

Sıçanlarda Yüksek Oranda Doymuş Yağlı Diyet ile Aralıklı Beslemenin Deneysel Kolon Kanseri Gelişimi ve Bazı Serum İnflamasyon Markırları Üzerine Etkisi

The Effect of a Highly Saturated Fat Diet and Intermittent Fasting Diet on Experimental Colon Cancer Development and Some Serum Inflammation Markers in Rats Intermittent Fasting and Inflammation

Nizamettin Günbatar*¹, Fahri Bayıroğlu², Hüseyin Emlik³

¹ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Van, Türkiye

² Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

³ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye

Atf: Günbatar N, Bayıroğlu F, Emik H. (2024). Sıçanlarda yüksek oranda doymuş yağlı diyet ile aralıklı beslemenin deneysel kolon kanseri gelişimi ve bazı serum inflamasyon markırları üzerine etkisi. *Van Sağlık Bilimleri Dergisi*, 17(1),15-24.

ABSTRACT

Objective: In this study, the effects of complete food restriction (modified intermittent feeding) on serum inflammation markers and cancer development in rats supplemented with a highly saturated fat diet fed and exposed to colonotropic carcinogenic substances were investigated.

Material and Method: Wistar albino rats were divided into two groups as 15 rats in each group. After two weeks of high-fat diet pre-feeding in both groups, high-fat feeding was continued for 12 weeks. The trial group was kept completely free of feed only 2 days a week. Dimethylhydrazine (DMH), a colonotropic chemical carcinogen, was administered in two doses of 25 and 125 mg / kg subcutaneously at the beginning of the trial.

Results: At the end of the study, serum Crp, Tnf- α and Il-6, Il-1 β , Insulin, Leptin and IGF-1 parameters were measured. Serum crp, Tnf- α ($p < 0.01$), Il-6 ($p < 0.05$). The difference between IL-1 β , Insulin, Leptin and IGF-1 values was not statistically significant.

Conclusion: Although the dietary diet continues, it is concluded that this study can prevent obesity and systemic inflammation which is the condition of many degenerative diseases.

Keywords: Rat, Serum, Cancer, High-fat diet, Obesity

ÖZET

Giriş: Bu çalışmada yüksek oranda yağlı diyetle beslenen ve kolonotropik kanserojen maddeye maruz bırakılan ratlarda, haftada sadece 2 gün tam gıda kısıtlamasının (modifiye aralıklı besleme) serum inflamasyon belirteçleri ve kanser gelişimi üzerine etkileri incelendi.

Materyal ve Metot: Wistar albino ratlar her iki grupta 15 rat olacak şekilde deney (aralıklı besleme) ve kontrol olmak üzere iki gruba ayrıldı. Her iki grupta da yüksek yağlı diyetle 2 hafta ön besleme sonrasında, 12 hafta boyunca yüksek yağlı beslemeye devam edildi. Deneme grubu haftada sadece 2 gün tamamen yemden uzak tutuldu. Her iki gruba da deneme başında kolonotropik kimyasal karsinojen olan Dimetilhidrazin (DMH) 2 doz halinde 25 ve 125 mg/kg subkutan enjeksiyon şeklinde yapıldı.

Bulgular: Çalışma sonunda serumda CRP, TNF- α ve IL-6, IL-1 β , İnsülin, Leptin ve IGF-1 parametrelerin bakıldı. Deney grubunda serum crp, Tnf- α ($p < 0.01$), Il-6 ($p < 0.05$) öneminde düşük bulunurken, IL-1 β , İnsülin, Leptin ve IGF-1 değerleri arasındaki fark istatistiki önemde görülmedi.

Sonuç: Modifiye edilen aralıklı besleme uygulamasının yüksek yağlı diyet beslenmesine devam edilmesine rağmen, obeziteyi ve birçok dejeneratif hastalığın hazırlayıcısı olan sistemik inflamasyonu önleyebileceği kanaatine varıldı.

Anahtar kelimeler: Rat, Serum, Kanser, Yüksek yağlı diyet, Obezite

* Sorumlu yazar: Nizamettin Günbatar. E-mail: nizam_gun2011@hotmail.com

ORCID: Nizamettin Günbatar: 0000-0002-6684-3970, Fahri Bayıroğlu: 0000-0002-9861-1680, Hüseyin Emlik: 0000-0003-4000-6100

Geliş: 30.06.2023, Kabul: 03.01.2024 ve Basım: 30.04.2024



GİRİŞ

Doymuş yağlarca zengin diyet alınması obeziteyi geliştirdiği gibi leptin seviyelerini de artırmaktadır. Yüksek yağlı diyetlere bağlı kolon kanseri riski artış mekanizması hala açıkça anlaşılmasa da, beyaz yağ doku kaynaklı leptin gibi hormonlardaki bozulan metabolik denge ile kolon kanseri ilişkili bulunmuştur (Versini ve ark., 2014; Bishop ve ark., 2018). Düşük dereceli bir inflamasyon olan obezite gastrointestinal kanser için bir risk faktörüdür (Murphy ve ark., 2018;).

Obezitenin son yıllarda dünya çapında bir problem haline gelmesi, artan kolon kanseri riski ile ilişkili diyet ve yaşam tarzı faktörleri ile birlikte, obezite ve otoimmünite arasındaki bağlantı güçlü bir şekilde araştırılmıştır (Faloia ve ark., 2012; Versini ve ark., 2014). Obez insanlarda dolaşımda Tümör Nekrozis Faktör alfa (TNF- α) ve İnterlökin-6 (IL-6) gibi sitokin seviyelerinin yükseldiği ve kilo kaybedilmesiyle bunun tersine çevrilebileceği gösterilmiştir. Kalori kısıtlaması yani %15-40 normalden az enerji sağlama ömrü uzatıp kanser oluşumunu önler. Kalori kısıtlaması göğüs, kolon, prostat, lenfositler ve karaciğer gibi birçok dokuda kanser hücreleri proliferasyon hızını azaltırken, çeşitli büyüme faktörlerinin seviyelerini de düşürürler. Aralıklı kısıtlama ya da besleme, diyet kısıtlamasının bir diğer şeklidir. Aralıklı besleme hücre proliferasyon oranlarını düşürür (Syrenicz ve ark., 2006; Fontana ve Klein, 2007; Cissé ve ark., 2018). Kronik enerji veya gıda kısıtlamasının bazı kanser türlerinde önleyici olabileceğine dair bulgular vardır. Fakat bu diyet şeklinin uygulama güçlüğü sebebi ile aralıklı ya da haftada 2 ya da 3 gün olmak üzere kısıtlamanın da aynı etkiyi gösterebileceğini iddia edenler olmakla birlikte kesin bir mekanizma ortaya konulmamıştır. Bu çalışma kolon kanseri oluşturucu ajana maruz bırakılarak yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda haftada sadece 2 gün tamamen gıda kısıtlanmasının, kanser gelişimine ve bazı serum inflamasyon markır seviyeleri üzerine etkilerini gözlemek amacıyla planlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışma kapsamında, ortalama 3 ay öncesinden Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 2013-190- Nolu Karar ile çalışma onayı alındı. Bu çalışma Helsinki Bildirgesine uygun olarak yürütülmüştür. Araştırmada Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden sağlanan 200-250 g ağırlığında yetişkin Wistar albino cinsi 30 erkek rat kullanıldı. Deney öncesinde ratların 7 gün süreyle ortama adaptasyonları sağlandı. Deneysel diyet dışında, diğer tüm şartlar laboratuvar hayvanları bakım standartlarına (12 saat aydınlık: 12 saat karanlık

ve 22±1Co ve %60 nem bulunan) uygun olarak yürütüldü Toplam 36 adet hayvan önce 2 hafta süre ile bir özel ticari yem üreticisi firmadan alınan % 2.8 ham yağ, % 23.1 ham protein, % 5 ham selüloz, % 7.1 ham kül ve % 12.8 nem içerikli standart pellet yeme 300 g/kg margarin eritilerek katılıp günlük hazırlanan yüksek yağlı diyete (enerjinin%60'ı doymuş yağlardan) maruz bırakıldı ve 2 hafta sonunda en fazla ağırlık kazanan 30 tanesi seçilerek deney ve kontrol olmak üzere 2 eşit gruba ayrıldı. Her iki gruba da deneme başında kolonotropik kimyasal karsinojen olan Dimetilhidrazin (DMH) %0.05 EDTA (Sigma) içerisinde çözülüp daha sonra sodyum bikarbonat (NaHCO₃) solüsyonu kullanılarak DMH solüsyonunu pH 6.5 olacak şekilde ayarlandıktan sonra 2 doz halinde 25 ve 125 mg/kg vücut ağırlığı olucak şekilde 1 hafta ara ile 2 doz şeklinde subkutan enjeksiyon yapıldı. 1.hafta 1.doz 25 mg/kg 2. hafta ise 2. doz 125 mg/kg olarak uygulandı. Gruplardan aralıklı besleme grubuna (Deney grubu) haftada sadece 2 gün (ardışık olmayan) diyet verilmesine 24 saat ara verilip (su hariç tüm besin kısıtlaması) diğer kontrol grubunun ise beslenmesine aralıksız devam edildi. Denemeye 10 hafta süre ile devam edildi. Süre sonunda ketamin+Diazepam (Sigma K2753) (50 + 8mg/kg) ile preanestezi edilen hayvanların kalplerinden enjektör yardımı ile alınan kanlar biyokimya tüplerine aktarıldı. Tüpler 4000 RPM (RCF=1240xg)'de 15 dk santrifüj işlemine tabi tutulduktan sonra serumlar elde edildi. Elde edilen serumlardan analizler yapıldı. Serum CRP, TNF- α ve IL-6,IL-1 β analizlerine ELISA yöntemi ile Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Ana Bilim Dalı Laboratuvarında, Serum İnsülin, IGF-1 ve leptin düzeylerine ise Van Yüzüncü yıl Üniversitesi Biyokimya Laboratuvarında ELISA yöntemi ile bakıldı. Ayrıca otopsi yapılarak kolonlar alınıp kolon kanserinin erken evre histolojik işaretlerine, anormal kript odaklarına ve müsün yoksun odaklara bakıldı.

Kolonun çıkarılması ve histopatolojik incelenmesi

Deney sonunda hayvanlar, ketamin+Diazepam (50+8 mg/kg) anestezisi altında sakrifiye edildi. Yapılan nekropsi sonucunda histopatolojik değerlendirme amacıyla ratların kolonlarından alınan parçalar %10' luk formalin solüsyonunda 48 saat tespit edildikten sonra, akan çeşme suyunda 10 saat yıkandı. Rutin doku takibinde alkol (70°, 80°, 90°, 96 °ve 100°) ve ksilol serilerinden geçtikten sonra parafinde bloklandı. Her bloktan 4 μ m kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanıp ışık mikroskobu ile incelendi.

Kan numunelerinin alınması

Deney süresinin sonunda ketamin+Diazepam (50+8 mg/kg) ile genel anestezi uygulanan farelerin (kontrol ve deney grupları) karın bölgesi, anal (pubis) bölgeden göğüs boşluğuna doğru ters V harfi şeklinde eksize edilerek karın boşluğu açılıp enjektörle kalbe girilerek gereken miktarda kan alındı. Alınan kanlar biyokimya tüplerine aktarılarak, 4000 RPM (RCF=1240xg) de 15 dk santrifüj edilip serumları çıkarıldı. Çıkarılan serumlar Eppendorf tüplerine koyuldu ve -80 0C de çalışma zamanına kadar saklandı.

Analizler

CRP ölçümü; AssayMax Rat C- Reaktiv Protein ELISA Kiti (Katalog numarası ERC 1001-1) kullanılarak, Stat Fax 2100 Elisa Reader da ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemiyle çalışıldı.

İnsülin ölçümü; Eastbiopharm Rat İnsülin ELISA Kiti (Katalog numarası CK-E30620) kullanılarak, Stat Fax 2100 Elisa Reader da ELISA (Double-antibody sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemiyle çalışıldı.

IGF-1 ölçümü; Eastbiopharm Rat Igf-1 ELISA Kiti (Katalog numarası CK-E30653) kullanılarak, Stat Fax 2100 Elisa Reader da ELISA (Double-antibody sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemiyle çalışıldı.

TNF- α ölçümü; eBioscience Rat TNF-a Platinum ELISA Kiti (Katalog numarası BMS622)

kullanılarak, Stat Fax 2100 Elisa Reader da ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemiyle çalışıldı.

IL-6 ölçümü; eBioscience Rat IL-6 platinum ELISA Kiti (Katalog numarası BMS625) kullanılarak, Stat Fax 2100 Elisa Reader da ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemiyle çalışıldı.

Leptin ölçümü; BioVendor Rat Leptin ELISA Kiti (Katalog numarası RD291001200R) kullanılarak, Stat Fax 2100 Elisa Reader da ELISA (sandwich enzyme immunoassay) yöntemiyle çalışıldı.

IL-1 β ölçümü; eBioscience Rat IL-1 β platinum ELISA Kiti (Katalog numarası BMS630) kullanılarak, Stat Fax 2100 Elisa Reader da ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemiyle çalışıldı.

İstatistik analizler

Üzerinde durulan özelliklerden sürekli değişkenler için tanımlayıcı istatistikler; Ortalama, Standart Sapma, Minimum ve Maksimum değerler olarak ifade edilmiştir. Sürekli değişkenler bakımından grupları karşılaştırmada Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Bu değişkenler arasındaki ilişkiyi belirlemede gruplarda ayrı ayrı olmak üzere Spearman korelasyon katsayıları hesaplanmıştır. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi p<0.05 olarak alınmış ve hesaplamalar için SPSS istatistik paket programı kullanılmıştır.

BULGULAR

Tablo 1. Kontrol ve deney gruplarının 12 haftalık canlı ağırlık ortalamaları

CANLI AĞIRLIKLAR (gr)		Kontrol Grubu N=14	Deney Grubu N=15	P
1.HAFTA	$\bar{X} \pm Sx$	313.71±23.03	312.40±25.93	.887
	Min.	280.0	273.00	
	Max.	367.0	353.0	
2.HAFTA	$\bar{X} \pm Sx$	323.92±22.36	317.53±23.26	.331
	Min.	297.0	281.0	
	Max.	377.0	353.0	
3.HAFTA	$\bar{X} \pm Sx$	299.57±29.51	293.60±26.60	.571
	Min.	266.0	240.0	
	Max.	374.0	334.0	
4.HAFTA	$\bar{X} \pm Sx$	310.50±36.34	299.06±23.89	.323
	Min.	253.0	252.0	
	Max.	392.0	332.0	
5.HAFTA	$\bar{X} \pm Sx$	333.78±33.52	318.33±27.08	.182
	Min.	280.0	268.0	
	Max.	409.0	364.0	
6.HAFTA	$\bar{X} \pm Sx$	343.07±29.74	323.60±25.99	.071

	Min.	300.0	275.0	
	Max	412.0	367.0	
7.HAFTA	$\bar{X} \pm Sx$	351.78±28.75	327.33±25.66	.023
	Min.	320.0	280.0	*
	Max.	415.0	372.0	
8.HAFTA	$\bar{X} \pm Sx$	367.78±28.10	346.33±25.02	.039
	Min.	331.0	307.0	*
	Max	417.0	407.0	
9.HAFTA	$\bar{X} \pm Sx$	375.14±27.34	351.40±25.64	.023
	Min.	338.0	310.0	*
	Max.	425.0	408.0	
10.HAFTA	$\bar{X} \pm Sx$	381.21±30.0	351.46±29.12	.012
	Min	346.0	308.0	*
	Max	449.0	410.0	
11.HAFTA	$\bar{X} \pm Sx$	386.85±30.86	354.60±30.23	.008
	Min	345.0	307.0	*
	Max	458.0	415.0	
12.HAFTA	$\bar{X} \pm Sx$	400.92±27.14	365.73±35.02	.006
	Min	375.0	317.0	*
	Max	468.0	429.0	

* p<0.05

Deney grubunda 7. Haftadan itibaren (p<0.05) öneminde kilo kaybı olduğu tesbit edildi (Tablo1).

Tablo 2. Deney grubu serum IGF-1, İnsülin, Leptin, IL-6, IL-1β değerleri arasındaki korelasyon

DENEY GRUBU	IGF-1 (mIU/L)	İnsülin (mg/dl)	Leptin (pg/ml)	IL1-β (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF-α (pg/ml)	CRP (ng/ml)
IGF-1 (mIU/L)	1						
İnsülin (mg/dl)	.834**	1					
Leptin (pg/ml)	-.173	.030	1				
IL-1β (pg/ml)	.227	.380	.086	1			
IL-6 (pg/ml)	.103	.330	-.002	.297	1		
TNF-α (pg/ml)	.550*	.372	.129	-.136	.249	1	
CRP (ng/ml)	.596*	.497	.106	-.001	-.166	.398	1

*: p<0.05, **: p<0.01

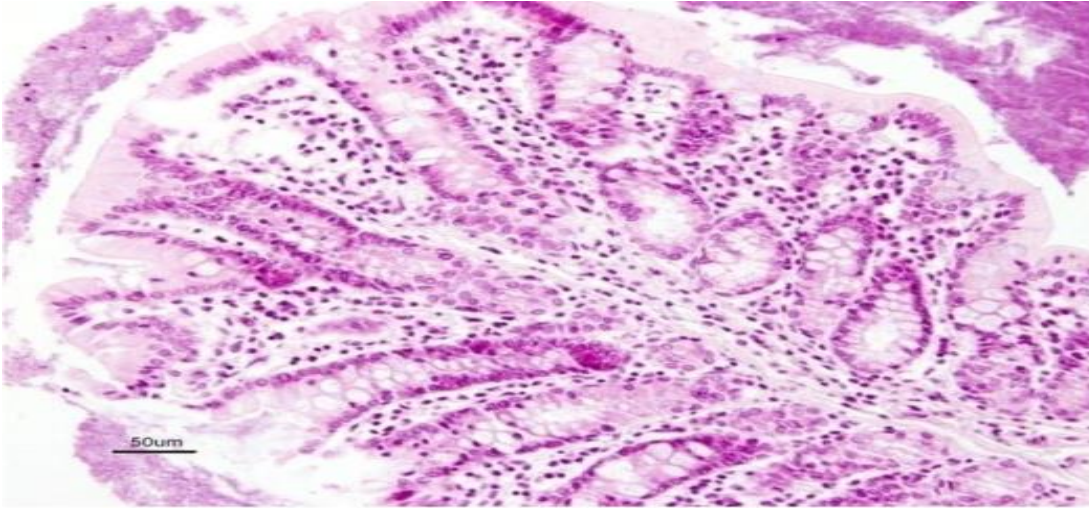
Deney grubunda IGF-1 ile insülin, Tnf-α ve Crp arasında pozitif korelasyon görüldü (Tablo 2).

Tablo 3. Deney ve Kontrol gruplarının serum, Leptin, IGF-1, İnsülin, IL-6, Crp, Tnf-α, IL-1β (mg/dl) değerlerinin ortalamaları.

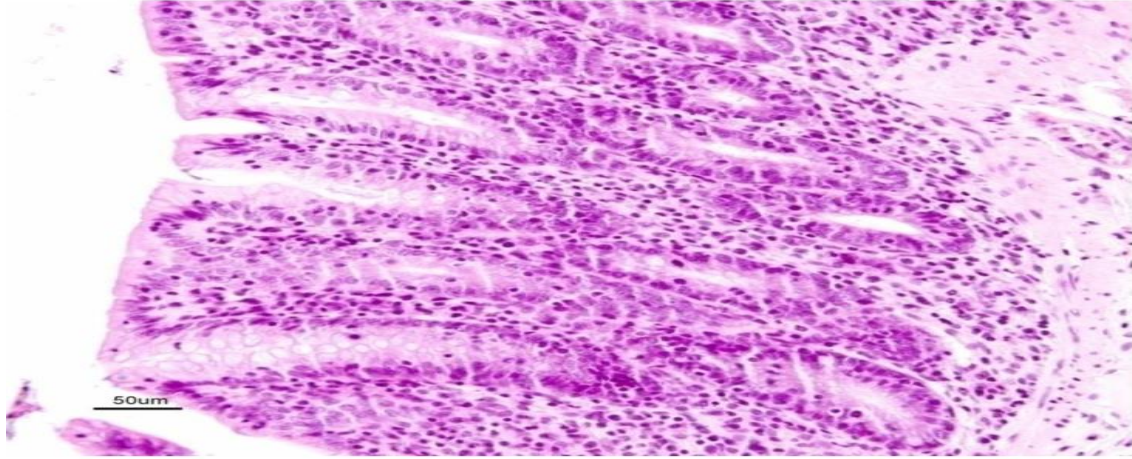
Parametreler		Kontrol Grubu n=14	Deney Grubu n=15	P
Leptin (pg/ml)	$\bar{X} \pm Sx$	221.06±109.44	246.48±76.45	.472
	Min.	98.2	128.30	
	Max.	438.0	372.30	
IGF-1 (mg/dl)	$\bar{X} \pm Sx$	110.17±21.06	96.52±30.63	.176
	Min.	79.0	52.9	
	Max.	144.8	134.5	
İnsülin (mg/dl)	$\bar{X} \pm Sx$	4.35±1,89	3.53±1.75	.239
	Min.	1.5	1.3	
	Max.	7.7	6.4	
IL-1 β (mg/dl)	$\bar{X} \pm Sx$	71.23±60.53	92.76±81.76	.430
	Min.	13.5	25.7	
	Max.	190,6	230,4	
IL-6 (mg/dl)	$\bar{X} \pm Sx$	64.60±20.18	47.93±7.29	.006 *
	Min.	46.01	34.99	
	Max.	126.89	58.54	
TNF- α (mg/dl)	$\bar{X} \pm Sx$	60.33±6.52	40.08±10.53	.000 **
	Min.	48.6	11.7	
	Max.	71.9	52.4	
CRP (ng/ml)	$\bar{X} \pm Sx$	63.80±5.04	54.72±3.41	.000 **
	Min.	55.15	48.29	
	Max.	69.86	58.86	

* p<0.05, ** p<0.01

Deney grubunda kontrol grubuna göre Il-6, nın (p<0.05), Tnf- α ve Crp değerlerinin ise (p<0.01) öneminde düştüğü görüldü (Tablo 3).



Şekil 1. Deney grubunda bağırsağın histopatolojik görünümü



Şekil 2. Kontrol grubunda bağırsağın histopatolojik görünümü

Histopatolojik bulgular

Deney ve kontrol grubundaki ratların kalın bağırsakların mikroskopik incelemesinde benzer bulgular saptandı. Her iki grupta da bağırsak bezlerinde malignant ya da displazik gelişme izlenmedi.

TARTIŞMA

Aşırı yağlı diyetle beslenme ve obezitenin birçok hastalığın tetikleyicisi ve sorumlusu olduğu çok iyi bilinen bir gerçektir. Özellikle kolon kanseri gelişiminde Batı tipi aşırı yağlı beslenmenin kolon kanseri gelişiminde ve prognozunda çok ciddi bir rolü olduğu, uzun yıllardır tartışılmaktadır. Bilim insanları tedavi edici en iyi ajanları bulmaya çalışırken, bir yandan da kontrol edilebilir koruyucu çevre faktörlerini de devreye sokmaya çalışmaktadırlar (Mosby ve ark., 2012).

Farelerde ve insanlarda yapılan çalışmalarla bazı gıdaların tüketilmesinin akut olarak inflamasyon cevabı oluşturabildiğine dair deliller vardır. Bu yüzden, inflamasyon başlangıç sinyalinin yukarıda da ifade edildiği gibi, aşırı yiyecek tüketimi olduğu düşünülmüştür. İnflamasyona götüren reaksiyonlar metabolizma ile ilişkili yağ doku, karaciğer ve kas gibi organlarda başlar ve bu uyarılara cevap olarak inflamasyon tepkisi tetiklenmiş olur. Obezite durumunda, normal ağırlıklı bireylere göre pro-inflamatuar sitokinlerin dolaşımdaki miktarları yükselmiştir ve insülin direnci gelişiminde rol oynadıklarına inanılmaktadır. Bu sitokinlerin ana kaynağı adipoz doku olmasına karşın, başlıca infiltrate olan makrofojlardan üretilirler. Bu sebeple, vücut ağırlık kaybı sonrasında bu sitokinlerin kan konsantrasyonları da azalmaktadır (Gregor ve

Hotamisligil, 2011; Faloia ve ark., 2012). Kronik inflamasyondan sorumlu temel sitokinler Tnf- α , IL-6 ve inflammasom aktivasyonlu İnterlökin 1-Beta (IL-1 β)'dır (Hernandez ve ark., 2013). Obez fare ile obez/diyabetik hastaların kas ve adipoz dokularında, Tip 2 diyabetli hastaların dolaşımdaki monositlerinde insülin direnci ile paralel bir şekilde artış olduğu bildirilmiştir (Fresno ve ark., 2011). Diyet kaynaklı obezite gelişen farelerde ve Tip 2 diyabetli (T2D) hastalarda dolaşımdaki TLR4 (Toll Benzeri Reseptör 4) ligandı ile Lipoprotein sakkarit (LPS) seviyelerinin orta derecede arttığı bildirilirken, intestinal mikroorganizmalar bu metabolik endotokseminin kaynağı olarak öne sürülmüştür. Yüksek yağlı diyetin sindirim kanalı mikroorganizma kompozisyonunda değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir (Cani ve ark., 2008). Diyet ve yaşam şekli bazı kanser türlerinin gelişiminde önemli bir rol oynar. Özellikle Meksika ve diğer birçok ülkede, kanser ölümlerinin üçte biri sadece diyet değişiklikleriyle önüne geçilebileceği bildirilmiştir. Diyetin bu koruyucu özelliğini açıklamak için antioksidan, antiinflamatuar ve antiöstrojenik etki mekanizmaları önerilmiştir (Su ve ark., 2012).

Sitokinler immün sistemin ve merkezi sinir sisteminin dışında visseral organlar tarafından da üretilmektedir. Adipoz doku, yaşlanma sürecinde birikmekte ve kalori kısıtlaması ya da aralıklı besleme durumlarında özellikle azalmaktadır. Adipoz doku da bir endokrin organ olarak iş görebilmekte ve tüm vücutta etkili olabilen Tnf- α gibi tropik hormonları üretebilmektedir (Bordone ve Guarente, 2005).

Yüksek yağlı diyetle gıda kısıtlaması yapılan bir çalışmada (Park ve ark., 2012), C-reaktif proteinin

(Crp)'nin gıda kısıtlaması yapılan grupta düştüğünü bildirmişlerdir. Yine ratlarda yapılan bir diğer çalışmada (Mohamad-Shahi ve ark., 2012) düşük kalorili diyet uygulamasında Crp seviyelerinin azaldığı bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda deney grubundaki Crp değerinin kontrol grubuna göre düştüğü bulundu ($p<0.01$). Crp bağışıklık yanıtının enflamatuvar sürecini takiben sitokinleri uyaran Il-6'ya yanıt olarak hepatositler tarafından sentezlenen bir akut faz proteinidir. Serum Crp düzeyi yüksekliği, yağ dokusunda fazla miktarda sentezlenen Il-6 yapımına ve bunun salınımına bağlanabilir (Sproston ve Ashworth, 2018). Deney grubumuzda düşük bulunan Crp seviyesine, aynı gruptaki Il-6'nun etkisi olduğu düşünülmektedir (Tablo 3).

Faris ve ark., (2012) yapmış oldukları 50 sağlıklı birey üzerindeki çalışmada ramazan ayının 3. haftasındaki serum Tnf- α değerinin, ramazan ayı öncesi serum Tnf- α değerine göre düşük olduğunu bildirmişlerdir ($P<0.001$). Kalori kısıtlaması uygulanan başka bir çalışmada Tnf- α seviyesinin, yüksek yağlı diyet grubuna göre düşük olduğu belirtilmiştir (Park ve ark., 2012). Vasconcelos ve ark., (2014) yaptıkları çalışma ile lipopolisakkarit (LPS) uygulanan ratlarda yükselmiş olan Tnf- α değerlerinin Aralıklı beslenme (IF)+LPS grubunda ($p<0.001$) istatistiki önemde düştüğünü bulmuşlardır. Bu çalışmada ise yukarıdaki bulgulara paralel olacak şekilde deney grubunda Tnf- α 'nın düştüğü bulundu ($p<0.01$). Serum Tnf- α düzeyi inflamasyon, obezite ve gelişen insülin direnciyle birlikte artmaktadır. (Mito ve ark., 2004). Deney grubumuzda düşmüş Tnf- α 'nın aynı gruptaki kilo kaybı (Tablo 1) ve düşük insülin seviyesinden kaynaklanabilir (Tablo 3).

Bir tür aralıklı besleme uygulaması olan bir ay süre ile gündüzün çoğunda gıda alımının tamamen durdurulduğu Ramazan orucu ile ilgili yapılan bir çalışmada (Faris ve ark. 2012), 50 sağlıklı bireyin serum Il-6 değerlerinin 3. Hafta sonunda ($P<0.001$) öneminde düşük olduğu yine bir başka çalışmada Vasconcelos ve ark., (2014) lipopolisakkarit (LPS) uygulanan ratlarda yükselmiş olan Il-6 değerinin, IF (Aralıklı beslenme)+LPS grubunda ($p<0.001$) öneminde düştüğünü bildirmişlerdir. Wan ve ark., (2010)'nın çalışmalarında standart diet ile aralıklı beslenme uygulanan grupta miyokart enfarktus sonrası Il-6 değerinin, standart diet ile beslenen gruba göre ($P<0.5$) öneminde düştüğü bildirilmektedir. Mevcut çalışmada ise yukarıdaki bulgulara benzer şekilde Il-6 değerlerinin, ($p<0.05$) istatistiki öneminde deney grubunda azalmış olduğu gösterilmiştir (Tablo 3) Il- 6'nun

obez bireylerde yüksek düzeyde görülmesi yağ dokusunun Il-6 üretilip salgılayabilme özelliği ile açıklanmıştır (Allen ve Febbraio, 2010). Çalışmada tesbit edilen düşük Il-6 değeri deney grubunda görülen kilo kaybından kaynaklanabilir (Tablo 1).

Dunn ve ark., (1997)'nin yapmış oldukları çalışmada diyet kısıtlaması uyguladıkları grupta serum İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1 (IGF-1) seviyelerinde azalma olduğunu bildirmişlerdir. Rahbar ve ark. (2019), 34 erkek üzerinde yapmış oldukları başka bir çalışmada ramazan ayının hemen sonrasında Igf-1 değerinin ramazan ayı öncesine göre düşük olduğunu belirtmişler. Kalori kısıtlaması uygulanan grupta Igf-1 seviyelerinin önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir (Soner ve ark., 2016). Bu çalışmada deney grubundaki Igf-1 seviyesi kontrol grubuna göre düşük bulundu. İnsülinin Igf bağlayıcı proteinlerin IGFBP-1,2,3 sentezini engelleyip, Igf-1'in biyosentezinin artırılmasına direkt etkili olduğu belirtilmiştir (Sandhu ve ark., 2002). Yapılan korelasyon çalışmasında deney grubundaki düşük Igf-1 ile insülin arasında pozitif korelasyon gözlenmiştir (Tablo 2) düşük Igf-1 seviyesine aynı gruptaki düşük insülinin etkili olduğu düşünülmektedir.

Park ve ark., (2012), yaptıkları çalışmada yüksek yağlı diyetle beslenen gruptaki leptin konsantrasyonunun, kalori kısıtlaması uygulanan gruba göre yüksek olduğu bildirmişlerdir. Soner ve ark., (2016) Kalori kısıtlamasının leptin seviyesini düşürdüğünü bildirmişlerdir. Mevcut çalışmada deney grubu leptin değerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu tesbit edildi (Tablo 3). Leptin visseral yağ dokusuna göre subkutan yağ dokusunda daha fazla üretilmektedir (Faraj ve ark., 2003). Çalışmada deney grubundaki yüksek leptin değeri gruplar arası subkutan yağ dokusu miktar farklılığından kaynaklanabilir.

Bir diğer inflamasyon markırı olan ve çoğunlukla proinflamatuvar etkisi ön planda olan Il-1 β seviyeleri, yine Faris ve ark. (2012)'nin oruç çalışmasında başlangıca göre 3. haftada önemli oranda azalmış olduğu bildirilmiştir. Il-1 önemli bir inflamasyon aracısıdır ve etkilerini nöro-immun- endokrin sistem üzerinden gösterir. İnflamasyon zincirleme reaksiyonlarında Il-1 β 'nin rolü çok iyi ortaya konmuştur ve obesite ilişkili morbiditede yağ doku inflamasyonundan büyük ölçüde sorumlu olduğu bilinmektedir (Nov ve ark., 2013). Buna karşın, Matsuki ve ark., (2003) IL-1 reseptör antagonisinin knock out edilmesine bağlı aşırı IL-1 aktivitesinin zayıflamaya ve diyet kaynaklı obezite oluşumunda direnç gelişimine sebep olduğunu rapor etmişlerdir. Yine, fizyolojik seviyenin altında ve üstünde in vivo olarak

İnterlökin-1 reseptör tip 1 (IL-1RI) aktivasyonunun vücut yağını kontrol ettiğini gösterdikleri gibi, sağlıklı hayvanlarda IL-1RI aktivasyonu ile tonik bir yağ baskılayıcı etki gözlenmiştir (Garcia ve ark., 2006). Mevcut çalışmada inflamatuvar özelliği iyi bilinen IL-1 β serum seviyelerinin azalmak yerine artma eğiliminde olması bizi önce şaşırtmasına karşın, Matsuki ve ark., (2003) ve Garcia ve ark., (2006)'nın sonuçlarıyla uyum içinde olması IL-1 β 'nın bazı durumlarda antiinflamuar etkiye destek olduğunu ispatlamaktadır.

Dunn ve ark., (1997) ile Anson ve ark., (2003) yapmış oldukları çalışmalarda aralıklı beslenme uygulanan grupta insülin seviyesinde azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Wan ve ark. (2010) ise yapmış oldukları çalışmada standart diyet ile beslenen aralıklı beslenme uyguladıkları grupta plazma insülin seviyesini aralıklı beslenme uygulanmayan gruba göre (P<0.01) düzeyinde düşük bulmuşlardır. Varady ve ark., (2013), Klempel ve ark., (2012), aralıklı beslenme uygulanan grupta insülinin %20 ile %31 arasında azaldığını göstermişlerdir. Yapılan bu çalışmada deney grubu insülin değeri kontrol grubuna göre düşük bulundu. Yağ dokusundan salınımı yapılan IL-6'nun insülin direncinin gelişiminde önemli etkileri vardır (Kern ve ark., 2001). Deney grubunda insülin seviyesinin düşmesine, aynı grupta düşmüş IL-6'nun etkili olduğu düşünülmektedir. Çalışma sonunda kontrol ve deneme gruplarımızın yapılan histopatolojik incelemesinde herhangi bir bulguya rastlanılmamasının kolonotropik kimyasal karsinojen etken madde olan DMH'ın uygulanan doz miktarından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Sonuç olarak; Elde edilen sonuçlar doğrultusunda modifiye edilen aralıklı besleme uygulamasının yüksek yağlı diyet ile beslenmesine devam edilmesine rağmen, obeziteyi ve birçok dejeneratif hastalığın hazırlayıcısı olan sistemik inflamasyonu önleyebileceği kanaatine bu çalışma ile varmış bulunmaktayız.

Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Teşekkür: Bu araştırma Doktora Tezinden özetlenmiş olup, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2013-SBE-D074 nolu proje ile desteklenmiştir.

Etik Onay

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 2013-190- Nolu Karar ile çalışma onayı alındı.

KAYNAKLAR

- Allen TL, Febbraio MA. (2010). IL6 as a mediator of insulin resistance: fat or fiction? *Diabetologia*, 53, 399-402.
- Anson RM, Guo Z, Cabo R, Iyun T, Rios M, Hagepanos A. (2003). Intermittent fasting dissociates beneficial effects of dietary restriction on glucose metabolism and neuronal resistance to injury from calorie intake. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100, 6216-6220.
- Bishop DJ, Botella J, Genders AJ, Lee M J, Saner N J, Kuang J, Yan X, Granata C. (2018). High-intensity exercise and mitochondrial biogenesis: current controversies and future research directions. *Physiology*, 34,56-70.
- Cani PD, Bibiloni C, Knauf A, Waget AM. (2008). Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice, *Diabetes*, 57, 1470-1481.
- Cissé YM, Borniger JC, Lemanski E, Walker W H, 2nd; Nelson R J. (2018). Time-restricted feeding alters the innate immune response to bacterial endotoxin. *Journal of Immunology*, 200,681-687.
- Dunn SE, Kari FW, French J, Leininger JR, Travlos G, Wilson R, B et al. (1997). Dietary restriction reduces insulin-like growth factor I levels, which modulates apoptosis, cell proliferation, and tumor progression in p53-deficient mice. *Cancer Research*, 57, 4667-4672.
- Faloia EG, Michetti M, de Robertis MP, Luconi G, Furlani MB. (2012). Inflammation as a link between obesity and metabolic syndrome. *Journal of Nutrition and Metabolism*, doi:10.1155/2012/476380
- Faraj M, Havel PJ, Phelis S, Blank D, Sniderman AD, Cianflone K. (2003). Plasma acylation-stimulating protein, adiponectin, leptin and ghrelin before and after weight loss induced by gastric bypass surgery in morbidly obese subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 88,1594-1602.
- Faris MA, Kacimi S, Al-Kurd RA, Fararjeh MA, Bustanji YK, Mohammad MK, et al. (2012). Intermittent fasting during Ramadan attenuates proinflammatory cytokines

- and immune cells in healthy subjects. *Nutrition Research*, 32, (12), 947-955.
- Fontana L, Klein S. (2007). Aging, adiposity, and calorie restriction. *The Journal of the American Medical Association*, 297, 986-994.
- Fresno M, Alvarez R, Cuesta N. (2011). Toll-like receptors, inflammation, metabolism and obesity. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 117,151-164.
- Garcia MC, Wernstedt I, Berndtsson A, Enge M, Bell M, Hultgren O, et al. (2006). Mature-onset obesity in interleukin-1 receptor 1 knockout mice. *Diabetes*, 55,1205-1213.
- Gregor MF, Hotamisligil GS. (2011). Inflammatory mechanisms in obesity. *Annual Review of Immunology*, 29, 415-445.
- Hernandez H, Simental-Mendía LE, Rodríguez-Ramírez G, Reyes-Romero MA. (2013). Obesity and inflammation: epidemiology, risk factors, and markers of inflammation. *International Journal of Endocrinology*, 2013, 678159.
- Kern PA, Subramanian R, Chunling LI, Linda W, Gouri R. (2001). Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. *The American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 280, 745-751.
- Klempel MC, Kroeger CM, Bhutani S, Trepanowski JF, Varady KA. (2012). Intermittent fasting combined with calorie restriction is effective for weight loss and cardio protection in obese women. *Nutrition*, 111, 98-104.
- Matsuki T, Horai R, Sudo K, Iwakura Y (2003). IL-1 plays an important role in lipid metabolism by regulating insulin levels under physiological conditions. *Journal of Experimental Medicine*, 198, 877-888.
- 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. *Journal of Endocrinology*, 180(1), 167-173.
- Mohamad-Shahi M, Karandish M, Haidari F, Omidian K, Fatemi-Tabatabayei SR, Rafiei H. (2012). Effect of daidzein-low-calorie diet on body weight, serum levels of glucose, resistin, and high sensitive C-reactive protein in high fat, high calorie diet induced rats. *Saudi Medical Journal*, 33, 70-75.
- Mosby TT, Cosgrove M, Sarkardei S, Platt KL, Kaina B. (2012). Nutrition in adult and childhood cancer: role of carcinogens and anti-carcinogens. *Anticancer Research*, 32, (10), 4171-4192.
- Murphy N, Jenab M, Gunter MJ. (2018). Adiposity and gastrointestinal cancers: epidemiology, mechanisms and future directions. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 15, 659-670.
- Nov O, Shapiro H, Ovadia H, Tarnovscki T, Dvir I, Shemesh E, et al. (2013). Interleukin-1 β regulates fat-liver crosstalk in obesity by auto-paracrine modulation of adipose tissue inflammation and expandability. *PLoS One*, 8,1.
- Park S, Park NY, Valacchi G, Lim Y. (2012). Calorie restriction with a high-fat diet effectively attenuated inflammatory response and oxidative stress-related markers in obese tissues of the high diet fed rats. *Mediators of Inflammation*, doi: 1155/2012/984643
- Rahbar AR, [Safavi E](#), Rooholamini M, [Jaafari F](#), [Darvishi S](#), [Rahbar A](#). (2019). Effects of intermittent fasting during ramadan on insulin-like growth factor-1, interleukin 2, and lipid profile in healthy muslims. *International Journal of Preventive Medicine*, 15(10),7.
- Sandhu MS, Dunger DB, Giovannucci EL. (2002). Insulin, insulin-like growth factor-I (IGF-I), IGF binding proteins, their biologic interactions, and colorectal cancer. *Journal of National Cancer Institute*, 94, 972-980.
- Soner D, Amitabha R, Margot PC. (2017). The influence of different calorie restriction protocols on serum pro-inflammatory cytokines, adipokines and IGF-I levels in female C57BL6 mice: Short term and long term diet effects. *Meta Gene*, 12,22-32.
- Su LJ, Mahabir GL, Ellison LA, McGuinn BCR. (2012). Epigenetic contributions to the relationship between cancer and dietary intake of nutrients, bioactive food, components, and environmental toxicants. *Nutrigenomics*, 2, 1-12.
- Sproston NR, Ashworth JJ. (2018). Role of C-reactive protein at sites of inflammation and infection. *Frontier Immunology*, 9,1-11.
- Syrenicz A, Garanty-Bogacka B, Syrenicz M, Gebala A, Walczak M. (2006). Lowgrade systemic inflammation and the risk of type 2 diabetes in obese children and

- adolescents. *Neuroendocrinology Letter*, 27(4), 453–458.
- Varady KA, Bhutani S, Klempel MC. (2013). Alternate day fasting for weight loss in normal weight and overweight subjects: a randomized controlled trial. *Nutrition Journal*, 12,146.
- Vasconcelos AR, Yshii LM, Viel TA, Buck HS, Mattson MP. (2014). Intermittent fasting attenuates lipopolysaccharide induced neuroinflammation and memory impairment. *Journal of Neuroscience*, 11, 85.
- Versini M, Jeandel PY, Rosenthal E, Shoenfeld Y. (2014). Obesity in autoimmune diseases: Not a passive bystander. *Autoimmunity Reviews*, 13, 981–1000.
- Wan R, Ahmet I, Brown M, Chen GA, Kamimura N, Talan M, et al. (2010). Cardioprotective effect of intermittent fasting is associated with an elevation of adiponectin levels in rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 21(5), 413-417.