal merkez sayısının ve germinal merkezin ortalama çapının karşılaştırılması ve istatistiksel analiz sonuçları (Gruplar arasındaki farklılıklar independent T testi ile değerlendirilmiştir, n; deneyde kullanılan hayvan sayısını, \*\*\*;  $p<0,001$ , \*;  $p<0,05$  ifade etmektedir).

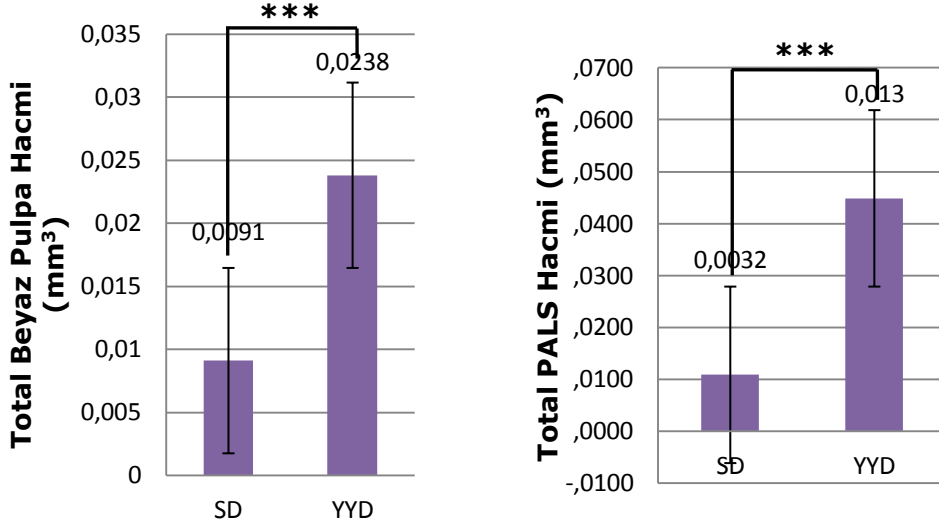
Yaş=6 hafta	SD (n=7)	YYD (n=8)	P değeri	Anlamlılık düzeyi
	Ort $\pm$ SEM	Ort $\pm$ SEM		
Germinal merkez sayısı	47,73 $\pm$ 6,85	66,5 $\pm$ 2,82	$p=0,02$	*
Germinal merkezin ortalama çapı ( $\mu\text{m}$ )	266,73 $\pm$ 19,49	386,87 $\pm$ 11,77	$p<0,001$	***



**Şekil 4.9.** Dalak kesitinde germinal merkezin ışık mikroskobu görüntüsü (Skala = 500 µm, HE).  
GM; germinal merkezi ifade etmektedir.

#### **4.4.4. Total beyaz pulpa ve total PALS hacimleri**

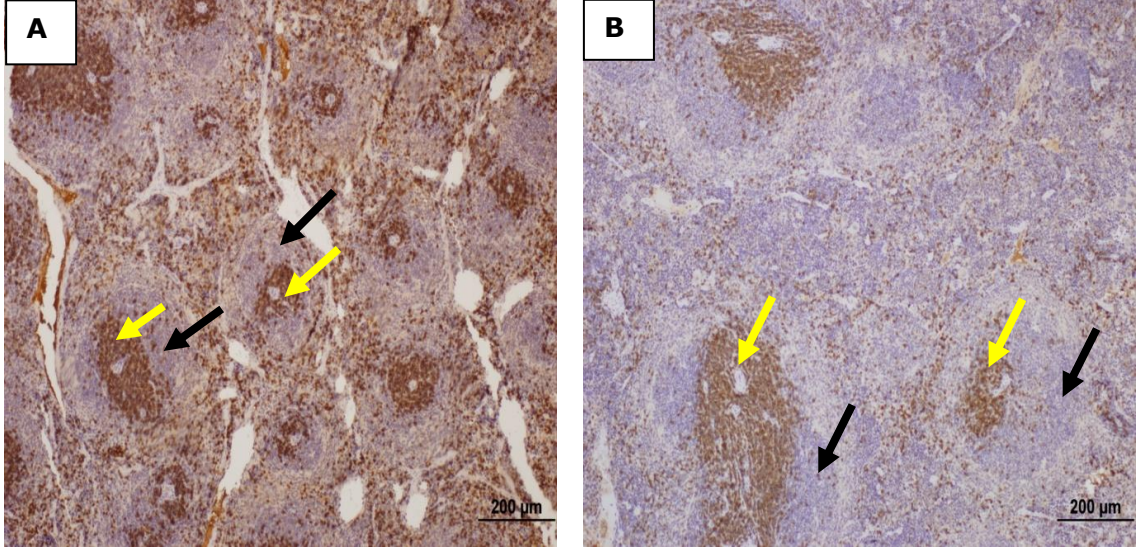
İmmünohistokimyasal ile boyanan prenatal ve postnatal dönemde yüksek yağlı diyet ile beslenen grup ile prenatal ve postnatal dönemde standart diyetle beslenen gruba ait ışık mikroskobik kesitlerde beyaz pulpa ve PALS bölgesi belirlendi (Şekil 4.11.). Buna göre total beyaz pulpa hacmi prenatal ve postnatal dönemlerde standart diyetle beslenen grupta 0,0091 mm<sup>3</sup> olarak bulunurken, prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyetle beslenen grupta ise 0,0238 mm<sup>3</sup> olarak hesaplandı. Bu değerler yüksek yağlı diyetin total beyaz pulpa hacmini arttırdığını (p=0,002) işaret etmektedir. prenatal ve postnatal dönemlerde standart diyetle beslenen grupta total PALS hacmi 0,0032 mm<sup>3</sup> iken prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyetle beslenen yavrularda ise 0,0128 mm<sup>3</sup> olarak hesaplandı. Bu bulgular yüksek yağlı diyetin PALS hacmini ileri düzeyde (p<0,001) arttırdığını göstermektedir (Şekil 4.10. ;Tablo 4.7.).



**Şekil 4.10.** Yüksek yağlı diyet ve standart diyetle beslenen yavruların beyaz pulpa hacmi ve PALS hacmi ortalamalarının karşılaştırılmasını gösteren grafik (Hata çubukları üzerindeki değerler ortalama değerlerdir. Değerler  $\text{ort} \pm \text{SEM}$  olarak ifade edilmiştir, SD; standart diyet, YYD; yüksek yağlı diyet, \*\*\*;  $p < 0,001$ , \*\*;  $p < 0,01$ ).

**Tablo 4.7.** Standart diyet ve yüksek yağlı diyet ile beslenen grupların beyaz pulpa hacmi ve PALS hacminin karşılaştırılması ve istatistiksel analiz sonuçları (Gruplar arasındaki farklılıklar independent T testi ile değerlendirilmiştir, n; deneyde kullanılan hayvan sayısını, \*\*\*;  $p < 0,001$ , \*\*;  $p < 0,01$  ifade etmektedir).

Yaş=6 hafta	SD (n=7)	YYD (n=8)	P değeri	Anlamlılık düzeyi
	Ort $\pm$ SEM	Ort $\pm$ SEM		
<b>Total beyaz pulpa hacmi (mm<sup>3</sup>)</b>	0,0091 $\pm$ 0,0029	0,0238 $\pm$ 0,0025	P=0,002	**
<b>Total PALS hacmi (mm<sup>3</sup>)</b>	0,0032 $\pm$ 0,0011	0,013 $\pm$ 0,0014	p<0,001	***

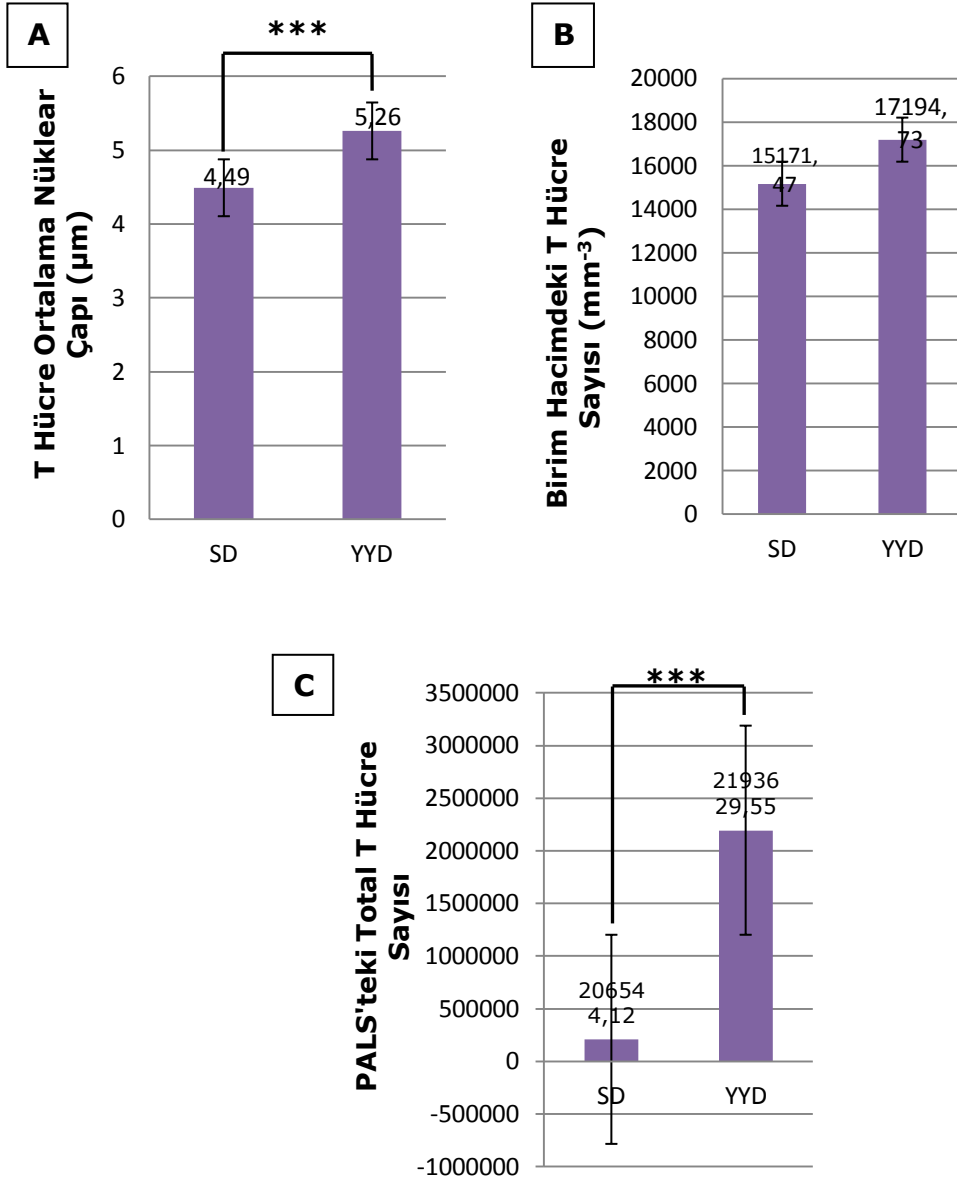


**Şekil 4.11.** Standart diyet ve yüksek yağlı diyet grubuna ait dalak kesitinde beyaz pulpa ve PALS'in ışık mikroskobu görüntüsü (Skala = 200 µm, immunohistokimyasal boyama).

**A:** Standart diyet grubu, **B:** Yüksek yağlı diyet grubuna ait kesittir. Sarı oklar; PALS bölgesini, siyah oklar; beyaz pulpayı göstermektedir.

#### **4.4.5. PALS (periarteriolar lenfatik kılıf)'teki T hücrelerinin ortalama nükleer çapı ( $D^-$ ), birim hacimdeki T hücre sayısı ( $N_{vt}$ ) ve PALS'teki total T hücre sayısı**

İmmünohistokimyasal ile boyanan prenatal ve postnatal dönemde yüksek yağlı diyet ile beslenen grup ile prenatal ve postnatal dönemde standart diyetle beslenen gruba ait ışık mikroskobik kesitlerde PALS'teki T hücreleri belirlendi (Şekil 4.13.). PALS'teki T hücrelerinin ortalama nükleer çapı ( $D^-$ ) prenatal ve postnatal dönemlerde standart diyetle beslenen grupta 4,49 µm olarak bulunurken, prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyetle beslenen grupta ise 5,26 µm olarak hesaplandı. Prenatal ve postnatal dönemlerde standart diyetle beslenen grupta birim hacimdeki T hücre sayısı ( $N_{vt}$  mm<sup>-3</sup>) 15171,47 iken prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyetle beslenen yavrularda ise 17194,73 olarak hesaplandı. Yüksek yağlı diyetle beslenen grupta T hücre ortalama nükleer çapı ( $D^-$ )nda istatistiksel olarak ileri düzeyde artış ( $p < 0,001$ ) olduğu tespit edildi. Yüksek yağlı diyetle beslenen grupta kontrol grubuna göre birim hacimdeki T hücre sayısında artış olmasına rağmen bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi. Öte yandan PALS (periarteriolar lenfatik kılıf) 'teki T hücrelerinin total sayısı; yüksek yağlı diyetle beslenen grupta 2193629,55 olarak, kontrol grubunda 206544,12 olarak hesaplandı. Buna göre yapılan istatistik analizi sonucunda, yüksek yağlı diyet grubunda PALS'teki total T hücre sayısında kontrol grubuna göre ileri düzeyde artış ( $p < 0,001$ ) olduğu bulundu (Şekil 4.12.; Tablo 4.8.).

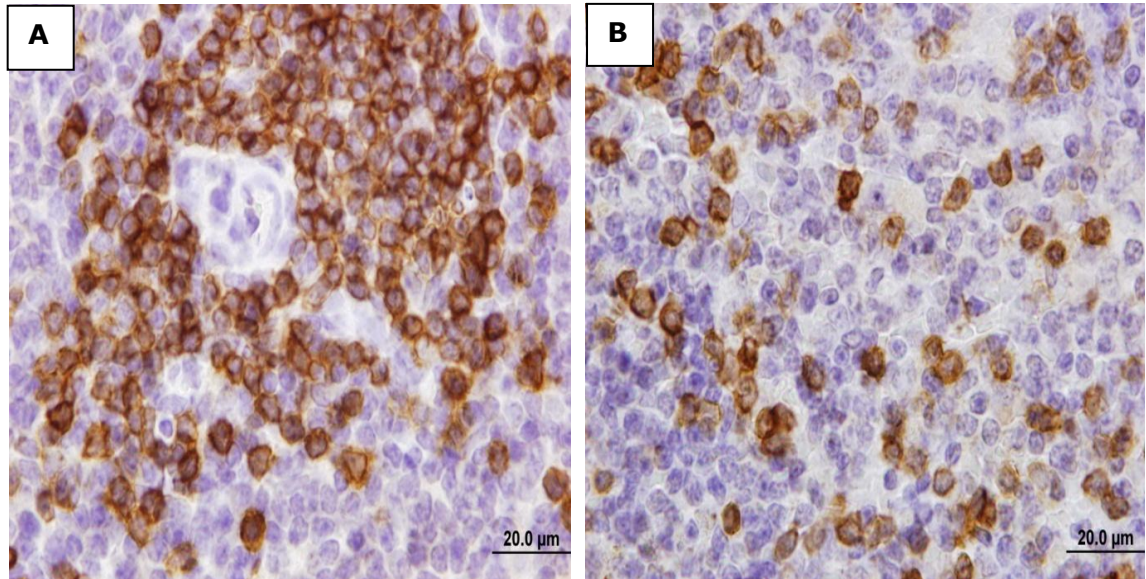


**Şekil 4.12.** Yüksek yağlı diyet ve standart diyetle beslenen yavruların PALS'teki T hücrelerinin ortalama nükleer çapı (A),  $N_{vt}$  mm<sup>-3</sup> (birim hacimdeki T hücre sayısı)'ün (B) ve PALS' teki total T hücre sayısının (C) ortalamalarının karşılaştırılmasını gösteren grafik. artmıştır (Hata çubukları üzerindeki değerler ortalama değerlerdir. Değerler  $ort \pm SEM$  olarak ifade edilmiştir. SD; kontrol diyet, YYD; yüksek yağlı diyet, \*\*\*;  $p < 0,001$ ).



**Tablo 4.8.** Standart diyet ve yüksek yağlı diyet ile beslenen grupların PALS'teki T hücrelerinin ortalama nükleer çapı ( $D^-$ ),  $N_{vt}$   $mm^{-3}$  (birim hacimdeki T hücre sayısı)'ün ve PALS' teki total T hücre sayısının karşılaştırılması ve istatistiksel analiz sonuçları (Gruplar arasındaki farklılıklar independent T testi ile değerlendirilmiştir, n; deneyde kullanılan hayvan sayısını, \*\*\*;  $p < 0,001$ , \*;  $p < 0,05$  ifade etmektedir).

Yaş=6 hafta	SD (n=7)	YYD (n=8)	P değeri	Anlamlılık düzeyi
	Ort±SEM	Ort±SEM		
T hücre ortalama nükleer çapı ( $\mu m$ )	4,49±0,12	5,26±0,09	$p < 0,001$	***
$N_{vt}$ ( $mm^{-3}$ )	15171,47±623,89	17194,73±931,17	$P = 0,104$	n.s
PALS'teki total T hücre sayısı	206544,12±59341,73	2193629,55±197561,52	$p < 0,001$	***



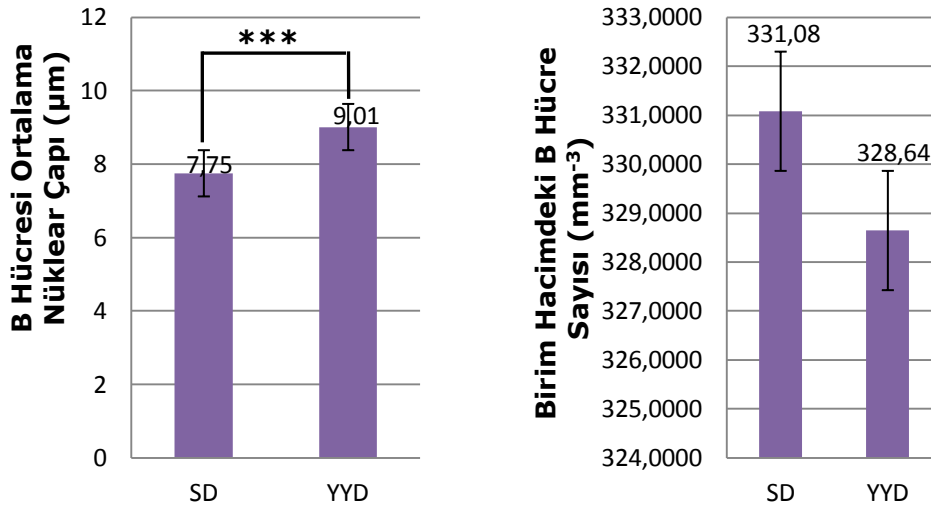
**Şekil 4.13.** Standart diyet ve yüksek yağlı diyet grubuna ait dalak kesitinde T hücrelerinin ışık mikroskobu görüntüsü (Skala = 20  $\mu m$ , immunohistokimyasal boyama).

**A:** Standart diyet grubu, **B:** Yüksek yağlı diyet grubuna ait kesittir.

#### 4.4.6. B hücrelerinin ortalama nükleer çapı ( $D^-$ ) ve birim hacimdeki B hücre sayısı ( $N_{vb}$ )

İmmünohistokimyasal ile boyanan prenatal ve postnatal dönemde yüksek yağlı diyet ile beslenen grup ile prenatal ve postnatal dönemde standart diyetle beslenen gruba ait ışık mikroskobik kesitlerde B hücreleri

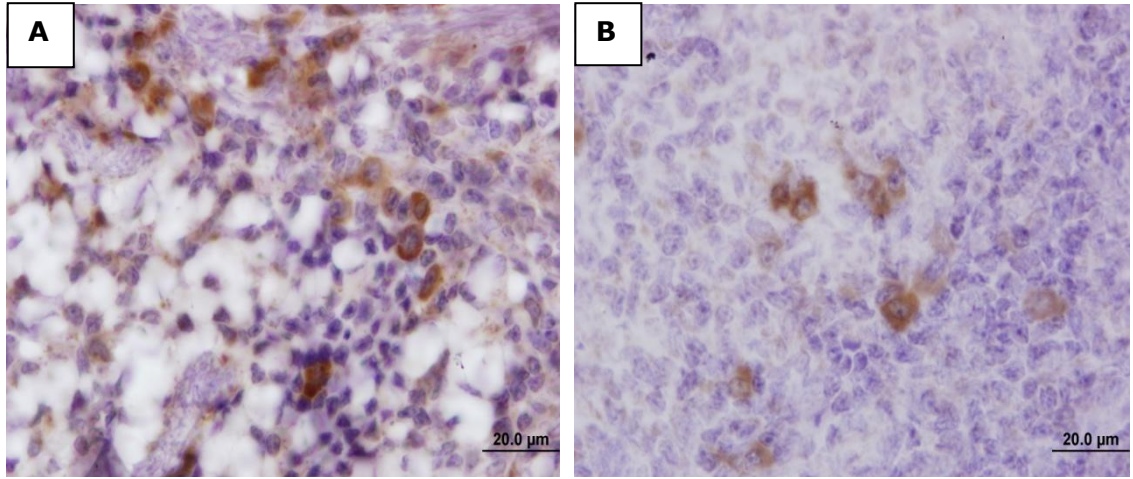
belirlendi (Şekil 4.15.). B hücrelerinin ortalama nüklear çapı ( $D^-$ ) prenatal ve postnatal dönemlerde standart diyetle beslenen grupta 7,74  $\mu\text{m}$  olarak bulunurken, prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyetle beslenen grupta ise 9,01  $\mu\text{m}$  olarak hesaplandı. Prenatal ve postnatal dönemlerde standart diyetle beslenen grupta birim hacimdeki B hücre sayısı ( $N_{vb} \text{ mm}^{-3}$ ) 331,08 iken prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyetle beslenen yavrularda ise 328,64 olarak hesaplandı. Yüksek yağlı diyetle beslenen grupta B hücre ortalama nüklear çapı ( $D^-$ )nda istatistiksel olarak ileri düzeyde artış ( $p<0,001$ ) olduğu tespit edildi. Yüksek yağlı diyetle beslenen grupta kontrol grubuna göre birim hacimdeki B hücre sayısında istatistiksel olarak değişiklik olmadığı bulundu (Şekil 4.14.;Tablo 4.9.).



**Şekil 4.14.** Yüksek yağlı diyet ve standart diyetle beslenen yavruların B hücrelerinin ortalama nüklear çapı ve  $N_{vb} \text{ mm}^{-3}$  (birim hacimdeki B hücre sayısı)'ün ortalamalarının karşılaştırılmasını gösteren grafik (Hata çubukları üzerindeki değerler ortalama değerlerdir. Değerler  $\text{ort} \pm \text{SEM}$  olarak ifade edilmiştir, SD; standart diyet, YYD; yüksek yağlı diyet, \*\*\*;  $p<0,001$ ).

**Tablo 4.9.** Standart diyet ve yüksek yağlı diyet ile beslenen grupların B hücrelerinin ortalama nükleer çapı ve  $N_{vb}$   $mm^{-3}$  (birim hacimdeki B hücre sayısı)'ün karşılaştırılması ve istatistiksel analiz sonuçları (Gruplar arasındaki farklılıklar independent T testi ile değerlendirilmiştir, n; deneyde kullanılan hayvan sayısını, \*\*\*;  $p < 0,001$  ifade etmektedir).

Yaş=6 hafta	SD(n=7)	YYD (n=8)		
	Ort±SEM	Ort±SEM	P değeri	Anlamlılık düzeyi
<b>B hücre ortalama nükleer çapı (<math>\mu m</math>)</b>	7,75±0,194	9,01±0,17	$p < 0,001$	***
<b><math>N_{vb}</math> (<math>mm^{-3}</math>)</b>	331,08 ±51,07	328,64±23,88	$P=0,966$	n.s



**Şekil 4.15.** Standart diyet ve yüksek yağlı diyet grubuna ait dalak kesitinde B hücrelerinin ışık mikroskobu görüntüsü (Skala = 20  $\mu m$ , immunohistokimyasal boyama). **A:** Standart diyet grubu, **B:** Yüksek yağlı diyet grubuna ait kesittir.

## 5.TARTIŞMA

Son yıllarda obezitenin dünya genelinde prevalansının artması, obezitenin temel sebeplerinden biri olan sağlıklı beslenmenin vücudu nasıl etkilediği ve ne gibi değişikliklere sebep olduğu ile ilgili çalışmalarını popüler hale getirmiştir. Obezite tüm vücudu etkilediği için birçok hastalığı beraberinde getirmektedir. Bu yüzden obezitenin organlar üzerindeki etkilerinin morfolometrik, fonksiyonel, genetik ve birçok açıdan değerlendirilmesi önem arz etmektedir. Organların yeterince araştırılması; tüm dünyada önemli bir tehdit olarak görülen obezitenin yol açtığı hastalıkların sebebini anlamaya ve uygun tedavi yöntemlerinin bulunmasına yardımcı olacaktır. Obezitenin metabolizma üzerindeki etkileri oldukça ayrıntılı bir şekilde araştırılmıştır. Oysaki obezite, sadece metabolizmayı derinden etkilemekle kalmayıp aynı zamanda ciddi immün problemlere de sebep olmaktadır. Beslenme bireyin bağışıklık düzeyini etkiler. Bu durum kişinin hastalıklara yatkınlığını arttırarak olası hastalık durumunda hastalığın prognozunu da olumsuz etkilemesine ve immün disfonksiyona yol açar. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, obezite ve hastalıklar arasındaki bağlantının, immün sistem ile metabolizma arasındaki çeşitli yolların olumsuz yönde etkilenmesi sonucu meydana geldiği tespit edilmiştir. Metabolik ve immün sistem yakından entegre ve fonksiyonel olarak birbirine bağımlıdır. Aşırı gıda alımına vücut stres durumunda ortaya çıkan hastalıklar gibi yanıt verir. Çalışmamız yüksek yağlı diyetle prenatal ve postnatal dönemlerde maruziyetin sekonder lenfoid bir organ olan dalacığın morfolojisi üzerindeki genel etkileri açıklarken aynı zamanda diyetin dalaktaki immün yapıları nasıl etkilediği sorusuna kantitatif bir açıklama getirecektir.

Prenatal dönem, gebeliğin başlangıcından doğum sürecine kadar fetüsün rahim içi yaşantısını tanımlamaktadır. Birçok hastalığın kaynağının fetal yaşamdaki etkilenmeler olduğuna ilişkin kanıtların artması ile prenatal dönemin tüm yaşam üzerindeki etkilerinin önemi belirginleşmiştir. Fetüsün geliştiği, olgunlaşmasını tamamladığı bu dönemde annenin beslenme alışkanlıkları bebeği direkt etkilemektedir. Kadınlar fazla kilolu olmasa bile gebelik boyunca sağlıklı beslenerek fazla kilo almaktadır. Bu dönemde tüketilen yüksek yağlı gıdalar, bebeğin vücut kompozisyonunu etkileyerek ileriki yaşantısında obeziteye yatkınlığını ve aynı zamanda da birçok hastalığa yatkınlığını arttırır.

Erken dönemde besleme merkezi ve periferik mekanizmaların gelişiminde önem arz eder. Bu durum yeme ve metabolizmayı düzenleyerek obezite veya fazla kiloluğa yatkınlığa sebep olur. Yapılan çalışmalarda yüksek yağlı diyetle beslenmenin lipid metabolizmasını olumsuz etkileyerek hiperlipidemiye ve adipoz dokuda artışa sebep olduğu tespit edilmiştir (Chen vd., 2013, s. 968-76, Swindell vd., 2010).

Postnatal dönemde yüksek yağlı diyetle beslenmenin yağ dokusu, vücut ağırlığı ve serum glukoz düzeyinde artışa sebep olduğu gözlemlenmiştir (Odaka vd., 2010, Chechi vd., 2010).

Maternal dönemde yüksek yağlı diyet ile beslenmenin glukoz ve lipid metabolizmasının regülasyonunu olumsuz etkilediği, kan glukoz düzeyini arttırdığı ve abdominal yağ dokusunda artışa sebep olduğu tespit edilmiştir (Masuyama&Hiramatsu, 2014, Kruse vd., 2013, Smith vd., 2007, Bruce vd., 2009).

Desai ve arkadaşları yaptıkları çalışmada sadece gebelik boyunca yüksek yağlı diyetle beslenmenin yavruda normal vücut ağırlığı olmasına rağmen yağlanma oranının daha fazla olmasına yol açtığını gözlemlenmişlerdir (Desai vd., 2014). Yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda yüksek yağlı diyetle beslenmenin, beden kitle indeksini ve karın çevresini arttırdığını tespit etmişlerdir (Marti vd., 2001, Winer vd., 2009, Balato vd., 2015).

Son yıllarda obezitenin tanımlanmasında beden kitle indeksinin yanı sıra karın çevresinin ölçümü de oldukça önem arz etmektedir. Çünkü beden kitle indeksinde büyük artışlar olmasa bile karın çevresindeki artış ve abdominal yağlanma organların yağlanmasına ve birçok hastalığın oluşmasına zemin hazırlar. Bu nedenle çalışmamızda beden kitle indeksi takibi ile karın çevresi takibini eşzamanlı değerlendirdik. Çalışmamızın sonuçlarına göre prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyetle maruz kalan yavruarda standart diyetle maruz kalan yavruara göre beden kitle indeksinde, karın çevresinde ve intraabdominal yağ dokusunda önemli düzeyde artış olduğunu tespit ettik. Beden kitle indeksinde, karın çevresinde ve intraabdominal yağ dokusundaki artış; obeziteye zemin hazırlayarak birçok hastalığın tetiklenmesine ve sonuç olarak yaşam kalitesinin olumsuz etkilenmesine sebep olabilir. Aynı zamanda karın çevresindeki artış ve intraabdominal yağ dokusundaki artış diyetle alınan fazla yağın depo edildiğinin açık bir göstergesidir. Bu durum visseral düzeyde de bir yağlanmanın söz konusu olduğunun habercisidir.

Çalışmamızda prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyetle maruz kalan yavruarda standart diyetle maruz kalan yavruara göre kan glukoz konsantrasyonunda da önemli düzeyde artış olduğunu gözlemledik. Yüksek yağlı diyetle beslenen grupta kan glukoz düzeyindeki bu artış, diyetle alınan yağ miktarının kan glukoz homeostazisini etkilediğini gösterir. Bu durum ileriki aşamada insülin direnci, diyabet gibi hastalıkların ön hazırlayıcısı olabilir. Aynı zamanda vücut için oldukça önemli düzeyde bir tehdit olarak görülen metabolik sendroma da sebep olabilir. Çalışmamızdaki veriler yüksek yağlı diyet ve obezite ile ilgili yapılmış çalışmalardaki veriler ile örtüşmektedir.

Yapılan çalışmalarda yüksek yağlı diyetle beslenen hayvanlarda dalak ağırlığının kontrol grubuna göre arttığı tespit edilmiştir (Da Silva vd., 2012, Robinson&Field, 1998, Odaka vd., 2010). Altunkaynak ve arkadaşları yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda yaptıkları stereolojik bir çalışmada dalağın hacminin kontrol grubuna göre arttığını tespit etmişlerdir (Altunkaynak vd., 2007). Da silva ve arkadaşları yaptıkları bir diğer sterolojik çalışmada, yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin dalak hacminin kontrol grubuna göre arttığını gözlemlemişlerdir (Da Silva vd., 2012).

Tarantino, Scalera ve Finelli yaptıkları derlemede obeziteye bağlı karaciğerdeki yağlanmada dalak hacminin bilgisayarlı tomografi ile tespit edildiğini, obeziteye bağlı karaciğer yağlanmasında dalak hacmini arttığını karaciğer/ dalak oranı ve yaş ile dalak hacmi arasında önemli bir bağlantı olduğunu gözlemlemişlerdir. Karaciğer yağlanmasının dalağın longitudinal çapını da arttırdığını tespit etmişlerdir (Tarantino, Scalera&Finelli, 2013).

Çalışmamızda prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyetle maruz kalan yavrularda dalak ağırlığının ve dalak hacminin kontrol grubuna göre arttığını tespit ettik. Yaptığımız literatür taramasında pre ve postnatal dönemin birlikte değerlendirildiği bir çalışmaya rastlamadık. Yapılan çalışmalarda dalak ağırlığı yüksek yağlı diyet grubunda artış göstermektedir. Klinik ve deneysel çalışmalarda, obezite veya yüksek yağlı diyet ile beslenmede, dalak hacminin tespit edildiği çalışmalar oldukça az sayıdadır. Yapılan stereolojik çalışmalarda ve klinik çalışmalarda yüksek yağlı diyet grubunda dalak hacminde artış olduğu tespit edilmiştir. Tüm bu veriler bizim çalışmamız ile uyum göstermektedir. Yüksek yağlı diyetle beslenen gruptaki dalak ağırlığındaki artış dalak hacmindeki artıştan dolaydır. Yüksek yağlı diyetin dalak hacminde artışa sebep olması; dalakta yer alan kırmızı pulpa ve/veya beyaz pulpadaki hacim artışından, dalağın fazla çalışmasının indüklenmesinden yada vücutta başka hastalıkların tetiklenmesi (metabolik, kan hastalıkları, enfeksiyonlar gibi) gibi durumlardan kaynaklanabilir.

Intrauterin yaşam ve bu dönemde maruz kalınan olumsuz etkenler ve aynı etkenlerin yavrunun yaşantısının postnatal döneminde de devam etmesinin yavruda ne gibi değişikliklere sebep olacağı ile ilgili çalışmalar oldukça değerlidir. Dalak sekonder periferik organlardan en büyüğüdür. Dolayısıyla dalakta beyaz pulpa ve beyaz pulpanın içindeki yapıların morfolojik olarak değerlendirilmesi immün sistem hakkında çok kıymetli bilgilerin elde edilmesine olanak sağlar. Hücrel immünitede yer alan, immün sistemin oldukça önemli bir bölümü olan T hücrelerinin bulunduğu PALS'in total hacmi, hücrel ve humoral immün yanıtta kritik fonksiyonları olan yapıları bünyesinde barındıran beyaz pulpanın total hacmi, humoral hafızanın üretimi olan germinal merkezin alanı ve hacmi ile ilgili literatür taramasında bir çalışmaya rastlamadık. Aynı zamanda yaptığımız literatür çalışmasında prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek

yağlı diyete maruziyetin stereolojik olarak değerlendirildiği bir çalışmaya da rastlamadık.

Çalışmamızda prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyete maruziyetin, total beyaz pulpa hacminde, T hücrelerinin yoğun bir şekilde bulunduğu total PALS hacminde, germinal merkez alanı ve germinal merkez hacminde kontrol grubuna göre oldukça önemli düzeyde artışa sebep olduğunu tespit ettik. Yüksek yağlı diyet ile beslenen yavrularda beyaz pulpa/dalak oranında ve total beyaz pulpa hacmindeki artış; T ve B hücrelerinde değişiklikler (aktivasyonu, sayısı ve çapı gibi) olduğunu, diyetin hücrenel ve hümoral düzeyde immün yanıt oluşmasına sebep olduğunu gösterir. Yüksek yağlı diyet ile beslenen yavrularda PALS/beyaz pulpa oranında ve total PALS hacmindeki artış; PALS'te yer alan T hücrelerinin sayısında ve/veya çapında artış olduğunu aynı zamanda hücrenel immün yanıt geliştiğini gösterir. Yüksek yağlı diyet ile beslenen yavrularda germinal merkez alanı ve hacmindeki artış ise; burada yer alan B hücrelerinin sayısında ve/veya çapında artış olduğunu bununla birlikte hümoral immün yanıt oluştuğunu göstermektedir.

Doğal ve kazanılmış bağışıklık sistemi sırasıyla erken ve uzun dönemde korumayı sağlar. Beslenmede meydana gelen değişikliklerden her iki sistem de etkilenir. Diyetteki lipid veya kolesterol, doğal ve kazanılmış bağışıklığın modulasyonunda önemli bir rol üstlenir. Yapılan literatür çalışmalarında, klinik ve deneysel çalışmalarda diyete bağlı obezitenin immünitede disregülasyona neden olduğu, hem doğal hem de adaptif immün hücreleri patolojik yönden etkilediği aynı zamanda immün hücrelerin fonksiyonunu değiştirerek lenfosit yanıtını etkilediğini, proinflamatuvar sitokinleri arttırdığı ve doğal bağışıklık hücrelerinde artışa sebep olduğu tespit edilmiştir (Priceman vd., 2013, Federico vd., 2010, Marcos vd., 2003, Nieman vd., 1999, Deilulis vd., 2011).

Myles ve arkadaşları, prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyete maruziyetin yavru da immün yanıtı olumsuz etkileyerek yavrunun hastalıklara yatkınlığını arttırdığını gözlemlemişlerdir (Myles vd., 2013).

Kalitatif ve kantitatif çalışmalarda, diyetin, immün yanıtı direkt etkilediği gözlemlemiştir. Diyetin allerjenler veya antijenler gibi rol alması, immün sistemdeki beslenme ve enerji metabolizmasındaki modulasyonunu ve immün yanıtta değişiklikleri açıklar. Yapılan çalışmalarda obezitenin ve yüksek yağlı diyetin yağ dokusu enflamasyonunu indükleyerek doğal bağışıklığı ve adaptif immün yanıtı olumsuz etkilediğini gözlemlemişlerdir (Strissel vd., 2010, Miyazaki vd., 2008). Obezitede, adipositlerin artışı, makrofajların artmasına ve makrofajlardan ve lenfositlerden TNF-, IL-6'nın salınımına neden olur. TNF- ve IL-6 adiponektin transkripsiyonunu baskılar (Federico vd., 2010, Deng vd., 2013, Harford vd., 2011).

Odaka ve arkadaşları fetal periyotta yüksek yağlı diyet ile beslenmenin, deney hayvanlarında, adipokinlerin sekresyonunu etkileyerek immunolojik hastalıklara yatkınlığı ve bu hastalıklardan doğabilecek komplikasyonların ortaya çıkmasını arttırdığını ve aynı zamanda fetal periyotta yüksek yağlı diyet ile beslenmenin, TNF- $\alpha$  üretimini, antijene özel antikör düzeyini, timüsün cortex kısmındaki kalınlığı ve splenosit sayısı gibi parametreleri olumsuz etkilediğini tespit etmişlerdir (Odaka vd., 2010).

Gıda alımı ve beslenmeyle ilgili durumlar vücudun bağışıklık yeterliliğini belirlemeye yardımcı olur. Vücudun hastalığa veya enfeksiyona karşı oluşturacağı yanıtı etkiler. Yağ metabolizması ve immünite arasında bir etkileşim vardır. Marti ve arkadaşları yaptıkları derlemede obezitenin yara iyileşme sürecini olumsuz yönde etkilediğini ve enfeksiyona yatkınlığın artması gibi immün disfonksiyona sebep olan durumların ortaya çıkmasını tetiklediğini gözlemlemişlerdir. Aynı zamanda splenositlerin membranlarındaki fosfolipidlerin yağ asidi kompozisyonunun diyetteki yağ içeriğinden etkilendiğini ve sonuç itibarıyla bu farklılıkların lenfositlerin fonksiyonunu etkilediğini tespit etmişlerdir. Diyetle artmış linoleik asit alımının dalaktaki lenfositlerin sentezlediği IL-2 reseptörlerini olumsuz etkilediğini ve diyetteki yağ içeriğinin immunosupresif etkisi olduğunu gözlemlemişlerdir (Marti vd., 2001). Artmış yağ alımı ile ilgili yapılan başka bir çalışmada De Vries ve arkadaşları obezite olmaksızın diyetle artmış yağ alımının farelerde, dalaktaki proinflamatuvar yanıtı arttırdığını tespit etmişlerdir (De Vries vd., 2009).

Tarantino ve arkadaşları yaptıkları derlemede dalağın lipid metabolizmasında ve aterosklerozun etiyolojisinde fonksiyonu olduğunu vurgulamışlardır. Aynı zamanda obezitenin kardiyovasküler hastalıklar, hipertansiyon, cerebrovasküler hastalıklar ve tip 2 diyabet gibi hastalıkların gelişmesinde oldukça büyük bir risk teşkil ettiğine değinmişlerdir. Aynı zamanda obezitenin immün sistemi olumsuz etkilediği insanlarda ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda obezitenin enfeksiyonlara yatkınlığı ve tümör gelişme sıklığını arttırdığı gözlemlemişlerdir. Obez farelerde splenik lenfositlerdeki glukoz transporter 1 (GLUT-1) ekspresyonunda ve splenik lenfositlerin proliferasyonunda azalma olduğunu ve bu azalmanın immün hücrelerdeki glukoz alımını olumsuz etkilediğini tespit etmişlerdir (Tarantino vd., 2013).

Spoto ve Zoccali yaptıkları derleme çalışmada obezitenin inflamatuvar sitokinlerde ve akut faz proteinleri (C reaktif protein gibi) gibi birçok parametrede artışa sebep olduğunu, dalaktan derive olan IL-10 proinflamatuvar sitokin üretimini inhibe ettiğini, hipertrofik adiposit glomerüller hipertrofi, mesangial hücre proliferasyonunu tetikleyen renal reseptörler yoluyla sitokin ve adipokinlerin sekresyonunu arttırdığını tespit etmişlerdir. Aynı zamanda renal hastalıklara karşı koruyucu etkisi olan IL-10' nun plazma değerinin tip 2 diyabeti olan obez bireylerde düşük



olduğunu öte yandan yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin dalaklarındaki IL-4, IL-13, IL-10 gibi antiinflamatuvar sitokinlerin ve TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinlerde azalma olduğunu gözlemlemişlerdir (Spoto vd., 2013).

Kim ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 8 haftalık fareleri 3 ay boyunca yüksek yağlı diyetle besleyerek, obez farelerin mezenterik lenf nodundan hücre kültürüyle elde ettikleri CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin sayısının, antijen sunan hücrelerin (dendritik hücreler ve makrofajlar) sayısının ve T regülatör hücrelerinin popülasyonunun kontrol grubuna göre daha az olduğunu tespit etmişlerdir (Kim vd., 2008). Bu çalışmadaki veriler bizim çalışmamızda T hücrelerinin total sayısı ile ilgili olarak tespit ettiğimiz bulgularla uyumsuzdur. Çalışmamızda yaşamın erken dönemlerinden erişkinliğe kadar olan dönemde yani toplamda 9 hafta yüksek yağlı diyet ile beslenmenin, dalaktaki PALS bölgesinde yer alan total T hücre sayısında artışa sebep olduğunu tespit ettik. Kim ve arkadaşları yaptıkları çalışmada erişkinlikten yaşlılık dönemine kadar yüksek yağlı diyetle beslenmenin uzun süreli etkilerini araştırmışlardır. Aynı zamanda mezenterik lenf nodundaki T hücre sayısını tespit etmişlerdir. Çalışmamız ile uyum göstermemesinin sebepleri Kim ve arkadaşlarının çalıştıkları bölge, diyetin süresi ve diyetin uygulandığı dönem olabilir.

Weitman ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, 6 haftalık fareleri 8-10 hafta diyetle bağlı obezite yemiyle besleyerek, obez farelerde kontrol grubuna göre lenf nodundaki CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin sayısının oranının azaldığını, dendritik hücrelerin migrasyonunun ve lenfatik akışın azalmasıyla lenf nodunun olumsuz etkilendiğini gözlemlemişlerdir (Weitman vd., 2013). Bu veriler çalışmamızda tespit ettiğimiz PALS'teki total T hücre sayısı verisiyle benzerlik göstermemektedir. Bunun sebebi Weitman ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada değerlendirdikleri bölge (lenf nodu) veya diyetin süresi, diyetin uygulandığı dönem olabilir.

Marcos, Nova ve Montera genetik olarak obez hayvan modeli çalışmalarında bütün T hücre altunitleri ve B hücre popülasyonunda azalma olduğunu gözlemlemişlerdir (Marcos, Nova&Montera, 2003). Bu çalışmadaki veriler bizim bulgularımızla uyumsuzdur. Bunun sebebi çalışılan deney hayvanının genleri üzerinde yapılan uygulama ile obez olmasının sağlanması olabilir.

Ma ve arkadaşları yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde karaciğerde T regülatör hücrelerin apoptozisinde artma olduğu tespit edilmiştir (Ma vd., 2007).

Yapılan klinik çalışmalarda obez çocuklarda total T hücrelerinin, T helper (CD4+), T sitotoksik (CD8+) ve natural killer hücrelerinin sayısının değişmediği gözlemlenirken, fazla kilolu çocuklarda ve obez yetişkinlerde;

total T hücrelerinin, T helper (CD4+) hücrelerinin sayısının arttığı, T hücre fonksiyonunun azaldığı öte yandan T sitotoksik (CD8+) hücrelerinin sayısının değişmediği gözlemlenmiştir. Aynı zamanda obezitede mitojenle indüklenen lenfosit proliferasyonunun kontrol grubuna göre daha az olduğu tespit edilmiştir (Zaldivar vd., 2006, Pacifico vd., 2006, Nieman vd., 1999).

Wang ve arkadaşları diyete bağlı obezite yemiyle beslenen farelerde periferik kanda ve dalakta yaptıkları analizlerde CD4+, CD25+, FoxP3+ T regülatör hücrelerinin sayısının kontrol grubuna göre daha az olduğunu gözlemlenmiştir (Wang vd., 2013).

T regülatör hücreleri immün homeostazis ve periferik immünolojik toleransın sürdürülmesi için kritiktir. Winer ve arkadaşları yaptıkları çalışmada diyete bağlı obez olan farelerde, B hücre eksikliğinin adipoz dokudaki T regülatör hücrelerinde artışa sebep olduğunu aynı zamanda zayıf farelerin adipoz dokularında obezlere oranla T regülatör hücrelerinin daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir (Winer vd., 2011).

Yüksek yağlı diyetle beslenen Foxp3-GFP 'knockin' erkek farelerin dalağında CD4+ T hücre aktivasyonu ve T regülatör hücrelerde artış olduğu gözlemlenmiştir (Deiuliis vd., 2011).

Tarantino ve arkadaşları yaptıkları derlemede 60 yaşın üstündeki obez erkek ve kadınlarda, T hücre popülasyonunun ve natural killer hücrelerinin aktivitesinin baskılandığını tespit etmişlerdir. Bu veriler obezitenin hücreSEL immün fonksiyonları kademeli olarak negatif etkilediğini göstermektedir (Tarantino vd., 2013).

Childs ve arkadaşları gebelik boyunca yüksek oranda çoklu doymamış yağ asitleri içeren diyetle beslenmenin fetal timüs sitotoksik T hücreleri (CD3+ CD8+)'nin ekspresyonunu arttırdığını tespit etmişlerdir (Childs vd., 2010).

Yapılan deneysel çalışmalarda yüksek yağlı diyetle ve yüksek kalorili diyetle beslenen hayvanlarda, adipoz dokuda TNF- $\alpha$ 'nın ekspresyonunun arttığını, CD8+ T hücrelerinin biriktiğini ve epididimal adipoz dokuda CD8+ T hücre aktivasyonunun olduğunu aynı zamanda adipoz dokuda total (CD3+) T hücreleri, CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin sayısının arttığını da tespit etmişlerdir. Aynı zamanda yüksek yağlı diyetle beslenmenin adipoz dokudaki Th1 CD4+ T hücrelerinin replikasyonunu hızlı bir şekilde indüklediği gözlemlenmiştir (Wali, Thomas&Sutherland vd., 2014, Montes vd., 2013, Deng vd., 2013, Deiuliis vd., 2011, Romeo vd., 2013, Fabrizi vd., 2014, Ferrante vd., 2013, Liu vd., 2009, Rocha vd., 2008).

Verwaerde ve arkadaşları obezitenin hücre geçişli immün yanıtı azalttığını ve makrofaj fonksiyonunu değiştirdiği tespit etmişlerdir. Yüksek

yağlı diyetin; doğal bağışıklıkta makrofaj modulasyonunu, kazanılmış bağışıklıkta da T hücreslerinde meydana getirdiği değişiklikler vasıtasıyla bir enflamasyon durumunun ortaya çıkmasını indüklediğini gözlemlemişlerdir. Yüksek yağlı diyetin, antijen sunan hücreler ile T hücreleri arasındaki kombinasyonu etkileyerek T hücrelerinin tekrar aktive olmasını olumsuz yönde etkilediğini ve böylece T hücre sinyalizasyonunun ve polarizasyonunun bozularak immün sistemin olumsuz etkilenmesine sebep olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı zamanda yüksek yağlı diyetin saf T hücrelerine antijenin tanıtılmasını da olumsuz anlamda etkilediğini gözlemlemişlerdir. 11 hafta boyunca yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde, dalaktan hücre kültürüyle alınan T hücrelerinin total sayısında değişiklik olmadığını bununla birlikte splenik CD11c+, MHCII+ dendritik hücre sayısı ve aynı zamanda peritoneal kavitedeki makrofaj sayısında artış olduğunu tespit etmişlerdir (Verwaerde vd., 2006). Yapılan çalışmalardaki T hücrelerinin aktivasyonu ile ilgili veriler bizim çalışmamız ile uygunluk göstermektedir. Bu çalışmalarda diyetin T hücre aktivasyonuna sebep olduğu ve immün yanıtın indüklendiği tespit edilmiştir. Çalışmamızda T hücrelerinin ortalama nüklear çapında artış olduğunu tespit ettik. T hücresi antijenle karşılaştığında irileşir ve büyür dolayısıyla hücrenin nüklear çapı artar. T hücresinin ortalama nüklear çapındaki bu artış; diyetin, pre ve postnatal dönemde tüketilmesinin, yavrunun dalağındaki T hücrelerinin aktive olmasına sebep olarak hücre sel immün yanıtı indüklediğini göstermektedir. Yapılan deneysel çalışmalarda timüsta ve adipoz dokudaki total T hücre sayısında artış olduğu tespit edilmiştir. Çalışılan bölge olarak çalışmamızla uygunluk göstermesede bu veriler çalışmamızda hesapladığımız total T hücre sayısındaki artış verisiyle uyum göstermektedir. Bununla birlikte Verwaerde ve arkadaşları yaptıkları çalışmada dalaktaki total T hücre sayısında değerlendirmişlerdir. Buna göre dalaktaki total T hücre sayısında değişiklik olmadığını tespit etmişlerdir. Bu veri çalışmamızda total T hücre sayısı verileriyle uyuşmamaktadır. Bunun sebebi; lenfositlerin yani T ve B hücrelerinin birlikte değerlendirilerek ulaşılan total sayı, çalışmada uygulanan diyetin süresiyle veya uygulanma dönemiyle ilgili olabilir.

Robinson ve Field, uzun zincirli (n-3) yağ asitleri içeren diyetle 4 hafta beslenen yetişkin sıçanlarda splenositlerin sitotoksik aktivitesinde artış olduğunu bununla birlikte dalaktaki total lenfosit sayısında değişme olmadığını tespit etmişlerdir (Robinson&Field, 1998). Dalakta hücre sel ve hü moral immün yanıtta aktif olan T ve B lenfositleri yer alır. Dolayısıyla total lenfosit sayısı değerlendirilmesi total T ve B hücre sayısı ile ilgili bilgi sunar. Yapılan bu çalışmada dalaktaki total lenfosit sayısı değerlendirilmiştir. Buna göre dalaktaki total lenfosit sayısında değişiklik olmadığı tespit edilmiştir. Bu veri, çalışmamızdaki total T hücre sayısında artış verisi ile örtüşmemektedir. Bunun sebebi; diyet içeriğinin farklı olması, diyetin süresi veya uygulandığı dönem olabilir.

Obezite ve immünite arasındaki ilişki birçok açıdan yapılan çalışmalarda değerlendirilmiştir. İmmün sistemde önemli bir yeri olan dalağın yüksek yağlı diyet ve obeziteden nasıl etkilendiği ile ilgili çalışmalarda prenatal ve postnatal dönemler birlikte ele alınmamıştır. Aynı zamanda yapılan çalışmalarda yüksek yağlı diyetin immün parametreler üzerinde etkileri değerlendiriliyorken sekonder lenfoid organlardan en büyüğü olan immün yanıtta kritik fonksiyonları bünyesinde barındıran dalağın immün yapılarının morfolojik değerlendirilmesi yapılmamıştır. Çalışmamızda prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyetle maruz kalan yavrularda ve kontrol grubunda stereolojik analizlerle T hücrelerinin ortalama nükleer çapını, birim hacimdeki T hücre sayısını ve PALS'teki total T hücre sayısını hesapladık. Sonuç olarak prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyetle maruz kalan yavruları kontrol grubuyla karşılaştırdığımızda birim hacimdeki T hücre sayısında değişiklik olmazken PALS'teki total T hücre sayısında ve T hücrelerinin ortalama nükleer çapında artış olduğunu tespit ettik. Bu sonuçlar antijenle karşılaştığında büyüyen (irileşen) T hücrelerinin, yüksek yağlı diyeti antijen gibi algılayarak ve aktive olarak hücrel immün yanıt oluşturduğunu göstermektedir. T hücre çapında ve PALS'teki total T hücre sayısındaki artış; total PALS hacmi ve PALS/beyaz pulpa oranındaki artışı ve bu artışın sebebini de açıklamaktadır.

Zona marginaliste olgunlaşan aktive olmuş B hücreleri patojenlerle savaşan immün yanıtta önemli fonksiyonları olan IL-10 sekrete ederler. Obezitede IL-10 üretimi azalmaktadır. Bu durum obezitede organizmanın inflamatuvar süreçteki immün zayıflığını açıklar. Gotoh ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda, yüksek yağlı diyetle indüklenen obezite modelinde, IL-10 sekresyonunda ve dalaktaki bütün sitokinlerin sekresyonunda azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı zamanda obezitenin, dalaktaki TNF- $\alpha$  ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin gen ekspresyonunda, IL-10 sekrete eden immün yanıtta major rolü olan B hücrelerinin sayısında, T ve B hücre mitojenleriyle stimüle edilen splenosit proliferasyonunda azalma olduğunu ve dalaktaki T ve B hücrelerinin fonksiyonunun olumsuz etkilendiğini gözlemlemişlerdir. Dalaktaki bu değişikliklerin birçok organda inflamatuvar yanıtı tetikleyerek metabolik hastalıkların ortaya çıkmasını indükler (Gotoh vd., 2012, Gotoh vd., 2012).

Yapılan çalışmalarda yüksek yağlı diyetle beslenen BAFF-R<sup>-/-</sup> farelerde periferel kandaki B hücre sayısının azaldığını, antijene bağlı antikor yanıtının olumsuz etkilendiğini bununla birlikte B hücrelerinin metabolik sendromda önemli patojenik etkileri olduğunu tespit etmişlerdir (Kawasaki vd., 2013, Sasaki vd., 2004). Chan ve arkadaşları yüksek yağlı diyetle beslenen erkek farelerde kemik iliğinde ve kanda B hücre popülasyonunda azalma olduğunu tespit etmişlerdir (Chan vd., 2012).

Adler ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 2 gün, 1 hafta ve 6 hafta yüksek yağlı diyetle beslenen fareleri incelemişlerdir. Buna göre 2 gün

yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde kemik iliğinde, total B hücre sayısı değişmezken 1 ve 6 hafta yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde kemik iliğinde B hücre sayısında azalma olduğunu aynı zamanda yüksek yağlı diyetin B hücre lenfopoezisini suprese ettiğini tespit etmişlerdir (Adler vd., 2014).

Yapılan çalışmalarda B hücre sayısında azalma olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda birim hacimdeki B hücre sayısında değişiklik olmadığını tespit ettik. Bu veri yapılan çalışmalarla uyumsuzdur. Bunun sebebi çalışmamızda B hücre sayısının birim hacimdeki değerinin hesaplanmasından, deney dizaynından, diyetin uygulanma süresinden veya diyetin uygulandığı dönemden kaynaklanabilir.

Farelerde sinus marginalis, insanlarda ise perifoliküler bölge aktif bölgelerdir. Farelerdeki zona marginaliste T hücre bağımsız reaksiyon ile tekrarlayan patojenle savaşma söz konusudur ama insanlarda aynı bölge hafıza B hücrelerini içerir. Tarantino ve arkadaşları yaptıkları derlemede asplenik yada splenektomi yapılmış farelerde B hücre alt popülasyonu varlığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda antijene karşı yanıt oluşturma durumunun negatif etkilendiği tespit edilmiştir (Tarantino vd., 2013).

Wali ve arkadaşları yüksek yağlı diyetle beslenmenin B hücrelerinin özellikle IgG+B hücrelerinin adipoz dokuda biriktiğini gözlemlemişlerdir (Wali vd., 2014). Trottier ve arkadaşları yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde kemik iliğindeki total B hücre sayısında artış olduğunu gözlemlemişlerdir (Trottier vd., 2012).

Yapılan klinik çalışmalarda, fazla kilolu ve obez çocuklarda, total B hücrelerinin sayısı değişmezken obez yetişkinlerde, total B hücre sayısında artış aynı zamanda azalmış B hücre fonksiyonu olduğu gözlemlenmiştir (Zaldivar vd., 2006, Pacifico vd., 2006, Nieman vd., 1999). Sen ve arkadaşları yaptıkları klinik çalışmada obez gebelerde zayıf gebelere göre B hücrelerinin oranının arttığını gözlemlemişlerdir (Sen vd., 2013).

Wu ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 4 hafta ve 12 hafta diyete bağlı obezite yemiyle beslenen B6 (CD45.2)<sup>+</sup> erkek fareleri incelemişlerdir. Bu göre hem 4 hafta hem de 12 hafta diyete bağlı obezite yemiyle beslenen B6 (CD45.2<sup>+</sup>) erkek farelerde, dalakta ve periferik kanda CD5<sup>+</sup> B hücrelerinde artış olduğunu gözlemlemişlerdir (Wu vd., 2014).

Weitman ve arkadaşları yaptıkları çalışmada obez farelerde kontrol grubuna göre lenf nodunda B hücreleri ve makrofajlarda artış olduğunu, dendritik hücre migrasyonunun, lenfatik drenajın olumsuz etkilendiğini ve lenfatik akışın yavaşladığını gözlemlemişlerdir (Weitman vd., 2013).

Yapılan çalışmalarda B hücre sayısında artış olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda pre ve postnatal dönemde yani toplamda 9 hafta boyunca yüksek yağlı diyetle beslenmenin birim hacimdeki B hücre sayısında değişikliğe sebep olmadığını tespit ettik. Bu veri yapılan çalışmalarla uyuşmamaktadır. Bunun sebebi; çalışmamızda B hücre sayısının birim hacimdeki değerinin hesaplanması, deney dizaynı, çalışmada değerlendirilen bölge, diyetin uygulanma süresi veya diyetin uygulandığı dönem olabilir.

B hücreleri antikor üreterek immün fonksiyonu regüle eder. Exley ve arkadaşları yaptıkları derleme çalışmada, obezite boyunca, B hücrelerinde fonksiyonel değişiklikler olduğunu, B hücrelerinin bu süreçte patojenik antikor ürettiğini böylelikle bu antikorların makrofajların aktive olmasını direk etkilediğini gözlemlemişlerdir. Obez farelerdeki B hücrelerinin, T ve T regülatör hücrelerinin yaşam süresini negatif etkileyerek inflamatuvar yanıtı arttırdığını gözlemlemişlerdir (Exley vd., 2014). Behan ve arkadaşları yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde, B hücrelerinin insulin direnci ve glukoz intoleransına sebep olarak adipoz dokudaki T hücreleri ve makrofajların aktivasyonunu tetiklediğini tespit etmişlerdir (Behan vd., 2013).

Zona marginalis B hücreleri, foliküler B hücreleri IgM, IgG ve IgA antikorları üretirler. Bu hücreler yüksek afiniteli T hücre bağımlı antijenleri tanır. Bu antijenler B hücrelerinin aktivasyonu için CD4+ T helper hücrelerine ihtiyaç duyar. De furia ve arkadaşları yaptıkları klinik ve deneysel çalışmada obezite ve tip 2 diyabette, splenik B hücrelerinin yüksek oranda IL-6, düşük oranda IL-10 sekrete ettiğini ve aynı zamanda B hücrelerinin T hücreleri aracılığıyla inflamatuvar rol oynadığını ve hastalık durumunda B hücreleri proinflamatuvar T hücre fonksiyonunu düzenlediğini tespit etmişlerdir. Bu veriler obezitede B hücrelerinin sistemik enflamasyonu indüklediğini göstermektedir (De Furia vd., 2013).

Yapılan çalışmalardaki B hücrelerinin aktive olduğunu gösteren patojenik antikor üretimi verisi, T hücreleri ve makrofajların aktivasyonunun indüklenmesi ve interlökin sentezindeki artış bulguları, çalışmamızdaki B hücre nükleer çapındaki artış verisi ile uyum göstermektedir. B hücresi aktive olduğunda çapı artar. Bu morfolojik değişiklik diyetin B hücresinin aktive ederek humoral yanıtın indüklenmesine sebep olduğunu gösterir.

Winer ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 6 haftalık fareleri, 4 hafta diyete bağlı obezite yemiyle beslemişlerdir. 4 hafta yüksek yağlı diyetle beslenmiş farelerde visseral adipoz dokudaki B hücre sayısında artış olduğunu, hem visseral adipoz dokuda hem de dalaktaki IgM<sup>+</sup>IgD<sup>-</sup> B hücrelerinin oranında azalma olduğunu, dalaktaki total B hücreleri, saf IgD<sup>+</sup> B hücreleri zona marginalis B hücrelerinin sayısında değişme olmadığını tespit etmişlerdir. Bununla birlikte dalaktaki B hücrelerinden

IgM antikor üretiminde azalma, IgG sekresyonunda artış olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı zamanda diyetle ilgili obez olan farelerde, B hücre eksikliğinin, enflamasyonu azalttığı, obez farelerden izole edilen serum IgG ve MHC II ekspresyon eden B hücreleri, B hücre eksikliği bulunan zayıf farelere transfer edildiğinde bu hayvanlardaki insülin direncini indüklediğini gözlemlemişlerdir (Winer vd., 2011). Bu çalışmadaki dalakta B hücrelerinin sayısının değişmeyip B hücrelerinin aktive olduğu verisi çalışmamızdaki verilerle uyum sağlamaktadır. Winer ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışma beslenme periyodu ve süresi olarak bizim çalışmamızla uymamaktadır. Fakat bununla birlikte uygulanan diyetin içeriği aynıdır. Çalışmamızda birim hacimdeki B hücre sayısında değişiklik olmadığını bununla birlikte B hücre ortalama nükleer çapında artış olduğunu tespit ettik. B hücreleri aktive olduğunda büyür böylelikle hücrenin ortalama nükleer çapı artar. B hücre sayısının değişmeyip ortalama nükleer çapının artması yani B hücrelerinin aktive olması diyetin hücresel immün yanıtı indüklediğini veya diyetin alerjen/antijen gibi algılandığını gösterebilir.

B hücreleri humoral ve inflamatuvar immün yanıtı regüle eder ve çeşitli hastalık durumlarında doğal ve adaptif immün yanıtın ortaya çıkmasını sağlar. Dalak humoral immün yanıtta oldukça aktif rol oynar. Yapılan çalışmalarda obezitede dalaktaki B hücrelerinde, germinal merkezde ne gibi morfolojik değişiklikler olduğu ile ilgili çalışmalar oldukça kısıtlıdır. Özellikle immün sistemin temellerinin atıldığı prenatal dönem ve prenatal dönemi takip eden postnatal dönemde yüksek yağlı diyetin ve obezitenin B hücrelerinin aktive olduğu ve humoral hafıza yanıtının olduğu germinal merkez ve B hücreleri üzerindeki morfolojik etkilerinin araştırılması önem arz etmektedir. Çalışmamızda yaptığımız morfolojik değerlendirmede prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyetle maruz kalan yavrularda ve kontrol grubunda, germinal merkezin alanı, hacmi ve sayısını, germinal merkezin ortalama çapını, B hücrelerinin ortalama nükleer çapını ve birim hacimdeki B hücre sayısını hesapladık.

Sonuç olarak prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyetle maruz kalan yavruları kontrol grubuyla karşılaştırdığımızda birim hacimdeki B hücre sayısında değişiklik olmadığını fakat B hücrelerinin ortalama nükleer çapında ve germinal merkezin ortalama çapında artış olduğunu tespit ettik. Germinal merkez immün yanıtta kendi bünyesinde reaksiyona giren immün yanıtta aktif rol oynayan oldukça önemli bir yapıdır. Bu yapıdaki morfolojik değişikliklerin tespiti humoral immünite açısından önem arz eder. Yaptığımız literatür çalışmalarında, B hücrelerindeki değişikliklerin sistemik enflamasyonu indüklediği ve immün yanıtı olumsuz etkilediği tespit edilmiştir. B hücrelerinin ortalama nükleer çapındaki artış; literatürdeki verilere kantitatif bir açıklama getirmektedir. Aynı zamanda yaptığımız literatür çalışmasında prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyetle maruz kalmış farelerdeki germinal merkezin ortalama çapı, germinal merkez sayısı, B hücrelerinin ortalama nükleer çapı, germinal merkezin alanı ve germinal merkezin hacmi ile ilgili

bir çalışmaya rastlamadık. Yüksek yağlı diyetle beslenen yavrularda germinal merkezdeki morfolojik değişiklikler yani germinal merkezin ortalama çapı ve sayısındaki artış; germinal merkezin aktive olduğunu yani hümoral immün yanıt oluştuğunu, hümoral hafızanın üretimi olan germinal reaksiyon geliştiğini göstermektedir.



## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu doktora tez çalışmasında, obezitenin başlıca nedeni olan yüksek yağlı diyete, prenatal ve postnatal dönem boyunca maruziyetin hematopoetik ve immün fonksiyonları içeren sekonder lenfoid bir organ olan dalağın genel ve immün morfolojisi morfometrik analizlerle dişi yavrularda araştırıldı.

Prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyete maruziyet yavru da yağ dokusunda, beden kitle indeksinde, kan glukoz konsantrasyonunda, dalağın ağırlığında, dalağın hacminde, beyaz pulpa hacminde, PALS hacminde, germinal merkez hacminde, germinal merkez alanında ve germinal merkez sayısında artışa sebep oldu. Bununla birlikte prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyete maruziyet, T ve B hücrelerinin birim hacimdeki sayısında değişikliğe sebep olmazken, T ve B hücrelerinin ortalama nüklear çaplarında ve germinal merkezin ortalama çapında artışa sebep oldu. Bulgularımız prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyete maruziyetin dalağın morfolojisini olumsuz etkilediğini göstermektedir.

Sunulan çalışmanın sonuçları ve son yıllarda yayınlanan çalışmaların ışığında, prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyete maruziyetin dalakta splenomegaliye, dolayısıyla dalak ile komşu olan ve dalaktaki değişikliklerden etkilenen yapıların da olumsuz etkilenmesine hümmoral ve hüccresel immün yanıtın indüklenerek immün sistemde disfonksiyona sebep olduğu kanaatindeyiz. Aynı zamanda, bu tez çalışmasıyla; prenatal ve postnatal dönemlerde yüksek yağlı diyete maruziyette, immün sistemin önemli yapılarından biri olan dalaktaki morfometrik değişiklikler deneysel olarak ilk defa tespit edilmiştir.

Çalışmamızın; tüm dünyada prevalansı artan ve birçok hastalığı beraberinde getirerek vücut için ciddi bir tehdit olarak kabul edilen obezitenin dalak morfolojisi üzerindeki etkilerinin daha kapsamlı anlaşılmasını sağlayabileceği ve bu sayede immün sistemin diyeti nasıl etkilediği sorusuna kantitatif bir yanıt alınarak potansiyel tedavi edici yöntemler için bir bakış açısı getirebileceğini düşünmekteyiz.

## 7. KAYNAKLAR DİZİNİ

- Adler, B.J., Green, D.E., Pagnotti, G.M., Chan, M.E., Rubin, C.T. (2014). High fat diet rapidly suppresses B lymphopoiesis by disrupting the supportive capacity of the bone marrow niche. *PLoS One*, 4;9(3):e90639.
- Akira, S., Uematsu, S., Takeuchi, O. (2006). Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*, 24;124(4):783-801.
- Alam, M.A., Subhan, N., Hossain, H., Hossain M<sup>1</sup>, Reza HM<sup>1</sup>, Rahman M.M., Ullah M.O. (2016). Hydroxycinnamic acid derivatives: a potential class of natural compounds for the management of lipid metabolism and obesity. *Nutr Metab (Lond)*, 11;13:27, 1-13.
- Allen, C.D., Okada, T., Cyster, J.G. (2007). Germinal-center organization and cellular Dynamics. *Immunity*, 27(2):190-202.
- Allen, C.D., Cyster, J.G. (2008). Follicular dendritic cell networks of primary follicles and germinal centers: phenotype and function. *Semin Immunol*, 20(1):14-25.
- Altunkaynak, B.Z., Ozbek, E., Altunkaynak, M.E. (2007). A stereological and histological analysis of spleen on obese female rats, fed with high fat diet. *Saudi Med J*, 28(3):353-7.
- Altunkaynak, B.Z., Altunkaynak, E., Unal, D., Unal, B. (2009). A novel application for the cavalieri principle: a stereological and methodological study. *Eurasian J Med*, 41(2):99-101.
- Anderson, G., Jenkinson, E.J. (2001). Lymphostromal interactions in thymic development and function, *Nat Rev Immunol*, 1(1):31-40.
- Aoshi, T., Zinselmeyer, B.H., Konjufca, V., Lynch, J.N., Zhang, X., Koide, Y., Miller, M.J. (2008). Bacterial entry to the splenic white pulp initiates antigen presentation to CD8+ T cells. *Immunity*, 19;29(3):476-86.
- Balato, N., Napolitano, M., Ayala, F., Patrino, C., Megna, M., Tarantino, G. (2015). Nonalcoholic fatty liver disease, spleen and psoriasis: New aspects of low-grade chronic inflammation. *World J Gastroenterol*, 14;21(22):6892-7.
- Batista, F.D., Dustin, M.L. (2013). Cell: cell interactions in the immune system. *Immunol Rev*, 251(1):7-12.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)**

- Baumgarner, K.M., Setti, S., Diaz, C., Littlefield, A., Jones, A., Kohman, R.A. (2014). Diet-induced obesity attenuates cytokine production following an immune challenge. *Behav Brain Res*, 1;267:33-41.
- Bayry, J., Lacroix-Desmazes, S., Kazatchkine, M.D., Hermine, O., Tough, D.F., Kaveri, S.V. (2005). Modulation of dendritic cell maturation and function by B lymphocytes. *J Immunol*, 1;175(1):15-20.
- Behan, J.W., Ehsanipour, E.A., Sheng, X., Pramanik, R., Wang, X., Hsieh, Y.T., Kim, Y.M., Mittelman, S.D. (2013). Activation of adipose tissue macrophages in obese mice does not require lymphocytes. *Obesity (Silver)*, 21(7):1380-8.
- Beltman, J.B., Allen, C.D., Cyster, J.G., de Boer, R.J. (2011). B cells within germinal centers migrate preferentially from dark to light zone. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 24;108(21):8755-60.
- Blum, K.S., Karaman, S., Proulx, S.T., Ochsenbein, A.M., Luciani, P., Leroux, J.C., Wolfrum, C., Detmar, M. (2014). Chronic high-fat diet impairs collecting lymphatic vessel function in mice. *PLoS One*, 8;9(4):e94713.
- Boyce, R.W., Dorph-Petersen, K.A., Lyck, L., Gundersen, H.J. (2010). Design-based stereology: introduction to basic concepts and practical approaches for estimation of cell number *Toxicol Pathol.*, 38(7):1011-25.
- Bruce, K.D., Cagampang, F.R., Argenton, M., Zhang, J., Ethirajan, P.L., Burdge, G.C., Bateman, A.C., Clough, G.F., Poston, L., Hanson, M.A., McConnell, J.M., Byrne, C.D. (2009). Maternal high-fat feeding primes steatohepatitis in adult mice offspring, involving mitochondrial dysfunction and altered lipogenesis gene expression. *Hepatology*, 50(6):1796-808.
- Buckman, L.B., Hasty, A.H., Flaherty, D.K., Buckman, C.T., Thompson, M.M., Matlock, B.K., Weller, K., Ellacott, K.L. (2014). Obesity induced by a high fat diet is associated with increased immune cell entry into the central nervous system. *Brain Behav Immun*, 35:33-42.
- Buettner, R, Scholmerich, J, Bollheimer, LC, High-fat Diets:Modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents, *Obesity*, 15: 798-808 p, 2007.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)**

- Burn, S.F., Boot MJ, de Angelis C, Doohan R, Arques CG, Torres M, Hill RE. 2008. The dynamics of spleen morphogenesis. *Dev Biol.*, 15;318(2):303-11.
- Cai, G., Dinan, T., Barwood, J.M., De Luca, S.N., Soch, A., Ziko, I., Chan, S.M., Zeng, X.Y., Li, S., Molero, J., Spencer, S.J. (2015). Neonatal overfeeding attenuates acute central pro-inflammatory effects of short term high fat diet. *Front Neurosci*, 13;8:446.
- Calder, P.C., Yaqoob, P., Thies, F., Wallace, F.A., Miles, E.A. (2002). Fatty acids and lymphocyte functions. *Br J Nutr*, 87,1:S31-48.
- Capolunghi, F., Rosado, M.M., Sinibaldi, M., Aranburu, A., Carsetti, R. (2013). Why do we need IgM memory B cells? *Immunol Lett*, 152(2):114-20.
- Carrasco, Y.R., Batista, F.D. (2007). B cells acquire particulate antigen in a macrophage-rich area at the boundary between the follicle and the subcapsular sinus of the lymph node. *Immunity.*, 27(1):160-71.
- Cariappa, A., Chase, C., Liu, H., Russell, P., Pillai, S. (2007). Naive recirculating B cells mature simultaneously in the spleen and bone marrow. *Blood*, 15;109(6):2339-45.
- Caspar-Bauguil, S., Cousin, B., André, M., Nibbelink, M., Galinier, A., Periquet, B., Casteilla, L., Pénicaud, L. (2006). Weight-dependent changes of immune system in adipose tissue: importance of leptin, *Exp Cell Res*, 15;312(12):2195-202.
- Cerutti, A., Puga, I., Cols, M. (2011). Innate control of B cell responses. *Trends Immunol*, 32(5):202-11.
- Cesta, M.F. (2006). Normal structure, function, and histology of the spleen. *Toxicol Pathol*, 34(5):455-65.
- Chan, M.E., Adler, B.J., Green, D.E., Rubin, C.T. (2012). Bone structure and B-cell populations, crippled by obesity, are partially rescued by brief daily exposure to low-magnitude mechanical signals. *Faseb J*, 26(12):4855-63.
- Chandra, R.K. (2002). Nutrition and the immune system from birth to old age. *Eur J Clin Nutr*, 56, 3:S73-6.
- Chang, J.H., Chung, Y. (2014). Regulatory T cells in B cell follicles. *Immune Netw*, 14(5):227-36.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)**

- Chechi, K., Herzberg, G.R., Cheema, S.K. (2010). Maternal dietary fat intake during gestation and lactation alters tissue fatty acid composition in the adult offspring of C57Bl/6 mice. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 83(2):97-104.
- Chen, M., Guo, Z., Ju, W., Ryffel, B., He, X., Zheng, S.G. (2012). The development and function of follicular helper T cells in immune responses. *Cell Mol Immunol*, 9(5):375-9.
- Chen, S., Lin, G., Lei, L., You, X., Wu, C., Xu, W., Huang, M., Luo, L., Wang, Z., Li, Y., Zhao, X., Yan, F. (2013). Hyperlipidemia modifies innate immune responses to lipopolysaccharide via the TLR-NF- $\kappa$ B signaling pathway. *Inflammation*, 36(4):968-76.
- Childs, C.E., Romijn, T., Enke, U., Hoile, S., Calder, P.C. (2010). Maternal diet during pregnancy has tissue-specific effects upon fetal fatty acid composition and alters fetal immune parameters. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 83(4-6):179-84.
- Cho, H.J., Kwon, G.T., Park, H., Song, H., Lee, K.W., Kim, J.I., Park, J.H. (2015). A high-fat diet containing lard accelerates prostate cancer progression and reduces survival rate in mice: possible contribution of adipose tissue-derived cytokines. *Nutrients*, 9;7(4):2539-61.
- Cinamon, G., Zachariah, M.A., Lam, O.M., Foss F.W. Jr, Cyster, J.G. (2008). Follicular shuttling of marginal zone B cells facilitates antigen transport. *Nat Immunol*, 9(1):54-62.
- Cooper, M.D., Alder, M.N. (2006). The evolution of adaptive immune systems. *Cell*, 24;124(4):815-22.
- Craxton, A., Magaletti, D., Ryan, E.J., Clark, E.A. (2003). Macrophage and dendritic cell dependent regulation of human B cell proliferation cell proliferation requires the TNF family ligand BAFF. *Blood*, 1;101(11):4464-71.
- Crotty, S. (2011). Follicular helper CD4 T cells (TFH). *Annu Rev Immunol*, 29:621-63.
- Crowley, M.T., Reilly, C.R., Lo, D. (1999). Influence of lymphocytes on the presence and organization of dendritic cell subsets in the spleen. *J Immunol*, 1;163(9):4894-900.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)**

- Da Silva, A.M., Corrêa, C.L., Neves, R.H., Machado-Silva, J.R. (2012). A high-fat diet associated with acute schistosomiasis mansoni causes disorganization in splenic architecture in mice. *Exp Parasitol*. 132(2):193-9.
- De Furia, J., Belkina, A.C., Jagannathan-Bogdan, M., Snyder-Cappione, J., Carr, J.D., Nersesova, Y.R., Markham, D., Strissel, K.J., Watkins, A.A., Zhu, M., Allen, J., Bouchard, J., Toraldo, G., Jasuja, R., Obin, M.S., McDonnell, M.E., Apovian, C., Denis, G.V., Nikolajczyk, B.S. (2013). B cells promote inflammation in obesity and type 2 diabetes through regulation of T-cell function and an inflammatory cytokine profile. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 26;110(13):5133-8.
- De Vries, A., Hazlewood, L., Fitch, P.M., Seckl, J.R., Foster, P., Howie, S.E., (2009). High-fat feeding redirects cytokine responses and decreases allergic airway eosinophilia. *Clin Exp Allergy*, 39(5):731-9.
- De Rosa, V., Procaccini, C., Calì, G., Pirozzi, G., Fontana, S., Zappacosta, S., La Cava, A., Matarese, G. (2007). A key role of leptin in the control of regulatory T cell proliferation. *Immunity*, 26(2):241-55.
- De Souza, G.I., Santamarina, A.B., De Santana, A.A., Lira, F.S., De Laquila, R., Moreno, M.F., Ribeiro, E.B., Do Nascimento, C.M., Rodrigues, B., Esposito, E., Oyama, L.M. (2014). Preventive effects of chitosan coacervate whey protein on body composition and immune metabolic aspect in obese mice. *Mediators Inflamm*, 2014:281097.
- Deiullis, J., Shah, Z., Shah, N., Needleman, B., Mikami, D., Narula, V., Perry, K., Hazey, J., Kampfrath, T., Kollengode, M., Sun, Q., Satoskar, A.R., Lumeng, C., Moffatt-Bruce, S., Rajagopalan, S. (2011). Visceral Adipose Inflammation in Obesity Is Associated with Critical Alterations in Tregulatory Cell Numbers. *PLoS One*, 26;6(1):e16376.
- Del Bas, J.M., Crescenti, A., Arola-Arnal, A., Oms-Oliu, G., Arola, L., Caimari, A. (2015). Grape seed procyanidin supplementation to rats fed a high-fat diet during pregnancy and lactation increases the body fat content and modulates the inflammatory response and the adipose tissue metabolism of the male offspring in youth. *Int J Obes (Lond)*, 39(1):7-15.
- Delassus, S., Darce, S., Kourilsky, P., Cumano, A. (1998) Ontogeny of the heavy chain immunoglobulin repertoire in fetal liver and bone marrow. *J Immunol*, 1;160(7):3274-80.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)**

- Den Haan, J.M., Kraal, G. (2012). Innate immune functions of macrophage subpopulations in the spleen. *J Innate Immun*, 4(5-6):437-45.
- Deng, T., Lyon, C.J., Minze, L.J., Lin, J., Zou, J., Liu, J.Z., Ren, Y., Yin, Z., Hamilton, D.J., Reardon, P.R., Sherman, V., Wang, H.Y., Phillips, K.J., Webb, P., Wong, S.T., Wang, R.F., Hsueh, W.A. (2013). Class II major histocompatibility complex plays an essential role in obesity-induced adipose inflammation. *Cell Metab*, 5;17(3):411-22.
- Denou, E., Lolmède, K., Garidou, L., Pomie, C., Chabo, C., Lau, T.C., Fullerton, M.D., Nigro, G., Zakaroff-Girard, A., Luche, E., Garret, C., Serino, M., Amar, J., Courtney, M., Cavallari, J.F., Henriksbo, B.D., Barra, N.G., Foley, K.P., McPhee, J.B., Duggan, B.M., O'Neill, H.M., Lee, A.J., Sansonetti, P., Ashkar, A.A., Khan, W.I., Surette, M.G., Bouloumié, A., Steinberg, G.R., Burcelin, R., Schertzer, J.D. (2015). Defective NOD2 peptidoglycan sensing promotes diet induced inflammation, dysbiosis and insulin resistance. *EMBO Mol Med*, 9;7(3):259-74.
- Desai, M., Jellyman, J.K., Han, G., Beall, M., Lane, R.H., Ross, M.G. (2014). Maternal obesity and high-fat diet program offspring metabolic syndrome. *Am J Obstet Gynecol*, 211(3):237.
- Dib, L.H., Ortega, M.T., Fleming, S.D., Chapes, S.K., Melgarejo, T. (2014). Bone marrow leptin signaling mediates obesity associated adipose tissue inflammation in male mice. *Endocrinology*, 155(1):40-6.
- Ding, Y., Zhang, Z., Dai, X., Jiang, Y., Bao, L., Li, Y., Li, Y. (2013). Grape seed proanthocyanidins ameliorate pancreatic beta-cell dysfunction and death in low-dose streptozotocin- and high-carbohydrate/high-fat diet-induced diabetic rats partially by regulating endoplasmic reticulum stress. *Nutr Metab (Lond)*, 21;10:51:1-12 p.,
- Dieu, M.C., Vanbervliet, B., Vicari, A., Bridon, J.M., Oldham, E., Aït-Yahia, S., Brière, F., Zlotnik, A., Lebecque, S., Caux, C. (1998). Selective recruitment of immature and mature dendritic cells by distinct chemokines expressed in different anatomic sites. *J Exp Med*, 20;188(2):373-86.
- Dorph-Petersen, K.A., Gundersen, H.J., Jensen, E.B. (2000). Non-uniform systematic sampling in stereology. *J Microsc*, 200(2):148-57.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)**

- Dubois, B., Barthélémy, C., Durand, I., Liu, Y.J., Caux, C., Brière, F. (1999). Toward a role of dendritic cells in the germinal center reaction: triggering of B cell proliferation and isotype switching, *J Immunol*, 15;162(6):3428-36.
- Dustin, M.L., Depoil, D. (2011). New insights into T cell synapse from single molecular techniques. *Nat Rev Immunol*, 11:672.
- Exley, M.A., Hand, L., O'Shea, D., Lynch, L. (2014). Interplay between the immune system and adipose tissue in obesity. *J Endocrinol*, 223(2):R41-8.
- Fabrizi, M., Marchetti, V., Mavilio, M., Marino, A., Casagrande, V., Cavalera, M., Moreno-Navarrete, J.M., Mezza, T., Sorice, G.P., Fiorentino, L., Menghini, R., Lauro, R., Monteleone, G., Giaccari, A., Fernandez Real, J.M., Federici, M. (2014). IL-21 is a major negative regulator of IRF4 dependent lipolysis affecting Tregs in adipose tissue and systemic insulin sensitivity. *Diabetes*, 63(6):2086-96.
- Fantuzzi, G. (2005). Adipose tissue, adipokines, and inflammation, *J Allergy Clin Immunol*, 115(5):911-9.
- Farooqi, I.S., Matarese, G., Lord, G.M., Keogh, J.M., Lawrence, E., Agwu, C., Sanna, V., Jebb, S.A., Perna, F., Fontana, S., Lechler, R.I., De Paoli, A.M., O'Rahilly, S. (2002). Beneficial effects of leptin on obesity T cell hyporesponsiveness and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency. *J Clin Invest*, 110(8):1093-103.
- Federico, A., D'Aiuto, E., Borriello, F., Barra, G., Gravina, A.G., Romano, M., De Palma, R. (2010). Fat: a matter of disturbance for the immune system. *World J Gastroenterol*, 14;16(38):4762-72.
- Ferguson, A.R., Youd, M.E., Corley, R.B. (2004). Marginal zone B cells transport and deposit IgM-containing immune complexes onto follicular dendritic cells. *Int Immunol*, 16(10):1411-22.
- Ferrante, A.W. Jr . (2013). The immune cells in adipose tissue, *Diabetes Obes Metab*, 15, 3:34-8.
- Fettke, F., Schumacher, A., Costa, S.D., Zenclussen, A.C. (2014). B cells: the old new players in reproductive immunology. *Front Immunol.*, 23;5:285.



## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)**

- Förster, R., Mattis, A.E., Kremmer, E., Wolf, E., Brem, G., Lipp, M. (1996). A putative chemokine receptor, BLR1, directs B cell migration to defined lymphoid organs and specific anatomic compartments of the spleen. *Cell*, 13;87(6):1037-47.
- Gatto, D., Brink, R. (2010). The germinal center reaction. *J Allergy Clin Immunol*, 126(5):898-907.
- Gray, D., Kumararatne, D.S., Lortan, J., Khan, M., MacLennan, I.C. (1984). Relation of intra-splenic migration of marginal zone B cells to antigen localization on follicular dendritic cells. *Immunology*, 52(4):659-69.
- Gray, C., Vickers, M.H., Segovia, S.A., Zhang, X.D., Reynolds, C.M. (2015). A maternal high fat diet programmes endothelial function and cardiovascular status in adult male offspring independent of body weight, which is reversed by maternal conjugated linoleic acid (CLA) supplementation. *PLoS One*, 19;10(2):e0115994.
- Greene, W.K., Bahn, S., Masson, N., Rabbitts, T.H. (1998). The T-cell oncogenic protein HOX11 activates Aldh1 expression in NIH 3T3 cells but represses its expression in mouse spleen development. *Mol Cell Biol*, 18(12):7030-7.
- Grubin, C.E., Kovats, S., De Roos, P., Rudensky, A.Y. (1997). Deficient positive selection of CD4 T cells in mice displaying altered repertoires of MHC class II-bound self-peptides. *Immunity*, 7(2):197-208.
- Good-Jacobson, K.L. (2014). Regulation of germinal center, B-cell memory, and plasma cell formation by histone modifiers. *Front Immunol.*, 19;5:596.
- Gotoh, K., Inoue, M., Masaki, T., Chiba, S., Shimasaki, T., Ando, H., Fujiwara, K., Katsuragi, I., Kakuma, T., Seike, M., Sakata, T., Yoshimatsu, H. (2012). A novel anti-inflammatory role for spleen-derived interleukin-10 in obesity-induced inflammation in white adipose tissue and liver. *Diabetes*, 61(8):1994-2003.
- Gotoh, K., Inoue, M., Shiraishi, K., Masaki, T., Chiba, S., Mitsutomi, K., Shimasaki, T., Ando, H., Fujiwara, K., Katsuragi, I., Kakuma, T., Seike, M., Sakata, T., Yoshimatsu, H. (2012). Spleen-derived interleukin-10 downregulates the severity of high fat diet-induced non-alcoholic fatty pancreas disease. *PLoS One*, 7(12):e53154:1-13.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)**

- Gulzar, N., Copeland, K.F. (2004). CD8+ T-cells: function and response to HIV infection. *Curr HIV Res*, 2(1):23-37.
- Gundersen, H.J., Jensen, E.B., Kiêu, K., Nielsen, J. (1999). The efficiency of systematic sampling in stereology reconsidered. *J Microsc*, 193(3):199-211.
- Guo, C.A., Kogan, S., Amano, S.U., Wang, M., Dagdeviren, S., Friedline, R.H., Aouadi, M., Kim, J.K., Czech, M.P. (2013). CD40 deficiency in mice exacerbates obesity-induced adipose tissue inflammation, hepatic steatosis, and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 1;304(9):E951-63.
- Han, J.M., Levings, M.K. (2013). Immune regulation in obesity-associated adipose inflammation. *J Immunol*, 15;191(2):527-32.
- Han, J.M., Patterson, S.J., Speck, M., Ehses, J.A., Levings, M.K. (2014). Insulin inhibits IL-10-mediated regulatory T cell function: implications for obesity. *J Immunol.*, 15;192(2):623-9.
- Harford, K.A., Reynolds, C.M., McGillicuddy, F.C., Roche, H.M. (2011). Fats, inflammation and insulin resistance: insights to the role of macrophage and T-cell accumulation in adipose tissue, *Proc Nutr Soc*, 70(4):408-17.
- Hariri, N., Thibault, L. (2010). High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutr Res Rev*, 23(2):270-99.
- Harwood, N.E., Batista, F.D. (2010). Antigen presentation to B cells. *F1000 Biol Rep*, 17;2:87.
- Hauser, A.E., Junt, T., Mempel, T.R., Sneddon, M.W., Kleinstein, S.H., Henrickson, S.E., Von Andrian, U.H., Shlomchik, M.J., Haberman, A.M. (2007). Definition of germinal-center B cell migration in vivo reveals predominant intrazonal circulation patterns. *Immunity*, 26(5):655-67.
- Henderson, R.B., Grys, K., Vehlow, A., De Bettignies, C., Zachacz, A., Henley, T., Turner, M., Batista, F., Tybulewicz V.L. (2010). A novel Rac-dependent check point in B cell development controls entry into the splenic white pulp and cell survival. *J Exp Med*, 12;207(4):837-53.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)**

- Inaba, K., Pack, M., Inaba, M., Sakuta, H., Isdell, F., Steinman, R.M. (1997). High levels of a major histocompatibility complex II self peptide complex on dendritic cells from the T cell areas of lymph nodes. *J Exp Med*, 29;186(5):665-72.
- Issazadeh-Navikas, S., Teimer, R., Bockermann, R. (2012). Influence of dietary components on regulatory T cells. *Mol Med*, 10;18:95-110.
- Izadi V., Saraf-Bank S., Azadbakht L. (2014). Dietary intakes and leptin concentrations. *ARYA Atheroscler*, 10(5):266-72.
- Jamin C., Morva A., Lemoine, S., Daridon, C., De Mendoza, A.R., Youinou, P. (2008). Regulatory B lymphocytes in humans: a potential role in autoimmunity. *Arthritis Rheum*, 58(7):1900-6.
- Jones, J.F. (1983). Development of the spleen. *Lymphology*, 16 (2): 83-9.
- Ji, Y., Sun, S., Xia, S., Yang, L., Li, X., Qi, L. (2012). Short term high fat diet challenge promotes alternative macrophage polarization in adipose tissue via natural killer T cells and interleukin-4. *J Biol Chem*, 13;287(29):24378-86.
- Jin, C., Flavell, R.A. (2013). Innate sensors of pathogen and stress: linking inflammation to obesity. *J Allergy Clin Immunol*, 132(2):287-94.
- Kabay, S.C., Gulbandilar, E., Ozden, H., Ozbag, D., Guven, G., Adapinar, B., Durmaz, R. (2009). Evaluation of the size and area of the corpus callosum with the Osiris method in Alzheimer's disease. *Neurodegener Dis*, 6(4):148-53.
- Kang, Y.S., Yamazaki, S., Iyoda, T., Pack, M., Bruening, S.A., Kim, J.Y., Takahara, K., Inaba, K., Steinman, R.M., Park, C.G. (2003). SIGN-R1, a novel C-type lectin expressed by marginal zone macrophages in spleen, mediates uptake of the polysaccharide dextran. *Int Immunol*, 15(2):177-86.
- Kaur, M., Singh, M., Silakari, O. (2013). Inhibitors of switch kinase 'spleen tyrosine kinase' in inflammation immune mediated disorders:a review. *Eur J Med Chem*, 67:434-46.
- Karlsson, E.A., Sheridan, P.A., Beck, M.A. (2010). Diet-Induced Obesity Impairs the T Cell memory response to influenza virus infection. *J Immunol*, 15;184(6):3127-33.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)**

- Kawasaki, K., Abe, M., Tada F., Tokumoto Y., Chen S., Miyake T., Furukawa S., Matsuura B., Hiasa Y., Onji M. (2013). Blockade of B-cell-activating factor signaling enhances hepatic steatosis induced by a high-fat diet and improves insulin sensitivity. *Lab Invest*, 93(3):311-21.
- Kelsoe, G. (1996). Life and death in germinal centers (redux). *Immunity*, 4(2):107-11.
- Kerfoot, S.M., Yaari, G., Patel, J.R., Johnson, K.L., Gonzalez, D.G., Kleinstein, S.H., Haberman, A.M. (2011). Germinal center B cell and T follicular helper cell development initiates in the interfollicular zone. *Immunity*, 24;34(6):947-60.
- Kiel, M.J., Morrison, S.J. (2008). Uncertainty in the niches that maintain haematopoietic stem cells. *Nat Rev Immunol*, 8(4):290-301.
- Kim, C.S., Lee, S.C., Kim, Y.M., Kim, B.S., Choi, H.S., Kawada, T., Kwon, B.S., Yu, R. (2008). Visceral Fat Accumulation Induced by a High-fat Diet Causes the Atrophy of Mesenteric Lymph Nodes in Obese Mice. *Obesity (Silver Spring)*, 16(6):1261-9.
- Kim, S.J., Choi, Y., Choi, Y.H., Park, T. (2012). Obesity activates toll-like receptor-mediated proinflammatory signaling cascades in the adipose tissue of mice. *J Nutr Biochem*, 23(2):113-22.
- Kim, H.Y., Lee, H.J., Chang, Y.J., Pichavant, M., Shore, S.A., Fitzgerald, K.A., Iwakura, Y., Israel, E., Bolger, K., Faul, J., DeKruyff, R.H., Umetsu, D.T. (2014). Interleukin-17-producing innate lymphoid cells and the NLRP3 inflammasome facilitate obesity-associated airway hyperreactivity. *Nat Med*, 20(1):54-61.
- Kondo, T., Toyoshima, Y., Ishii, Y., Kyuwa, S. (2013). Natural killer T cells in adipose tissue are activated in lean mice. *Exp Anim*, 62(4):319-28.
- Kraal, G., Rodrigues, H., Hoeben, K., Van Rooijen, N. (1989). Lymphocyte migration in the spleen: the effect of macrophage elimination. *Immunology*, 68(2):227-32.
- Kruse, M., Seki, Y., Vuguin, P.M., Du, X.Q., Fiallo, A., Glenn, A.S., Singer, S., Breuhahn, K., Katz, E.B., Charron, M.J. (2013). High-fat intake during pregnancy and lactation exacerbates high-fat diet-induced complications in male offspring in mice. *Endocrinology*, 154(10):3565-76.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)**

- Kubínová, L., Janáček, J., Karen, P., Radochová, B., Difato, F., Krekule, I. (2004). Confocal stereology and image analysis: methods for estimating geometrical characteristics of cells and tissues from three-dimensional confocal images. *Physiol Res*, 53;1:S47-55.
- Kuhn, E., Bourgeois, C., Keo, V., Viengchareun, S., Muscat, A., Meduri, G., Le Menuet, D., Fève, B., Lombès, M. (2014). Paradoxical resistance to high-fat diet-induced obesity and altered macrophage polarization in mineralocorticoid receptor-overexpressing mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 1;306(1).
- Küppers, R., Zhao, M., Hansmann M.L., Rajewsky K. (1993). Tracing B cell development in human germinal centres by molecular analysis of single cells picked from histological sections. *Embo J*, 15;12(13):4955-67.
- Lanzavecchia, A., Sallusto, F. (2009). Human B cell memory. *Curr Opin Immunol*, 21(3):298-304.
- LeBien, T.W., Tedder, T.F. (2008). B lymphocytes: how they develop and function. *Blood*, 1;112(5):1570-80.
- Li, Z., Soloski, M.J., Diehl, A.M. (2005). Dietary factors alter hepatic innate immune system in mice with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 42(4):880-5.
- Li, M, Gu, D, Xu, N, Lei, F, Du, L, Zhang, Y, Xie, W. (2014). Gut carbohydrate metabolism instead of fat metabolism regulated by gut microbes mediates high-fat diet-induced obesity. *Benef Microbes*, 27:1-10.
- Lim, H.W., Hillsamer, P., Kim, C.H., 2004, Regulatory T cells can migrate to follicles upon T cell activation and suppress GC-Th cells and GC-Th cell-driven B cell responses, *J Clin Invest*. 114(11):1640-9.
- Lin, H.H., Faunce, D.E., Stacey, M., Terajewicz, A., Nakamura, T., Zhang-Hoover, J., Kerley, M., Mucenski, M.L., Gordon, S., Stein-Streilein, J. (2005). The macrophage F4/80 receptor is required for the induction of antigen-specific efferent regulatory T cells in peripheral tolerance. *J Exp Med*, 16;201(10):1615-25.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)**

- Liu, J., Divoux, A., Sun, J., Zhang, J., Clément, K., Glickman, J.N., Sukhova, G.K., Wolters, P.J., Du, J., Gorgun, C.Z., Doria, A., Libby, P., Blumberg, R.S., Kahn, B.B., Hotamisligil, G.S., Shi, G.P. (2009). Genetic deficiency and pharmacological stabilization of mast cells reduce diet-induced obesity and diabetes in mice. *Nat Med*, 15(8):940-5.
- Lo, C.G., Lu, T.T., Cyster, J.G. (2003). Integrin-dependence of lymphocyte entry into the splenic white pulp. *J Exp Med*, 3;197(3):353-61.
- Loder, F., Mutschler, B., Ray, R.J., Paige, C.J., Sideras, P., Torres, R., Lamers, M.C., Carsetti, R. (1999). B cell development in the spleen takes place in discrete steps and is determined by the quality of B cell receptor-derived signals. *J Exp Med*, 5;190(1):75-89.
- Long, Y., Zhang, X.X., Chen, T., Gao, Y., Tian, H.M. (2014). Radix astragali improves dysregulated triglyceride metabolism and attenuates macrophage infiltration in adipose tissue in high fat diet induced obese male rats through activating mTORC1-PPAR  $\gamma$  Signaling Pathway. *PPAR Res*, 2014:189085.
- Lyznicki, J.M., Young, D.C., Riggs, J.A., Davis, R.M. (2001). Obesity: assessment and management in primary care. *Am Fam Physician*, 1;63(11):2185-96.
- Ma, X., Hua, J., Mohamood, A.R., Hamad, A.R., Ravi, R., Li, Z. (2007). A high fat diet and regulatory T cells influence susceptibility to endotoxin induced liver injury. *Hepatology*, 46(5):1519-29.
- Mann, E.R., Li, X. (2014). Intestinal antigen-presenting cells in mucosal immune homeostasis: crosstalk between dendritic cells, macrophages and B-cells. *World J Gastroenterol*, 7;20(29):9653-64.
- Mandarim-de-Lacerda, C.A. (2003). Stereological tools in biomedical research. *An Acad Bras Cienc*, 75(4):469-86.
- Marcos, A., Nova, E., Montero, A. (2003). Changes in the immune system are conditioned by nutrition., *Eur J Clin Nutr*, 57, 1:S66-9.
- Martí, A., Marcos, A., Martínez, J.A. (2001). Obesity and immune function relationships. *Obes Rev*, 2(2):131-40.
- Martin, F., Oliver, A.M., Kearney, J.F. (2001). Marginal zone and B1 B cells unite in the early response against T-independent blood-borne particulate antigens. *Immunity*, 14(5):617-29.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)**

- Martin-Murphy, B.V., You, Q., Wang, H., De La Houssaye, B.A., Reilly, T.P., Friedman, J.E., Ju, C. (2014). Mice lacking natural killer T cells are more susceptible to metabolic alterations following high fat diet feeding. *Plos One*, 20;9(1):e80949, 1-11.
- Masuyama, H., Hiramatsu, Y. (2014). Additive effects of maternal high fat diet during lactation on mouse offspring. *PLoS One*, 24;9(3):e92805.
- Matsumoto, M., Iwamasa, K., Rennert, P.D., Yamada, T., Suzuki, R., Matsushima, A., Okabe, M., Fujita, S., Yokoyama, M. (1999). Involvement of distinct cellular compartments in the abnormal lymphoid organogenesis in lymphotoxin-alpha deficient mice and alymphoplasia (aly) mice defined by the chimeric analysis. *J Immunol*, 1;163(3): 1584-91.
- Mayhew, T.M. (1991). The new stereological methods for interpreting functional morphology from slices of cells and organs. *Exp Physiol*, 76(5):639-65.
- Mayhew, T.M., Gundersen, H.J. (1996). If you assume, you can make an ass out of u and me': a decade of the disector for stereological counting of particles in 3D space. *J Anat*, 188(1):1-15.
- Mempel, T.R., Henrickson, S.E., Von Andrian, U.H. (2004). T-cell priming by dendritic cells in lymph nodes occurs in three distinct phases. *Nature*, 8;427(6970):154-9.
- McGaha, T.L., Chen, Y., Ravishankar, B., Van Rooijen, N., Karlsson, M.C. (2011). Marginal zone macrophages suppress innate and adaptive immunity to apoptotic cells in the spleen. *Blood*, 19;117(20):5403-12.
- McHeyzer-Williams, L.J., Driver, D.J., McHeyzer-Williams, M.G. (2001). Germinal center reaction. *Curr Opin Hematol*, 8(1):52-9.
- McHeyzer-Williams, M., Okitsu, S., Wang, N., McHeyzer-Williams, L. (2011). Molecular programming of B cell memory. *Nat Rev Immunol*, 9;12(1):24-34.
- Miller, M.J., Safrina, O., Parker, I., Cahalan, M.D. (2004). Imaging the single cell dynamics of CD4+ T cell activation by dendritic cells in lymph nodes. *J Exp Med*, 4;200(7):847-56.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)**

- Mitchell, J. (1973). Lymphocyte circulation in the spleen. Marginal zone bridging channels and their possible role in cell traffic, *Immunology*, 24(1):93-107.
- Mito, N., Yoshino, H., Hosoda, T., Sato, K. (2004). Analysis of the effect of leptin on immune function in vivo using diet-induced obese mice. *J Endocrinol*, 180(1):167-73.
- Miyazaki, Y., Iwabuchi, K., Iwata, D., Miyazaki, A., Kon, Y., Niino, M., Kikuchi, S., Yanagawa, Y., Kaer, L.V., Sasaki, H., Onoé, K. (2008). Effect of high fat diet on NKT cell function and NKT cell-mediated regulation of Th1 responses, *Scand J Immunol*, 67(3):230-7.
- Molofsky, A.B., Nussbaum, J.C., Liang, H.E., Van Dyken, S.J., Cheng, L.E., Mohapatra, A., Chawla, A., Locksley, R.M. (2013). Innate lymphoid type 2 cells sustain visceral adipose tissue eosinophils and alternatively activated macrophages. *J Exp Med*, 11;210(3):535-49.
- Montes, V.N., Turner, M.S., Subramanian, S., Ding, Y., Hayden-Ledbetter, M., Slater, S., Goodspeed, L., Wang, S., Omer, M., Den Hartigh, L.J., Averill, M.M., O'Brien, K.D., Ledbetter, J., Chait, A. (2013). T cell activation inhibitors reduce CD8+ T cell and pro-inflammatory macrophage accumulation in adipose tissue of obese mice. *PLoS One*, 2;8(7):e67709.
- Morelli, A.E., Larregina, A.T., Shufesky, W.J., Zahorchak, A.F., Logar, A.J., Papworth, G.D., Wang, Z., Watkins, S.C., Falo, L.D. Jr, Thomson, A.W., (2003). Internalization of circulating apoptotic cells by splenic marginal zone dendritic cells: dependence on complement receptors and effect on cytokine production. *Blood*, 15;101(2):611-20.
- Myles, I.A., Fontecilla, N.M., Janelsins, B.M., Vithayathil, P.J., Segre, J.A., Datta, S.K. (2013). Parental dietary fat intake alters offspring microbiome and immunity. *J Immunol*, 15;191(6):3200-9.
- Negulescu, P.A., Krasieva, T.B., Khan, A., Kerschbaum, H.H., Cahalan, M.D. (1996). Polarity of T cell shape, motility, and sensitivity to antigen, *Immunity*, 4(5):421-30.
- Nieman, D.C., Henson, D.A., Nehlsen-Cannarella, S.L., Ekkens, M., Utter, A.C., Butterworth, D.E., Fagoaga, O.R. (1999). Influence of obesity on immune function. *J Am Diet Assoc*, 99(3):294-9.
- Ngo, V. N., Cornall, R.J., Cyster, J.G. (2001). Splenic T zone development is B cell dependent. *J Exp Med*, 3;194(11):1649-60.



## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)**

- Noh, G., Lee, J.H. (2011). Regulatory B cells and allergic diseases. *Allergy Asthma Immunol Res*, 3(3):168-77.
- Nolte, M.A., Hamann, A., Kraal, G., Mebius, R.E. (2002). The strict regulation of lymphocyte migration to splenic white pulp does not involve common homing receptors. *Immunology*, 106(3):299-307.
- Nyengaard, J.R., Gundersen, H.J. (2006). Direct and efficient stereological estimation of total cell quantities using electron microscopy. *J Microsc*, 222(3):182-7.
- Odaka, Y., Nakano, M., Tanaka, T., Kaburagi, T., Yoshino, H., Sato-Mito, N., Sato, K. (2010). The influence of a high-fat dietary environment in the fetal period on postnatal metabolic and immune function. *Obesity (Silver Spring)*, 18(9):1688-94.
- Okada, T., Miller, M.J., Parker, I., Krummel, M.F., Neighbors, M., Hartley, S.B., O'Garra, A., Cahalan, M.D., Cyster, J.G. (2005). Antigen engaged B cells undergo chemotaxis toward the T zone and form motile conjugates with hepler T cells. *PLoS Biol*, (6):e150,1047-60.
- Pabst, R. (1986). Functional anatomy of the human spleen. *Langenbecks Arch Chir*, 369:233-7.
- Pacifico, L., Di Renzo, L., Anania, C., Osborn, J.F., Ippoliti, F., Schiavo, E., Chiesa, C. (2006). Increased T-helper interferon-gamma-secreting cells in obese children. *Eur J Endocrinol*, 154(5):691-7.
- Palmer, E. (2003). Negative selection clearing out the bad apples from the T-cell repertoire. *Nat Rev Immunol*, 3(5):383-91.
- Pape, K.A., Catron, D.M., Itano, A.A., Jenkins, M.K. (2007). The humoral immune response is initiated in lymph nodes by B cells that acquire soluble antigen directly in the follicles. *Immunity*, 26(4):491-502.
- Park, H.G., Lee, Y.R., Jun, J.K., Lee, W.L. (2014). Exercise training is more effective than resveratrol supplementation on alleviation of inflammation in peritoneal macrophages of high fat diet mice. *J Exerc Nutrition Biochem*, 18(1):79-87.
- Plata Mdel, M., Williams, L., Seki, Y., Hartil, K., Kaur, H., Lin, C.L., Fiallo, A., Glenn, A.S., Katz, E.B., Fuloria, M., Charron, M.J., Vuguin, P.M. (2014). Critical periods of increased fetal vulnerability to a maternal high fat diet. *Reprod Biol Endocrinol*, 18;12:80.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)**

- Pillai, S., Cariappa, A. (2009). The follicular versus marginal zone B lymphocyte cell fate decision. *Nat Rev Immunol*, 9(11):767-77.
- Priceman, S.J., Kujawski, M., Shen, S., Cherryholmes, G.A., Lee, H., Zhang, C., Kruper, L., Mortimer, J., Jove, R., Riggs, A.D., Yu, H. (2013). Regulation of adipose tissue T cell subsets by Stat3 is crucial for diet induced obesity and insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci USA*. 6;110(32):13079-84.
- Robinson, L.E., Field, C.J. (1998). Dietary long-chain (n-3) fatty acids facilitate immune cell activation in sedentary, but not exercise-trained rats. *J Nutr*, 128(3):498-504.
- Rocha, V.Z., Folco, E.J., Sukhova, G., Shimizu, K., Gotsman, I., Vernon, A.H., Libby, P. (2008). Interferon-gamma, a Th1 cytokine, regulates fat inflammation: a role for adaptive immunity in obesity. *Circ Res*, 29;103(5):467-76.
- Romeo, G.R., Pae, M., Eberlé, D., Lee, J., Shoelson, S.E. (2013). Profilin-1 haploinsufficiency protects against obesity-associated glucose intolerance and preserves adipose tissue immune homeostasis. *Diabetes*, 62(11):3718-26.
- Roosendaal, R., Mempel, T.R., Pitcher, L.A., Gonzalez, S.F., Verschoor, A., Mebius, R.E., Von Andrian, U.H., Carroll, M.C., (2009). Conduits mediate transport of low-molecular-weight antigen to lymph node follicles. *Immunity*, 20;30(2):264-76.
- Sallusto, F., Lenig, D., Förster, R., Lipp, M., Lanzavecchia, A. (1999). Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. *Nature*, 14;401(6754):708-12.
- Samaan, M.C., Marcinko, K., Sikkema, S., Fullerton, M.D., Ziafazeli, T., Khan, M.I., Steinberg, G.R. (2014). Endurance interval training in obese mice reduces muscle inflammation and macrophage content independently of weight loss. *Physiol Rep*, 19;2(5).
- Sasaki, Y., Casola, S., Kutok, J.L., Rajewsky, K., Schmidt-Supprian, M. (2004). TNF family member B cell-activating factor (BAFF) receptor-dependent and independent roles for BAFF in B cell physiology. *J Immunol*, 15;173(4):2245-52.
- Sbarbati, A., Osculati, F., Silvagni, D., Benati, D., Galiè, M., Camoglio, F.S., Rigotti, G., Maffei, C. (2006). Obesity and inflammation: evidence for an elementary lesion. *Pediatrics*, 17(1):220-3.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)**

- Segovia, S.A., Vickers MH<sup>1</sup>, Gray C<sup>1</sup>, Reynolds CM<sup>1</sup>. (2014). Maternal obesity, inflammation, and developmental programming. *Biomed Res Int.*, 2014 :418975.
- Sen, S., Iyer, C., Klebenov, D., Histed, A., Aviles, J.A., Meydani, S.N. (2013). Obesity impairs cell mediated immunity during the second trimester of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 208(2):139.e1-8.
- Seyfried, F., Miras, A.D., Bueter, M., Prechtel, C.G., Spector, A.C., Le Roux, C.W. (2013). Effects of preoperative exposure to a high-fat versus a low-fat diet on ingestive behavior after gastric bypass surgery in rats. *Surg Endosc*, 27(11):4192-201.
- Shaikh, S.R., Haas, K.M., Beck, M.A., Teague, H. (2015). The effects of diet-induced obesity on B cell function. *Clin Exp Immunol*, 179(1):90-9.
- Shamshiev, A.T., Ampenberger, F., Ernst, B., Rohrer, L., Marsland, B.J., Kopf, M. (2007). Dislipidemia inhibits Toll-like receptor-induced activation of CD8 alpha-negative dendritic cells and protective Th1 type immunity. *J Exp Med*, 19;204(2):441-52.
- Shono, S., Habu, Y., Nakashima, M., Sato, A., Nakashima, H., Miyazaki, H., Kinoshita, M., Tsumatori, G., Shinomiya, N., Seki, S. (2011). The immunologic outcome of enhanced function of Mouse liver lymphocytes and Kupffer cells by high-fat and high-cholesterol diet. *Shock*, 36(5):484-93.
- Sjögren, K., Hellberg, N., Bohlooly-Y, M., Savendahl, L., Johansson, M.S., Berglindh, T., Bosaeus, I., Ohlsson, C. (2001). Body fat content can be predicted in vivo in mice using a modified dual-energy X-ray absorptiometry technique. *J Nutr.* , 131(11):2963-6.
- Smith, A.G., Sheridan, P.A., Harp, J.B., Beck, M.A. (2007). Diet-induced obese mice have increased mortality and altered immune responses when infected with influenza virüs. *J Nutr*, 137(5):1236-43.
- Sofroniew, M.V., MacMillan, F.M., Eckenstein, F., Schrell, U., Joh, T., Gähwiler, B.H., Dreifuss, J.J., Cuello, A.C. (1983). Immunohistochemical approaches to the study of neuroendocrine and related neurones. *Q J Exp Physiol*, 68(3):435-47.
- Soliman, A., De Sanctis, V., Elalaily, R. (2014). Nutrition and pubertal development. *Indian J Endocrinol Metab*, 18:S39-47.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)**

- Song, H., Cerny, J. (2003). Functional heterogeneity of marginal zone B cells revealed by their ability to generate both early antibody-forming cells and germinal centers with hypermutation and memory in response to a T-dependent antigen. *J Exp Med*, 15;198(12):1923-35.
- Souza, C.O., Teixeira, A.A., Lima, E.A., Batatinha, H.A., Gomes, L.M., Carvalho-Silva, M., Mota, I.T., Streck, E.L., Hirabara, S.M., Rosa Neto, J.C. (2014). Palmitoleic acid (n-7) attenuates the immunometabolic disturbances caused by a high fat diet independently of PPAR  $\alpha$ . *Mediators Inflamm*, 2014:582197.
- Spoto, B., Zoccali, C. (2013). Spleen IL-10, a key player in obesity-driven renal risk. *Nephrol Dial Transplant*, 28(5):1061-4.
- Stefanovic-Racic, M., Yang, X., Turner, M.S., Mantell, B.S., Stolz, D.B., Sumpter, T.L., Sipula, I.J., Dedousis, N., Scott, D.K., Morel, P.A., Thomson, A.W., O'Doherty, R.M. (2012). Dendritic cells promote macrophage infiltration and comprise a substantial proportion of obesity-associated increases in CD11c+ cells in adipose tissue and liver. *Diabetes*, 61(9):2330-9.
- Steiniger, B., Barth, P., Herbst, B., Hartnell, A., Crocker, P.R. (1997). The species-specific structure of microanatomical compartments in the human spleen: strongly sialoadhesin-positive macrophages occur in the perifollicular zone, but not in the marginal zone. *Immunology*, 92(2):307-16.
- Steiniger, B., Barth, P., Hellinger, A. (2001). The perifollicular and marginal zones of the human splenic white pulp: do fibroblasts guide lymphocyte immigration?. *Am J Pathol*, 159(2):501-12.
- Steinman, R.M. (2007). Dendritic cells: understanding immunogenicity. *Eur J Immunol*, 37: S53-60.
- Steinman, R.M. (2012). Decisions about dendritic cells: past, present, and future. *Annu Rev Immunol*, 30:1-22.
- Strandberg, L., Verdrengh, M., Enge, M., Andersson, N., Amu, S., Onnheim, K., Benrick, A., Brisslert, M., Bylund, J., Bokarewa, M., Nilsson, S., Jansson, J.O. (2009). Mice chronically fed high fat diet have increased mortality and disturbed immune response in sepsis. *PLoS One*, 28;4(10):e7605.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)**

- Strissel, K.J., DeFuria J, Shaul ME, Bennett G, Greenberg AS, Obin MS. (2010). T-cell recruitment and Th1 polarization in adipose tissue during diet-induced obesity in C57BL/6 mice. *Obesity (Silver Spring)*, 18(10):1918-25.
- Strodthoff, D., Lundberg, A.M., Agardh, H.E., Ketelhuth, D.F., Paulsson-Berne, G., Arner, P., Hansson, G.K., Gerdes, N. (2013). Lack of invariant natural killer T cells affects lipid metabolism in adipose tissue of diet-induced obese mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 33(6):1189-96.
- Subramanian, S., Turner, M.S., Ding, Y., Goodspeed, L., Wang, S., Buckner, J.H., O'Brien, K., Getz, G.S., Reardon, C.A., Chait, A. (2013). Increased levels of invariant natural killer T lymphocytes worsen metabolic abnormalities and atherosclerosis in obese mice. *J Lipid Res*,54(10):2831-41.
- Swindell, W.R., Johnston, A., Gudjonsson, J.E. (2010). Transcriptional Profiles of Leukocyte Populations Provide a Tool for Interpreting Gene Expression Patterns Associated with High Fat Diet in Mice. *PLoS One*, 29;5(7):e11861.
- Tarantino, G., Scalera, A., Finelli, C. (2013). Liver-spleen axis: intersection between immunity, infections and metabolism. *World J Gastroenterol*, 21;19(23):3534-42.
- Timens, W., Poppema, S. (1985). Lymphocyte compartments in human spleen. An immunohistologic study in normal spleens and uninvolved spleens in Hodgkin's disease. *Am J Pathol*, 120(3):443-54.
- Trottier, M.D., Naaz, A., Li, Y., Fraker, P.J. (2012). Enhancement of hematopoiesis and lymphopoiesis in diet induced obese mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 15;109(20):7622-9.
- Ulupinar, E., Yucel, F., Ortug, G. (2006). The effects of prenatal stress on the Purkinje cell neurogenesis. *Neurotoxicol Teratol*, 28(1):86-94.
- Varga, I., Galfiova, P., Adamkov, M., Danisovic, L., Polak, S., Kubikova, E., Galbavy, S. (2009). Congenital anomalies of the spleen from an embryological point of view. *Med Sci Monit*, 15(12):RA269-76.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)**

- Verwaerde, C., Delanoye, A., Macia, L., Tailleux, A., Wolowczuk, I. (2006). Influence of high-fat feeding on both naive and antigen-experienced T-cell immune response in DO10.11 mice. *Scand J Immunol*, 64(5):457-66.
- Vremec, D., Zorbas, M., Scollay, R., Saunders, D.J., Ardavin, C.F., Wu, L., Shortman, K. (1992). The surface phenotype of dendritic cells purified from mouse thymus and spleen: investigation of the CD8 expression by subpopulation of dendritic cells. *J Exp Med*, 1;176(1):47-58.
- Wajant, H., Pfizenmaier, K., Scheurich, P. (2003). Tumor necrosis factor signaling. *Cell Death Differentiation*, 10:45-65.
- Wali, J.A., Thomas, H.E., Sutherland, A.P. (2014). Linking obesity with type 2 diabetes: the role of T-bet. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 22;7:331-40.
- Wan, Y.Y., Flavell, R.D. (2009). How diverse- CD4 effector T cells and their functions. *J Mol Cell Biol*, 1:20-36.
- Wang, Y., Li, J., Tang, L., Wang, Y., Charnigo, R., De Villiers, W., Eckhardt, E. (2010). T- lymphocyte responses to intestinally absorbed antigens can contribute to adipose tissue inflammation and glucose intolerance during high fat feeding. *PLoS One*, 11;5(11):e13951.
- Wang, B., Sun, J., Li, X., Zhou, Q., Bai, J., Shi, Y., Le, G. (2013). Resveratrol prevents suppression of regulatory T-cell production, oxidative stress, and inflammation of mice prone or resistant to high-fat diet-induced obesity. *Nutr Res*, 33(11):971-81.
- Wardemann, H., Boehm, T., Dear, N., Carsetti, R. (2002). B-1a B cells that link the innate and adaptive immune responses are lacking in the absence of the spleen. *J Exp Med*, 18;195(6):771-80.
- Wasinski, F., Bacurau, R.F., Moraes, M.R., Haro, A.S., Moraes-Vieira, P.M., Estrela, G.R., Paredes-Gamero, E.J., Barros, C.C., Almeida, S.S., Câmara, N.O., Araujo, R.C. (2013). Exercise and caloric restriction alter the immune system of mice submitted to a high-fat diet. *Mediators Inflamm*, 2013:395672.
- Weibel, E.R., Hsia, C.C., Ochs, M. (2007). How much is there really? Why stereology is essential in lung morphometry. *J Appl Physiol (1985)*, 102(1):459-67.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)**

- Weisberg, S.P., McCann, D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R.L., Ferrante, A.W. Jr. (2003). Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest*, 112(12):1796-808.
- Weitman, E.S., Aschen, S.Z., Farias-Eisner, G., Albano, N., Cuzzone, D.A., Ghanta, S., Zampell, J.C., Thorek, D., Mehrara, B.J. (2013). Obesity impairs lymphatic fluid transport and dendritic cell migration to lymph nodes. *PLoS One*, 12;8(8):e70703.
- Winer, S., Chan, Y., Paltser, G., Truong, D., Tsui, H., Bahrami, J., Dorfman, R., Wang, Y., Zielenski, J., Mastronardi, F., Maezawa, Y., Drucker, D.J., Engleman, E., Winer, D., Dosch, H.M. (2009). Normalization of obesity-associated insulin resistance through immunotherapy. *Nat Med*, 15(8):921-9.
- Winer, D.A., Winer, S., Shen, L., Wadia, P.P., Yantha, J., Paltser, G., Tsui, H., Wu, P., Davidson, M.G., Alonso, M.N., Leong, H.X., Glassford, A., Caimol, M., Kenkel, J.A., Tedder, T.F., McLaughlin, T., Miklos, D.B., Dosch, H.M., Engleman, E.G. (2011). B cells promote insulin resistance through modulation of T cells and production of pathogenic IgG antibodies. *Nat Med*, 17(5):610-7.
- Wisniewski, J.R., Friedrich, A., Keller, T., Mann, M., Koepsell, H. (2015). The impact of high-fat diet on metabolism and immune defense in small intestine mucosa. *J Proteome Res*, 2;14(1):353-65.
- Wolf, D., Jehle, F., Ortiz Rodriguez, A., Dufner, B., Hoppe, N., Colberg, C., Lozhkin, A., Bassler, N., Rupprecht, B., Wiedemann, A., Hilgendorf, I., Stachon, P., Willecke, F., Febbraio, M., Von Zur Muhlen, C., Binder, C.J., Bode, C., Zirlik, A., Peter, K. (2012). CD40L deficiency attenuates diet-induced adipose tissue inflammation by impairing immune cell accumulation and production of pathogenic IgG antibodies. *PLoSOne*, 7(3):e33026.
- Wolf, D., Jehle, F., Michel, N.A., Bukosza, E.N., Rivera, J., Chen, Y.C., Hoppe, N., Dufner, B., Rodriguez, A.O., Colbergi, C., Nieto, L., Rupprecht, B., Wiedemann, A., Schulte, L., Peikert, A., Bassler, N., Lozhkin, A., Hergeth, S.P., Stachon, P., Hilgendorf, I., Willecke, F., Von Zur Mühlen, C., Von Elverfeldt, D., Binder, C.J., Aichele, P., Varo, N., Febbraio, M.A., Libby, P., Bode, C., Peter, K., Zirlik, A. (2014). Coinhibitory suppression of T cell activation by CD40 protects against obesity and adipose tissue inflammation in mice. *Circulation*, 10;129(23):2414-25.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)**

- Wu, L., Parekh, V.V., Gabriel, C.L., Bracy, D.P., Marks-Shulman, P.A., Tamboli, R.A., Kim, S., Mendez-Fernandez, Y.V., Besra, G.S., Lomenick, J.P., Williams, B., Wasserman, D.H., Van Kaer, L. (2012). Activation of invariant natural killer T cells by lipid excess promotes tissue inflammation, insulin resistance and hepatic steatosis in obese mice. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 8;109(19):E1143-52.
- Wu, L., Parekh, V.V., Hsiao, J., Kitamura, D., Van Kaer, L. (2014). Spleen supports a pool of innate like B cells in white adipose tissue that protects against obesity associated insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 28;111(43):E4638-47.
- Wykes, M., Pombo, A., Jenkins, C., MacPherson, G.G. (1998). Dendritic cells interact directly with naive B lymphocytes to transfer antigen and initiate class switching in a primary T-dependent response. *J Immuno.*, 1;161(3):1313-9.
- Wykes, M., MacPherson, G. (2000). Dendritic cell B cell interaction: dendritic cells provide B cells with CD40-independent proliferation signals and CD40-dependent survival signals. *Immunology*, 100(1):1-3.
- Yamazaki, S., Dudziak, D., Heidkamp, G.F., Fiorese, C., Bonito, A.J., Inaba, K., Nussenzweig, M.C., Steinman, R.M. (2008). CD8+ CD205+ splenic dendritic cells are specialized to induce Foxp3+ regulatory T cells. *J Immunol*, 15;181(10):6923-33.
- Yi, Z., Stunz, L.L., Bishop, G.A. (2014). CD40 mediated maintenance of immune homeostasis in the adipose tissue microenvironment. *Diabetes*, 63(8):2751-60.
- Zaldivar, F., McMurray, R.G., Nemet, D., Galassetti, P., Mills, P.J., Cooper, D.M. (2006). Body fat and circulating leukocytes in children. *Int J Obes (Lond)*, 30(6):906-11.
- Zhu, J., Paul, W.E. (2010). Peripheral CD4+ T-cell differentiation regulated by networks of cytokines and transcription factors. *Immunol Rev*, 238:47,247-62.
- Zhou, Q., Leeman, S.E., Amar, S. (2009). Signaling mechanisms involved in altered function of macrophages from diet-induced obese mice affect immune responses. *Proc Natl Acad Sci USA.* 30;106(26):10740-5.



## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)**

Zietara, N., Łyszkiewicz, M., Puchałka, J., Pei, G., Gutierrez, M.G., Lienenklaus, S., Hobeika, E., Reth, M., Martins Dos Santos, V.A., Krueger, A., Weiss, S. (2013). Immunglobulins drive terminal maturation of splenic dendritic cells. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 5;110(6):2282-7.

## 8- ÖZGEÇMİŞ

### Öğretim Görevlisi Fatma TOPAL

TC Kimlik No / Pasaport No:		25375592042			
Doğum Yılı:		1985			
Yazışma Adresi :		Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Gülümbe kampüsü		11230 Bilecik/Türkiye	
Telefon :		2282141111/1377			
E-posta :		fatmadedeoglu@hotmail.com			
<b>EGİTİM BİLGİLERİ</b>					
Ülke	Üniversite	Fakülte/Enstitü	Öğrenim Alanı	Derece	Mezuniyet Yılı
Türkiye	Atatürk	Sağlık Yüksekokulu	Hemşirelik	Lisans	2007
Türkiye	Erciyes	Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Anatomi	Yüksek Lisans	2010
<b>AKADEMİK DENEYİM</b>					
Kurum/Kuruluş	Ülke	Şehir	Bölüm/Birim	Görev Türü	
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi	Türkiye	Eskişehir	Temel Tıp Bilimleri/Anatomi	Araştırma Görevlisi	
Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi	Türkiye	Bilecik	Sağlık Hizmetleri MYO	Öğretim Görevlisi	

### YAYINLARI

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

Kabay S, Ozden H, Guven G, Burukoglu D, Ustuner MC, Topal F, Gunes HV, Ustuner D, Ozbayer C, Protective effects of the nuclear factor kappa B inhibitor pyrrolidine dithiocarbamate on experimental testicular torsion and detorsion injury, Korean J Physiol Pharmacol., 2014, 18(4):321-6.

#### Ulusal hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

Soztutar E, Topal F, Ulupınar E, Çevresel yetiştirme koşullarının prenatal strese maruz kalan sıçan beyinlerindeki hacimsel parametrelere etkileri, Osmangazi tıp dergisi 2012;34(3):46-57.

### **Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan poster bildiriler**

Topal F, Soztutar E, Yucel F, Ulupinar E, Gender Dependent Influences of Diverse Rearing Conditions on Cerebral Volumetric Parameters of Prenatally Stressed Rats'

Soztutar E, Topal F, Yucel F, Ulupinar E 'Effects Of Housing Conditions on the Hippocampal Volumes of Prenatally Stressed Rats.

Topal F, Unur E, Yılmaz S, Nalbant A, Investigation of Mineral Content of Malleus and Incus at Scanning Electron Microscopy.

Ortadeveci A, Topal F, Peker H, Aydar Y, Yücel F, Peker S, What happens in pancreas morphology of the mice fed with high fat diet?

### **Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan sözlü bildiriler**

Topal F, Aydar Y, Peker H, Yücel F, Ortadeveci A, Peker S, The effect of high fat diet on the adrenal gland morphology, İstanbul, 2015

Peker H, Topal F, Ortadeveci A, Yücel F, Aydar Y, Peker S, Morphologic changes in ovarium of mice fed with high fat diet, İstanbul, 2015

### **Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler**

Yılmaz S, Sofikerim M, Acer N, Nisari M, Yıldızlı ÖO, Dedeoğlu F, A case of intraabdominal undescended testis.

Şahin Kabay, Hilmi Özden, Gül Güven, Dilek Burukoğlu Dönmez, Mehmet Cengiz Üstüner, Fatma Topal, Hasan Veysi Güneş, Derya Üstüner, Cansu Özbayer, Deneysel Testis Torsiyonu Oluşturulan Ratlarda Testis Hasarı Üzerine Pyrrolidine Dithiocarbamate'in Etkisi.

### **Projeler**

Malleus ve incusun mineral içeriklerinin taramalı(scanning) elektron mikroskobunda incelenmesi, Erciyes Üniversitesi, B755 nolu BAP projesi, Araştırmacı.

### **Bilimsel Faaliyetler**

10th Congress of European Association of Clinical Anatomy, Eylül 2009, İstanbul

Deney Hayvanları Kursu, 20 Eylül-1 Ekim 2010, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir

Deneyisel ve Klinik Çalışmalarda Nörostereoloji Kursu, İstanbul Üniversitesi, Nisan 2011, İstanbul

Joint Meeting of Anatomical Societies, Mayıs 2011, Bursa

4th International Symposium of Clinical and Applied Anatomy, Haziran 2012, Ankara

14. Ulusal Anatomi Kongresi, Haziran 2012, Ankara

The XXIV International Symposium on Morphological Sciences, Eylül 2015, İstanbul

