

Sleeve Gastrektomi Uygulanmış Obezite Hastalarında Ghrelin, Obestatin, Leptin Ekspresyonları'nın Araştırılması

''Obezite ve Sleeve Gastrektomi ilişkisi''

Investigation of Ghrelin, Obestatin, Leptin Expressions in Obesity Patients Who Have Had Sleeve Gastrectomy

''Relationship between Obesity and Sleeve Gastrectomy''

 Zeynep AYVALI¹,  Birkan YAKAN²,  Kemal DENİZ¹,  Arzu YAY^{2,3}

¹ Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji AD, Kayseri

² Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji AD, Kayseri

³ Erciyes Üniversitesi, Betül Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Araştırma Merkezi, Kayseri

4

ÖZET

Amaç: Obezite, birçok hastalığın oluşmasına neden olduğu için tüm toplumu etkileyen önemli bir halk sağlığı problemi haline gelmiştir. Bu çalışmada, mideden salınan ghrelin, leptin ve obestatin hormonlarının ekspresyon oranı ile obezitenin diyabet ile olan ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod: Çalışmada, sleeve gastrektomi ameliyatı olmuş obez bireyler ile obezite dışı nedenlerle mide biyopsisi yapılmış toplam 126 bireyin mide dokuları ve hastaların klinik verileri incelendi. Histopatolojik değerlendirme için Hematoksilin & Eozin (H&E) boyama yöntemi kullanıldı. Mide dokusundaki ghrelin, leptin ve obestatin hormonlarının ekspresyon oranını belirlemek için immünohistokimya boyama yöntemi uygulandı. Ayrıca her iki gruptaki klinik bulgular incelendi. Çalışmadan elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bulgular: Obez bireylerde ghrelin ve obestatin seviyesi daha düşük iken leptin seviyesi yüksek bulundu. Ayrıca, ghrelin ve obestatin ekspresyonunun yaş ilerledikçe azaldığı gözlemlendi. Obez kadınlarda ghrelin ekspresyonunun daha yüksek olduğu, obez olmayan erkeklerde leptin ekspresyonunun daha yüksek olduğu ve obez erkeklerde obestatin ekspresyonunun daha düşük olduğu gösterildi. Ayrıca, çalışmamızda diyabetik obez bireylerde ghrelin seviyesi daha düşük iken leptin ve obestatin seviyelerinin daha yüksek olduğu gözlemlendi.

Sonuç: Ghrelin, leptin ve obestatin hormonlarının ekspresyon düzeylerinin obezite ve obeziteye bağlı diyabet oluşumunda etkili olabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Sleeve gastrektomi, mide hormonları, immünohistokimya

ABSTRACT

Background: Obesity has become an important public health problem that affects the whole society because it causes many diseases. In this study, it was aimed to investigate the expression rate of ghrelin, leptin and obestatin hormones released from the stomach and the relationship between obesity and diabetes.

Materials and Methods: In the study, gastric tissues and clinical data of patients with obesity who underwent sleeve gastrectomy and 126 patients who underwent gastric biopsy for non-obesity reasons were examined. Hematoxylin & Eosin staining method was used for the histopathological evaluation of the cases. To determine the expression rate of ghrelin, leptin and obestatin hormones in gastric tissue, immunohistochemistry staining method was applied. In addition, clinical findings in both groups were examined. The data obtained from the study were evaluated statistically.

Results: Ghrelin and obestatin levels were lower in obese individuals, while leptin levels were higher. In addition, it was observed that the expression of ghrelin and obestatin decreased with increasing age. It was shown that ghrelin expression is higher in obese women, leptin expression is higher in non-obese men, and obestatin expression is lower in obese men. In addition, in our study, while ghrelin levels were lower in diabetic obese individuals, leptin and obestatin levels were higher.

Conclusions: As a result, it was concluded that the expression levels of ghrelin, leptin and obestatin hormones may be effective in the formation of obesity and obesity-related diabetes.

Keywords: Gastric sleeve surgery, stomach hormones, immunohistochemistry

GİRİŞ

Obezite ve obeziteye bağlı gelişen hastalıklar hızla artan önemli bir sağlık problemi haline gelmiştir.¹ Obez bireyler; aşırı kilonun ötesinde, aşırı kiloya bağlı gelişen, sağlığı bozan ve yaşam süresini kısaltan tip 2 diabetes mellitus, dislipidemi ve hipertansiyon gibi bir dizi rahatsızlık sergilerler.² Morbid obezite (BKİ; Beden Kitle Endeksi= $\geq 35 \text{KG/m}^2$) tanısı alan dört bireyden üçü, obezite ile ilgili birçok hastalığın nedeni olan insülin direnci gösterirler.³

Diyet, ilaç, egzersiz gibi yöntemlerle yapılan her başarısız sonuç obez bireyin psikolojisini olumsuz etkilediği gibi her seferinde verilen kiloların artarak yeniden alınması da metabolizmanın zarar görmesine neden olmaktadır. Obezite nedeniyle oluşan sorunların ortadan kalkmasını veya obezite ile ilişkili yeni sorunların oluşmasını önlemek için kullanılan cerrahi tedavi oldukça başarılı sonuçlar vermiştir.⁴ Bariatrik cerrahi şu anda obez bireylerde kilo kaybını teşvik etmek ve sürdürmek için en etkili yöntemdir. Laparoskopik sleeve gastrektomi (LSG) ameliyatı, midenin yaklaşık %80'inin çıkarıldığı ve kalan midenin yemek borusunu ince bağırsağa bağlayan bir kılıf oluşturduğu yaygın bir cerrahidir.⁵

Midede üretilen bir hormon olan ghrelin, oreksijenik özellikler sergiler ve son zamanlarda potansiyel bir anti-obezite terapötik hedefi olarak büyük ilgi görmüştür.⁶ Bazı araştırmalarda ghrelinin besin alımı davranışına olan etkilerini anlamak için, kemirgen hayvanlara periferik ya da merkezi olarak ghrelin verilerek besin alımında ve vücut ağırlığında artışa sebep olduğu bildirilmektedir.⁷ Sıçanlarda yapılan birçok çalışmada ghrelinin besin alımının düzenlenmesinde görev alan bir hormon olduğu ve sıçanlara obestatin enjekte edilmesiyle ghreline zıt olarak iştah azaltıcı etkilerinin olduğu gösterilmiştir; ancak ghrelinin aksine obestatin büyüme hormonuna etki etmemiştir.⁸ Sonraki yıllarda yapılan araştırmalara göre obestatinin kısa süreli gıda alımına ve vücut ağırlığında artışa neden olmadığı; gıda alımının kısa süreli hormonal düzenlenmesinde ghrelin ile kolesistokinin rol alırken; uzun süreli hormonal düzenlenmesinde ise insülin, Peptide YY (PYY) ve leptin rol aldığı. leptin noksanlığının ise obezite ile sonuçlandığı günümüzde onaylanmış bir gerçektir.⁹ Bu çalışmada, vücut ağırlığının belirlenmesi üzerine etkili oldukları düşünülen ghrelin, obestatin ve leptin hormonlarının obeziteye olan etkisini histokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemle araştırarak, bu hormonların midedeki ekspresyon oranlarının obez ve obez olmayan bireyler arasında anlamlı bir fark oluşturup oluşturmadığı incelendi. Çalışmamızda, kontrol ve çalışma grubundaki bireylerin glukoz değerleri belirlendi ve diyabet hastası olanların glukoz değerlerinin bu antikorlarla olan ilişkisi ayrıca; yaş ve cinsiyet faktörlerine göre bu antikorlarla olan ilişkisi incelendi. Bu yolla günümüzde önemli bir problem oluşturan obezite için daha moleküler bir yaklaşım modeli geliştirmek ve elde edilen veriler ile literatüre katkı sağlanması amaçlandı.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışma 2018/70 nolu etik kurul onayı alındıktan sonra yapıldı. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalında 2014-2018 yılları arasında morbid obezite (BKİ;Beden Kitle Endeksi= $\geq 35\text{KG/m}^2$) tanısı ile sleeve gastrektomi uygulanan 63 bireyin (55 kadın, 8 erkek) mide rezeksiyon materyallerine ait parafin bloklardan alınan dokuları ile obezite dışı nedenlerle mide biyopsisi yapılmış ve normal mide biyopsisi tanısı almış 63 bireyin (40 kadın, 23 erkek) parafin bloklarından alınan dokular (Erciyes Üniversitesi Patoloji Arşivin'nden temin edildi) kullanıldı. Çalışma ve kontrol grubu bireylerin yaş, cinsiyet, ve diyabet varlığı gibi verileri bireylere ait klinik dosyalarından temin edildi.

Çalışma ve Kontrol Grubuna Ait Bireylerin Belirlenmesi

Çalışma grubuna Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalında 2014-2018 yılları arasında morbid obezite (BKİ; Beden Kitle Endeksi= $\geq 35\text{KG/m}^2$) tanısı ile sleeve gastrektomi uygulanan bireylerin tamamı dahil edildi. Bu bireylerin 55'i kadın 8'i erkeklerden oluşmaktadır.

Kontrol grubuna Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde obezite dışı nedenlerle mide biyopsisi yapılmış ve normal mide biyopsisi tanısı almış 63 birey dahil edildi. Bu bireylerin 40'ı kadın 23'ü erkeklerden oluşmaktadır.

Histokimyasal İnceleme

Mide dokusuna ait olan parafin bloklardan mikrotom (Leica RM2245) cihazı ile lamaların üzerine 5µm kalınlığında kesitler alındı. Hazırlanan kesitlere doku morfolojisinin gözlenmesi için Hematoksilin & Eozin (H&E) boyama metodu uygulandı. H&E ile boyanan kesitler dehidratasyon ve şeffaflandırma işlemi sonrasında entellan damlatılarak lamelle kapatıldı. Hazırlanan preparatlar bir ışık mikroskobu (Olympus BX51, Tokyo) altında incelendi.

İmmünohistokimyasal İnceleme

Çalışma ve kontrol grubundaki bireylere ait parafin bloklardan ghrelin, leptin ve obestatin'in immünohistokimyasal incelemesi için 5µm kalınlığında kesitler hazırlandı. Pozitif yüklü Poli-L-lizini lamalara alınan doku örnekleri ilk deparafinizasyon işlemi için bir gece 37°C'lik etüvde bekletildi. Daha sonra kesitlerin immünohistokimyasal olarak boyanması antijen retrieval dahil tüm boyama basamaklarını sabit ısı ve koşullarda gerçekleştiren tam otomatik immünohistokimya cihazında (VENTANA Benchmark/Ultra, Ventana Medical Systems, ABD) gerçekleştirildi. Kesitlere primer antikör olarak ghrelin monoklonal antikoru (Abcam Anti-Ghrelin antibody EPR20502 ab209790, Dilüsyon oranı: 1/100), leptin monoklonal antikoru (Abcam Anti-Leptin antibody ab16227, Dilüsyon

oranı: 1/800) ve obestatin monoklonal antikoru (Abcam Anti-Obestatin antibody EPR19972 ab216575, Dilüsyon oranı: 1/2000) damlatılarak hedeflenen proteinler görünür hale getirildi. Kesitler yıkandıktan sonra artan oranlarda alkol solüsyonlarından geçirilerek rehidrate edildi. Havada kurutulan kesitler 15 dakika ksilende tutulup entellan ile kapatıldı.¹⁰Ghrelin, leptin ve obestatin'in değerlendirmesi için ışık mikroskobunda farklı büyütmelelerde incelendi.

Ghrelin ve leptin'in immünreaktivitesinin değerlendirilmesi, yoğunluk skoru (intensity score) ile yarı nicel olarak yapıldı. ¹¹Ghrelin ve leptin immünreaktivitesinin değerlendirilmesi için, mide mukozasının yüzeyinden lamina muskularis mukozaya kadar mukozayı tam kat içeren bölgede en az beş farklı alanda ghrelin ve leptin immünreaktif hücrelerin dokudaki yaygınlığı ve boyanma şiddeti zayıf:1, hafif:2 ve kuvvetli:3 olarak skorlandı. Her vakanın boyanma şiddeti ve yaygınlık dereceleri toplanarak boyanma yoğunluğu hesaplandı. Boyanma yoğunluğu 1 ve 2 olanlar negatif, 3 olanlar zayıf pozitif, 4 ve üzeri olanlar pozitif kabul edildi ve her vakada ortalama ghrelin, leptin immünreaktif hücrelerin boyanma oranı belirlendi.

Obestatin ekspresyonunun değerlendirilmesi ise mide mukozasının yüzeyinden lamina muskularisten mukozaya kadar mukozayı tam kat içeren ve rastgele 5 farklı alanda obestatin immünreaktif hücreler sayılarak yapıldı. ¹² Obestatin için nükleer boyanmalar esas alındı. Pozitif hücreleri sayma işlemi ışık mikroskobunda yapıldı. Obestatin immünpozitif hücre sayısı 0-4 arası olanlar negatif, 5-9 arası olanlar zayıf pozitif, 10 ve üzeri olanlar pozitif kabul edildi ve her vakada ortalama obestatin immünreaktif boyanma oranı belirlendi.

Glukoz Düzeylerinin Belirlenmesi

Her iki gruptaki bireylerin dosyaları incelenerek glukoz düzeyleri belirlendi. Obez bireylerin ameliyat öncesi glukoz değerlerinin ortalaması ve ameliyat sonrası glukoz değerlerinin ortalaması alınarak glukoz düzeyleri hesaplandı. Belirlenen ortalama glukoz düzeyleri ile ghrelin, leptin ve obestatin hormonları arasındaki ilişki değerlendirildi.

Yaş ve Cinsiyete Ait Verilerin Belirlenmesi

Yaş ve cinsiyete ait bilgiler bireylerin dosyalarından elde edildi. Çalışma ve kontrol grubundaki bireylerin yaş ve cinsiyeti ile ghrelin, leptin ve obestatin hormonları arasındaki ilişki karşılaştırıldı.

İstatistiksel Analiz

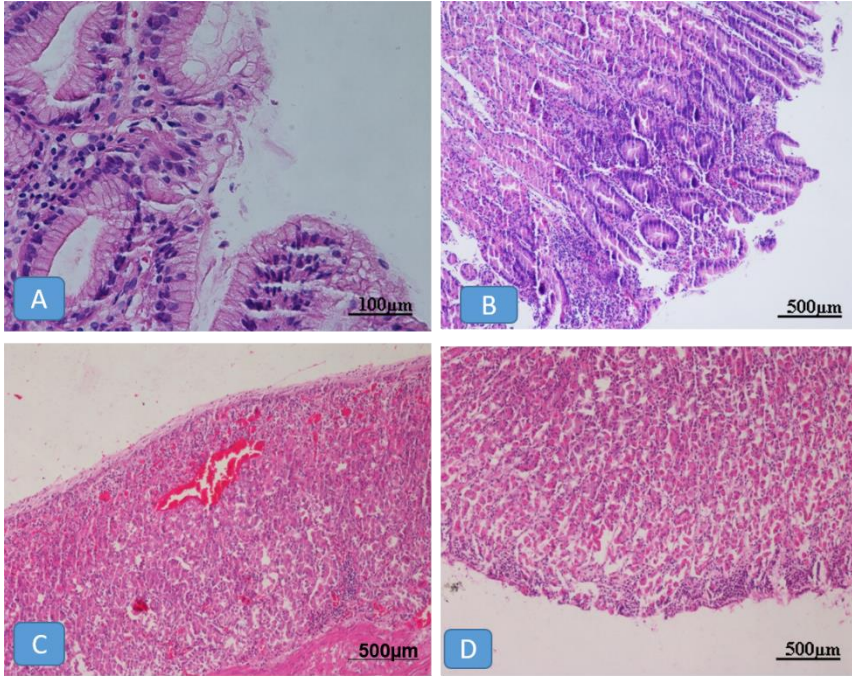
İstatistiksel analiz SPSS 21.0 paket programı ile yapıldı. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri ile değerlendirildi. Gruplar arası sürekli değişkenlerin karşılaştırmalarında Wilcoxon ve Mann-Whitney-U testleri kullanıldı. Tüm ölçümler

“ortalama \pm standart hata” olarak gösterilmiştir. Sürekli olmayan değişkenler Ki-kare testi kullanılarak değerlendirildi. Korelasyonlar Pearson korelasyon analizi kullanılarak hesaplandı. $p < 0.05$ anlamlılık düzeyi esas alındı.

BULGULAR

Histopatolojik Bulgular

Çalışmada, morbid obezite nedeniyle sleeve gastrektomi yapılmış 63 birey çalışma grubu olarak ve obezite dışı nedenlerle mide biyopsisi olan ve normal mide biyopsisi tanısı alan 63 birey ise kontrol grubu olarak kullanıldı. Çalışma grubunda H&E boyama sonrasında incelenen bireylerin 12’sinin (%19.04) mide mukozası atrofiye uğramış, incelmış ve inflamatuvar hücrelerde artış olmuş yüzeyal helicobakter pylori gastriti (Şekil I A) görülmüştür. Bireylerin 3’ünün (%4,76) mide mukozası atrofiye uğramış, incelmış ve inflamatuvar hücrelerde artış olmuş yüzeyal gastrit (Şekil I B) görülmüştür. Bireylerin 1’inin (%1.58) mide mukozasının yüzeyinde ve altında genişlemiş ve şişmiş kırmızı renkte kan damarları oluşmuş konjesyon kanama (Şekil I C) görülmüştür. Bireylerin 47’si (%74.60) sleeve gastrektomi materyali olarak değerlendirildi (Tablo I).



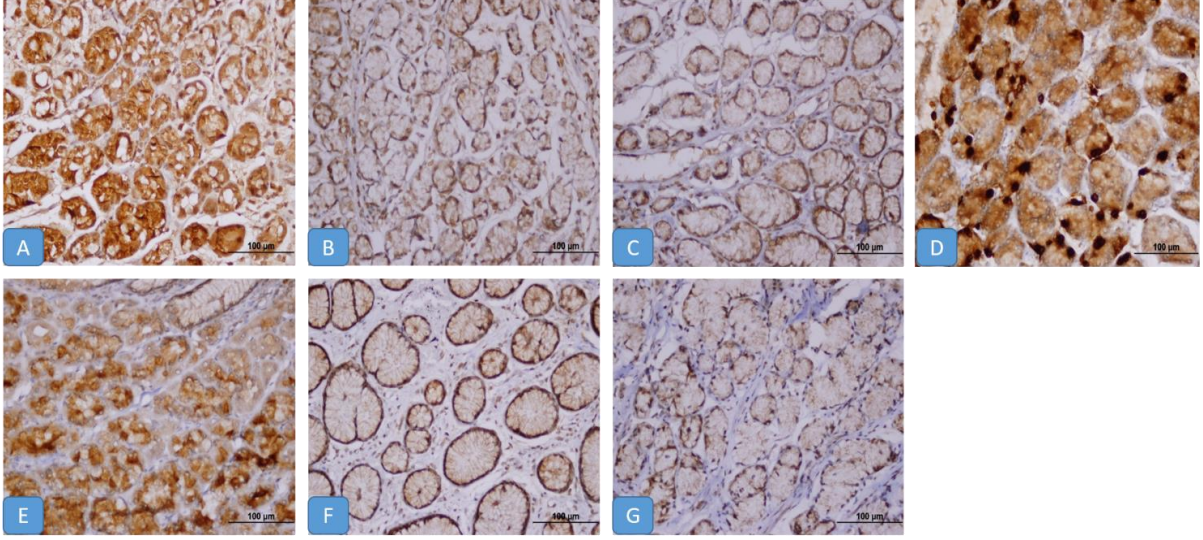
Şekil I. Çalışma grubundaki bireylere ait H&E boyama görüntüleri. A- Yüzeyal Helicobakter Pylori Gastrit, B- Yüzeyal Gastrit, C- Konjesyon kanama, D- Sleeve gastrektomi materyali görüntüsü.

Tablo I: Çalışma grubuna ait histopatolojik bulgular

Histopatolojik Bulgular	Hasta sayısı	Yüzdesi (%)
Yüzeyel Helicobakter Pylori Gastriti	12	%19.04
Yüzeyel Gastrit	3	%4.76
Konjesyon Kanama	1	%1.58
Sleeve Gastrektomi Materyali	47	%74.60

İmmünohistokimyasal Bulgular

Çalışma ve kontrol grubundaki bireylerin immünohistokimyasal boyama sonuçlarına göre mikroskopik olarak ghrelin, leptin ve obestatinin farklı ekspresyon görüntüleri Şekil II'de gösterilmiştir. Ghrelin salgılayan hücrelerin ghrelin immünopozitif reaksiyonu granülerdi ve glandüler hücrelerin hücre çekirdeğinde ve paranükleer sitoplazmasında yoğun koyu kahverengi şekilde görüntülendi (**Şekil II A**). Ghrelin salgılayan hücrelerin ghrelin immünopozitif reaksiyonu granülerdi ve glandüler hücrelerin hücre çekirdeğinde ve paranükleer sitoplazmasında açık kahverengi şekilde görüntülendi (**Şekil II B**). Ghrelin salgılayan hücrelerin ghrelin immünopozitif reaksiyonu granülerdi ve hem glandüler hem de yüzey epitel hücrelerinin hücre çekirdeğinde ve paranükleer sitoplazmasında soluk kahverengi şekilde görüntülendi (**Şekil II C**). Obestatin salgılayan hücrelerin obestatin immünopozitif reaksiyonu granülerdi ve glandüler hücrelerin hücre çekirdeğinde yoğun koyu kahverengi ve paranükleer sitoplazmasında kahverengi şekilde görüntülendi (**Şekil II D**). Leptin salgılayan hücrelerin leptin immünopozitif reaksiyonu granülerdi ve glandüler hücrelerin hücre çekirdeğinde ve paranükleer sitoplazmasında yoğun koyu kahverengi şekilde görüntülendi (Şekil II). Leptin salgılayan hücrelerin leptin immünopozitif reaksiyonu granülerdi ve glandüler hücrelerin hücre çekirdeğinde ve paranükleer sitoplazmasında açık kahverengi şekilde görüntülendi (**Şekil II F**). Leptin salgılayan hücrelerin leptin immünopozitif reaksiyonu granülerdi ve hem glandüler hem de yüzey epitel hücrelerinin hücre çekirdeğinde ve paranükleer sitoplazmasında soluk kahverengi şekilde görüntülendi (**Şekil II G**).



Şekil II. Mide dokusundaki ghrelin, leptin ve obestatin ekspresyonunun immunohistokimyasal boyanma görüntüleri. A- Pozitif ghrelin boyaması B- Zayıf pozitif ghrelin boyaması, C- Negatif grelin boyaması, D- Pozitif boyanan Obestatin hücre görüntüsü, E- Pozitif leptin boyaması, F- zayıf pozitif leptin boyaması, G- Negatif leptin boyanma görüntüsü X40.

Hasta dosyalarından elde edilen veriler ile dokulardaki ghrelin, leptin ve obestatin ekspresyon düzeyleri belirlendi ve veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldı (**Tablo II**).

Çalışma grubunun yaş ortalaması kontrol grubundan yüksek idi ($p=0.008$) (**Tablo V**). Çalışma grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek oranda kadın ve daha az oranda erkek bulunmaktaydı ($p=0.002$) (**Tablo II**). Çalışma grubundaki bireylerde diyabet varlığı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha fazlaydı ($p<0.001$) (**Tablo II**). Kontrol grubunda çalışma grubuna göre ghrelin ekspresyonunun daha fazla pozitif olduğu istatistiksel olarak gözlemlendi ($p<0.001$) (**Tablo II**). Leptin yaygınlığı ve şiddeti çalışma grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde fazla idi (sırasıyla $p=0.001$ ve $p<0.001$) (**Tablo II**). İstatistiksel olarak çalışma grubunda kontrol grubuna göre leptin ekspresyonunda daha fazla pozitif immunreaktivite gözlemlendi ($p<0.001$) (**Tablo II**). Obestatin pozitif hücre sayısı çalışma grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşüktü ($p<0.001$) (**Tablo II**). Obestatin hücre ekspresyonu, çalışma grubunda kontrol grubuna göre daha fazla negatif hücre olduğu gözlemlendi ($p<0.001$) (**Tablo II**).

Tablo II. Kontrol ve çalışma grubundaki bireylerin demografik ve laboratuvar bulguların

Parametre	Kontrol grubu	Çalışma grubu	p
Yaş	44.43±2.44	36.38±1.42	0.008
Cinsiyet, n (%)			
Kadın	40 (63.5)	55 (87.3)	0.002
Erkek	23 (36.5)	8 (12.7)	
Diyabet varlığı, n (%)			<0.001
Yok	56 (88.9)	21 (33.3)	0.618
Var	7 (11.1)	42 (66.7)	0.913
Ghrelin yaygınlığı	1.81±0.07	1.86±0.08	
Ghrelin şiddeti	1.70±0.08	1.71±0.10	<0.001
Ghrelin ekspresyonu, n (%)			0.001
Negatif	13 (20.6)	4 (6.3)	<0.001
Zayıf pozitif	13 (20.6)	37 (58.7)	
Pozitif	37 (58.7)	22 (34.9)	<0.001
Leptin yaygınlığı	1.71±0.07	2.02±0.05	<0.001
Leptin şiddeti	1.73±0.07	2.32±0.08	
Leptin ekspresyonu, n (%)			<0.001
Negatif	9 (14.3)	2 (3.2)	
Zayıf pozitif	24 (38.1)	6 (9.5)	
Pozitif	30 (47.6)	55 (57.3)	
Obestatin (+) hücre sayısı	8.70±0.48	4.84±0.29	
Obestatin (+) hücre ekspresyonu, n (%)			
Negatif	5 (7.9)	27 (42.9)	
Zayıf pozitif	33 (52.4)	33 (52.4)	
Pozitif	25 (39.7)	3 (4.8)	

Ayrıca kontrol ve çalışma grubundaki diyabetik bireylerin ghrelin, leptin ve obestatin değerlerinin istatistiksel kıyaslaması Tablo III'de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Ghrelin ekspresyonunun çalışma grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek oranda pozitiflik gösterdiği görüldü ($p=0.003$) (**Tablo III**). Ayrıca leptin ekspresyonunun çalışma grubunda daha yüksek oranda pozitiflik gösterdiği saptandı ($p=0.004$) (**Tablo III**). Obestatin pozitif hücre sayısının kontrol grubunda çalışma grubuna göre daha fazla olduğu bulundu ($p=0.001$) (**Tablo III**). Obestatin pozitif hücre ekspresyonunun çalışma grubunda daha yüksek oranda negatiflik ve zayıf pozitiflik, daha düşük oranda pozitiflik gösterdiği bulundu ($p=0.012$) (**Tablo III**).

Tablo III. Kontrol ve çalışma grubundaki diyabetik bireylerin ghrelin, leptin ve obestatin özellikleri

Parametre	Kontrol grubu	Çalışma grubu	p
Ghrelin yaygınlığı	1.71±0.29	1.83±0.11	0.644
Ghrelin şiddeti	1.57±0.20	1.67±0.12	0.878
Ghrelin ekspresyonu, n (%)			
Negatif	3 (42.9)	3 (7.1)	0.003
Zayıf pozitif	-	26 (61.9)	0.318
Pozitif	4 (57.1)	13 (31.0)	0.009
Leptin yaygınlığı	1.71±0.29	1.98±0.06	
Leptin şiddeti	1.57±0.20	2.36±1.00	0.004
Leptin ekspresyonu, n (%)			0.001
Negatif	2 (28.6)	1 (2.4)	
Zayıf pozitif	2 (28.6)	3 (7.1)	0.012
Pozitif	3 (42.9)	38 (90.5)	
Obestatin (+) hücre sayısı	8.29±1.43	4.57±0.37	
Obestatin (+) hücre ekspresyonu, n (%)			
Negatif			
Zayıf pozitif	-	22 (52.4)	
Pozitif	5 (71.4)	18 (42.9)	
	2 (28.6)	2 (4.8)	

Çalışma grubundaki obez kişilerin operasyon öncesi ve sonrası glukoz değerleri istatistiksel olarak değerlendirildi (Tablo IV). Çalışma grubundaki kişilerin operasyon sonrası glukoz değerleri operasyon öncesine göre anlamlı olarak düşüktü ($p<0.001$) (Tablo IV).

Tablo IV. Çalışma grubundaki obez bireylerin operasyon öncesi ve sonrası glukoz değerleri

Glukoz değerleri	Ortalama	Standart hata	p
Operasyon öncesi	133.78	6.42	<0.001
Operasyon sonrası	89.40	2.70	

Çalışma Grubundaki Bireylerin Verilerinin Yaşa Göre Korelasyonu

Çalışma grubundaki bireylerin verilerinin yaşa göre korelasyon bulguları incelendiğinde bireylerin yaş aralığı 18 ile 61 idi. Çalışma grubunun yaş ortalamaları 36.38 ± 1.42 obez olmayan bireylerin yaş ortalamaları 44.43 ± 2.44 idi. Çalışma grubundaki bireylerin verilerinin yaşa göre korelasyonları Tablo V’te ayrıntılı olarak verildi.

Çalışma grubundaki bireylerde yaş ile ghrelin yaygınlığı ve obestatin pozitif hücre sayısı arasında negatif yönde, orta kuvvete bir korelasyon bulunmaktaydı (sırasıyla $R=-0.333$, $p=0.008$ ve $R=-0.373$, $p=0.003$) (**Tablo V**). Çalışma grubundaki bireylerde yaş ile obestatin pozitif hücre ekspresyonu arasında ise negatif yönde, zayıf kuvvete bir korelasyon bulunmaktaydı ($R=-0.264$, $p=0.037$) (**Tablo V**). Çalışma grubundaki bireylerde yaş ile operasyon öncesi ve sonrası glukoz düzeyleri arasında pozitif yönde, orta kuvvete bir korelasyon bulunmaktaydı (sırasıyla $R=0.426$, $p<0.001$ ve $R=0.367$, $p=0.003$) (**Tablo V**).

Tablo V. Çalışma grubundaki bireylerin verilerinin yaşa göre korelasyonları

Parametre	R	p
Ghrelin yaygınlığı	-0.333	0.008
Obestatin (+) hücre sayısı	-0.373	0.003
Obestatin (+) hücre ekspresyonu	-0.264	0.037
Operasyon öncesi glukoz	0.426	<0.001
Operasyon sonrası glukoz	0.367	0.003

Kontrol Grubundaki Bireylerin Cinsiyete Göre Demografik ve Laboratuvar Bulguları

Kontrol ve çalışma grubuna ait bireylerin cinsiyete göre demografik ve laboratuvar özellikleri Tablo VI ve Tablo VII’de ayrıntılı olarak verildi. Kontrol grubundaki bireylerde erkeklerin leptin yaygınlık değerleri kadınlara göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p=0.047$) (**Tablo VI**).

Tablo VI. Kontrol grubundaki bireylerin cinsiyete göre demografik ve laboratuvar bulguları

Parametre	Kadın	Erkek	p
Yaş	42.20±3.03	48.30±4.06	0.307
Glukoz	94.95±2.47	96.30±2.03	0.364
Diyabet varlığı, n (%)			
Yok	37 (92.5)	19 (82.6)	0.229
Var	3 (7.5)	4 (17.4)	0.241
Ghrelin yaygınlığı	1.75±0.09	1.91±0.11	0.303
Ghrelin şiddeti	1.65±0.11	1.78±0.11	
Ghrelin ekspresyonu, n (%)			0.383
Negatif	10 (25.0)	3 (13.0)	0.047
Zayıf pozitif	9 (22.5)	4 (17.4)	0.246
Pozitif	21 (52.5)	16 (69.6)	
Leptin yaygınlığı	1.60±0.09	1.91±0.12	0.330
Leptin şiddeti	1.80±1.00	1.61±0.10	0.147
Leptin ekspresyonu, n (%)			
Negatif	5 (12.5)	4 (17.4)	0.240

Zayıf pozitif	18 (45.0)	6 (26.1)	
Pozitif	17 (42.5)	13 (56.5)	
Obestatin (+) hücre sayısı	9.08±0.59	8.04±0.80	
Obestatin (+) hücre ekspresyonu, n (%)			
Negatif	3 (7.5)	2 (8.7)	
Zayıf pozitif	18 (45.0)	15 (65.2)	
Pozitif	19 (47.5)	6 (26.1)	

Çalışma grubundaki bireylerde erkeklerin obestatin pozitif hücre sayısı kadınlardan istatistiksel olarak daha azdı ($p=0.019$) (**Tablo VII**). Çalışma grubundaki erkeklerde obestatin pozitif hücre sayısı kadınlara göre daha fazla negatif ve daha az zayıf pozitif olduğu gözlemlendi ($p=0.024$) (**Tablo VII**).

Tablo VII. Çalışma grubundaki bireylerin cinsiyete göre demografik ve laboratuvar bulguları

Parametre	Kadın	Erkek	p
Yaş	36.76±1.57	33.75±2.87	0.502
Operasyon öncesi glukoz	131.04±6.55	152.63±23.19	0.121
Operasyon sonrası glukoz	89.58±3.07	88.13±3.04	0.992
Diyabet varlığı, n (%)			0.181
Yok	20 (36.4)	1 (12.5)	0.905
Var	35 (63.6)	7 (87.5)	0.374
Ghrelin yaygınlığı	1.85±0.09	1.88±0.13	0.534
Ghrelin şiddeti	1.75±0.11	1.50±0.27	0.435
Ghrelin ekspresyonu, n (%)			0.339
Negatif	4 (7.3)	-	0.829
Zayıf pozitif	31 (56.4)	6 (75.0)	0.019
Pozitif	20 (36.4)	2 (25.0)	
Leptin yaygınlığı	2.00±0.06	2.13±0.13	0.024
Leptin şiddeti	2.35±0.09	2.13±0.23	
Leptin ekspresyonu, n (%)			
Negatif	2 (3.6)	-	
Zayıf pozitif	5 (9.1)	1 (12.5)	
Pozitif	48 (87.3)	7 (87.5)	
Obestatin (+) hücre sayısı	5.07±0.31	3.25±0.41	
Obestatin (+) hücre ekspresyonu, n (%)			
Negatif			
Zayıf pozitif	20 (36.4)	7 (87.5)	
Pozitif	32 (58.2)	1 (12.5)	
	3 (5.5)	-	

TARTIŞMA

Yağ dokusunun, sağlıkla ilgili olumsuz sonuçlara yol açacak ölçüde artması olarak tanımlanan obezite, gelişmiş toplumlarda en sık görülen sağlık sorunlarından biridir.¹³ Bu nedenle, obezitenin önlenmesi, tedavisi ve obezite ile ilişkili hastalıkların erken tanınması oldukça önem kazanmıştır. Uzun zamandan beri tıp dünyasının ilgisini çeken bu hastalığın tedavisi için medikal tedavi, egzersiz ve diyet ile istenilen başarının elde edilememesi, araştırmacıları farklı çözüm arayışına sevk etmiştir ve morbid obezitenin tedavisinde cerrahi tedavi gündeme gelmiştir. Cerrahi müdahaleler ile birlikte obezitenin kaynağı olabileceği düşünülen hormon ve mediatörleri de güncel çalışmaların odağı haline getirmiştir.¹⁴

Laparoskopik sleeve gastrektomi (LSG) obezite cerrahisinde son yıllarda artan oranda kullanılmakla birlikte, kilo kaybı ve metabolik fayda için uzun vadeli etkinliği belirsizliğini korumaktadır.¹⁵ Obezite cerrahisi sadece malabsorpsiyona, mekanik kısıtlamaya değil, aynı zamanda daha az açlığa veya postprandial olarak daha erken tokluğa yol açan hormonal değişikliklere de neden olabilir.¹⁶ Obezite ameliyatları sonrası oluşan serum ghrelin, leptin, insülin vb. hormonal değişikliklerin kilo kaybı mekanizmasında etkili olduğu düşünülmektedir.¹⁵ Son yıllarda peptid yapılı hormonların obezite üzerine pozitif veya negatif etkileri tam olarak aydınlatılamamıştır .

Ghrelin, Kojima ve arkadaşları¹⁷ tarafından GHS-R endojen ligandı olarak farelerin midesinde gösterilmiştir. Dolaşımda bulunan ghrelin esas olarak midenin oksintik bezlerindeki endokrin fonksiyonlara sahip X/A hücreleri tarafından sentezlenmektedir. Ghrelin pozitif hücreler kapillerlere yakın yerleşim gösterir ve oksintik bez lümeni ile bağlantı kurmazlar. Oksintik bez lümeni ile bağlantısının olmaması sekresyonun gastrointestinal kanala değil de sistemik dolaşıma olduğunu gösterir.

Ghrelinin, iştah artıcı özelliğinin yanı sıra enerji homeostazı, uyku düzenlemesi, glukoz ve lipid regülasyonu, kardiyovasküler fonksiyonun düzenlenmesi ve midede ülserle karşı korumada da görevleri vardır.¹⁸ Ghrelin hormonunun sleeve gastrektomi sonrası oluşan kilo kaybına etkisi ise hala belirsizliğini korumaktadır.¹⁹ Sleeve gastrektomi tedavisinde ghrelin salgılayan gastrik fundusun çıkarılmasıyla ghrelin seviyesi düşmekte ve postprandial ghrelin baskılanmasını sağlanabilmektedir.²⁰ Diyetler ve diyete bağlı kilo kaybı, kandaki ghrelin seviyesinin artmasıyla ilişkilendirilmiştir, bu da diyetlerin yüksek başarısızlık oranlarını potansiyel olarak açıklayabilir.²¹ Ghrelin sekresyonunu büyüme hormonu pozitif yönde etkiler bu sebeple, genç bireylerdeki plazma ghrelin oranı yaşlı bireylere göre daha yüksek bulunmuştur.²² Bizim çalışmamızda da çalışma grubundaki hastalarda yaş ile ghrelin yaygınlığı ve obestatin pozitif hücre sayısı arasında negatif yönde, orta kuvvete bir korelasyon bulunmaktaydı.

Anoreksik bireylerde tüm ghrelin ile ilişkili peptidler (asil/unasil ghrelin ve obestatin) ve glikoz seviyeleri yükselirken, plazma insülin seviyeleri düşük kalır.²³ Bizim çalışmamızda diyabetik bireylerde

Obestatin pozitif hücre sayısının kontrol grubunda çalışma grubuna göre daha fazla olduğu bulundu ($p=0.001$). İlginç bir şekilde, BKİ'ler daha yüksek olan deneklerde, her iki peptit de açlık koşullarında önemli ölçüde azalır, bu da enerji dengesinin düzenlenmesinde yer aldıklarını düşündürür.²³ Bizim çalışmamızda diyabetik bireylerde ghrelin ekspresyonunun çalışma grubunda daha yüksek oranda zayıf pozitiflik, kontrol grubunda ise daha yüksek oranda pozitiflik gösterdiği gözlemlendi ($p=0.003$).

Ghrelinin serum seviyeleri açlıkta yüksek, toklukta düşük iken obezler bu davranışı göstermezler. Süregelen pozitif enerji dengesine karşı gelişen kompensatuar cevabı temsil edebilecek bir sebeple total açlık ghrelin seviyeleri, zayıf kontrol grubuna göre obezitede düşüktür. Obezlerdeki bu down-regülasyona uğramış ghrelin sekresyonunun mekanizması hala tam olarak bilinmemektedir. Ayrıca yapılan çalışmalar göstermiştir ki obezlerde ghrelin düzeyi azalmakla birlikte besin alımı sonrası supresyonuda bozulmuştur. İnsanlarda ghrelin sekresyonu gün içinde belirgin değişiklikler göstermektedir.²⁴ Bizim çalışmamızda literatürle uyumlu şekilde çalışma grubunda (obez bireylerde) ghrelinin ekspresyon oranı kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur.

Purnell ve ark., geniş bir yaş ve ağırlık aralığına sahip 60 yetişkin erkek ve kadından oluşan bir populasyonda yaptıkları çalışmada, açlık ghrelin seviyesinin yaş ile pozitif ilişkili, BKİ ile negatif ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca ghrelin seviyesinin, erkek ve kadınlarda benzer olduğunu ve menopozal durumla değişmediğini saptamışlardır.²⁵ Biz de çalışmamızda çalışma ve kontrol grubundaki kadınlarda ghrelin ekspresyon oranının erkeklere göre daha fazla olduğunu ancak elde edilen sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gösterdik. Bu durumun çalışmaya dahil edilen erkek sayısının az olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Wilasco ve ark., yaşları 4 ay-10 yaş arasında değişen 111 sağlıklı çocuk ile yaptıkları çalışmada, plazma ghrelin seviyesinin yaş ile negatif korelasyon göstererek azaldığını bildirmişlerdir.²⁶ Bizim çalışmamızda da benzer şekilde yaş ile ghrelin yaygınlığı arasında negatif yönde ve orta kuvvette bir korelasyon gözlemlendi.

Leptin, enerji metabolizmasının düzenlenmesinde rol oynayan adipositokinler olarak bilinen bir hormon sınıfına aittir.²⁷ Kapsamlı araştırmalar, dolaşımdaki belirli leptin konsantrasyonlarının korunmasının, besin alımındaki dengesizliği önlemek için gerekli olduğunu ortaya koymuştur.²⁸

Obez bireylerde bulunan fazla olan yağ dokusu leptinin fazla miktarda üretilmesine neden olur.²⁹ Mevcut çalışmada da benzer şekilde leptin yaygınlığı ve şiddetinin çalışma grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu ve leptin ekspresyonunun çalışma grubunda daha yüksek oranda pozitiflik gösterdiği belirlendi.

Yapılan bir çalışmada, erkeklere oranla kadınlardaki leptin değerleri anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Kadınlarda erkeklerden daha fazla leptin bulunmasının sebebi testesteronun leptin üzerine baskılayıcı etki yapması ve cinsiyete bağlı yağ depolanmasından olduğu düşünülmektedir.³⁰ Bu çalışmaların aksine çalışmamızda çalışma grubundaki kadın ve erkeklerin leptin seviyeleri arasında fark görülmezken kontrol grubundaki kişilerde erkeklerin leptin yaygınlık değerleri kadınlara göre anlamlı

olarak daha yüksek bulunmuştur. Bu durum çalışmaya dahil edilen erkek hasta sayısının az olmasından kaynaklanabilir.

Yapılan pek çok çalışmada şişman kişilerde leptin düzeyi ile serum açlık insülini ve insülin direnci arasında pozitif bir ilişkinin olduğu gösterilmiştir. Leptin düzeyleri ne kadar yüksek ise insülin direnci de o kadar yüksek olacağı belirtilmiştir.³¹ Yapılan çalışmalar insülin direncinin leptin ve adiponektin ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Obez ve normal kilolu bireylerde plazma leptin, rezistin ve adiponektin düzeyleri ile insülin direnci arasında anlamlı pozitif korelasyon görülmüştür.³² Normal kilolu kadınlar, obez kadınlar ve diyabetik obez kadınların üzerinde yapılan bir çalışmada, obez diyabetik grupta, obez gruba göre adiponektin seviyeleri anlamlı derecede düşük, leptin seviyelerinin de anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir.³³ Çalışmamızda, kontrol ve çalışma grubundaki diyabetik kişilerin leptin özelliklerine baktığımızda diğer çalışmaları destekler nitelikte sonuçlar elde ettik. Bu çalışmada, leptin ekspresyonunun çalışma grubunda daha yüksek olduğu gözlemlendi.

Ayrıca çalışma grubumuzdaki kişilerin klinik olarak operasyon öncesi ve operasyon sonrası glukoz değerleri incelendiğinde glukoz değerleri operasyon öncesine göre anlamlı olarak düşüktü. Bu durum bizi sleeve gastrektomi ile çıkarılan mide kısmındaki hormonların glukoz düzeyinin belirlenmesinde etkili olabileceği sonucuna ulaştırdı.

Pankreas adacıklarının periferinden ve daha çok mide mukozasından sentezlenen obestatinin pankreas sıvısındaki enzimlerin salgısını arttırdığı, susama hissini baskıladığı, hafızayı güçlendirdiği, uyku düzenini ayarladığı, hücre proliferasyonunu etkilediği, pankreastaki beta hücrelerinin ömrünü uzattığı ve glukoz ile indüklenmiş insülin salınımını azalttığı bildirilmiştir.³⁴ Ghrelin ve obestatinin temel işlevlerinin antagonistik olduğu bilinmektedir; dolaşımdaki ghrelin ve obestatin seviyeleri, açlık sırasında farklı bir profil sergiler; ghrelin seviyeleri yükselirken obestatin seviyeleri azalır.³⁵ Obez bireyler, normal kilolu bireyler ve gastrektomi ameliyatı geçirmiş obez bireylerdeki obestatin açlık seviyeleri, normal kilolu bireylere göre anlamlı oranda düşük olması nedeniyle obestatinin uzun dönem vücut ağırlığı düzenleyicisi olabileceğini düşündürmüştür.³⁶ Yemeklerden sonra plazma obestatin düzeylerinde değişiklik olmadığını rapor etmişlerdir. Ancak zayıf bireylerle karşılaştırıldığında, obezlerde önemli derecede düşük olduğunu bildirmişlerdir. Buna göre, uzun dönemde vücut ağırlığının düzenlenmesinde gösterge olarak obestatinin kabul edilebilirliği bildirilmiştir.³⁷ Mevcut çalışmada, diyabetik kişilerin obestatin pozitif hücre sayısının obez olmayan bireylerde daha fazla olduğu bulunmuştur. Çalışma grubundaki hastalarda yaş ve obestatin pozitif hücre sayısı arasında negatif yönde ve orta kuvvette bir korelasyon bulunmaktaydı. Literatürle de uyumlu olarak obez bireylerde ghrelin ve obestatin ekspresyonu düşük iken leptin ekspresyonu yüksekti.

SONUÇ

Sonuç olarak, morbid obezite tanısı alan Sleeve gastrektomi ameliyatı olmuş hastalar ile obezite dışı nedenlerle ve normal mide biyopsisi tanısı almış olan hastaların klinik verileri ve mide dokularının hormon düzeylerinin immohistokimyasal yöntemlerle karşılaştırıldığı bu çalışmamızda, mideden salınan ghrelin, leptin ve obestatin hormonlarının obezite ve obeziteye bağlı diyabet oluşumunda etkili olduğu belirlendi. Çalışmamızın, obezite ile ilgili yapılacak olan diğer çalışmalara ışık tutacağı kanaatindeyiz.

ıkar Beyannamesi

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar atışması bulunmamaktadır.

Teřekkür

Bu alışma TDK-2018-8198 numaralı proje ile Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Katkılarından dolayı Dr. Öđretim yesi Münevver Baran'a teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

1. Monica B, Silvia G, Simone R, Alessendro A, Silke M, Federica D, at al. Multi-omics gut microbiome signatures in obese women: role of diet and uncontrolled eating behavior *BMC Med.*2022;20;500
2. Cătoi AF, Pârnu AE, Mureşan A, Busetto L. Metabolic mechanisms in obesity and type 2 Diabetes: Insights from bariatric/metabolic surgery. *Obes.Facts.*2015;8:350–363.
3. Cătoi AF, Busetto L. Metabolically healthy obesity and bariatric surgery. *Obes. Surg.* 2019
4. Atila K. Morbid Obezitenin Cerrahi Tedavisi. *Archives of Clinical Toxicology*,2014;1(1), 23-27
5. Samir AG, Elad H, Rachel BHS, Aya B, Hadar İ, Ayet H, at al. Sleeve Gastrectomy Improves Glycemia Independent of Weight Loss by Restoring Hepatic Insulin Sensitivity *Diabetes.* 2018 Jun; 67(6):1079–1085.
6. Foster-Schubert KE and Cummings DE (2006) Evolving therapeutic strategies for obesity. *EndokrinRev.*2006;27,779–793
7. Nakahara T, Harada T, Yasuhara D, Shimada N, Amitani H, Sakoguchi T at al. Plasma obestatin concentrations are negatively correlated with body mass index, insulin resistance index, and plasma leptin concentrations in obesity and anorexia nervosa. *Biol Psychiatry* 2008;64:252–255
8. Ren AJ, Guo ZF, Wang YK, Lin L, Zheng X, Yuan WJ. Obestatin, obesity and diabetes. *Peptides.* 2009, 30(2):439-44.
9. Demir G, Diyabetik Obez Kadınlarda Obeziteyi Etkileyen Süreçlerin Genel Olarak Değerlendirilmesi, Uzmanlık Tezi, Şişli Eftal Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2. İç Hastalıkları Kliniği, İstanbul 2009:131
10. Reilly JJ, El-Hamdouchi A, Diouf A, Monyeke A, A Somda S. Determining the worldwide prevalence of obesity. *Lancet.*2018;391773–1774.
11. Akbalık, M. E. (2019). Keklik (*Alectoris chukar*) Barsağında Ghrelin, Leptin ve Obestatin Dağılımı. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 12(2), 117-121. doi: 10.4149/BLL_2017_116.
12. M Baran, O Canoz, H Altuntas, S Sivgin, M Cetin, A Yay, S Ketenci Immunohistochemical investigation of P16, P53 and Ki-67's prognostic values in diffuse large B-Cell lymphomas *2017;118(10):602-608.* DOI: 10.4149/BLL_2017_116
13. Baştürk S. Sleeve gastrektomi'nin orta ve uzun dönem sonuçları, obeziteye eşlik eden komorbiditelere etkileri. Uzmanlık Tezi. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı. Denizli, 2015.
14. Vidal P, Ramon JM, Goday A, Benaiges D, Trillo L, Parri A, at al. Laparoscopic gastric bypass versus laparoscopic sleeve gastrectomy as a definitive surgical procedure for morbid obesity. Mid-term results, *Obes Surg.*2013;23:292–299.

15. Dimitriadis E, Daskalakis M, Kampa M, Peppe A, Papadakis JA, Melissas J. Alterations in gut hormones after laparoscopic sleeve gastrectomy: a prospective clinical and laboratory investigational study. *Ann Surg.* 2013;257(4):647–654.
16. Iwona P, Siemowit M, Piotr D, Malgorzata K, Marta PO, Janine D. at al. Alterations in Small Intestine and Liver Morphology, Immunolocalization of Leptin, Ghrelin and Nesfatin-1 as Well as Immunoexpression of Tight Junction Proteins in Intestinal Mucosa after Gastrectomy in Rat Model *J Clin Med.* 2021 Jan; 10(2):272.
17. Kojima M. The discovery of ghrelin - A personal memory. *Regulatory Peptides.* 2008, 145:2–6
18. Guanya L, Gang J, Yang H, Li L, Qingchao J, Wenchao Z. at al. Reduced plasma ghrelin concentrations are associated with decreased brain reactivity to food cues after laparoscopic sleeve gastrectomy *Psychoneuroendocrinology.* 2019 Feb;100:229–236.
19. Tricia LM, Alan C, Stephen DR, Leptin's effect on taste bud calcium responses and transmitter secretion *Chem Senses.* 2015 May;40(4):217-22.
20. Karamanakis SN, Vagenas K, Kalfarentzos F, Alexandrides TK, Weight loss, appetite suppression, and changes in fasting and postprandial ghrelin and peptide-YY levels after Roux-en-Y gastric bypass and sleeve gastrectomy: a prospective, double blind study *Ann Surg.* 2008 Mar;247(3):401-7.
21. Abdemur A, Slone J, Berho M, Gianos M, Szomstein S, Rosenthal RJ. Morphology, localization, and patterns of ghrelin-producing cells in stomachs of a morbidly obese population. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech.* 2014;24(2):122–126.
22. Sato T, Nakamura Y, Shiimura Y, Ohgusu H, Kangawa K, Kojima M. Structure, regulation and function of ghrelin. *J Biochem.* 2012;151(2):119-128.
23. Beasley JM, Ange BA, Anderson CAM, Miller ER, Holbrook JT, Appel LJ. Characteristics associated with fasting appetite hormones (obestatin, ghrelin, and leptin) *Obesity.* 2009;17:349–354.
24. Soares JB, Leite-Moreira AF. Ghrelin, des-acylghrelin and obestatin: three pieces of the same puzzle. *Peptides.* 2008 Jul;29(7):1255-70.
25. Purnell JQ, Weigle DS, Breen PA, Cummings DE. Ghrelin levels correlate with insulin levels, insulin resistance, and high-density lipoprotein cholesterol, but not with gender, menopausal status, or cortisol levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5747-5752.
26. Wilasco M, Goldani HAS, Dornelles CTL, Rafael LM, Carlos OK, Marilene P. at al. Ghrelin, leptin and insulin in healthy children: Relationship with anthropometry, gender, and age distribution *Regul Pept.* 2012 Jan 10;173(1-3):21-6.
27. Khan M, Joseph F. Adipose Tissue and Adipokines: The Association with and Application of Adipokines in Obesity. *Science.* 2014;2014:328-592.

- 28.Valentina AG ,Rossella D, Giuseppe P, Cristina C, Angelo C, Annalisa N, at al. Impaired Leptin Signalling in Obesity: Is Leptin a New Thermolipokine?2021 Jun; 22(12): 6445.
- 29.Hekimoğlu A. Leptin ve fizyopatolojik olaylardaki rolü. Dicle Tıp Derg.2006;33(4):259-267.
- 30.Gültürk S, Demirkazık A. Leptin ve diyabet. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2007;29(1):35-40.
31. Pereira S, Cline DL, Glavas MM, Covey SD, Kieffer TJ. Tissue-Specific Effects of Leptin on Glucose and Lipid Metabolism. Endocr Rev.2021 Jan 28;42(1):1-28.
- 32.Virsaladze D. Wide clinical implementation of insulin resistance syndrome? Metab Syndr Relat Disord. 2006 Fall;4(3):165-71.
- 33.Silha JV, Krsek M, Skrha JV, Sucharda P, Nyomba BL, Murphy LJ. Plasma resistin, adiponectin and leptin levels in lean and obese subjects: correlations with insulin resistance. Eur J Endocrinol.2003 Oct;149(4):331-5.
- 34.Subasinghage AP, Green BD, Flatt PR, Irwin N, Hewage CM..Metabolic and structural properties of human obestatin {1-23} and two fragment peptides. Peptides. 2010 Sep;31(9):1697-705.
- 35.Daniel V, Yu Z, Bingzhong X, Yuxiang S, Vincent CJ. De Boer, Academic Editor.,Diverse and Complementary Effects of Ghrelin and Obestatin. Biomolecules. 2022 Apr; 12(4): 517.
- 36.Huda MSB, Durham BH, Wong SP, Derinak D, Kerrigan D, McCulloch at al. Plasma obestatin levels are lower in obese and postgastrectomy subjects, but do not change in response to a meal. International Journal of Obesity 2008;32:129–135.
- 37.Hedayati M, Saghebjoo M, Ghanbari-Niaki A. Effects of circuit resistance training intensity on the plasma ghrelin to obestatin ratios in healthy young women. Int J Endocrinol Metab.Spring;2012;10(2):475-9.