



**T. C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DIYETTEKİ YAĞ VE KOLESTEROLÜN  
SİSTEMİK AMİLOİD A AMİLOİDOZİS OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİSİ**

**Aylin ALASONYALILAR**

**(DOKTORA TEZİ)**

**Bursa-2008**



T. C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

DİYETTEKİ YAĞ VE KOLESTEROLÜN  
SİSTEMİK AMİLOİD A AMİLOİDOZİS OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİSİ

Aylin ALASONYALILAR

(DOKTORA TEZİ)

Danışman: Prof. Dr. S. Deniz MISIRLIOĞLU

Bursa-2008

Bu tez, TÜBİTAK- TOVAG tarafından 105O204 numaralı proje ile desteklenmiştir.

## İÇİNDEKİLER

TÜRKÇE ÖZET.....	III
İNGİLİZCE ÖZET.....	IV
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
Tanım.....	3
Tarihçe.....	3
Amiloidin Yapısı.....	3
Amiloid ve Amiloidozisin Sınıflandırılması.....	4
Etiyoloji.....	6
Farelerde Deneysel Olarak Sistemik Amiloidozis Oluşturulması.....	7
AA Amiloidozis İndüklemeye Protokolleri.....	7
AA Amiloidozisinin Patogenezi.....	8
SAA.....	8
SAA'nın Yapısı.....	8
SAA'nın İzotipleri.....	9
İnsanlarda Serum Amiloid A Ailesi.....	9
Farede SAA Ailesi.....	9
SAA'nın Fonksiyonları.....	10
Sitokinlerin Rolü.....	11
Fibrillogenesis, Nötrofil ve Makrofajlar.....	11
Adipoz Doku, Diyetel Yağ, Kolesterol ve Akut Faz Reaksiyonu İlişkisi.....	12
Amiloidin İçerisinde Bulunan Diğer Komponentler.....	13
Amiloidoziste Makroskopik Bulgular.....	14
Amiloidoziste Histopatolojik Bulgular.....	14
PLAZMA LİPİTLERİ.....	14
Kolesterol.....	15
Trigliseritler.....	15
Fosfolipitler.....	15
Esterleşmemiş Yağ Asitleri.....	15
PLAZMA LİPOPROTEİNLERİ.....	15
Şilomikronlar.....	16
VLDL.....	16
LDL.....	16
HDL.....	16
Apolipoproteinler.....	16
Hiperlipidemi.....	17
Hiperkolesterolemi.....	17
SİTOKİNLER.....	17
IL-1.....	17
IL-6.....	18
TNF- $\alpha$ .....	19
GEREÇ ve YÖNTEM.....	20
Deney Hayvanı.....	20
Deneysel Ortam.....	20
Beslenme.....	20
Çalışma Grupları.....	20
ÇALIŞMA TAKVİMİ VE FARELERE UYGULANAN İŞLEMLER.....	22
Çalışmanın I. Aşaması.....	22

Çalışmanın II. Aşaması.....	23
Complete Freund's Adjuvant-Kazein Emülsiyonu.....	23
% 0.9'luk NaCl Solusyonu.....	23
Sterilizasyon.....	23
Anestezi, Sakrifikasyon, Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması.....	24
Tartım İşlemleri.....	24
Doku Örneklerinin İşlenmesi.....	24
Congo Red Boyama Protokolü.....	25
İmmünohistokimya (IHC) Protokolü.....	25
Preparatların İncelenmesi.....	26
Dokulardaki Amiloid Birikimlerinin Skorlanması.....	27
KAN ANALİZLERİ.....	27
İstatistiksel Değerlendirme.....	31
BULGULAR.....	33
1. PLAZMA BULGULARI.....	33
1.1 Çalışmanın I. Aşamasına Ait Plazma Bulguları.....	33
1.2 Çalışmanın II. Aşamasına Ait Plazma Bulguları.....	36
1.3 Çalışmanın I. ve II. Aşamasına Ait Plazma Bulgularının Karşılaştırması.....	38
1.4 Negatif Kontrol Grubu Plazma Değerleri.....	38
2. TARTIM BULGULARI.....	40
2.1 Çalışmanın I. Aşamasına Ait Ağırlık Ölçüm ve Oranları.....	40
2.2 Çalışmanın II. Aşamasına Ait Ağırlık Ölçüm ve Oranları.....	41
3. DOKU BULGULARI.....	42
3.1 Çalışmanın I. Aşamasına Ait Doku Bulguları.....	42
3.1.a Nekropsi Bulguları.....	42
3.1.b. Histopatolojik Bulgular.....	42
3.2. Çalışmanın II. Aşamasına Ait Doku Bulguları.....	43
3.2.a Nekropsi Bulguları.....	43
3.2.b Congo Red ve IHC Boyama Sonuçları.....	43
3.2.c Sistemik AA Amiloidozis Pozitiflik Oranı ve Organlara Göre Dağılımı.....	45
3.2.d Amiloid Birikimlerinin Şiddeti.....	51
4. PARAMETRELERİN KENDİ ARALARINDA KARŞILAŞTIRMASI.....	52
TARTIŞMA ve SONUÇ.....	59
EKLER.....	64
KAYNAKLAR.....	69
TEŞEKKÜR.....	82
ÖZGEÇMİŞ.....	83

## ÖZET

Bu çalışmada, diyetteki yağ ve kolesterolün sistemik amiloid A (AA) amiloidozis oluşumu üzerindeki etkileri incelenmiştir. Çalışmada 240 adet C57BL/6 ırkı 2 aylık erkek fare 5 yem grubuna ayrılmış ve çalışma boyunca her gruba farklı oranlarda yağ ve kolesterol içeren yemler verilmiştir. Gruplar; NYNK (normal yağ-normal kolesterol), YYYYK (yüksek yağ- yüksek kolesterol), YYSK (yüksek yağ-sıfır kolesterol), DYYK (düşük yağ-yüksek kolesterol) ve DYSK (düşük yağ-sıfır kolesterol) şeklinde dizayn edilmişlerdir. Çalışmanın dördüncü haftasında gruplardan 15'er farenin kan ve doku örnekleri alınarak kontrol değerleri elde edilmiştir. Takiben NYNK grubundan 15 fare ayrılarak (negatif kontrol), diğer tüm farelerde intraperitoneal complete Freund's adjuvant-kazein solüsyonu enjeksiyonlarıyla amiloidozis oluşumu indüklenmiş ve çalışma 11. haftada sonlandırılmıştır. Kan örneklerinde SAA (Serum Amiloid A), Interleukin (IL)-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  (Tumor necrosis factor alpha) ile lipit değerleri ölçülmüş, karaciğer, dalak, böbrek ve yağ dokularında amiloid varlığı ve şiddeti ile, vücut yağ oranı ortaya konmuştur. Sonuçta; amiloidozis oluşum oranları % 80 (DYYK), % 73.34 (YYYYK, YYSK), % 70 (DYSK) ve % 60 (NYNK) şeklinde bulunmuştur. Etkilenen organ sayısı YYYYK, YYSK ve DYYK gruplarında NYNK ve DYSK gruplarına oranla daha yüksek bulunmuş, karaciğer etkilenme oranının DYSK grubunda önemli derecede ( $p<0.05$ ) düşük olduğu gözlenmiştir. Böbrek tutulumunun ise yüksek kolesterol gruplarında anlamlı derecede ( $p<0.05$ ) yüksek olması dikkati çekmiştir. En yoğun amiloid birikimine YYSK grubunda rastlanırken, DYSK grubundaki amiloid yoğunluğu ise tüm diğer gruplardan önemli derecede ( $p<0.05$ ) düşük bulunmuştur. DYSK grubunda, plazma IL-6 ve plazma total lipit değerlerinde de diğer gruplara göre anlamlı düşüş saptanırken ( $p<0.001$ ), YYSK grubunda vücut yağ oranının tüm gruplardan daha yüksek olması dikkati çekmiştir.

Sonuç olarak; yağ ve/veya kolesterolden zengin gıdalarla beslenmenin indüklenmiş amiloidozisin şiddet ve yaygınlığını artırdığı, gıdada yağ ve kolesterol kısıtlamasına gidilmesinin amiloidozis oluşumunu azaltabileceği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Fare, yüksek yağ ve yüksek kolesterol, amiloidozis.

## SUMMARY

### **The Effect of Fat and Cholesterol in Diet on the Systemic Amyloid A Amyloidosis Formation**

The effects of fat and cholesterol in diet on formation of systemic amyloid A (AA) amyloidosis were evaluated in this study. A total of 240, two-month-old, C57BL/6 strain male mice were allocated into five groups and fed with diets including different rates of fat and cholesterol during the study. The groups were designed as NrFNrC (normal fat-normal cholesterol), HFHC (high fat-high cholesterol), HFNoC (high fat -no cholesterol), LFHC (low fat- high cholesterol) and LFNoC (low fat- no cholesterol). At the fourth week of the study, blood and tissue samples were collected from 15 mice per group to set the standard values. Subsequently 15 mice from the NrFNrC group were separated as negative control and amyloidosis was induced in all other animals by the intraperitoneal injection of complete Freund's adjuvant-casein solution. The animals were sacrificed after 11 weeks and occurrence and severity of amyloid accumulations in the liver, kidneys, spleen and fat tissue were investigated and the amount of fat tissue was shown. Serum amyloid A (SAA), IL (interleukin)-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor alpha) and lipid levels were measured in blood samples. The amyloidosis occurrence rates were as follows: 80 % LFHC, 73.34 % (HFHC, HFNoC), 70 % (LFNoC) and 60 % (NrFNrC). The number of affected organs was higher in the HFHC, HFNoC and LFHC groups than in NrFNrC and LFNoC groups. The liver was significantly less affected ( $p < 0.05$ ) in the LFNoC group, while kidney was affected more severely ( $p < 0.05$ ) in the high cholesterol groups. The most severe amyloid accumulation was observed in HFNoC group while the accumulation was significantly lower ( $p < 0.05$ ) in LFNoC group than in all other groups. Plasma IL-6 and total lipid levels were significantly lower ( $p < 0.001$ ) in LFNoC group than in other groups and the rate of body fat was highest in HFHC group.

It was concluded that feeding with a high fat and/or cholesterol diet can enhance the severity and dissemination of induced amyloidosis. Fat and cholesterol restriction in diet can inhibit amyloidosis.

**Key Words:** Mice, high fat and high cholesterol, amyloidosis.

## GİRİŞ

Sistemik AA amiloidozis, amiloid A fibrillerinin özellikle dalak, karaciğer, böbrek gibi hayati organlarda birikmesi ile karakterize olup, insan ve hayvanlarda organ fonksiyon bozukluklarıyla seyreden önemli klinik problemlere yol açar ve ölümlerle sonlanabilir (1-3).

Dünyada ve ülkemizde insanlarda sistemik AA amiloidozis vakalarıyla sıklıkla karşılaşılmaktadır. AA amiloidozis'in eşlik ettiği hastalıklar arasında juvenil artrit (4, 5), bronşiektazi (6, 7), romatoid artrit, yangısel bağırsak hastalıkları, ailevi Akdeniz ateşi (8-12), tüberkülozis (13), cüzzam (14), spondiloartropati, kronik osteomyelitis (15) ile gluten sensitiv enteropati (16) gibi kronik yangısel hastalıklar rapor edilmiştir. Bu hastalıklar içerisinde ülkemizde özellikle ailevi Akdeniz ateşi hastalığına sahip insanlarda sistemik AA amiloidozis sık rastlanılan bir komplikasyondur (8-12). Bunun dışında ülkemizde sistemik AA amiloidozisle ilişkili kronik böbrek yetmezliklerine sık rastlanıldığı (17-19) ve çocuklarda sistemik AA amiloidozise bağlı kronik böbrek yetmezliği olgularına rastlanma oranının Avrupa ve İskandinav ülkelerinin üzerinde olduğu vurgulanmaktadır (20). Ülkemizde rastlanılan sistemik AA amiloidozis olgularının yaklaşık % 7'sinin ise nedeni bilinmeyen gruba girdiği ifade edilmektedir (15).

İnsan olgularının yanı sıra kedi (21), köpek (22, 23), sığır (24, 25), ceylan (26) gibi memeli ve kanatlı (27) hayvanlarda da spontan sistemik AA amiloidozis olguları bildirilmektedir.

Sistemik AA amiloidozisin gelişiminde, IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinlerin uyarısı altında, akut faz proteini SAA (Serum Amiloid A)'nın dolaşımdaki seviyelerinin yükselmesi önemli rol oynar (28-30).

Sistemik AA amiloidozis yıllarca kronik yangısel hastalıklar ile ilişkili bir amiloid tipi olarak kabul edilmektedir ve beslenme ile ilişkisi yakın zamana kadar hiç araştırılmamıştır (1). Ancak son yıllarda, beslenmenin amiloid üzerine etkisi olabileceğine dikkat çeken bazı raporlar yayınlanmaktadır. Bu raporlardan bazılarında, yüksek oranda yağ içeren ve kolesterol ile desteklenmiş diyetle uzun süre beslenen farelerde dolaşımdaki SAA seviyelerinin arttığı bildirilmektedir (31-33).

Ayrıca diyetle bulunan yüksek kolesterolün, karaciğerde akut faz proteinlerinin, TNF- $\alpha$  ve diğer sitokinlerin genler tarafından sentezlenmesini indüklediği rapor edilmektedir (34-38). Benzer şekilde, akut faz cevabı ile ilişkili ürünlerin karaciğerde sentezlenmelerinin, karaciğer total kolesterol ve trigliserit oranları, plazma total kolesterol değerleri ve yağ doku miktarındaki artışla doğru orantılı olarak arttığı belirtilmektedir (39).



Obez bireyler üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda, bu bireylerde CRP (C-reaktif protein) ve SAA gibi akut faz proteinleri ve akut faz cevabında artış şekillendiği rapor edilmiştir (40, 41). Hatta bazı araştırmacılar dolaşımdaki akut faz protein seviyelerini artırdığı için obezitenin, kronik yangısel bir hastalık olarak algılanması gerektiği üzerinde durmuşlardır (42-45).

Araştırmacılar adipoz dokudan köken alan sitokinlerin obezitede rastlanılan yangısel marker seviyelerindeki artışın en büyük kaynağını oluşturduklarını iddia etmektedirler (46, 47). Obezitede dolaşımda seviyesi artan CRP ve SAA gibi akut faz proteinlerinin salgılanmasını indükleyen IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinlerin salgılanmasından yağ doku içerisine göç eden makrofajların sorumlu olabileceği (28, 48, 49) veya adipositlerin doğrudan bu sitokinleri (48, 49) ve hatta SAA gibi akut faz proteinlerini de (28, 42-45, 50) salgılayabilecekleri bildirilmiştir.

Obez bireylerin adipositlerinden akut faz proteini SAA'nın yüksek oranlarda salgılandığı ve bunun dokularda amiloid fibrillerinin oluşumuna yol açabileceği ilk defa sistemik böbrek amiloidozisi olan iki obez insanın incelenmesiyle ortaya konmuştur (43). Yakın zamanda yayınlanan raporlarda, SAA salgılanması ile vücut kitle indeksi arasında bir ilişki bulunduğu, diyet yaparak zayıflayan insanlarda SAA salınımının azaldığı bildirilmektedir (44, 45).

Bütün bu raporlara ilave olarak, yağlı gıdalarla beslenmenin "Alzheimer's Disease" ve "pancreatic islet amyloidosis" gibi AA amiloidozis dışında farklı iki amiloid tipini içeren hastalıkların oluşma riskini artırabileceği belirtilmekte ve bu hastalıklardaki lokal amiloid birikimleri içerisinde bulunan apo E (apolipoprotein E) komponentinin üzerinde durularak, bu komponentin yağ metabolizması ile olan ilişkisine dikkat çekilmektedir (51-54).

Obezite çağımızın önemli bir sağlık problemidir ve tüm dünyada olduğu gibi ülkemiz toplumunda da oldukça yaygındır. İleriki yıllarda daha da fazla rastlanılması beklenmektedir (55-57). Yukarıda verilen literatür bilgisinin eşliğinde planlanan bu çalışmada; uzun yıllar boyunca kronik yangısel hastalıkları ile ilişkili bir amiloid tipi olarak tanınmış sistemik AA amiloidozisin oluşumunda beslenmenin de etkili olabileceği ortaya konmaya çalışılmıştır. Bu amaçla farklı oranlarda yağ ve kolesterol içeren diyetlerle beslenen C57BL/6 ırkı farelerde deneysel olarak indüklenmiş sistemik AA amiloidozis oluşumunun nasıl etkileneceği incelenmiştir. Amaç, diyetteki yüksek yağ ve/veya kolesterolün amiloid oluşumunu artırıp artırmayacağını ve diyetle yağ ve kolesterol kısıtlamasına gidilmesinin indüklenmiş olan amiloid oluşumunda bir azalmaya yol açıp açmayacağını serolojik ve immunohistokimyasal metodlarla belirlenmesidir.

## GENEL BİLGİLER

### Tanım

Amiloidozis, amiloid adı verilen fibriller yapıdaki proteinlerin karaciğer, böbrek, dalak, mide, bağırsak, eklem, deri, beyin gibi çeşitli organ ve dokularda hücre dışında birikmesiyle karakterize olan patolojik bir durumdur. Normalde çözülebilir durumdaki proteinlerin, anormal ve çözülmeyen fibriller formda birikmesiyle oluşan edinsel yada kalıtsal bir protein katlanma hastalığı olan amiloidozis, biriktiği dokularda parankim hücrelerinin atrofisine ve bazen ölümle sonuçlanan fonksiyon bozukluklarına yol açar (1,7).

### Tarihçe

Dokulardaki amiloid birikimleri ilk kez 1654 yılında Glisson tarafından fark edilmiştir (58). Bu maddenin iodin boyama ile nişasta benzeri reaksiyon verdiğini fark eden Virchow 1854 yılında ilk kez “nişasta benzeri” anlamına gelen “amiloid” terimini kullanmıştır (59). Amiloidin gerçekte protein yapısında bir birikim olduğu, 1980 yılında Glenner (60) tarafından ortaya konmuşsa da, amiloid terimi günümüze kadar kullanılmış ve hala kullanılmaktadır. Amiloidin bugün bilinen fibriller yapısı ise 1959 yılında Cohen ve Calkins (61) tarafından yapılan ultrastrüktürel bir çalışmayla gösterilmiştir. Yirminci yüzyılın ikinci yarısındaki kimyasal araştırmalar amiloid içerisinde glikozaminoglikan, heparan sülfat (62) ve kondroitin sülfat içeren proteoglikanların (63, 64) yer aldığını göstermiştir. Amiloid proteinine yönelik kimyasal ve moleküler çalışmalar hala devam etmektedir.

### Amiloidin Yapısı

Alışılmışın dışında bir protein olan amiloid çözünmeyen ve proteolitik enzimlerle eritilemeyen kalıcı fibriller bir yapıya sahiptir (60,65). Birbirleriyle ilişkisi bulunmayan 25 kadar farklı protein amiloid fibrillerini şekillendirmek üzere organize olabilmektedir (66). Amiloidin birbirinden farklı bilinen tüm formları aynı spesifik boyanma özelliğine ve ultrastrüktürel yapıya sahiptir (67). Amiloid olarak adlandırılan proteinlerin tümü  $\beta$  katlantı yapısına sahip olup, congo red boyamaya afinite gösteren ve bu boyama sonucunda elma yeşili refle veren bir yapıdadır (66). Amiloid fibrilleri ultrastrüktürel olarak dallanma göstermeyen, belirsiz uzunlukta, 7-10 nm çapında ve kırılmayan sert bir yapıya sahiptir (60,68).

## **Amiloid ve Amiloidozisin Sınıflandırılması**

Benditt ve Eriksen (69), ilk kez 1964 yılında amiloidozis tiplerini, immunglobulinlerle ilişkili olmayan sistemik tip amiloidozis “Amiloid A” ve immunglobulinlerle ilişkili olan amiloidozis “Amiloid B” şeklinde sınıflandırmışlardır.

Sonraki yıllarda, protein yapısına göre iki farklı tip amiloid varlığından bahsedilmiştir. Bunlar; plazma hücrelerinden köken alan ve immunoglobulinlerin hafif zincirlerinden oluşan AL (amyloid light chain) protein ve immunoglobulin yapısında olmayan AA (amyloid associated) proteindir (65, 70). Hatalı immunoglobulin üretiminin bir sonucu olarak ortaya çıkan AL proteininin dokularda birikmesiyle oluşan amiloidozis “Primer amiloidozis”, “AL amiloidozis”, “İmmunoglobulin kaynaklı amiloidozis”, “Atipik amiloidozis” gibi isimlerle tanımlanmıştır. AL amiloidozise daha fazla insanlarda rastlanır ve belirli bir hastalıkla ilişkili olmaksızın lenf düğümleri, mide-bağırsak kanalı ve kalp-damar sisteminde AL amiloid birikimi ile tanınır (65,70). AL amiloidozis varlığı bildirilen hayvanlar sınırlı olup, kedi (71), sığır (72) ve at (73) da rapor edilmiştir.

Uzun süreli kronik enfeksiyon ve yangısel bozukluklarla ilişkili olup, AA proteininin dokularda birikimiyle oluşan amiloidozis tipi “sekonder amiloidozis”, “reaktif amiloidozis”, “AA amiloidozis”, “tipik amiloidozis”, “sistemik AA amiloidozis” olarak isimlendirilir. İnsan ve birçok hayvan türünde gözlenebilen AA amiloidoziste en fazla etkilenen organlar dalak, karaciğer, böbrek ve adrenal bezlerdir (65, 67).

Günümüzde amiloidozisin sınıflandırılması, biyokimyasal olarak amiloid proteininin primer aminoasit dizilişine göre yapılmaktadır (74). Uluslararası Terminoloji Komitesi Topluluğu günümüze kadar saptanmış olan insanlardaki amiloid fibril proteinlerini 25 (Tablo-1), hayvanlardaki amiloid fibril proteinlerini ise 9 (Tablo-2) başlık altında toplamıştır (66).

**Tablo-1** İnsanlarda Amiloid Fibril Proteinleri ve Prekursörleri

<b>Amiloid Protein</b>	<b>Prekursör</b>	<b>Sistemik (S)</b>	<b>Lokal (L)</b>	<b>Sendrom veya Kapsadığı Doku</b>
AL	İmmunglobulin hafif zinciri	S	L	Primer, Myeloma ilişkili
AH	İmmunglobulin ağır zinciri	S	L	Primer, Myeloma ilişkili
A $\beta$ 2M	$\beta$ <sub>2</sub> -microglobulin	S	L	Hemodializ ilişkili, Eklem
ATTR	Transthyretin	S	L	Ailesel, Senil sistemik, Tenosinovium
AA	(Apo)serum AA	S		Sekonder, Reaktif
AApoAI	Apolipoprotein AI	S	L	Ailesel, Aorta
AApoAII	Apolipoprotein AII	S		Ailesel
AApoAIV	Apolipoprotein IV	S		Sporadik, Yaşlılık ile ilişkili
AGel	Gelsolin	S		Ailesel (Finli)
ALys	Lysozyme	S		Ailesel
AFib	Fibrinogen $\alpha$ -chain	S		Ailesel
ACys	Cystatin C	S		Ailesel
ABri	ABriPP	S		Ailesel demans (İngiliz)
ADan	ADanPP		L	Ailesel demans (Danimarkalı)
A $\beta$	A $\beta$ protein		L	Alzheimer hastalığı, Yaşlılık
APrP	Prion protein		L	Spongiform ensefalopatiler
ACal	(Pro)calcitonin		L	C-hücre tiroid tümörleri
AIAPP	Islet amyloid polypeptide		L	İnsülinoma ilişkili, Langerhans adacığı
AANF	Atrial natriuretik faktor		L	Kardiak Atria
APro	Prolaktin		L	Senil, Hipofizsel Prolaktinoma
AIns	İnsülin		L	İatrojenik
AMed	Lactadherin		L	Senil aortik, media
AKer	Kerato-epithelin		L	Kornea, ailesel
ALac	Lactoferrin		L	Kornea
A( <i>tbn</i> )	<i>tbn</i>		L	Odontojenik tümörler

Bu tablo, Westermark ve arkadaşları (66) kaynağından alınmıştır.

**Tablo-2** Hayvanlarda Amiloid Fibril Proteinleri ve Prekürsörleri

<b>Amiloid Protein</b>	<b>Prekürsör</b>	<b>Sistemik (S)</b>	<b>Lokal (L)</b>	<b>Sendrom veya Kapsadığı Doku</b>	<b>Tür</b>
AL	İmmunoglobulin hafif zinciri		L	Plazmositoma	At
AA	(Apo)serum AA	S		Sekonder, Reaktif	Fare, kobay, kedi, köpek, inek, ördek vs.
AApoAI	Apolipoprotein AI	S		Yaş ilişkili	Köpek
AApoAII	Apolipoprotein AII	S		Yaş ilişkili	Fare
A $\beta$	A $\beta$ protein prekürsör		L	Yaş ilişkili	Köpek, koyun, kutup porsuğu
AIAPP	Islet amyloid polypeptide		L	Langerhans adacığı İnsülinoma	Kedi, maymun, rakun
AIns	İnsülin		L	Langerhans adacığı	Funda sıçanı
ACas	$\alpha$ -S2C kazein		L	Meme bezi	İnek
APrP	Prion protein		L	Spongiform ensefalopatiler	İnek, koyun

Bu tablo, Westermark ve arkadaşları (66) kaynağından alınmıştır.

### **Etiyoloji**

Amiloidozis tek başına bir hastalık olmayıp, aslında çok çeşitli hastalık gruplarında ortaya çıkabilmektedir (1). İnsanlarda amiloid birikiminin eşlik ettiği hastalıklar arasında; romatoid artrit (75-77), Alzheimer hastalığı ve diabet (78, 79), kronik diyaliz hastalığı (80), ailesel nöropatiler (81), tümörler (67), kronik yangısel hastalıklar (82, 83) ve trasmissible spongiform ensefalopatiler (84) yer alır.

Spontan amiloidozis oluşumlarına insanların yanı sıra köpek (22,23), kedi (21), sığır (24-25), koyun (85), at (86), ceylan (26), maymun (87), mink (88), hamster (89) gibi memeli hayvanlar ile ördek (90), su kuşları (91,92), hindi (93), bildircin (94) ve tavuk gibi bazı kanatlılarda rastlanılmaktadır. Hayvanlarda amiloid birikiminin eşlik ettiği hastalıklar arasında; diabet (95), meme tümörleri (96), kutanöz lenfoma (86), multiple myeloma (70), bovine spongiform ensefalopati hastalığı (97), scrapie (85, 98), sığırların lökosit yapışma eksikliği (72) gibi hastalıklar rapor edilmiştir. Ayrıca, yaşlı köpeklerde insanların Alzheimer

hastalığına benzer şekilde beyinde A $\beta$ -amiloid birikimleri ile seyreden bir hastalık da bildirilmiştir (99).

Amiloidozis çalışmalarında deneysel model olarak tavşan (100), fare (101,102), tavuk (103) ve ördek (104) gibi hayvanlar kullanılmaktadır.

### **Farelerde Deneysel Olarak Sistemik Amiloidozis Oluşturulması**

Fareler uzun yıllardır amiloidozis çalışmalarında model olarak kullanılmıştır (105). Amiloidozis oluşumuna en yatkın olan fare ırkları CBA/J, C57BL/6 ve ICR iken, CE/J ırkı dirençlidir (106, 107). Amiloidojenik fare ırkları amiloidojenik apo (apolipoprotein) SAA<sub>1</sub> ve apoSAA<sub>2</sub>'yi birlikte salgılamaktadır (106, 107). Amiloid A oluşumuna dirençli CE/J fare ırkı ise sadece apoSAA<sub>2</sub> salgılamaktadır (107). Farklı fare ırklarının sistemik amiloidozis gelişimine karşı dirençli veya duyarlı oluşlarının, sahip oldukları makrofajların SAA'yı yıkımlayabilme yetisindeki farklılıkla ilişkili olabileceği düşünülmektedir (108).

### **AA Amiloidozis İndükleme Protokolleri:**

Farelerde deneysel olarak amiloidozis oluşturmak amacıyla sıklıkla kullanılan metodlardan bir tanesi kazein enjeksiyonu metodudur. Farede kazein ile indüklenen amiloidozis, sekonder amiloidozis oluşturmak için uygun bir model olup, geniş ölçüde kullanılmıştır. Günlük olarak tekrarlanan subkutan kazein enjeksiyonlarını takiben farelerde reaktif AA amiloidozis oluşturulabilmektedir (105).

AgNO<sub>3</sub> (Gümüş nitrat)'ın subkutan enjeksiyonu farelerde uygulanan başka bir amiloid oluşturma protokolüdür. Bu metod ile tek dozluk bir subkutan AgNO<sub>3</sub> enjeksiyonu ile 2 hafta içinde amiloid oluşturulabilir (109).

Son yıllarda AEF (amiloid arttırıcı (enhancing) faktör) olarak adlandırılan ve amiloidli hayvanlardan elde edilen bir proteinin enjekte edilmesinin amiloidozis oluşumunu oldukça hızlandırdığı bildirilmektedir (109). Birçok çalışmada AEF'nin yaklaşık olarak 10-16 kDa'luk bir protein olduğu bildirilmesine rağmen, AEF gerçekte tam olarak tanımlanamamıştır. Buna karşın amiloid içeren dokuların ekstratları veya izole edilmiş amiloid fibrilleri ile amiloid benzeri sentetik fibriller TTR (transthyretin) fragmentlerinden yapılmış ve TNF- $\alpha$  ile sülfatlı glikozaminoglikanlar gibi çeşitli nonfibriler maddeler AEF özelliğine sahiptirler. Bu nedenle AEF'nin tek bir komponent olmadığı ve çok sayıda farklı moleküller ve yapıların AEF özelliğine sahip olabileceği ileri sürülmektedir (110). PEG (Polietilen glikol) ve TTR fibrillerinin de AEF görevi yaptıkları düşünülmektedir. Hızlandırılmış sistemik AA amiloidozis oluşturmak için AgNO<sub>3</sub> ve AEF enjeksiyonları birlikte

uygulanabilir. Tek başına AgNO<sub>3</sub> verilen grupta 3 ve 9. günlerde amiloid oluşumu gözlenmezken, PEG ve TTR ile desteklendiğinde 3. günde amiloid varlığı gözlenmiştir (110).

Amiloidozis oluşturma metodlarından bir başkası da kazein-complete Freund's adjuvant karışımının intraperitoneal enjeksiyonudur (111).

### **AA Amiloidozisinin Patojenezi**

Amiloidozisin bir çok hastalıkla ilişkisini ortaya koyan çok sayıda patomorfolojik ve epidemiyolojik çalışma olmasına rağmen, eriyebilir yapıdaki prekürsör amiloid proteinlerinin proteolitik sindirime dirençli spesifik amiloid fibrillerine dönüşerek, dokuda çökmesi esnasında rol oynayan faktörler hala araştırılmaktadır (110). Sistemik AA amiloidozis olgularının patojenezinde rol oynayan çeşitli faktörler bulunmaktadır. Bunlar şu şekilde açıklanabilir:

### **SAA (Serum Amiloid A)**

SAA, sistemik AA amiloidozisteki amiloid A fibrillerini oluşturan prekürsör proteindir ve bu nedenle sistemik AA amiloidozisin oluşumunda önemli role sahiptir (1). AA amiloidozisinin patogenezisinde SAA'nın rolü 1975 yılında açıklık kazanmıştır (112). Dolaşımda bulunan SAA seviyelerinin artışı, hem insanlar, hemde memeli ve kanatlı hayvanlarda AA amiloidozis oluşumunda önemli role sahiptir (103, 113-115). Aynı zamanda önemli bir akut faz proteini olan SAA'nın serumdaki değerleri, hastalıklı hayvanlarla sağlıklı hayvanları birbirinden ayıran önemli bir parametre olarak kabul edilir (116, 117). SAA'nın dolaşımdaki miktarı viral enfeksiyon (118), bakteriyel enfeksiyon (119), yangı (120,121), tümör oluşumu (122) ve fiziksel stres (116) varlığında önemli derecede yükselir (28). Sağlıklı insanlarda serumdaki SAA düzeyi 1-5 µg/ml arasında değişirken, hastalık veya stres durumunda akut faz SAA düzeyleri 1000 kata kadar artabilir ve düzeyleri 500-1000 µg/ml'ye kadar ulaşabilir (123). Yangısel sitokinlere cevap olarak SAA başlıca karaciğer hepatositlerinde (121, 124) sentezlenir ama fibroblast, sinoviyal hücre, makrofaj ve adipositler tarafından da salgılanabildiği bildirilmektedir (43, 125-127).

### **SAA'nın Yapısı**

Sekonder reaktif amiloidozisin prekürsör proteini olan SAA, 104 aminoasit içeren, 12 kD'luk boyuta sahip bir protein olup (45), N-terminal kısmı amiloid fibril kümesine katılır (128).

SAA'nın boyutunun, AA proteininin 8.5 kD'luk boyutundan daha büyük olması enzimatik bir bölünme geçirdiğini göstermektedir (129). SAA dolaşımında HDL<sub>3</sub> (yüksek dansiteli lipoproteinler) ile kompleks halde bulunan bir apolipoprotein yapısındadır (28, 124). SAA karaciğerde başlıca HDL ile ilişkili olarak sentezlenir ve SAA'nın % 85-90'ını HDL oluşturmaktadır (125). SAA, akut faz reaksiyonu boyunca HDL'nin ana protein komponenti olan ApoA-I (apolipoprotein A-I)'nin yerini alır. Yangı şekillendiğinde, SAA düzeyleri önemli ölçüde artar. Kronik yangı süresince dolaşımında SAA'nın konsantrasyonu ve HDL partikülleri üzerinde SAA'nın miktarı artar. Buna karşılık HDL'ye bağlı ApoA-I oranı azalır. Buna ek olarak akut faz cevabı boyunca SAA *in vitro* olarak sadece HDL'ye bağlı şekilde değil, aynı zamanda lipid içermeyen bir formda da bulunabilir. Yangısal olmayan koşullar altında HDL çok düşük miktarda SAA içerir (130).

### **SAA'nın İzotipleri**

Bazı SAA izotiplerinin çeşitli dokulardan ve çeşitli hücre tiplerinden karaciğer dışı sentezi çeşitli türlerde rapor edilmiştir. Çoğu türlerde serumda hepatik orijinli iki ana akut faz proteini olan apo SAA1 ve apo SAA2'nin ve buna ilaveten başlıca ekstrahepatik olarak sentezlenen üçüncü bir formun (apo SAA3) bulunabileceği ileri sürülmektedir (131).

### **İnsanlarda Serum Amiloid A Ailesi**

Yüksek derecede 2 homolog gen olan SAA1 ve SAA2 ile, daha uzak ilişkili gen olan SAA3 ve SAA4'ü kapsar, hepsi kromozom 11' in kısa kolu üzerinde kümelenir. SAA1 ve SAA2 akut faz cevabı süresince dolaşımında baskın proteinlerdir. SAA1 ve SAA2 genleri 104 aminoasitlik protein kodlarken, SAA4 geni (C-SAA) 112 aminoasitlik bir protein kodlar. SAA1, SAA2 ve SAA4 genleri insan düz kas hücre kültüründe, insan monosit-makrofaj hücre kültüründe ve histolojik olarak normal insan karaciğer dokusunda akut faz cevabı süresince salgılanır (114, 132-134).

### **Farede SAA Ailesi**

Fare SAA ailesi 2 farklı alt aileden ibarettir. İlk alt aile klasik akut faz SAA molekülleri olan SAA1.1 ve SAA2.1'den ibaret olup, yangı süresince çarpıcı biçimde artar ve HDL'nin ana apolipoproteini bile olabilir. SAA proteinlerinin iki izotipi olan SAA1.1 ve SAA2.1 bir yangısel cevaptan sonra yaklaşık olarak eşit miktarda indüklenir. Bu izotiplerde 103 aminoasitin yalnızca 9'u birbirinden farklıdır. SAA1.1, SAA2.1'e göre daha hızlı temizlenmesine rağmen, sonuç olarak SAA1.1 amiloid fibrillerinde depolanır, SAA2



peptidlerinin fibril oluşturma yeteneği yoktur. Yakın zamanlarda 2. alt aile olarak keşfedilmiş olan SAA4 ise HDL'nin alt grubunda bulunup, HDL partikülünün normal fonksiyonunda bir rol oynadığı farzedilir. SAA4, normal HDL'de SAA'nın ana formu olup, minor apolipoprotein olarak bu moleküllerde mevcuttur. Farelerde mevcut bulunan 4 SAA geni de kromozom 7 üzerinde bulunur ve karaciğerde sentezlenir ancak sadece SAA3 hepatositler yanı sıra adipositler, dalak, lenf yumrusu, makrofajlar ve böbrekten de sentezlenmektedir (105, 135, 136).

### **SAA'nın Fonksiyonları**

SAA'ya atfedilen çok sayıda aktivite bulunmakla birlikte SAA'nın yangıdaki gerçek rolü halen araştırılmaktadır. SAA'nın temel görevi doku harabiyetini önlemek ve doku tamirinde rol almaktır. SAA nötrofil aktivitesini inhibe eder ve özellikle mikroorganizmalar ile aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan oksidatif doku yıkımını önler (137,138). SAA'nın bugüne kadar saptanan fonksiyonları arasında :

- IL-1 ve TNF- $\alpha$  ile indüklenmiş ateşin inhibe edilmesi (139),
- Tromboksin sentezi ile plateletlerden serotonin salgılanmasının baskılanması ve platelet agregasyonunun inhibe edilmesi (140)
- Antijenlere karşı lenfositik tepkinin baskılanması (128)
- T hücreleri, monositler ve polimorfonükleer lökositlerin göç, adezyon ve dokuda infiltrasyonunun indüklenmesi (141,142)
- Lenfosit ve endotelyal hücre proliferasyonunun inhibe edilmesi (143, 144)
- Mast hücre adezyonunun indüklenmesi (145, 146)
- Kalsiyum mobilizasyonunun arttırılması (147)
- Endotoksinlerin detoksifikasyonu (148)
- Matriks metalloproteinazların indüklenmesi (149)
- Endotel hücrelerinde prostaglandin I<sub>2</sub>'nin indüklenmesi (150)
- Ekstrasellüler matriks proteinleri ile komplekslerin oluşumu (145,146)
- Düşük dansiteli lipoproteinler (LDL)'nin oksidasyondan korunması (151)
- HDL'ye bağlanarak ters kolesterol transportunda ve yangı süresince kolesterol metabolizmasında görev alma (152) bildirilmiştir.

Bu bulguların temelinde hem anti, hem de proinflamatuvar aktiviteler yoluyla yangısel cevabın modülasyonunda rol oynamakta olan SAA, ayrıca yangı bölgesinde bakterilerden ve hasarlanmış dokudan açığa çıkan kolesterolü uzaklaştırmak suretiyle, kolesterol transport ve metabolizmasını kapsayan multifonksiyonel bir protein olarak da görev yapar (153).

### **Sitokinlerin Rolü**

SAA'nın sentezi büyük ölçüde yangı-ilişkili sitokinler tarafından olmak üzere, endotel hücreleri tarafından üretilen peptid hormon sinyalleri, lenfositler ve özellikle aktive olmuş monositler ve makrofajlar tarafından düzenlenir. IFN (interferon)  $\gamma$ , transforming growth factor- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , interleukinler, çeşitli sitokinler tek başına veya bir kombinasyon içinde transkripsiyonel düzeyde SAA sentezini etkiler (147). Özellikle IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinler SAA'nın hepatik ve ekstrahepatik sentezini uyarmaktadır (28-30). AA amiloidozisli hastaların kanında sağlıklı kontrollere göre belirgin oranda SAA artışı yanısıra, TNF- $\alpha$  ve M-CSF (macrophage colony stimulating factor) artışı saptanmış, TNF- $\alpha$ 'nın AA amiloidogeneziste önemli bir marker olabileceği ve IL-6'nın da memelilerde SAA'nın üretiminde anahtar faktör olduğu ileri sürülmüştür (30, 154, 155).

SAA'yı stimule edici sitokinlerin düzeyinin azalmasıyla SAA'nın serum düzeyleri azalır ve böylece amiloidozisin gelişimi önlenir. Sitokin inhibitörü ilaçlar kanatlılarda dolaşımdaki SAA seviyelerini azaltarak, amiloidozis oluşumunu azaltmaktadır (103). Memelilerde de anti-IL-6 reseptörü ve anti-TNF- $\alpha$  terapileri AA amiloidozisin tedavisinde umut vericidir (156, 157). Dolaşımdaki IL-6'nın indirgenmesinin amiloidozis oluşumunu azalttığı bildirilmiştir (155). Hepatik hücre kültürü çalışmalarında, IL-6'nın bloke edilmesi ile, IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$ 'nın kombine etkisi inhibe edilerek, SAA mRNA'sının stimülasyonu önlenmiştir (158).

### **Fibrillogenezis, Nötrofil ve Makrofajlar**

Dokularda biriken amiloid A fibrillerinin oluşmasında dolaşımdaki SAA'nın yükselmesinin yanı sıra, fibrillogenezis oluşumu da çok önemlidir. Çünkü; amiloid fibrilleri SAA'nın dokulardaki anormal proteolitik yıkımlanmasıyla şekillenir (1, 60, 159). Fibrillogenezis oluşumu üzerine retikuloendotelial hücrelerin önemli rolü vardır. Özellikle nötrofil ve makrofajların SAA'nın dokulardaki yıkımlanmasından sorumlu oldukları sanılır (60, 101, 159).

Kanatlılarda dokuda AA fibrillerinin şekillenmesi ile dokuya makrofaj ve heterofillerin gelmesi arasında paralellik bildirilmiş ve makrofajların daha baskın rol oynadıkları ileri sürülmüştür (103). Araştırma sonuçları amiloid fibrillerinin muhtemelen, SAA'nın, makrofajların hücre yüzeyinde yada lökositlerin lizozomları içerisinde parçalanması sonucu şekillendiğini düşündürmektedir (160-162).

Dokularda amiloid fibrillerinin birikiminden, SAA'nın periferik kan monositleri tarafından hasarlı yıkımlanması sorumlu tutulmaktadır. Buna göre; IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  gibi

sitokinler, zayıflatılmış SAA katabolizmasına yol açarlar ve SAA'yı kısmen yıkımlarlar (162, 163). AA amiloidotik hayvanlardan elde edilen kupffer hücrelerinin SAA'yı yıkımlama kabiliyetinin zayıfladığı, aktive olmuş normal kupffer hücrelerinin ise SAA'yı tamamen yıkımladığı bildirilmiştir. Skogen ve arkadaşları (159) *in vitro* çalışmalarda, çeşitli serin proteinazların SAA'yı parçalama yeteneğinde olduğunu ve amiloid fibrillerinin SAA'nın makrofaj hücre yüzeylerinde serin proteinazlarla kısmi olarak parçalanması sonucunda şekillendiğini rapor etmişlerdir.

Shirahama ve arkadaşları ise (160), nötrofil lökositlerin azurofil granüllerinde bulunan proteazların prekürsör proteinleri parçalama yeteneğinde olduğunu rapor etmişlerdir. İleri sürülen hipoteze göre, yangı başladığında dokuya gelen nötrofil lökositlerden bazısı lize olarak lizozomal enzimlerini salarlar. Böylece lizozomlar içine benzer asidik bir ortam gelişir ve burada SAA parçalanarak amiloid fibrilleri oluşur (160).

Bunun dışında; aktive edilmiş mononükleer hücrelerin sitoplazmasındaki endozomlar içine alınan SAA'nın tam olmayan parçalanmasının intralizozomal AA fibrillerinin şekillenmesine yol açtığı ileri sürülmekte (164) ve erken fibril formasyonunun lizozomlar içinde şekillendiği ileri sürülmektedir (101). SAA'nın transkripsiyonu, TNF- $\alpha$ 'nın kontrolü altındadır. TNF- $\alpha$ 'nın makrofajlar aracılığıyla SAA-HDL endositozisini takiben asidik hücre içi veziküllerde SAA'nın AA'ya proteolizinde de rol oynayabildiği ileri sürülmüştür (118, 159, 164).

### **Adipoz Doku, Diyetel Yağ, Kolesterol ve Akut Faz Reaksiyonu İlişkisi**

Akut faz reaksiyonuna yönelik çalışmaların yaklaşık son 15 senelik dönemi incelendiğinde akut faz reaksiyonu ile yağ ve kolesterol arasında ilişki kurulmaya çalışıldığı gözlenmektedir. Yakın zamanda bu konuda yapılan çalışmalardan ortaya çıkan izlenimler şu şekilde sıralanabilir:

- Diyetel yağ ve kolesterol akut faz reaksiyonunu indükleyebilir (32, 36-38).
- Kolesterol; akut yangısal proteinler, TNF- $\alpha$  ve diğer sitokinler için gen ekspresyonunu indükleyebilir (34-39).
- Dolaşımdaki yüksek kolesterol seviyeleri ile SAA seviyeleri arasında ilişki olabilir (31-33, 165, 166).
- Şişman ve obez insanlarda CRP ve SAA cevabında artış şekillenir (40, 41).
- SAA salgılanması ile vücut kitle indeksi arasında ilişki vardır ve diyet yapan insanlarda SAA salınımı azalır (44, 45, 165, 166).

- Diyetle doymuş yağ, trans yağ ve kolesterol alımının kısıtlanması IL-6'yı düşürür (166,167).
- Obezite kronik yangısel bir hastalık olarak algılanmalıdır (42-45).
- Yağ dokudan köken alan sitokinler şişman bireylerde yangısel marker seviyelerinde artışa yol açabilir (46, 47).
- Yağ doku içerisine infiltre olan makrofajların IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinleri salgılama ihtimali vardır (28, 48, 49).
- Yağ hücrelerinin IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinleri salgılama ihtimali vardır (48, 49).
- Yağ hücreleri muhtemelen SAA salgılayabilir (28, 42-45, 50, 168).

### **Amiloidin İçerisinde Bulunan Diğer Komponentler**

Dokulardaki amiloid birikimleri içerisinde amiloid fibrillerinin yanı sıra çeşitli komponentlerin varlığı bildirilmektedir. Bunlar dolaşımdaki SAP (serum amiloid P) komponentinden köken alan glikoprotein amiloid P, PGs (Proteoglikan) lar, GAGs (Glikozaminoglikanlar), apo E (apolipoprotein E) ve ayrıca laminin, kollajen IV, fibronektin ve vitronektin gibi ekstrasellüler matriks proteinleridir (66).

*Proteoglikanlar, glikozaminoglikanlar ve glikoprotein amiloid P;* amiloid birikimleri içerisindeki karbonhidrat yapısını oluşturur ve amiloidin iyodin ve sülfürik asit ile verdiği nişasta benzeri reaksiyondan sorumludurlar (169). Proteoglikanlar ve serum amiloid P proteini gibi faktörlerin amiloid proteolizisini bloke etmek suretiyle amiloid birikimlerinin stabilize olmasına yol açtıkları düşünülür (170,171).

*Laminin;* bazal laminada büyük bir glikoproteindir ve bazal membrandaki bir bozukluk sonucunda amiloid içinde yer aldığı düşünülmektedir (102, 172). Ayrıca, laminin (172,173) ve heparin/ heparan sulfat (172) ile SAA arasında afinite olduğu ve SAA'nın bu faktörlere bağlanmak suretiyle amiloidogeneziste önemli rol oynayan fibrillogenezise yol açtığı ileri sürülmektedir.

*Apolipoprotein E'nin;* amiloidojenik proteinlerin yapısını değiştiren ve fibrillogenezisi teşvik eden patolojik bir aracı olduğu düşünülmektedir (174).

*Fibronektin'* in; SAA'ya affinitesi olduğu ve amiloidoziste SAA ile makrofajların hücre yüzeyleri arasında bağlayıcı bir protein olarak bulunduğu bildirilmiştir (159).

*MMP (Matriks Metalloproteinaz)*'ler de amiloid içerisinde bulunan komponentler olarak bildirilmiştir (175).

Bunların dışında; farenin amiloidli karaciğer ve dalak ekstraktlarından farenin dalağından AA depolanmasını hızlandıran ve ubiquitin adı verilen bir peptid identifiye

edilmiştir. Ubiquitinin AEF gibi bir etkiye sahip olduğu ve yangısal stres durumlarında SAA ile etkileştiğinde AA amiloid depolanmasına yol açtığı ileri sürülmektedir (176).

### **Amiloidoziste Makroskobik Bulgular**

Dalak, karaciğer ve böbrek gibi amiloid biriken parankimal organlarda amiloid birikim alanları organın kesit yüzünde solgun mumsu bölgeler şeklinde tespit edilir. Birikimin miktarına göre organda büyüme gözlenebilir. Dalakta çok fazla birikime bağlı olarak aşırı büyüme (sago dalak) ve hatta yırtılma şekillenebilir. Amiloid birikmiş organ yumuşayabildiği gibi, bazen de organın kronik hasarı bağ doku artışına yol açabilir ve bu da organın sertleşmesine neden olabilir (177).

### **Amiloidoziste Histopatolojik Bulgular**

Sistemik AA amiloidozis olgularında amiloid birikimleri büyük çoğunlukla önce dalakta, daha sonrada karaciğer ve böbrekte ortaya çıkmaktadır. Deneysel çalışmalarda sistemik AA amiloidozisin indüklenmesini takiben dalaktaki erken birikimlere öncelikle birikimlerin kapillarlar ve retiküloendotelial hücrelerle yakın ilişkide olduğu perifoliküler bölgede rastlanır. Amiloidozis ilerledikçe folliküller arası bölgeye doğru yayılarak dalak parankiminin istilası gözlenir (110). Karaciğerde başlıca amiloid birikim yeri disse aralıklarıdır. Birikim arttıkça hepatositler ve sinuzoidler baskı altında kalarak basınç atrofisine uğrarlar (178,179). Böbreklerde birikim glomerüler veya tubuler olabilir. Amiloid birikimlerine glomeruler kapillarların duvarında ve glomerüler kapillarlar arası bölgede rastlanır ve ileri olgularda tüm glomerulusu kaplayabilir. Tubuler amiloidoziste ise tubullerin bazal membranlarında amiloid birikimi gözlenir. Aşırı amiloid birikimi varlığında kan dolaşımının aksaması dokuda dejeneratif ve nekrotik değişikliklerin gelişmesine yol açabilir (19).

Amiloid boyandığında amorf (şekilsiz) gözükür. Ana karakteristiği congo red ile boyanmış histolojik kesitlerin polarize filtrede elma yeşili refle vermesidir (180).

Ultrastruktürel olarak ise amiloid, dallanmaya sahip olmayan bir grup fibrilden ibaret olup, her biri belirsiz bir uzunlukta ve 7-10 nm çapına sahiptir (181).

### **PLAZMA LİPİTLERİ**

Plazmada bulunan başlıca lipitler kolesterol, kolesterol esterleri, trigliseritler ve NEFA (esterleşmemiş yağ asitleri)'dir. Lipitler plazma içinde ve diğer ekstrasellüler vücut kompartmanlarında lipoprotein formunda taşınırlar (182).

### **Kolesterol**

Vücuttaki en büyük lipit olup, hücre membranlarının önemli bir yapısal komponentidir ve steroid hormonları ile safra asitlerinin prekürsürüdür. Kolesterol'ün % 60-70' i LDL, % 20-35'i HDL ve % 5-12'si VLDL (çok düşük dansiteli lipoproteinlerle) ile taşınır. Kolesterol hem serbest kolesterol hem de kolesterol esterlerini kapsar. Her ikisinin ölçümü total kolesterol olarak ifade edilir. Kolesterol hem diyetle alınır, hem de karaciğerde sentezlenir ve normal olarak fazla kolesterol safra aracılığıyla ekskrete edilir (182).

### **Trigliseritler**

Yağ sindirimi ve absorpsiyonunu takiben, intestinal mukozada ve karaciğerde gıdasal lipitlerden sentezlenir. Lipit depolarının ana kısmı trigliseritler tarafından sağlanır. Bunlar ağırlık olarak yağ dokusunun ortalama % 95'ini oluşturur. Trigliseritler plazmada, çoğunluğu şilomikron formunda ve VLDL ile taşınırlar. LDL ve HDL'de küçük miktarlarda bulunurlar (182).

### **Fosfolipitler**

LDL'nin ortalama % 25'ini ve HDL'nin ortalama % 30'unu kapsar. Ana plazma fosfolipitleri sfingomyelin, lesitin ve sefalinlerdir (182).

### **Esterleşmemiş Yağ Asitleri (NEFA)**

Çok önemli bir enerji kaynağıdır. Miktar olarak total plazma lipitlerinin çok küçük bir parçasıdır. Bununla birlikte albuminle kompleks oluşturmuş az miktarda NEFA, her gün hızla plazmaya taşınır (182).

## **PLAZMA LİPOPROTEİNLERİ**

Trigliseritler, fosfolipitler, yağ asitleri ve kolesterol suda çözünemediklerinden kan dolaşımına bu halde verilemezler. Kan dolaşımına kolayca taşınabilmeleri için lipoproteinlere ihtiyaç vardır (183). Partikül büyüklüğü, kimyasal kompozisyonu, fiziko-kimyasal ve flotasyon karakteristikleri ve elektroforetik mobilitesi temel alınarak, lipoproteinler 4 sınıfa ayrılabilir. Bunlar şilomikronlar VLDL, LDL ve HDL'dir. Lipoproteinlerin protein kısmı apolipoproteinler olarak isimlendirilen birkaç spesifik proteinden oluşur (182).

## **Şilomikronlar**

Ekzojen lipitlerin bağırsaklardan hücrelere transportu için gerekli olup, bağırsaklar tarafından üretilen büyük partiküllerdir. Eksojen kaynaklı trigliseritlerden çok zengindirler (% 85-95). Serbest kolesterol ve fosfolipitlerden fakir olup, % 2 protein içerirler (182).

## **VLDL**

Endojen lipitlerin karaciğerden hücrelere transportu için gereklidirler ve karaciğerde sentezlenerek diğer dokulara kan ile taşınırlar. VLDL'ler şilomikronlardan daha küçük ve trigliseritlerden zengin olup, şilomikronlardan daha düşük lipit/ protein oranına sahiptirler. VLDL'nin ortalama % 40'ını kolesterol ve fosfolipitler oluştururken, % 10'u proteindir (182).

## **LDL**

VLDL'den yapılırlar ve total lipoprotein kitlesinin % 50'sini oluştururlar. LDL kitlesinin ortalama yarısını esterleşmiş kolesterol oluşturur ve ortalama % 25'i ise proteindir. LDL'nin rolü kolesterolü periferel dokulara taşımak ve bu yerlerde kolesterol sentezini düzenlemektir (184).

## **HDL**

Yapısının % 50'sini protein, % 20'sini kolesterol, % 30'unu fosfolipitlerin oluşturduğu en küçük partiküllerdir. Trigliserit çok az miktarda bulunur (182). HDL dansitesi, partikül büyüklüğü, kompozisyonu ve fizyolojik rolüne bağlı olarak, HDL<sub>2</sub> ve HDL<sub>3</sub> olarak 2 alt grupta toplanabilir. HDL, kolesterolün hücrelerden karaciğere transportu için gereklidir (185). Amiloidojenik apolipoproteinler başlıca HDL içinde dolaşırlar (186).

## **Apolipoproteinler**

Lipoproteinlerin protein kısmı apolipoproteinler olarak isimlendirilen birkaç spesifik proteinden oluşur. Lipit metabolizmasıyla ilgili enzimleri aktive ederek veya inhibe ederek ve/ veya hücre yüzey lipoprotein reseptörlerine lipoproteinleri bağlayarak lipit transportunda önemli rol oynarlar. Lipoproteinler apolipoprotein bir kabukla ve polar lipitlerle çevrilmiş hidrofobik lipitlerin bir halkasından ibarettir. Apolipoproteinlerin 8 tipinin özellikleri bilinmektedir. Bunlar, Apo A-I, A-II, B, C-I, C-II, C-III, D ve E olup çözünebilir yüksek hidrofobik lipitlerle kompleks haldedirler. Bu yapıların protein komponentleri, spesifik yerlere partiküler lipitlerin girmesini ve çıkmasını organize ederler (184).

ApoA-I, HDL'nin ana protein komponenti olup, şilomikronlarda ve daha az miktarda LDL'nin yapısında mevcuttur. Ters kolesterol transportu olarak adlandırılan aşırı miktardaki kolesterolün periferal dokulardan uzaklaştırılıp, plazmada esterifiye edilmesi ve sonrasında ise karaciğere nakledilmesinde rol alır (187). ApoA-I hem dokuları kolesterol birikiminden korur hem de aterosklerotik plaklar içinde lokalize fibriller oluşturma yeteneğindedir (188). ApoE bugüne kadar amiloid birikimlerinde izole edilen en küçük parça olup, kolesterol atılımı için karaciğere veya kolesterol gereksinimi olan diğer hücelere HDL'yi yönlendirdiğine inanılır (176, 189).

### **Hiperlipidemi**

Hiperlipidemi (lipemi), kanda trigliseritlerin artışıdır. Trigliseritler başlıca şilomikronlar ve VLDL'de bulunurlar ve şilomikronlar ince bağırsaklardan emilerek kana taşınırlar. Şilomikronların yol açtığı hiperlipidemi ekzojen lipemi olarak bilinir ve nedeni gıdasal yağlardır. VLDL'nin oluşturduğu lipemi ise endojen lipemi olarak isimlendirilir. Diğer iki lipoprotein , LDL ve HDL, düşük oranlarda trigliserit içerdiklerinden lipemiye yol açmazlar (182).

### **Hiperkolesterolemi**

Her gün besinlerle alınan kolesterol miktarındaki artış plazma konsantrasyonunu hafifçe yükseltir. Yüksek derecede doymuş yağlardan oluşan bir diyet kandaki kolesterol konsantrasyonunu % 15-25 kadar yükseltir. Kandaki kolesterol konsantrasyonunu azaltmak için diyetdeki kolesterol konsantrasyonu kadar doymuş yağ konsantrasyonunu da azaltmak önemlidir. Yüksek düzeyde doymamış yağ asitlerini içeren yağ alınması ise genellikle kan kolesterol düzeyini hafif yada orta derecede düşürür (183).

### **SİTOKİNLER**

Çoğunlukla immun sistem hücreleri tarafından salgılanan ve hücrelerin özelliklerini ve fonksiyonlarını etkileyen küçük proteinler ve glikoproteinlerdir (190).

#### **IL-1**

Bakteriyel ürünler, TNF- $\alpha$  veya IL-1 ile uyarılan ve CD4+ T hücreleri ile temas eden makrofajlar tarafından üretilir (190). Ayrıca T lenfosit, B lenfosit, doğal öldürücü hücreler, nötrofil lökositler, endotel, epitel hücreleri, glial hücreler ve fibroblastlar tarafından da üretilir (191). Hemen hemen tüm immun sistem hücreleri üzerine etkisi olmakla birlikte,



etkilediği en önemli hücre yardımcı T lenfositlerdir. Makrofajlar ve endotel hücrelerini etkileyerek daha fazla IL-1, IL-6 ve kemokin sentezini sağlar. Bunun sonucunda nötrofillerin yangı bölgesine çekilmesi ve endotele bağlanarak yangılı dokuya geçmesi sağlanır. Sistemik etkileri vücut ısısında artış ve karaciğerden akut faz proteinlerinin salınmasıdır (190). Bunun dışında görev aldığı fonksiyonlar ise,

- B hücre proliferasyonu
- Hematopoitik büyüme faktörleri için kofaktör
- IL-2, IL-4, IL-5, IL-8, IFN, CSF (colony stimulating factor), TNF sentezinin indüksiyonu
- Sinoviyal hücre aktivasyonu
- Kollajenaz sentezi, osteoklast aktivasyonu
- Kaslarda protein yıkımı gibi katabolik olaylar
- Prostaglandin sentezinin indüksiyonu
- Vasküler endotelial ve düz kas hücrelerinde proliferasyon ve prokoagulan aktivitenin artması
- Adezyon moleküllerinin ICAM-1(hücreler arası adezyon molekülü), VCAM-1 (damar hücresi adezyon molekülü) ve ELAM-1 (Endotelial-Lökosit Adezyon Molekül-1) ekspresyonunda artış
- Enfeksiyonlara karşı nonspesifik direnç
- TNF ile sinerjik etki olarak sayılabilir (191) .

## **IL-6**

Genellikle Gram negatif bakteri infeksiyonları sırasında ortaya çıkar. Kaynakları başlıca makrofajlar, daha az oranda T lenfosit, B lenfosit, vasküler endotel hücreleri ile stromal ve mezenşimal hücreler, glial hücreler, osteoklastlar, düz kas hücreleri, fibroblastlar, granüositler, mast hücreleri ve timositlerdir. IL-6 hepatositlere etkiyerek akut faz proteinlerinin salınmasını, B ve T lenfositleri etkileyerek gelişmelerini sağlar. IL-1 ile birlikte bir kofaktör olarak IgM sentezini, IL-5 ile birlikte IgA sentezini uyarır. IL-6 bazı antialerji özelliklerine sahiptir. Sistemik olarak pirojen etki gösterir (190). Bunun dışında görev aldığı fonksiyonlar ise,

- Hipofiz ön lobundan prolaktin, büyüme hormonu ve luteinizan hormonun salınmasında stimülatör etki
- Glukokortikoid sentezinin indüksiyonu
- Osteoklast aktivasyonu

- Keratinosit büyümesinin aktivasyonu
- Enfeksiyonlara karşı nonspesifik direnç
- IL-1 ve TNF- $\alpha$  ile sinerjik etki (191).

## **TNF**

TNF- $\alpha$  ve TNF- $\beta$  olmak üzere 2 formu vardır. TNF- $\alpha$  kaşektin olarak da bilinir ve çoğunlukla aktif makrofajlardan salgılanır. Bununla beraber antijen ile stimüle edilmiş T hücreleri, aktive olmuş doğal öldürücü hücreler, mast hücreleri, keratinositler, astrositler, kupffer hücreleri, fibroblastlar, eozinofiller, epitel hücreleri tarafından da salgılanabilen bir proteindir. TNF bir çok immun sistem hücresinin gelişimini uyarır, aktive eder ve yangısel reaksiyonlarda rol alır; dolaşımdaki IL-1 ve IL-6'nın sekresyonunu stimule etmek için mononükleer fagositler üzerine etki eder. Hepatositler üzerinde serum amiloid A gibi akut faz proteinlerinin sentezini arttırmada rol alır. IL-1 ile birlikte yangının temel mediatörü olup, birbirleri arasında fonksiyonel benzerlik göstermektedirler. Duyarlı tümör hücrelerinin ve virusla infekte hücrelerin apoptozis yoluyla ölümünü sağlarlar. Sistemik olarak endojen pirojen etki gösterir ve yüksek ateşe neden olurlar. TNF, vasküler endotel hücrelerinin lökositler için adeziv bir özelliğe sahip yeni yüzey reseptörleri (ICAM-1, VCAM-1, ELAM-1) eksprese etmesine neden olur. TNF- $\alpha$ 'nın düşük konsantrasyonda kronik üretimi dokunun yeniden şekillenmesine yol açar. Hem bir angiogenesis faktörü hemde fibroblast büyüme faktörü şeklinde bağ doku birikiminde rol alır. Koagülasyon sistemini aktive eder. Kemik iliğinde stem hücre bölünmesini baskılar. TNF- $\alpha$ 'nın uzun dönem sistemik olarak bulunması deney hayvanlarında kaşeksi gibi metabolik değişimlere neden olur. Bu etkisini dolaşımdaki lipoproteinlerden yağ asitlerinin salınması için gerekli bir enzim olan lipoprotein lipazın inhibisyonu ile eksojen trigliseridlerin birikimini önleyerek yapmaktadır.

Bunun dışındaki fonksiyonları :

- MHC klas-I antijen ekspresyonunun induksiyonu
- Hipotalamustan glukokortikoid salınımı
- Nöronların çoğalması ve fonksiyonlarının regülasyonu olarak sayılabilir (191,192).

## GEREÇ ve YÖNTEM

### Deney Hayvanı

Çalışmada TÜBİTAK-GMBAE (Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Enstitüsü )'nden temin edilen toplam 240 adet C57BL/6 ırkı, 2 aylık erkek fare kullanıldı.

### Deney Ortamı

Çalışmanın deneysel aşaması Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi'nde ayrı bir odada gerçekleştirildi. Fareler gelmeden önce odanın duvarları boyandı ve temizliği yapıldı. Sterilizasyon için fumigasyon uygulandı. Kapının girişine dezenfektan içeren ayak havuzu konuldu. Fareler her kafese 5 fare düşecek şekilde barındırıldı. Farelerin altlıkları gün aşırı değiştirildi, 12 saat karanlık ve 12 saat aydınlık periyodu uygulandı, oda sıcaklığı klima kullanılarak (Vestel-SEG 9000 marka antibakteriyel filtreli split tipi klima) yaklaşık 21 °C'de tutuldu ve nem ölçer kullanılarak oda nem oranının % 55'i geçmemesi sağlandı.

### Beslenme

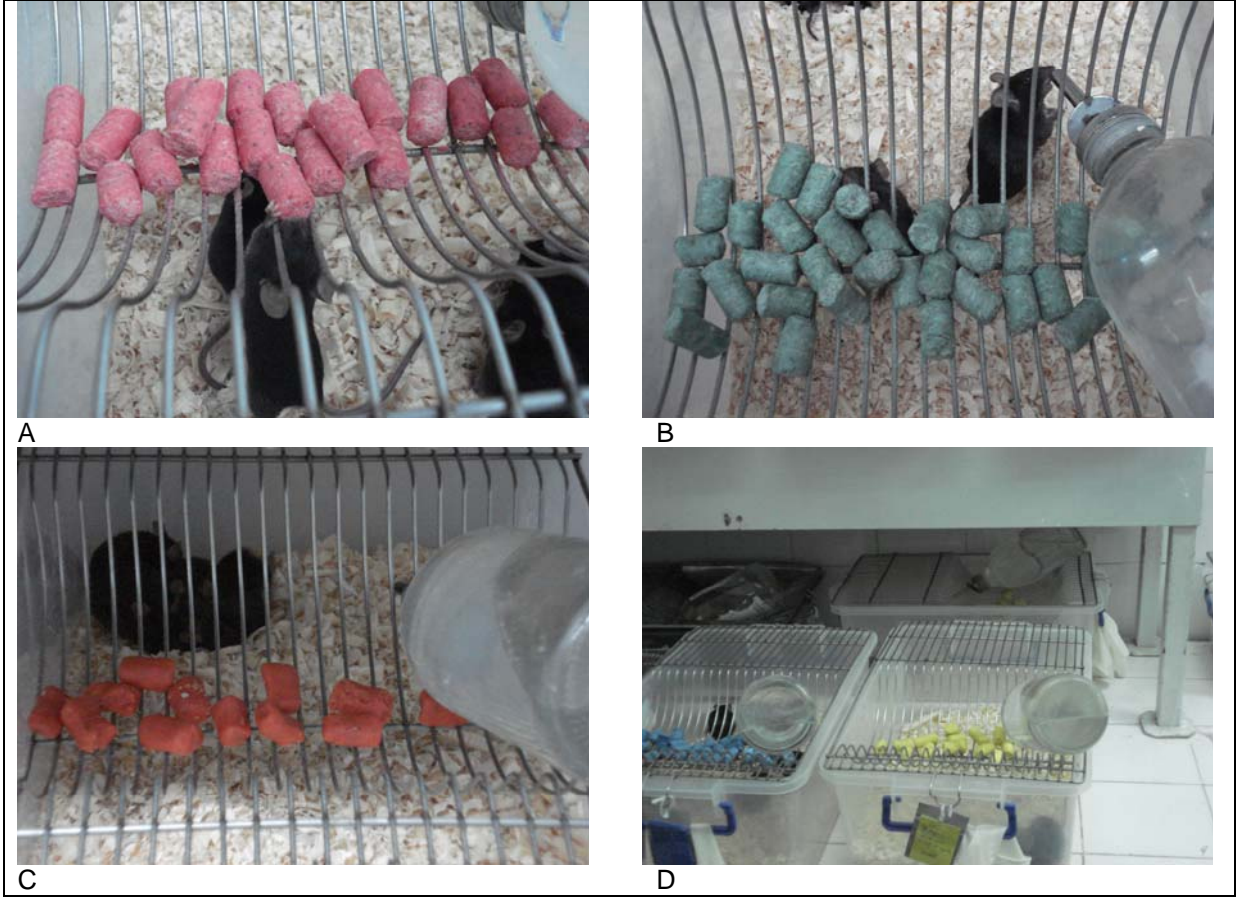
Çalışmada Purina® (Amerika) Firmasının Laboratuvar Test Diet® bölümünce özel olarak formüle edilmiş, yağ ve kolesterol oranları birbirinden farklı beş ayrı yem\* kullanıldı. Pelet formunda olan yemler, karışımlarının önlenmesi için içeriklerine göre mavi, sarı, turuncu, yeşil ve pembe renklerde hazırlandı (Şekil-1). Hayvanlar bu özel yemlerle 11 hafta süresince *ad libitum* olarak beslendi ve her zaman taze içme suları bulundu. Farelerin her türlü bakım, temizlik ve besleme işlemleri tek bir kişi tarafından (A.A.) yürütüldü ve odaya başka kişilerin girmesine izin verilmedi.

### Çalışma Grupları

Fareler çalışmanın başlangıcında 11 hafta boyunca beslenecekleri yemlere göre 5 gruba ayrıldılar. Grupların oluşturulduğu ve gruplara verilen yemlerin içerikleri şu şekildedir:

---

\* Çalışmada kullanılan yemlerin açık formülü ekler bölümünde verilmiştir.



**Şekil-1** Farklı deney gruplarında yemler.

- A** Düşük yağ sıfır kolesterol (DYSK) içeren pembe yem ile beslenen C57BL/6 ırkı fareler.
- B** Düşük yağ yüksek kolesterol (DYYK) içeren yeşil yem ile beslenen C57BL/6 ırkı fareler.
- C** Yüksek yağ sıfır kolesterol (YYSK) içeren turuncu yem ile beslenen C57BL/6 ırkı fareler.
- D** Yüksek yağ yüksek kolesterol (YYSK) içeren sarı yem ve normal yağ normal kolesterol (NYNK) içeren mavi yem ile beslenen C57BL/6 ırkı fareler.

### **NYNK Grubu (Normal Yağ ve Normal Kolesterolü Yem Grubu)**

Bu grupta 60 adet fare yer aldı. Fareler 11 hafta süresince normal oranda yağ (% 10) ve normal oranda kolesterol (48 ppm) içeren fare bazal kontrol diyeti [ *Purina® (USA) Laboratuvar Test Diet® Katalog No: 1811243, Code: 5TYD, Renk: Mavi* ] ile beslendiler.

### **YYK Grubu (Yüksek Yağlı ve Yüksek Kolesterolü Yem Grubu)**

Bu grupta 45 adet fare yer aldı. Fareler 11 hafta süresince yüksek oranda yağ (% 34.9) ve yüksek oranda kolesterol (225 ppm) içeren fare test diyeti [ *Purina® (USA) Laboratuvar Test Diet® Katalog No:1811240 Code: 5TYA, Renk: Sarı* ] ile beslendiler.

### **YYSK Grubu (Yüksek Yağlı ve Sıfır Kolesterolü Yem Grubu)**

Bu grupta 45 adet fare yer aldı. Fareler 11 hafta süresince yüksek oranda yağ içeren (% 34.9), sıfır kolesterolü (0 ppm) fare test diyeti [ *Purina® (USA) Laboratuvar Test Diet® Katalog No:1811241 Code: 5TYB, Renk: Turuncu* ] ile beslendiler.

### **DYYK Grubu (Düşük Yağlı ve Yüksek Kolesterolü Yem Grubu)**

Bu grupta 45 adet fare yer aldı. Fareler 11 hafta süresince çok düşük oranda yağ (% 4.3) ve yüksek oranda kolesterol (225 ppm) içeren fare test diyeti [ *Purina® (USA) Laboratuvar Test Diet® Katalog No:1811244 Code: 5TYE, Renk: Yeşil* ] ile beslendiler.

### **DYSK Grubu (Düşük Yağlı ve Sıfır Kolesterolü Yem Grubu)**

Bu grupta 45 adet fare yer aldı. Fareler 11 hafta süresince çok düşük oranda yağ içeren (% 4.3) ve kolesterolsüz (0 ppm) fare test diyeti [ *Purina® (USA) Laboratuvar Test Diet® Katalog No:1811242 Code: 5TYC, Renk: Pembe* ] ile beslendiler.

## **ÇALIŞMA TAKVİMİ VE FARELERE UYGULANAN İŞLEMLER**

### **Çalışmanın I. Aşaması**

Fareler TÜBİTAK-GMBAE laboratuvarlarından temin edildikten sonra buldukları ortama alışmaları için 1 haftalık bir uyum süreci uygulandı, bu esnada tüm fareler fare bazal kontrol diyetiyle (NYNK) beslendi. Bir haftalık uyum sürecini takiben fareler yukarıda bildirildiği şekilde yem gruplarına ayrılarak her bir grup 4 hafta boyunca “çalışma grupları” başlığı altında açıklandığı şekilde beslemeye tabii tutuldu. Dördüncü haftanın sonunda, gruplara uygulanan farklı beslenmeden doğan kan ve doku değerlerindeki değişikliklerin

belirlenmesi amacıyla her gruptan rastgele örnekleme yöntemiyle seçilen 15'er fareden kan ve doku örnekleri alındı. Çalışmanın bu aşaması ile aynı zamanda deneme gruplarına karşı kontrol verileri de elde edilmiş oldu ve elde edilen değerler her bir yem grubu için "Kontrol Değerleri" olarak kabul edildi.

### **Çalışmanın II. Aşaması**

Deneyin sonraki aşamasında tüm gruplardaki 30'ar farede sistemik AA amiloidozis oluşturmak amacı ile Complete Freund's Adjuvant-kazein emülsiyonu 0.3 ml intraperitoneal olarak uygulandı. Enjeksiyonlar 5. ve 7. haftanın başında olmak üzere iki kez uygulandı. Negatif kontrol grubunu oluşturması amacıyla NYNK grubunda kalan 15 fareye ise eş zamanlı olarak % 0.9'luk NaCl (Eczacıbaşı, Türkiye) solüsyonu yine iki kez olmak üzere 0.3 ml intraperitoneal uygulandı. Tüm fareler 11. haftanın sonuna kadar kendi gruplarına ait yemlerle beslenmeye devam ettiler ve 11. haftanın sonunda çalışma sonlandırıldı. Kan örnekleri alındıktan sonra doku örnekleri toplandı. Çalışmanın II. aşamasında Complete Freund's Adjuvant - kazein emülsiyonu enjekte edilen farelerden elde edilen değerler her bir yem grubu için "Deneme Grubu Değerleri" olarak kabul edildi.

### **Complete Freund's Adjuvant-Kazein Emülsiyonu**

Eşit miktarda steril Complete Freund's Adjuvant (CFA) (Sigma, F5881-10X, USA) ve PBS (Phosphate Buffered Saline) karıştırıldı. Karışıma 8 mg/ml oranında olacak şekilde toz kazein (Merck, 218680, Almanya) katıldı ve biyolojik emniyet kabini ( Fagus marka) altında homojen bir karışım elde edilinceye kadar karıştırıldı ve steril enjektörlere 0.3 ml çekildi (112).

### **% 0.9'luk NaCl Solüsyonu**

Eczacıbaşı firmasının steril ürünü olan 500 ml'lik % 0.9'luk NaCl solüsyonu kullanıldı.

### **Sterilizasyon**

Intraperitoneal olarak enjekte edilen solüsyonların hazırlanmasında kullanılan tüm malzemelerin sterilizasyonu için 1 atm basınç ve 120<sup>0</sup>C ısı üretebilen buharlı otoklav (Nüve, OT-12, Türkiye) kullanıldı. Enjekte edilen solüsyonlar ise biyolojik emniyet kabininde ultraviyole ışınları altında 30 dk süreyle sterilize edildi.

### **Anestezi, Sakrifikasyon, Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması**

Çalışmanın 4. ve 11. haftalarının sonunda farelerden kan ve doku örnekleri toplandı. Rahat ve ağrısız bir şekilde kan almak amacı ile farelere dietileter anestezisi uygulandı. Bu amaçla her bir farenin içerisine rahatlıkla sığabileceği ve tabanına 1 cm kalınlığında pamuk yerleştirilmiş kapaklı cam desikatör kullanıldı. Cam desikatör tabanında bulunan pamuğa yaklaşık 1 ml kadar dietileter (Merck, 100926, Almanya) döküldü ve fareler bu desikatörde ortalama 15-20 sn süreyle tek tek anestezide alındı. Anestezide giren farelerde kalpten kan alınarak EDTA (etilen diamin tetra asetik asiti)'li tüplere aktarıldı ve fareler henüz anestezide altında iken servikal dislokasyon ile ötenazi uygulandı. Nekropside karın boşluğu açılarak karaciğer, dalak ve böbrekler ile, karın bölgesi ve böbrek çevresi yağları çıkarılarak dokular tespit edildi.

### **Tartım İşlemleri**

Farklı beslemeden doğan gruplar arası farklılıkların saptanması amacıyla, 4. ve 11. haftaların sonunda farelerin önce canlı ağırlıkları kaydedildi. Daha sonra nekropsisi sırasında toplanan örneklerden karın bölgesi ile böbrek çevresi yağları ve karaciğer, böbrek, dalağın tartımları yapılarak her birinin canlı vücut ağırlığına oranları kaydedildi. Gerek canlı ağırlık, gerekse de organ tartımları dijital hassas terazi (AND, HL400, Japonya) ile yapıldı. Bunun dışında çalışma sırasında kullanılan kimyasal maddelerin tartımları da, dijital hassas terazide (Sartorius, BP-110S, Almanya) gerçekleştirildi.

### **Doku Örneklerinin İşlenmesi**

Yağ dokular % 4'lük paraformaldehit tespitine, karaciğer, böbrek ve dalak dokuları ise Bouin tespit solüsyonuna alındı (193-195). Tespit işlemi takiben, dokular rutin blokaj işlemlerinden geçirilerek parafin blokları hazırlandı. Takibinde mikrotomla (Leica, RM 2155, Almanya) 4-5 mikronluk kesitleri alındı. Karaciğer, dalak ve böbrekler amiloid birikimi açısından değerlendirilmek üzere, hematoksilin-eosin ve congo red ile boyandı, ayrıca amiloid A proteinlerine yönelik immunohistokimyasal boyama uygulandı. Epididimal ve böbrek çevresi yağları da amiloid A proteinlerine yönelik immunohistokimyasal boyamaya tabii tutuldu. Congo red pozitif boyanan sahalar ışık mikroskopunda (Olympus, CX41-32, CO2, Japonya) polarize filtre (Olympus, U-POT ve U-ANT, Japonya) altında amiloid açısından kontrol edildi. İmmunohistokimyasal metodla boyanmış olan preparatlardaki amiloid pozitif sahaların miktarı görüntülü analiz sistemi (Olympus, analySIS® LifeScience Series Sort Imaging System, Analysis Five SIS-LS Research, Japonya) ile skorlandı. Doku

takip, işleme ve boyama işlemlerinin hepsi Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı Rutin ve İmmunohistokimya Laboratuvarında yürütüldü.

### **Congo Red Boyama Protokolü**

Dokular amiloid varlığını gözlemlmek için kullanıma hazır ticari congo red kiti (Bios-Europe, PS21C, İngiltere) ile boyandı. Bu amaçla aşağıdaki aşamalar izlendi:

1. Kesitler deparafinizasyon işleminden geçirilerek, distile su aşamasına getirildi.
2. Nükleusların boyanması için kesitler Mayer hematoksilen (Bios Europe, Haemalum Mayer, PS21C, İngiltere) ile boyandı. % 1'lik asit alkol ile diferensiyeye edildikten sonra musluk suyunda mavi renk alıncaya kadar beklendi.
3. Çalışma solüsyonu-1 hazırlanarak, 20 dk beklendi. Çalışma solüsyonu-1 için 50 ml alkolik sodyum klorid (Bios Europe, PS21C, İngiltere) içerisine 0.5 ml sodyum hidroksit (Bios Europe, PS21C, İngiltere) ilave edildi. Bu çalışma solüsyonu hazırlandıktan sonra 15-20 dk içinde kullanıldı ve her seferinde taze olarak hazırlanmasına özen gösterildi.
4. Daha sonra kesitler congo red çalışma solüsyonu 2 ile 20 dk süresince boyandı. Çalışma Soluyonu 2 hazırlanırken 50 ml congo red solüsyonu (Bios Europe, PS21C, İngiltere) içerisine, 0.5 ml sodyum hidroksit ilave edildi.
5. Kesitler, % 80' lik alkol'den geçirildi.
6. Dehidrasyon aşamasından sonra kesitler ksilenden geçirilerek entellan (Merck, Almanya) ile kapatıldı.

### **İmmunohistokimya (IHC) Protokolü**

Dokulardaki Amiloid A komponent varlığı Streptavidin-Biotin Peroksidaz Yöntemi uygulanarak araştırıldı. Bu amaçla aşağıdaki aşamalar izlendi:

1. 5 µ' luk parafin kesitler polilizinli lama çekilerek, 37 °C'lik etüvde 1 gece bekletildi.
2. Deparafinizasyon işlemi için 2 defa 5'er dk süresince ksilole (Merck, Almanya) alınan kesitler daha sonra 2 kez 5'er dk süreyle % 70'lik alkol solüsyonlarından geçirildi.
3. Sitrat buffer (Scy Tek Laboratories, CBB500, USA) solüsyonu içerisine alınan kesitler, fare dokusu üzerinde boyama yapılacağı için, 1 atm basınçta 121 °C'de 15 dk Antijen Retrivil işlemine tabi tutuldu.
4. Sitrat buffer solüsyonundan çıkan dokuların etrafi antikorum dağılmaması için pap pen ile ( Immunotech, PNIM3580, Fransa) ile çizildi. İstenmeyen dokular bir tülbent bez yardımı ile kesitten uzaklaştırıldı.
5. Dokular bu işlemten sonra distile su içerisine alınarak 5 dk yıkandı.



6. Dokular Phosphate Buffered Saline (Scy Tek Laboratories, PBS 125, USA) içerisine alınarak 5 dk yıkandı.
7. Dokular üzerine bir pipet yardımı ile dokuyu kapatacak şekilde % 3'lük hidrojen peroksit blok (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) damlatılarak (Labvision, TA-125-HP, California, USA) 5 dk kaldıktan sonra PBS ile iki kez yıkandı.
8. Dokular üzerine bir pipet yardımı ile dokuyu kapatacak şekilde Rodent Block (Labvision, TA-125-RB, California, USA) dökülerek 30 dk beklendi. Süre sonunda solüsyon dökülerek PBS ile yıkamadan diğer aşamaya geçildi.
9. Primer antikor konup (Amyloid A Component Ab-1 (mcl), Labvision, 1 ml Konsantre, MS-1219-S, California, USA), primer antikor sulandırıcısı ile (Labvision, TA-125-UD, Fremont, USA ) ile 1 : 30 oranında dilue edilip, 1 gece 4 °C'de inkube edildi.
10. Doku üzerindeki antikorların giderilmesi için piset yardımı ile PBS solüsyonu ile yıkandı. Takiben 5 dk PBS solüsyonu içerisinde bırakıldı.
11. Bundan sonraki aşamalarda HRP kit olarak (Ultravision, Polyvalent, Rabbit- mouse HRP Kit, Labvision, TA-060-HD, Fremont, USA) kullanıldı. Dokular üzerine sekonder antikor (Biotinylated Goat Anti-Polyvalent, Labvision, TP-125-BN, California, USA) damlatılarak kapalı ve nemli ortamda 15 dk beklendi.
12. Dokular PBS ile yıkandıktan sonra tekrar PBS solüsyonu içerisine alınıp 5 dk yıkandı.
13. Dokular üzerine Streptavidin-Peroksidaz (Labvision, TS-125-HR, California, USA) damlatılarak 15 dk süreyle oda ısısında bekletildi.
14. Dokular PBS ile yıkandıktan sonra tekrar PBS solüsyonu içerisine alınıp 5 dk yıkandı.
15. Dokular üzerine DAB kromojen (Labvision, TA-125-HD, California, USA) 50 µl DAB damlatılarak 1 ml substrat (Labvision, TA-25-HDS, California, USA) ile sulandırıldı ve 5 dk oda ısısında beklendi.
16. Dokular PBS ile yıkandıktan sonra tekrar PBS solüsyonu içerisine alınıp 5 dk yıkandı.
17. Dokular mayer hematoksilen'de (Vector Laboratories, H-3404, Burlingame, USA) 2 dk boyandı.
18. Akan su altında 5 dk yıkandı.
19. Immunmount (Vector Laboratories, H-5000, Amsterdam) ile kapatıldı.

### **Preparatların İncelenmesi**

Hematoksilen-Eosin, congo red ve immunohistokimyasal yöntemler ile boyanmış dalak, böbrek, karaciğer ve yağ dokuya ait preparatlar fotoğraf makinesi (Olympus, E330, Japonya ) ataçmanlı ışık mikroskobu (Olympus, CX41-32 CO2, Japonya) ile incelendi. Congo

red ile boyanmış preparatlarda amiloid varlığı polarize filtre (Olympus, U-POT ve U-ANT, Japonya) ile arandı.

### **Dokulardaki Amiloid Birikimlerinin Skorlanması**

Amiloid birikimleri öncelikle dalakta şekillenmeye başladığı ve diğer organlarla kıyaslandığında en şiddetli birikimler dalakta gözlemlendiği için tüm hayvanlarda sadece dalaklar skorlanmıştır. Bu amaçla immunohistokimyasal boyama sonucunda amiloid pozitif olduğu tespit edilen dalak kesitlerinden, toplamı tüm dalak kesidini içerecek şekilde x10 luk objektif altında 3 ayrı bölgeden birer mikroskopik fotoğraf dijital kamera ile çekildi. Daha sonra bu fotoğraflar bilgisayar (Casper, Alfa Force CFS 3000-/884F) ortamında görüntülü analiz sistemi (Olympus, analySIS® LifeScience Series Sort Imaging System, Japonya) kullanılarak skorlandı.

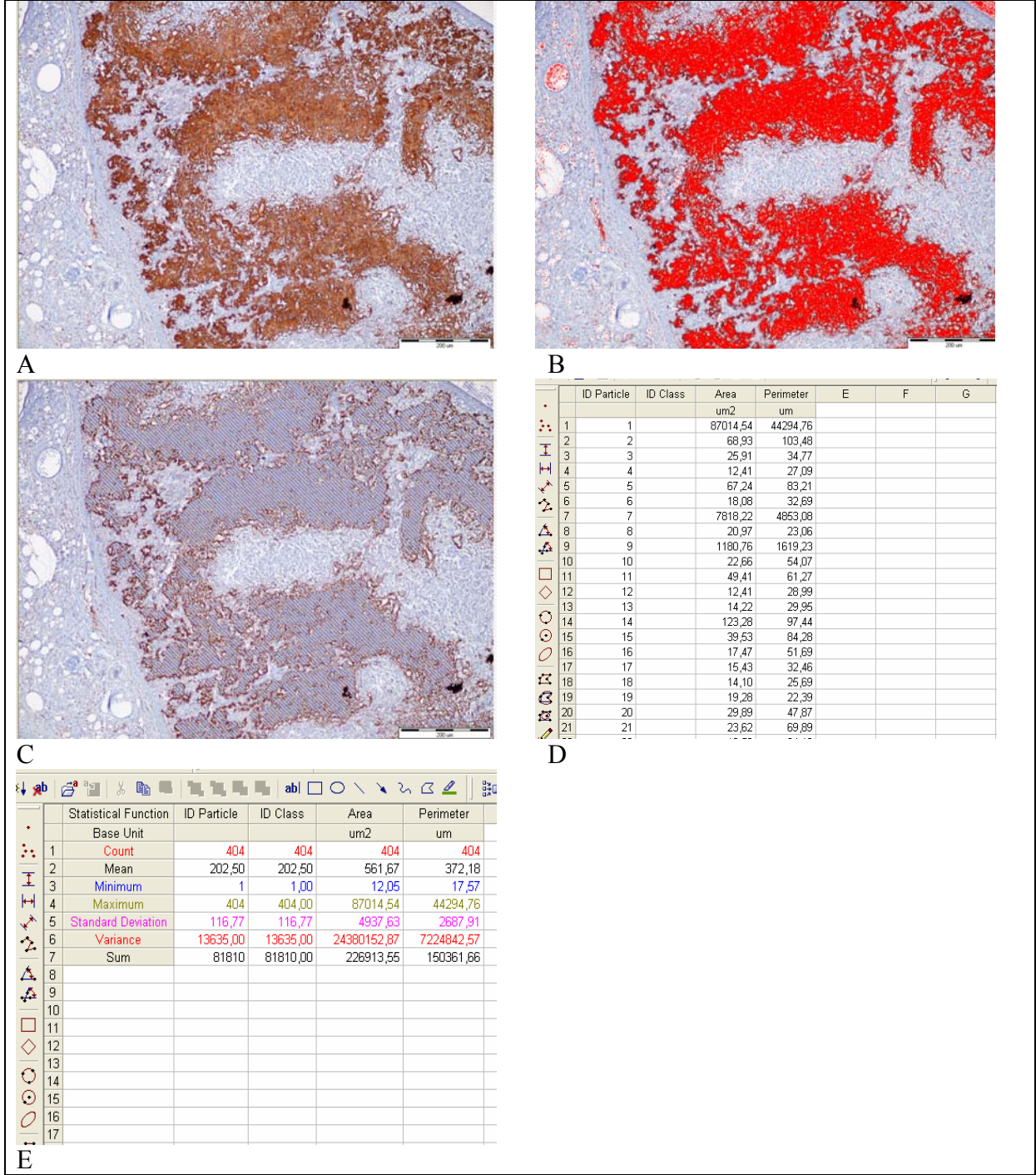
Bunun için; her bir fotoğrafta DAB (3,3' diaminobenzidin) ile kahverengi boyanmış amiloid pozitif sahalar görüntülü analiz sistemi ile otomatik olarak işaretlendi ve bu sahaların kapladığı alan sayısal bir değer olarak (mikrometre kare  $-\mu\text{m}^2$ ) program tarafından okundu. Bu değerler excell tablosunda kayıt edildi. Daha sonra bir preparat için okunmuş olan üç farklı bölgeye ait sayısal değerler toplanarak o preparatın toplam skor değerine ulaşılmış oldu (Şekil-2). Tüm grupların skorlama sonuçları ve gruplar arası farklılıkların önemi istatistiki olarak değerlendirildi.

### **KAN ANALİZLERİ**

Çalışma sonunda EDTA'lı tüplere alınan minimum 0.5 ml miktarındaki kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dk santrifüje (Hettich ,EBA 21, Almanya) edilerek plazmaları ayrıldı. Plazma biyokimyasal analizler ve diğer parametrelerin ölçümleri için derin dondurucuda -20 °C' de analiz gününe kadar saklandı. Plazmada total lipit, trigliserit, kolesterol, HDL kolesterol ve LDL kolesterol konsantrasyonları spektrofotometrik olarak (Schimadzu, UV-1601, Japonya), SAA, IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  düzeyleri ise hazır kitler kullanılarak ELISA (Biotek, EL x 808, USA) yöntemiyle ölçüldü. Ölçümler Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalı Laboratuvarı'nda ve Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Seroloji Laboratuvarı'nda yapıldı.

#### **1. Plazma Total Lipit Ölçümü**

Plazma total lipit konsantrasyonu, total lipit kiti (Teco Diagnostics, T526-480, USA) kullanılarak spektrofotometrede ölçüldü.



**Şekil-2** Görüntülü analiz sistemi tarafından preparatların skorlanması.

**A** Dijital kamera ile çekilmiş mikroskopik fotoğrafın görüntülü analiz sistemi tarafından çağırılması.

**B** DAB ile Amiloid pozitif boyanmış sahaların görüntülü analiz sistemi ile otomatik olarak işaretlenmesi.

**C** Bu sahaların kapladığı alanın değer olarak program tarafından okunması.

**D** Alan hesaplamalarının excell tablosuna kayıt edilmesi.

**E** Skorlama sonucunun toplanması.

## **2. Plazma Trigliserit Ölçümü**

Plazmada trigliserit konsantrasyonu, trigliserit kiti (Biolabo, REF 80219, Fransa) kullanılarak spektrofotometrede ölçüldü.

## **3. Plazma Kolesterol Ölçümü**

Plazmada kolesterol konsantrasyonu, kolesterol kiti (Biolabo, REF 80106, Fransa) kullanılarak spektrofotometrede ölçüldü.

## **4. Plazma HDL kolesterol Ölçümü**

Plazmada HDL kolesterol konsantrasyonu, HDL kolesterol kiti (Biolabo, REF 90406, Fransa) kullanılarak spektrofotometrede ölçüldü.

## **5. Plazma LDL kolesterol Ölçümü**

Plazmada LDL kolesterol konsantrasyonu, LDL kolesterol kiti (Biolabo, REF 90816, Fransa) kullanılarak spektrofotometrede ölçüldü.

## **6. SAA Ölçümü**

SAA düzeyi, fare amiloid A düzeylerini non-radyoaktif ölçmek için geliştirilmiş fare amiloid A kiti (Biosource, KMA0012, USA) kullanılarak ELISA ile belirlendi. Bu amaçla aşağıdaki aşamalar izlendi:

1. Numunelerin sulandırılması yapıldıktan sonra bütün kuyucuklara 50 µl konjuge anti-mouse amiloid A ilave edildi. Bunu takiben 50 µl sulandırılmış numune ve standartlar ilgili kuyucuklara ilave edildi. Pleyt hafifçe karıştırıldı (İlk kuyucuk kromojen blenk olarak ayrıldı bu kuyucuğa sadece 100 µl TMB solüsyonu ve 100 µl stop solüsyonu koyuldu).
2. Pleyt kapatılarak 37 °C'de 1 saat inkube edildi.
3. Solüsyon kuyucuklardan aspire edildi.
4. Pleyt çalışma yıkama tamponu kullanılarak ELISA yıkayıcı ile 3 kez yıkandı.
5. Her kuyucuğa 100 µl TMB solüsyonu ilave edildi.
6. Pleyt kapatılarak oda ısısında 15 dk inkube edildi.
7. Her kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu ilave edildi.
8. Absorbans pleyt okuyucu ile kromojen blenke karşı 450 nm' de okundu. Sonuçlar cihaz tarafından çizilen standart eğriden yine cihaz tarafından otomatik olarak hesaplanarak elde edildi.

## **7. Plazma IL-1β Ölçümü**

Plazma IL-1β düzeyi, fare IL-1β düzeylerini non-radyoaktif ölçmek için geliştirilmiş fare IL-1β kiti (Biosource, KMC0012, USA ) kullanılarak ELISA ile belirlendi. Bu amaçla aşağıdaki aşamalar izlendi:

1. 50 µl standart, numune ve kontroller ilgili kuyucuklara ilave edildi.

2. Kromojen blenk hariç her kuyucuğa 50 µl biyotinlenmiş anti IL-1β solüsyonu ilave edildi. İlk kuyucuk kromojen blenk olarak ayrıldı, bu kuyucuğa sadece 100 µl stabilize kromojen solüsyonu ve 100 µl stop solüsyonu koyuldu.
3. Pleyt hafifçe karıştırılarak kapatıldı ve 37 °C'de 1.5 saat inkube edildi.
4. Aspire edildi ve ELISA yıkayıcı kullanarak 4 kez yıkandı.
5. Kromojen blenk hariç her kuyucuğa 100 µl streptavidin-HRP çalışma solüsyonu ilave edildi.
6. Pleyt kapatılarak oda ısısında 30 dk inkube edildi.
7. Aspire edildi ve ELISA yıkayıcı ile 4 kez yıkandı.
8. Her kuyucuğa 100 µl stabilize kromojen ilave edildi ve renk maviye döndü.
9. 30 dk oda ısısında ve karanlıkta inkube edildi.
10. Her kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu ilave edildi ve renk maviden sarıya döndü.
11. Absorbans pleyt okuyucu ile kromojen blenke karşı 450 nm'de okundu. Sonuçlar cihaz tarafından çizilen standart eğriden yine cihaz tarafından otomatik olarak hesaplanarak elde edildi.

### **8- Plazma IL-6 Ölçümü**

Plazma IL-6 düzeyi, fare IL-6 düzeylerini non-radyoaktif ölçmek için geliştirilmiş fare IL-6 kiti (Biosource, KMC0062, ABD) kullanılarak ELISA ile belirlendi. Bu amaçla aşağıdaki aşamalar izlendi:

1. Uygun kuyucuklara 100 µl hazırlanan standart solüsyonlarından ve kontrollerden konuldu.
2. Numunelerin konulacağı kuyucuklara 50 µl standart sulandırıcı tampon ilave edildi. Bunu takiben 50 µl numune ilgili kuyucuklara eklendi. Pleyt hafifçe karıştırıldı (İlk kuyucuk kromojen blenk olarak ayrıldı bu kuyucuğa sadece 100 µl stabilize kromojen solüsyonu ve 100 µl stop solüsyonu konuldu).
3. Pleyt kapatıldı ve oda ısısında 2 saat inkube edildi.
4. Aspire edildi ve ELISA yıkayıcı kullanarak 4 kez yıkandı.
5. Kromojen blenk hariç her kuyucuğa 100 µl biyotinlenmiş anti IL-6 solüsyonu ilave edildi.
6. Pleyt kapatılarak oda ısısında 30 dk inkube edildi.
7. Aspire edildi ve ELISA yıkayıcı ile 4 kez yıkandı.
8. Kromojen blenk hariç her kuyucuğa 100 µl streptavidin-HRP çalışma solüsyonu ilave edildi.
9. Pleyt kapatılarak oda ısısında 30 dk inkube edildi.
10. Aspire edildi ve ELISA yıkayıcı ile 4 kez yıkandı.
11. Her kuyucuğa 100 µl stabilize kromojen ilave edildi ve renk maviye döndü.

12. 30 dk oda ısısında ve karanlıkta inkube edildi.

13. Her kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu ilave edildi ve renk maviden sarıya döndü.

14. Absorbans pleyt okuyucu ile kromojen blenke karşı 450 nm’de okundu. Sonuçlar cihaz tarafından çizilen standart eğriden yine cihaz tarafından otomatik olarak hesaplanarak elde edildi.

### **9. Plazma TNF- $\alpha$ Ölçümü**

Plazma TNF- $\alpha$  düzeyi, fare TNF- $\alpha$  düzeylerini non-radyoaktif ölçmek için geliştirilmiş fare TNF- $\alpha$  kiti (Biosource, KMC3012, USA) kullanılarak ELISA ile belirlendi. Bu amaçla aşağıdaki aşamalar izlendi:

1. Uygun kuyucuklara 100 µl hazırlanan standart solüsyonlarından konuldu.

2. Numunelerin konulacağı kuyucuklara 50 µl inkubasyon tamponu ilave edildi. Bunu takiben 50 µl numune ilgili kuyucuklara ilave edildi. Pleyt hafifçe karıştırıldı. (İlk kuyucuk kromojen blenk olarak ayrıldı, bu kuyucuğa sadece 100 µl stabilize kromojen solüsyonu ve 100 µl stop solüsyonu konuldu).

3. Yüksek ve düşük kontrolden 100 µl ilgili kuyucuklara ilave edildi.

4. Kromojen blenk hariç her kuyucuğa biyotinlenmiş anti-TNF- $\alpha$  solüsyonundan ilave edildi ve karıştırıldı.

5. Pleyt kapatıldı ve oda ısısında 90 dk inkube edildi.

6. Aspire edildi ve ELISA yıkayıcı kullanarak 4 kez yıkandı.

7. Kromojen blenk hariç her kuyucuğa 100 µl streptavidin-HRP çalışma solüsyonu ilave edildi.

8. Pleyt kapatılarak oda ısısında 30 dk inkube edildi.

9. Aspire edildi ve ELISA yıkayıcı ile 4 kez yıkandı.

10. Her kuyucuğa 100 µl stabilize kromojen ilave edildi ve renk maviye döndü.

11. 30 dk oda ısısında ve karanlıkta inkube edildi.

12. Her kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu ilave edildi ve renk maviden sarıya döndü.

13. Absorbans pleyt okuyucu ile kromojen blenke karşı 450 nm’de okundu. Sonuçlar cihaz tarafından çizilen standart eğriden yine cihaz tarafından otomatik olarak hesaplanarak elde edildi.

### **İstatistiksel Değerlendirme**

Dokulardaki amiloid birikim şiddetinin gruplara göre dağılımı ve organ ağırlık oranlarının gruplara göre dağılımının istatistiki değerlerinin saptanmasında; SPSS 13.0 for

Windows ( Release 13.0, Copyright © SPSS Inc, The Apache Software Foundation, 1989-2004) programı kullanıldı.

Gruplar arası farklılıkları belirlemek amacı ile tek yönlü varyans analizi yapıldı. Varyans analiz sonuçlarına göre istatistiki düzeyde önem bulunması halinde hangi gruplar arasındaki farkın önemli olduğunu belirlemek amacı ile de Tukey Gerçek Önemli Fark testi yapıldı.  $P < 0,05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Organlardaki amiloid oluşum oranlarına ilişkin verilerin istatistik analizlerinde; Graph Pad Instat (Graph Pad Instat tm Copyright © 1990-1993 GraphPad Software V2.02 Dr. Granger, LSU Medical Center, 931521S ) programından yararlanılarak Khi-kare ve Fischer kesin Khi kare testleri yapıldı.

Plazma değerlerinin gruplara göre dağılımına ilişkin verilerin istatistik analizlerinde; Graph Pad Instat paket istatistik programından yararlanılarak Kruskall Wallis ve Dunn's çoklu karşılaştırma testi uygulandı. Bu diyetlerin farklı sürelerde (4 ve 10 hafta) uygulanmasının farelerin plazma değerleri üzerine etkisini ortaya koymak amacı ile SPSS 13.0 for Windows programından yararlanılarak Wilcoxon İşaret testi yapıldı. Her bir diyet grubunun plazma değerlerinin birbirileri arasındaki ilişkisini ortaya koymak amacı ile Pearson's Korelasyon testi uygulandı. Korelasyon katsayılarının önem kontrolü t testi ile yapıldı.

### **Etik Kurul İzni ve Deney Hayvanı Kullanma Sertifikası**

Bu çalışmada deney hayvanı kullanılması ve deney hayvanları üzerinde belirtilen deneysel işlemlerin yapılabilmesi için Uludağ Üniversitesi Hayvan Bakım ve Kullanım Komitesinin 29.12.2005 tarih ve 2 sayılı kararı ile onay alınmıştır. Deney hayvanları üzerinde deneysel muameleler Deney Hayvanı Kullanımı ve Bakımı Sertifikasyonuna sahip bir araştırmacı (A.A.) (Sertifika No: 2004/42) tarafından yürütülmüştür.

## BULGULAR

### 1. PLAZMA BULGULARI

#### 1.1 Çalışmanın I. Aşamasına Ait Plazma Bulguları

Farklı oranda yağ ve kolesterol içeren yemlerle kontrol gruplarına uygulanan 4 haftalık besi sonunda elde edilen SAA ve plazma sitokin değerleri Tablo-1 ile Şekil-3, 4, 5 ve 6'da verilmiştir.

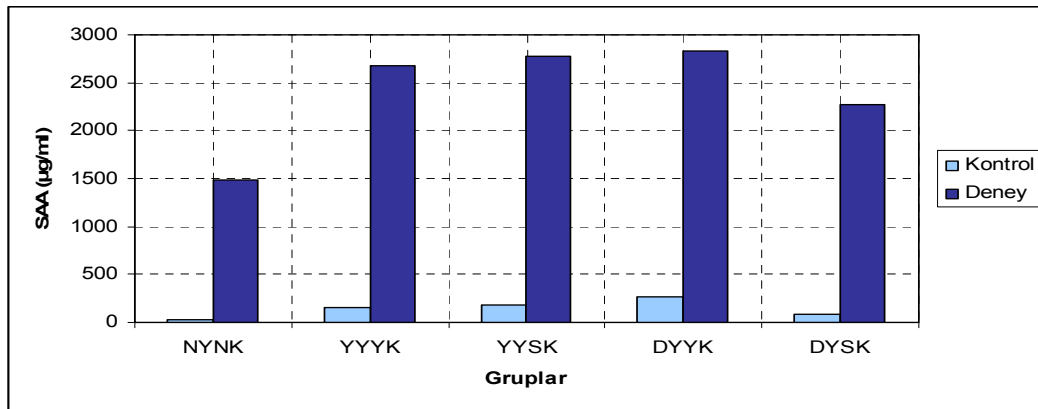
Elde edilen sonuçlara göre; yüksek yağ ve/veya yüksek kolesterol içeren gruplarda SAA değerleri anlamlı olarak yükselmiştir (Tablo-1, Şekil-3).

**Tablo-1** Kontrol farelerinde yem gruplarına göre SAA ve plazma sitokin değerleri (n=15)

Plazma Değerleri	YEM GRUPLARI*				
	Kontrol NYNK	Kontrol YYYYK	Kontrol YYSK	Kontrol DYYK	Kontrol DYSK
	X ± S.E.	X ± S.E.	X ± S.E.	X ± S.E.	X ± S.E.
SAA (µg/ml)	24.4±4.5	148.3±50.6	182±57*	260.2±87.4**	79.7±24.8
TNF-α (pg/ml)	5.5±1.0	4.7±0.8	6.4±1.5	7.9±1.5	7.7±1.4
IL-1 β (pg/ml)	10.6±1.0	11.3±4.6	10±0.7	8±0.8	11.4±1.4
IL-6 (pg/ml)	4.2±0.4	7.5±3.0	7.7±2.9	4.1±0.4	4.2±0.4

\* (p< 0.05) \*\* (p< 0.01) Kruskal Wallis ve Dunn's çoklu karşılaştırma testi.

\* NYNK: Normal yağ-normal kolesterol, YYYYK: Yüksek yağ-yüksek kolesterol, YYSK: Yüksek yağ-sıfır kolesterol, DYYK: Düşük yağ-yüksek kolesterol, DYSK: Düşük yağ-sıfır kolesterol

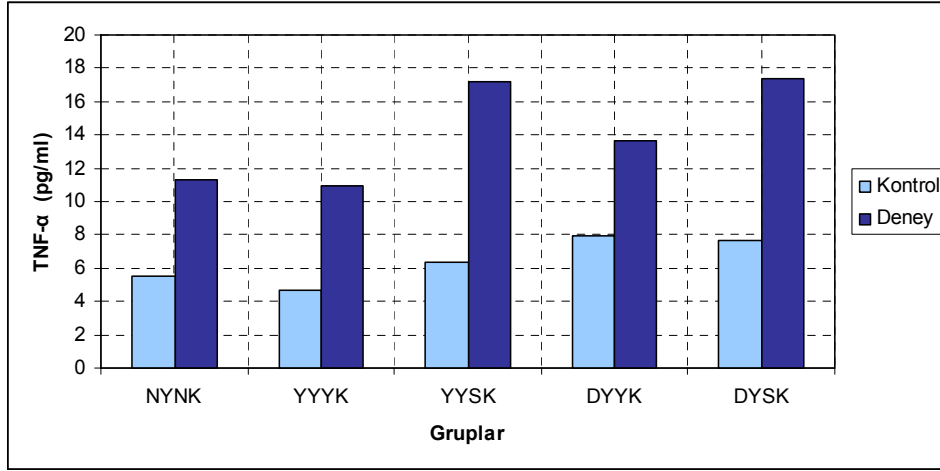


**Şekil-3** Kontrol ve deneme farelerinde yem gruplarına göre SAA düzeyleri (n=15)

\* NYNK: Normal yağ-normal kolesterol, YYYYK: Yüksek yağ-yüksek kolesterol, YYSK: Yüksek yağ-sıfır kolesterol, DYYK: Düşük yağ-yüksek kolesterol, DYSK: Düşük yağ-sıfır kolesterol

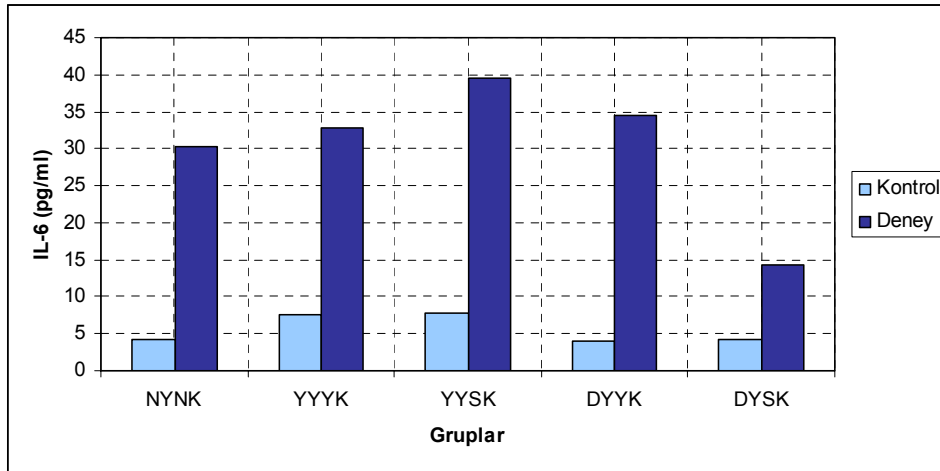


Kontrol farelerinden düşük yağ gruplarında TNF- $\alpha$  değerlerinde ve yüksek yağ gruplarında ise IL-6 değerlerinde hafif yükselmeler dikkati çekmiş ancak bunlar anlamlı bulunmamıştır. IL-1 $\beta$  düzeylerinde ise farklılık gözlenmemiştir (Tablo-1, Şekil-4, 5, 6).



**Şekil-4** Kontrol ve deneme farelerinde yem gruplarına göre TNF- $\alpha$  düzeyleri (n=15)

\* NYNK: Normal yağ-normal kolesterol, YYYY: Yüksek yağ-yüksek kolesterol, YYSK: Yüksek yağ-sıfır kolesterol, DYYK: Düşük yağ-yüksek kolesterol, DYSK: Düşük yağ-sıfır kolesterol



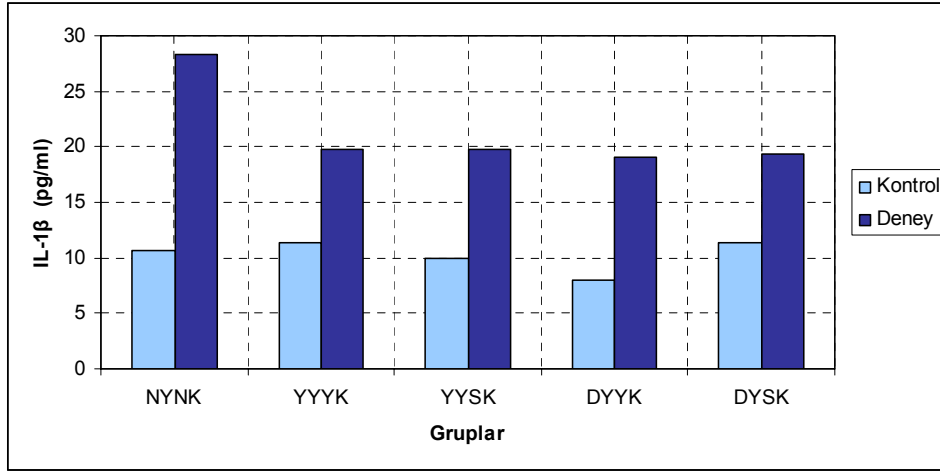
**Şekil-5** Kontrol ve deneme farelerinde yem gruplarına göre IL-6 düzeyleri (n=15)

\* NYNK: Normal yağ-normal kolesterol, YYYY: Yüksek yağ-yüksek kolesterol, YYSK: Yüksek yağ-sıfır kolesterol, DYYK: Düşük yağ-yüksek kolesterol, DYSK: Düşük yağ-sıfır kolesterol

Farklı oranda yağ ve kolesterol içeren yemler ile kontrol gruplarına uygulanan 4 haftalık besi sonunda elde edilen plazma lipid değerleri Tablo-2 ve Şekil-7'de verilmiştir.

Yağ ve kolesterolün yüksek olduğu YYYY grubunda plazma total lipid, trigliserit, HDL-kolesterol ve LDL- kolesterol değerlerinde anlamlı ( $p < 0.05$ ) artışlar gözlenirken, yağın ve kolesterolün kısıtlandığı DYSK grubunda plazmadaki trigliserit, kolesterol, HDL-

kolesterol ve LDL-kolesterol değerlerinde anlamlı ( $p < 0.05$ ) düşüşler saptanmıştır (Tablo-2, Şekil-7).



**Şekil-6** Kontrol ve deneme farelerinde yem gruplarına göre IL-1 $\beta$  düzeyleri (n=15)

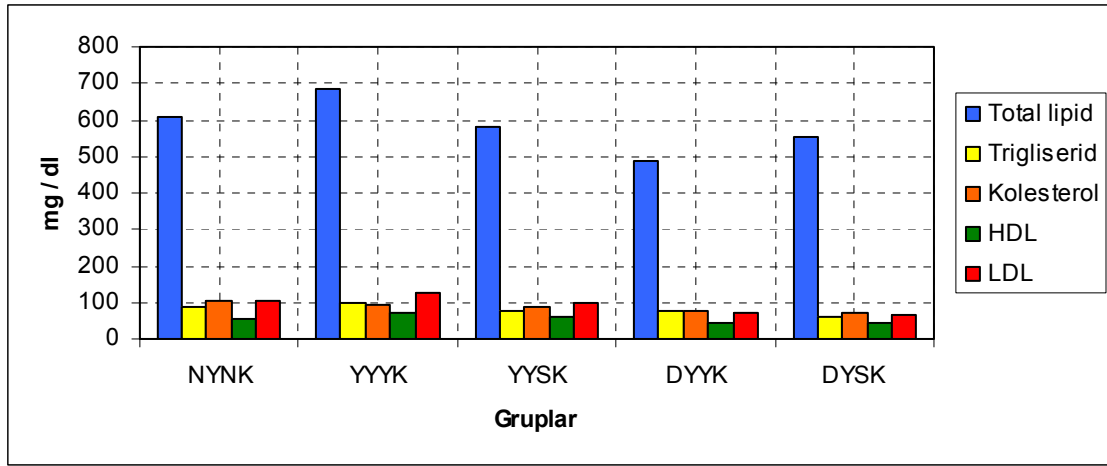
\* NYNK: Normal yağ-normal kolesterol, YYYY: Yüksek yağ-yüksek kolesterol, YYSK: Yüksek yağ-sıfır kolesterol, DYYK: Düşük yağ-yüksek kolesterol, DYSK: Düşük yağ-sıfır kolesterol

**Tablo-2** Kontrol farelerinde yem gruplarına göre plazma lipit değerleri (n=15)

Plazma Değerleri	YEM GRUPLARI*				
	Kontrol NYNK	Kontrol YYYY	Kontrol YYSK	Kontrol DYYK	Kontrol DYSK
	X $\pm$ S.E.	X $\pm$ S.E.	X $\pm$ S.E.	X $\pm$ S.E.	X $\pm$ S.E.
<b>Total Lipid (mg/dl)</b>	609.7 $\pm$ 35.4 <sup>ab</sup>	684.2 $\pm$ 38.3 <sup>a</sup>	581 $\pm$ 34.7 <sup>ab</sup>	489.6 $\pm$ 30.8 <sup>b</sup>	554.6 $\pm$ 23.6 <sup>ab</sup>
<b>Trigliserid (mg/dl)</b>	89.9 $\pm$ 10.9 <sup>ab</sup>	96.2 $\pm$ 9.4 <sup>a</sup>	75.4 $\pm$ 6.3 <sup>ab</sup>	75.4 $\pm$ 8.6 <sup>ab</sup>	59.1 $\pm$ 5 <sup>b</sup>
<b>Kolesterol (mg/dl)</b>	101.4 $\pm$ 9.7 <sup>a</sup>	91.6 $\pm$ 4.5 <sup>ab</sup>	86.5 $\pm$ 2.9 <sup>abc</sup>	74.1 $\pm$ 3.9 <sup>bc</sup>	73.2 $\pm$ 2.8 <sup>c</sup>
<b>HDL-Kolesterol (pg/ml)</b>	54.3 $\pm$ 4.8 <sup>bc</sup>	70.8 $\pm$ 6 <sup>a</sup>	58.4 $\pm$ 2.4 <sup>ab</sup>	46.3 $\pm$ 1.8 <sup>bc</sup>	41.5 $\pm$ 1.8 <sup>c</sup>
<b>LDL-Kolesterol (mg/dl)</b>	101.9 $\pm$ 9.0 <sup>ab</sup>	126.2 $\pm$ 10.8 <sup>a</sup>	96.6 $\pm$ 10 <sup>ab</sup>	71.5 $\pm$ 10.2 <sup>b</sup>	64.6 $\pm$ 10.2 <sup>b</sup>

a - c: Aynı satırda değişik harfler ile gösterilen gruplar arasındaki farklar önemlidir ( $p < 0.05$ ). (Kruskall Wallis ve Dunn's çoklu karşılaştırma testi).

NYNK: Normal yağ-normal kolesterol, YYYY: Yüksek yağ-yüksek kolesterol, YYSK: Yüksek yağ-sıfır kolesterol, DYYK: Düşük yağ-yüksek kolesterol, DYSK: Düşük yağ-sıfır kolesterol



**Şekil-7** Kontrol farelerinde yem gruplarına göre plazma lipit değerleri (n=15)

\* NYNK: Normal yağ-normal kolesterol, YYYK: Yüksek yağ-yüksek kolesterol, YYSK: Yüksek yağ-sıfır kolesterol, DYYK: Düşük yağ-yüksek kolesterol, DYSK: Düşük yağ-sıfır kolesterol

## 2. Çalışmanın II. Aşamasına Ait Plazma Bulguları

Freund's adjuvant-kazein enjeksiyonu uygulanan farelere ait SAA, plazma sitokin ve plazma lipit değerlerinin incelenmesi sonucunda elde edilen değerler ve değerlerin gruplar arası karşılaştırması Tablo-3 ile Şekil-3, 4, 5 ve 6'da verilmiştir.

Buna göre; yüksek oranda yağ ve/veya kolesterol ile beslenen üç gruptaki SAA değerleri, yağ ve kolesterolü normal olan (NYNK) ve kısıtlanmış olan (DYSK) gruplara göre daha yüksek olmakla beraber, bu farklılık istatistiki olarak önemli bulunmamıştır (Tablo-3, Şekil-3).

TNF- $\alpha$  değerleri sıfır kolesterollü yem ile beslenen DYSK ve YYSK gruplarında artmış ve özellikle DYSK grubundaki artış, yağ ve kolesterolü yüksek yemle beslenen YYYK grubuna göre istatistiki önemde ( $p < 0.05$ ) bulunmuştur (Tablo-3, Şekil-4). IL-6 değerlerinde yüksek yağ ve/veya yüksek kolesterol içeren yemlerle beslenen sırasıyla YYSK, DYYK, YYYK gruplarında normal yem grubuna göre hafif artış gözlenmiş ancak anlamlı bulunmamıştır. Buna karşılık yağ ve kolesterolü kısıtlanmış olan DYSK grubunda IL-6 değerleri tüm diğer gruplara kıyasla önemli derecede ( $p < 0.05$ ) düşmüştür (Tablo-3, Şekil-5). Tüm deney gruplarında IL-1 $\beta$  değerlerinde normal yem grubuna kıyasla anlamlı bulunmayan aynı oranda düşüş gözlenmiştir (Tablo-3, Şekil-6).

**Tablo-3** Deneme farelerinde yem gruplarına göre SAA ve plazma sitokin değerleri (n=15)

Plazma Değerleri	YEM GRUPLARI				
	Deneme NYNK	Deneme YYYYK	Deneme YYSK	Deneme DYYK	Deneme DYSK
	X ± S.E.	X ± S.E.	X ± S.E.	X ± S.E.	X ± S.E.
SAA (µg/ml)	1490±432	2674±474	2778±744	2831±434	2270±518
TNF-α (pg/ml)	11.3±1.9 <sup>ab</sup>	10.9±2.7 <sup>b</sup>	17.2±2.9 <sup>ab</sup>	13.6±1.8 <sup>ab</sup>	17.4±1.6 <sup>a</sup>
IL-1 β (pg/ml)	28.3±9.6	19.8±6.3	19.8±5.4	19±5.3	19.3±4.2
IL-6 (pg/ml)	30.3±2.1 <sup>b</sup>	32.8±3.2 <sup>b</sup>	39.5±4.2 <sup>b</sup>	34.5±4.1 <sup>b</sup>	14.4±1.8 <sup>a</sup>

a - b: Aynı satırda değişik harfler ile gösterilen gruplar arasındaki farklar önemlidir (p< 0.05) (Kruskall Wallis ve Dunn's çoklu karşılaştırma testi).

NYNK: Normal yağ-normal kolesterol, YYYYK: Yüksek yağ-yüksek kolesterol, YYSK: Yüksek yağ-sıfır kolesterol, DYYK: Düşük yağ-yüksek kolesterol, DYSK: Düşük yağ-sıfır kolesterol

Freund's adjuvant-kazein enjeksiyonu uygulanan farelere ait plazma lipit değerlerinin yem gruplarına göre dağılımı Tablo- 4 ile Şekil- 8'de verilmektedir.

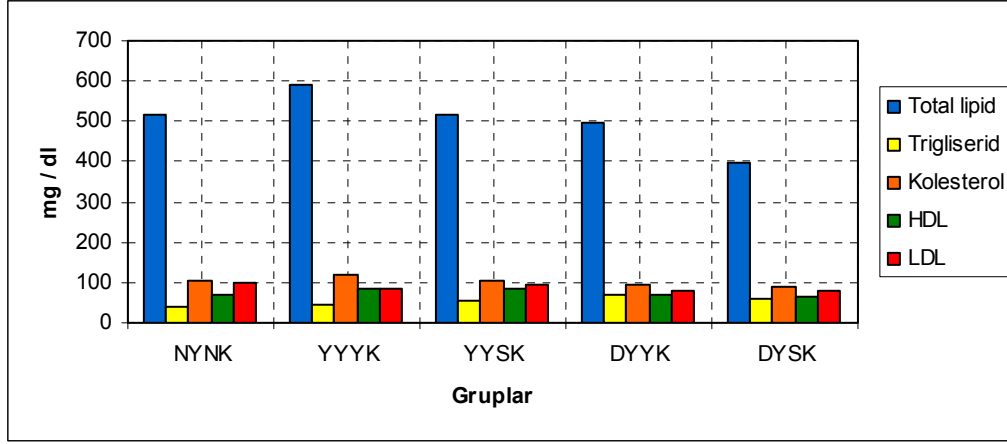
Yağ ve kolesterolün kısıtlandığı DYSK grubu total lipit değerleri tüm gruplardan düşüktür (p<0.05). Trigliserit değerleri düşük yağ gruplarında (DYYK ve DYSK) normal yem grubuna göre artmıştır (p<0.05).

**Tablo-4** Deneme grubu farelerde yem gruplarına göre plazma lipit değerleri (n=15)

Plazma Değerleri	YEM GRUPLARI				
	Deneme NYNK	Deneme YYYYK	Deneme YYSK	Deneme DYYK	Deneme DYSK
	X ± S.E.	X ± S.E.	X ± S.E.	X ± S.E.	X ± S.E.
Total Lipid (mg/dl)	516±36.5 <sup>b</sup>	590±32.1 <sup>b</sup>	515.7±28.9 <sup>b</sup>	498.8 ±13.1 <sup>b</sup>	395.3±18.8 <sup>a</sup>
Trigliserid (mg/dl)	39.4±6.8 <sup>a</sup>	42.9±4.1 <sup>ac</sup>	56.8±5.4 <sup>abc</sup>	67.8±5.9 <sup>b</sup>	59.7±3.4 <sup>bc</sup>
Kolesterol (mg/dl)	105.5±6.1 <sup>ab</sup>	119.4±11.2 <sup>b</sup>	102.9±7.2 <sup>ab</sup>	94.5±4.4 <sup>ab</sup>	88.7±5.3 <sup>a</sup>
HDL-Kolesterol (pg/ml)	71.9±5.8	82.5±4.9	82.1±5.2	67.9±3.1	67±2
LDL-Kolesterol (mg/dl)	97±10.9	85.3±7	93.4±9.4	77.7±9.8	77.8±7.6

a - c: Aynı satırda değişik harfler ile gösterilen gruplar arasındaki farklar önemlidir (p<0.05) (Kruskall Wallis ve Dunn's çoklu karşılaştırma testi )

Ayrıca DYYK grubunun trigliserit artışı YYYYK grubuna göre de anlamlıdır ( $p<0.05$ ). Bunun yanı sıra DYSK grubu kolesterol değeri YYYYK grubuna kıyasla düşmüştür ( $p<0.05$ ). Yüksek yağlı yem gruplarında (YYYYK, YYSK) HDL-kolesterol oranları diğer gruplardan daha yüksek olmakla birlikte bu fark anlamlı bulunmamıştır (Tablo-4 , Şekil-8).



Şekil-8 Deneme grubu farelerde farklı yem gruplarına göre plazma lipit değerleri (n=15)

\* NYNK: Normal yağ-normal kolesterol, YYYYK: Yüksek yağ-yüksek kolesterol, YYSK: Yüksek yağ-sıfır kolesterol, DYYK: Düşük yağ-yüksek kolesterol, DYSK: Düşük yağ-sıfır kolesterol

### 1.3 Çalışmanın I. ve II. Aşamasına Ait Plazma Bulgularının Karşılaştırılması

Kontrol ve deneme gruplarındaki farelerin plazma değerlerinin yem gruplarına göre dağılımı ve her bir yem grubu için kontrol ve deneme farelerine ait değerlerin karşılaştırılması Tablo-5'te ve Şekil 3, 4, 5 ve 6'da verilmiştir.

Buna göre Freund's adjuvant-kazein solüsyonunun enjeksiyonunu takiben tüm gruplardaki farelerde SAA (Tablo-5, Şekil-3), TNF- $\alpha$  (Tablo-5, Şekil-4) ve IL-6 (Tablo-5, Şekil-5) değerleri enjeksiyon uygulanmayan kontrollerine kıyasla önemli derecede artış göstermiştir. SAA ve IL-6 artışları tüm gruplarda çok önemli ( $p<0.001$ ) bulunurken, TNF- $\alpha$  daki en bariz artış YYSK ve DYSK gruplarında ( $p<0.001$ ) olup, bunu YYYYK, DYYK ( $p<0.01$ ) ve NYNK grupları ( $p<0.05$ ) izlemiştir (Tablo-5).

### 1.4 Negatif Kontrol Grubu Plazma Değerleri

Çalışmanın başından sonuna kadar sadece NYNK yemi ile beslenen ve amiloid oluşturulmayan negatif kontrol grubu farelerine ait plazma değerleri Tablo-6'da verilmiştir. Buna göre fare bazal kontrol diyeti (NYNK) ile 4 hafta beslenen fareler ile (Tablo-1 ve 2), 11 hafta beslenen farelerin plazma değerleri arasında fark bulunamamıştır (Tablo-6).

**Tablo-5** Kontrol ve Deneme Farelerine ait plazma değerlerinin yem gruplarına göre dağılımı ve karşılaştırılması

	Normal Yağ-Normal Kolesterol Grubu (NYNK)		Yüksek Yağ-Yüksek Kolesterol Grubu (YYYK)		Yüksek Yağ-Sıfır Kolesterol Grubu (YYSK)		Düşük Yağ-Yüksek Kolesterol Grubu (DYYK)		Düşük Yağ-Sıfır Kolesterol Grubu (DYSK)	
	Kontrol X±S.E.	Deneme X±S.E.	Kontrol X±S.E.	Deneme X±S.E.	Kontrol X±S.E.	Deneme X±S.E.	Kontrol X±S.E.	Deneme X±S.E.	Kontrol X±S.E.	Deneme X±S.E.
Total Lipid (mg/dl)	609.7±35.4	516±36.5	684.2±38.3	590±32.1	581±34.7	515.7±28.9	489.6±30.8	498.8 ±13.1	554.6±23.6**	395±18.8**
Trigliserid (mg/dl)	89.9±10.9**	39.4±6.8**	96.2±9.4**	42.9±4.1**	75.4±6.3*	56.8±5.4*	75.4±8.6	67.8±5.9	59.1±5	59.7±3.4
Kolesterol (mg/dl)	101.4±9.7	105.5±6.1	91.6±4.5*	119.4±11.2*	86.5±2.9	102.9±7.2	74.1±3.9**	94.5±4.4**	73.2±2.8*	88.7±5.3*
HDL-Kolesterol (pg/ml)	54.3±4.8*	71.9±5.8*	70.8±6	82.5±4.9	58.4±2.4**	82.1±5.2**	46.3±1.8**	67.9±3.1**	41.5±1.8**	67±2**
LDL-Kolesterol (mg/dl)	101.9±9.0	97±10.9	126.2±10.8*	85.3±7*	96.6±10	93.4±9.4	71.5±10.2	77.7±9.8	64.6±10.2	77.8±7.6
SAA (µg/ml)	24.4±4.5**	1490±432**	148±50.6**	2674±474**	182±57**	2778±744**	260±87.4**	2831±434**	79.7±24.8**	2270±518**
TNF-α (pg/ml)	5.5±1**	11.3±1.9**	4.7±0.8*	10.9±2.7*	6.4±1.5**	17.2±2.9**	7.9±1.5*	13.6±1.8*	7.7±1.4**	17.4±1.6**
IL-1 β (pg/ml)	10.6±1	28.3±9.6	11.3±4.6	19.8±6.3	10±0.7	19.8±5.4	8±0.8	19±5.3	11.4±1.4	19.3±4.2
IL-6 (pg/ml)	4.2±0.4**	30.3±2.1**	7.5±3**	32.8±3.2**	7.7±2.9**	39.5±4.2**	4.1±0.4**	34.5±4.1**	4.2±0.4**	14.4±1.8**

\*: Aynı diyet grubu içinde hastalık oluşturulmadan önce ve sonra saptanan değerler arasındaki fark önemlidir (\*: p<0.05, \*\*: p<0.01, \*\*\*: p<0.001)

*NYNK: Normal yağ-normal kolesterol, YYYK: Yüksek yağ-yüksek kolesterol, YYSK: Yüksek yağ-sıfır kolesterol, DYYK: Düşük yağ-yüksek kolesterol, DYSK: Düşük yağ-sıfır kolesterol*

**Tablo-6** Negatif kontrol grubuna ait SAA, plazma sitokin ve plazma lipit değerleri

Hafta	SAA (µg/ml)	TNF-α (pg/ml)	IL-1 β (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	Total Lipit (mg/dl)	Trigliserit (mg/dl)	Kolesterol (mg/dl)	HDL-Kolesterol (pg/ml)	LDL-Kolesterol (mg/dl)
	X±S.E.	X±S.E.	X±S.E.	X±S.E.	X±S.E.	X±S.E.	X±S.E.	X±S.E.	X±S.E.
4	24.4±4.5	5.5±1	10.6±1	4.2±0.4	60.7±35.4	89.9±10.9	101.4±9.7	54.3±4.8	101.9±9.0
11	26.8±3.6	6.1±0.5	11.1±0.68	4.4±0.3	612.4±26.2	92.6±6.4	103±5	58±2	105.3±7.8

## 2. TARTIM BULGULARI

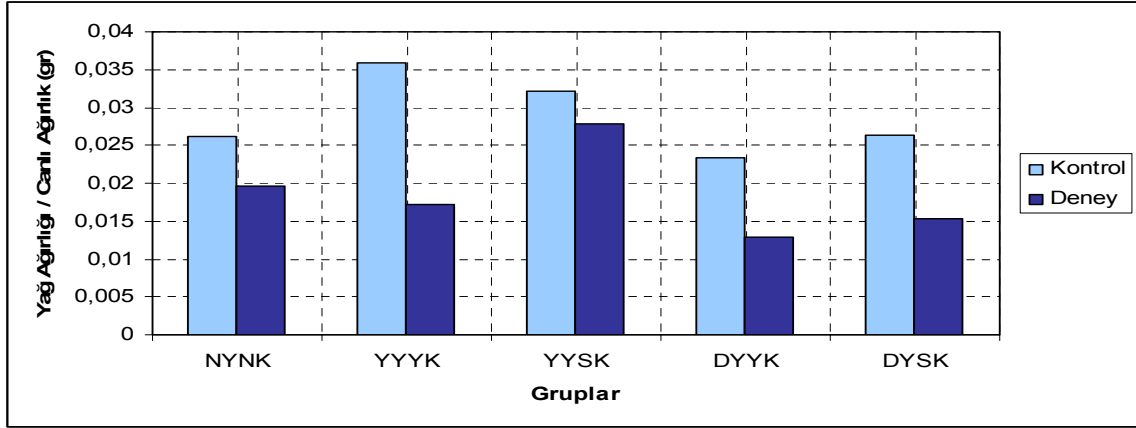
### 2.1. Çalışmanın I. Aşamasına Ait Ağırlık Ölçüm ve Oranları

Dört haftalık besi sonunda kontrol farelerinde yem gruplarına göre karaciğer, böbrek, dalak ile, karın ve böbrek çevresi yağları ağırlığının canlı vücut ağırlığına oranları ve gruplar arası farklılıklar Tablo-7’de verilmiştir. Dört haftalık besi sonrasında yağ ağırlığının vücut ağırlığına oranının yüksek yağ içeren yemle beslenen YYYYK ve YYSK gruplarında diğer gruplara kıyasla daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Özellikle hem yüksek yağ hem de yüksek kolesterol içeren yem ile beslenen YYYYK grubundaki artış anlamlı ( $p<0.01$ ) bulunmuştur (Tablo-7, Şekil-9). Dört haftalık besi sonrasında karaciğer ağırlığının vücut ağırlığına oranı bakımından en yüksek değer NYNK grubunda saptanmış ( $p<0.001$ ), DYSK yem grubunda sadece NYNK grubuna göre, YYYYK grubunda ise DYSK hariç, tüm gruplara göre önemli ( $p<0.001$ ) derecede düşük bulunmuştur. Böbrek ve dalak ağırlıklarının canlı ağırlığa oranı bakımından yem grupları arasında herhangi bir farklılık saptanamamıştır (Tablo-7).

**Tablo-7** Kontrol farelerinde yem gruplarına göre karaciğer, böbrek, dalak ve yağ ağırlığının canlı vücut ağırlığına oranları.

GRUPLAR*	n	Yağ/Canlı Ağırlık Oranı	Karaciğer/Canlı Ağırlık Oranı
NYNK	15	0.026255 ± 0.0015104 <sup>b</sup>	0.056445 ± 0.0012312 <sup>a</sup>
YYYYK	15	0.035952 ± 0.0031669 <sup>a</sup>	0.048214 ± 0.0012172 <sup>c</sup>
YYSK	15	0.032115 ± 0.0029194 <sup>ab</sup>	0.052655 ± 0.0011669 <sup>ab</sup>
DYYK	15	0.0234 ± 0.0017724 <sup>b</sup>	0.053626 ± 0.0011068 <sup>ab</sup>
DYSK	15	0.026338 ± 0.0019851 <sup>b</sup>	0.050757 ± 0.00061 <sup>bc</sup>
		Dalak/Canlı Ağırlık Oranı	Böbrek/Canlı Ağırlık Oranı
NYNK	15	0.005005 ± 0.0013604	0.01274 ± 0.0003834
YYYYK	15	0.003962 ± 0.0002836	0.012475 ± 0.0006852
YYSK	15	0.00422 ± 0.0003644	0.01329 ± 0.0003563
DYYK	15	0.004019 ± 0.0002245	0.012416 ± 0.0003312
DYSK	15	0.003945 ± 0.0002431	0.011852 ± 0.0003679

a-c: Aynı sütunda değişik harfler ile gösterilen gruplar arasındaki farklar önemlidir ( $p<0.05$ ) (Varyans analizi ve Tukey Gerçek Önemli Fark testi).



**Şekil-9** Kontrol ve deneme farelerinde yem gruplarına göre vücut yağı ağırlığının canlı ağırlığa oranı (n=15).

\*NYNK: Normal yağ-normal kolesterol, YYYY:Yüksek yağ-yüksek kolesterol, YYSK:Yüksek yağ-sıfır kolesterol, DYYK:Düşük yağ-yüksek kolesterol, DYSK:Düşük yağ-sıfır kolesterol

## 2.2. Çalışmanın II. Aşamasına Ait Ağırlık Ölçüm ve Oranları

11 haftalık besi sonunda deneme farelerinde yem gruplarına göre karaciğer, böbrek, dalak ile, karın ve böbrek çevresi yağları ağırlığının canlı vücut ağırlığına oranları ve gruplar arası farklılıklar Tablo-8’de verilmiştir. Onbir haftalık besi sonrasında yağ ağırlığının vücut ağırlığına oranı yüksek yağ içeren yem ile beslenen gruplardan YYSK grubunda en yüksek olup, bu artış düşük yağlı yemle beslenen DYYK ve DYSK gruplarının değerlerine göre anlamlı ( $p<0.01$ ) bulunmuştur (Tablo-8, Şekil-9).

11 haftalık besi sonrasında karaciğer ve dalak ağırlıklarının canlı ağırlığa oranı bakımından yem grupları arasında herhangi bir farklılık saptanamamıştır (Tablo-8). Buna karşılık böbrek ağırlığının vücut ağırlığına oranı bakımından en yüksek değer YYYY grubunda saptanmış ( $p<0.01$ ), bu grupta NYNK, DYYK ve DYSK grupları değerleri arasındaki fark önemli ( $p<0.01$ ) bulunmuştur (Tablo-8).



**Tablo-8** Deneme farelerinde farklı yem gruplarına göre organ ağırlıklarının canlı ağırlıklara oranı (n=30)

GRUPLAR*	n	Yağ/Canlı Ağırlık Oranı	Karaciğer/Canlı Ağırlık Oranı
NYNK	30	0.01962424 ± 0.00213282 <sup>ab</sup>	0.08944848 ± 0.01848876
YYK	30	0.01725417 ± 0.00311016 <sup>ab</sup>	0.07457917 ± 0.0039332
YYSK	30	0.02779 ± 0.00416299 <sup>a</sup>	0.08227333 ± 0.00368827
DYYK	30	0.01286429 ± 0.0024677 <sup>b</sup>	0.10641429 ± 0.02843659
DYSK	30	0.01523913 ± 0.00184781 <sup>b</sup>	0.07521304 ± 0.00295659
		<b>Dalak/Canlı Ağırlık Oranı</b>	<b>Böbrek/Canlı Ağırlık Oranı</b>
NYNK	30	0.00837576 ± 0.00096528	0.01651212 ± 0.00045531 <sup>b</sup>
YYK	30	0.0102125 ± 0.00116562	0.01916667 ± 0.0011856 <sup>a</sup>
YYSK	30	0.01071 ± 0.00126156	0.01783 ± 0.00063783 <sup>ab</sup>
DYYK	30	0.00953214 ± 0.00089776	0.01616786 ± 0.00036015 <sup>b</sup>
DYSK	30	0.00902174 ± 0.0009679	0.01593478 ± 0.00060304 <sup>b</sup>

a-b: Aynı sütundaki değişik harfler ile gösterilen gruplar arasındaki farklar önemlidir (p<0.01). (Varyans Analizi ve Tukey Gerçek Önemli Fark testi ).

\*NYNK: Normal yağ-normal kolesterol, YYK:Yüksek yağ-yüksek kolesterol, YYSK:Yüksek yağ-sıfır kolesterol, DYYK:Düşük yağ-yüksek kolesterol, DYSK:Düşük yağ-sıfır kolesterol

### 3. DOKU BULGULARI

#### 3.1. Çalışmanın I. Aşamasına Ait Doku Bulguları

##### 3.1.a. Nekropsi Bulguları

Farklı oranda yağ ve kolesterol içeren yemler ile yapılan 4 haftalık besi sonunda uygulanan nekropsilerde yağlı ve/veya kolesterolü yemler ile beslenen gruplardaki hayvanlarda karın bölgesi yağlarının diğer iki gruba kıyasla daha fazla olduğu görülmüştür. Organların makroskopik incelemesinde yine yağlı ve kolesterolü yem gruplarında karaciğerlerin renginin diğer gruplara kıyasla daha solgun olması dikkati çekmiştir.

##### 3.1.b. Histopatolojik Bulgular

Farklı oranda yağ ve kolesterol içeren yemler ile yapılan 4 haftalık besi sonunda dalak, karaciğer ve böbrek dokularının histopatolojik incelemesinde gruplar arasında gözlenen tek farklılık yağlı ve kolesterolü yem gruplarında karaciğerde yağlanma varlığı olup, bu gruplarda hepatositlerin sitoplazmasında veziküler ve vakuoler yağlanma dikkati çekmiştir. Bu aşamada grupların hiçbirisinde amiloidozis oluşumu gözlenmemiştir.

## **3.2. Çalışmanın II. Aşamasına Ait Doku Bulguları**

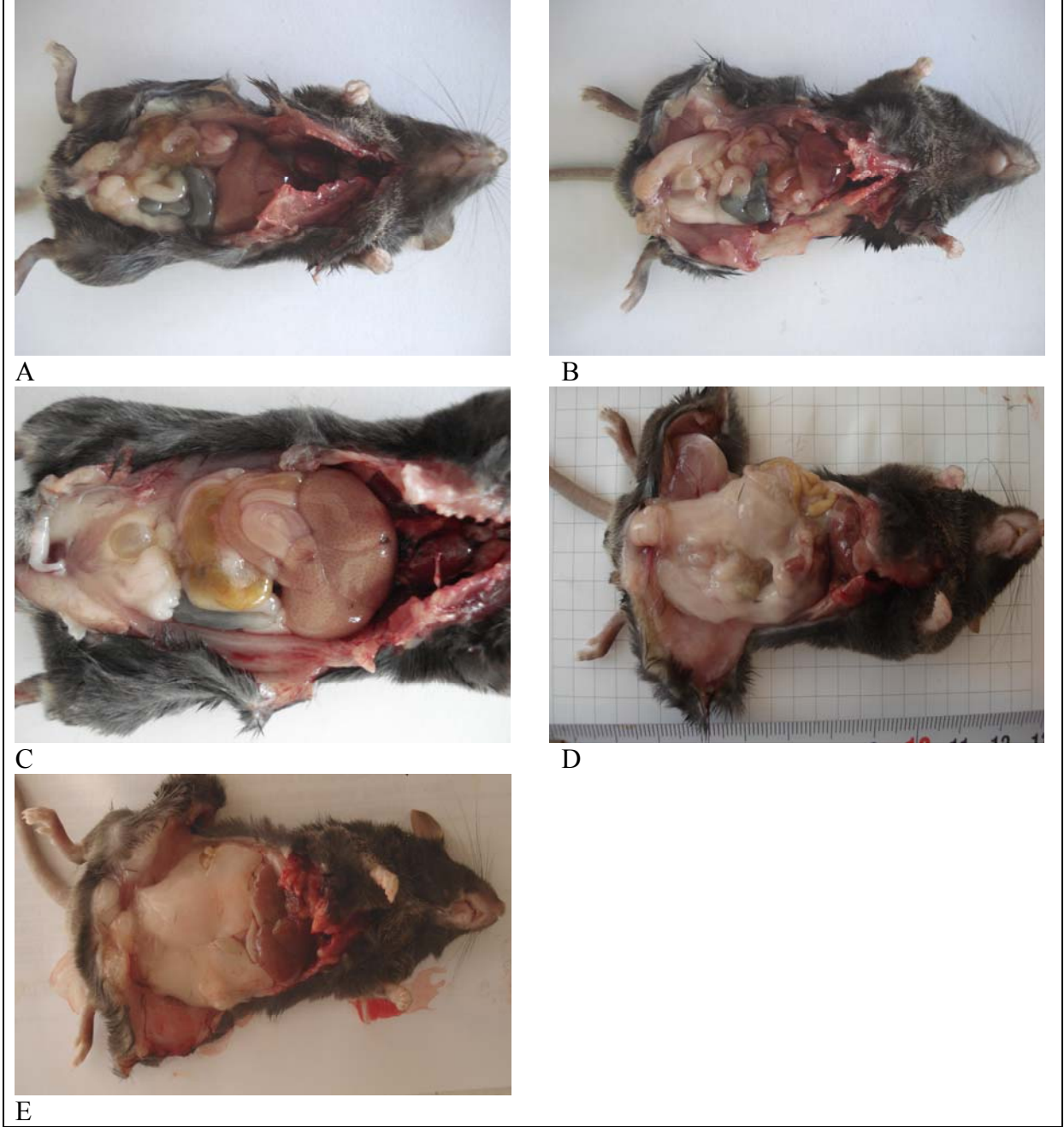
### **3.2.a. Nekropsi Bulguları**

Freund's adjuvant-kazein enjeksiyonu uygulamasını takiben, çalışmanın 11. haftasının sonunda yapılan nekropsilerde yağlı ve/veya kolesterolü yemler ile beslenen gruplardaki hayvanlarda karın bölgesi yağlarının diğer iki gruba kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır. Özellikle yüksek yağlı yemle beslenen YYYYK ve YYSK gruplarında bu fark daha da bariz olarak gözlenmiştir (Şekil-10). Organların makroskobik incelemesinde şiddetli amiloid birikimi şekillenmiş olan bazı dalaklarda büyüme, yine bazı karaciğerlerde ise renkte açılma ve hafif büyümeler dikkati çekmiştir.

### **3.2.b. Congo Red ve IHC Boyama Sonuçları**

Congo red ve IHC boyamalar sonucunda boyanma gözlenmeyen dokular amiloid bakımından negatif olarak kabul edilmiştir (Şekil-11A). Amiloid pozitif olan dokularda; IHC yöntemiyle boyanmış preparatlarda amiloidin biriktiği hücreler arası bölgeler ve bazı makrofajların hücre yüzeyleri kahverengi olarak boyanmış, amiloid bulunmayan alanlar yalnızca mavi olarak gözlenmiştir. Amiloid birikimi dalakta genellikle perifoliküler ince bir halka olarak başlamış (Şekil-11B) ve giderek yayılmıştır (Şekil-11C,D). Şiddetli olgularda dalak kesitinin neredeyse tamamına yakın büyük bir bölümünün biriken amiloid tarafından istila edildiği görülmüştür (Şekil-11E,F). Karaciğerde amiloid birikimlerine öncelikle damarlar çevresinde rastlanmıştır ve birikim arttıkça disse aralıkları amiloid ile değişen derecelerde dolup genişlemiş, amiloid şiddeti arttıkça etkilenen karaciğer alanları artmıştır. Karaciğerde birikimler zamanla ışınal tarzda ve ipliksi bir yapıda gözlenmiştir (Şekil-12A,B,C,D). Böbreklerde birikimlere özellikle pelvis renalis bölgesinde yer alan tubullerin bazal membranlarında ve ikinci olarak da glomerulusların kapillar damarlarının duvarlarında rastlanmıştır (Şekil-12E,F). Belirgin glomeruler amiloidozis varlığına oldukça az sayıda rastlanmıştır. Amiloidin birikimi ile birlikte birikim olan dokuya ait parankimal hücrelerde atrofi, dejenerasyon ve nekroz gibi değişiklikler şekillenmiştir.

Amiloid pozitif olan dokularda congo red boyama sonucunda hücreler arası ortamda birikmiş olan amiloidin koyu pembe renkte boyandığı ve bu boyanan sahaların polarize filtre altında karakteristik sarı-yeşil yansımalar verdiği gözlenmiştir (Şekil-13).



**Şekil-10** Farklı diyet gruplarında abdominal yağ miktarı

- A** Düşük yağ sıfır kolesterol (DYSK) grubu farede eseri miktarda abdominal yağ birikimi  
**B** Normal yağ normal kolesterol (NYNK) grubu farede az miktarda abdominal yağ birikimi.  
**C** Düşük yağ yüksek kolesterol (DYYK) grubu farede orta şiddette abdominal yağ birikimi.  
**D** Yüksek yağ sıfır kolesterol (YYSK) grubu farede yoğun abdominal yağ birikimi.  
**E** Yüksek yağ yüksek kolesterol (YYYK) grubu farede yoğun abdominal yağ birikimi.

Yağ dokuların IHC yöntemiyle boyanması sonucunda yağ hücrelerinin sitoplazmalarında perinükleer bölgede ve yağ hücrelerini çevreleyen stromal alanlarda Amiloid A proteinine yönelik pozitif boyanmalar tespit edilmiştir. Yağ dokudaki pozitif boyanmalar amiloid şekillenmiş hayvanlarda çok daha belirgin, yaygın ve yoğun iken, amiloid negatif hayvanların yağ dokuları daha sınırlı ve hafif boyanmış, bazen de hiç boyanma olmamıştır (Şekil-14). Özellikle AA pozitif hayvanların adipositleri arasındaki stromal alanların kalınlaşarak belirginleştiği ve yer yer makrofajlar ile infiltre olduğu görülmüştür. Amiloidozis negatif olarak değerlendirilen yağ dokularında hücreler arası stromal alanların görülmediği ve makrofaj infiltrasyonunun olmadığı gözlenmiştir.

### **3.2.c. Sistemik AA Amiloidozis Pozitiflik Oranı ve Organlara Göre Dağılımı**

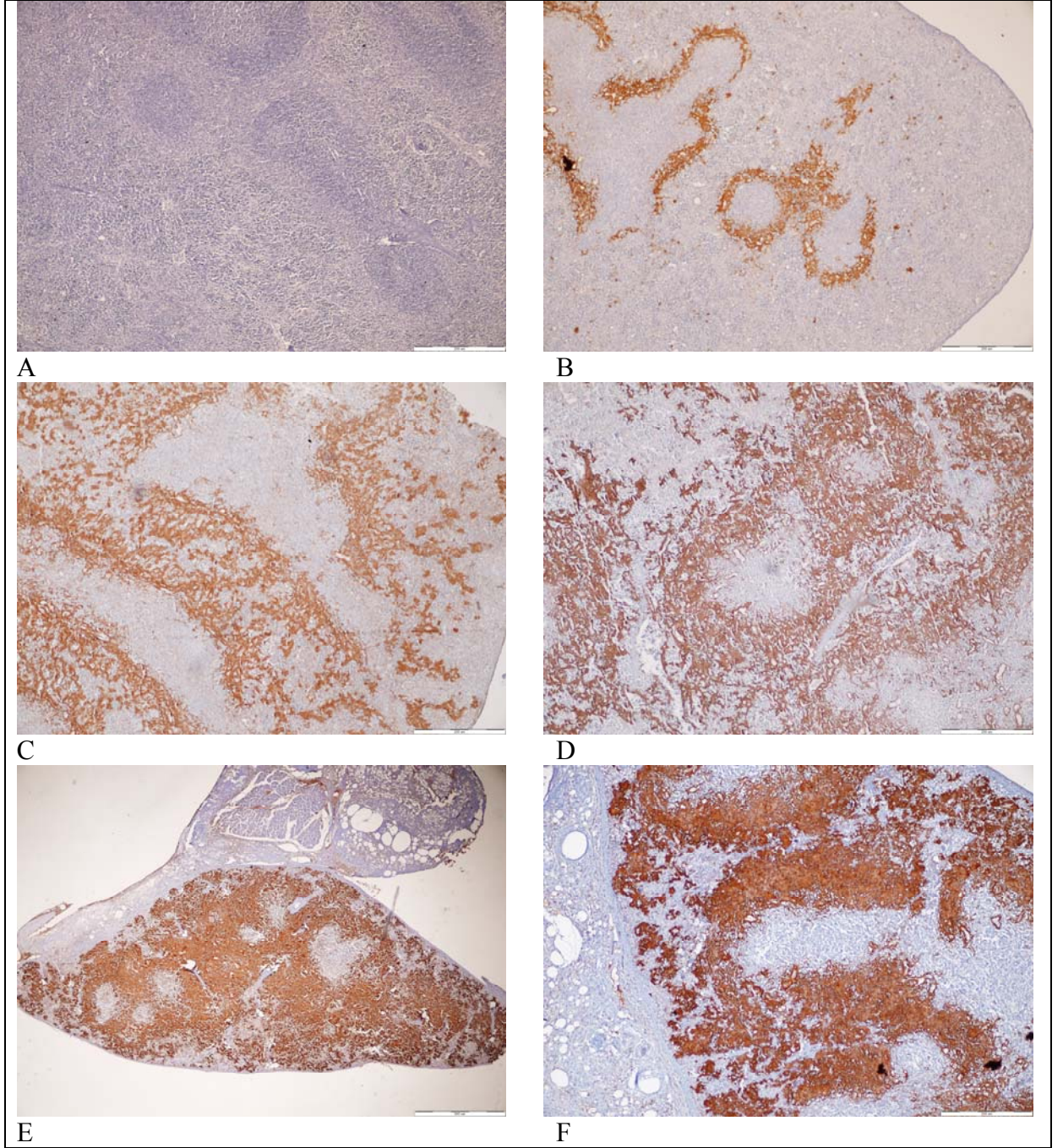
Freund's adjuvant - kazein enjeksiyonu uygulamasından sonra farelerde amiloidozis oluşum oranları ve organlara göre tutulum oranlarının gruplar arası karşılaştırılması Tablo-9 ve Şekil- 15'de verilmiştir.

Gruplar amiloid pozitif hayvan sayısına göre değerlendirildiğinde en yüksek oluşum DYYK grubunda (% 80) olup, bunu % 73.34'lük oluşum oranı ile iki yüksek yağlı yem grubu olan YYYYK ve YYSK grupları izlemiş, daha sonra DYSK (% 70) ve NYNK (% 60) grupları gelmiştir. Sistemik AA amiloidozis oluşumu bakımından gruplar arasında gözlenen fark istatistiki olarak önemli bulunmamıştır (Tablo-9, Şekil-15). Negatif kontrol grubu farelerinde amiloidozis oluşumuna rastlanmamıştır.

Amiloid birikim oranı ve şiddetinin en düşük olduğu organ böbrek, en yüksek olduğu organ ise dalak olarak saptanmıştır. Tüm gruplarda amiloid birikimleri öncelikle dalakta gözlenmiş, dalağında amiloid şekillenmeyen hayvanların diğer organlarında da amiloid görülmemiştir. Bazı hayvanların sadece dalağında amiloid birikimi gözlenirken, bazılarında dalak ve karaciğerde, bazılarında ise dalak, karaciğer ve böbrek olmak üzere her üç organda birden amiloid birikimlerine rastlanmıştır.

Karaciğer ve böbrek tutulumu bakımından en yüksek skora sahip olan grup YYYYK grubu olmuş ve bunu DYYK grubu izlemiştir. Karaciğerde amiloid oluşum oranı sırasıyla YYYYK (17/30) ( $p < 0.05$ ), YYSK (13/30), DYYK (12/30), NYNK (9/30) ve DYSK (6/30) şeklinde bulunmuştur. Yağ ve kolesterolün kısıtlandığı DYSK grubunda karaciğerde amiloid görülme oranı tüm diğer gruplardan önemli derecede ( $p < 0.05$ ) daha düşük gözlenmiştir. Böbrekte amiloid oluşumu sırasıyla YYYYK (12/30), DYYK (9/30) ve diğer gruplarda (2/30) rastlanmıştır. Yüksek kolesterol gruplarında şekillenen böbrek tutulumu diğer gruplara oranla anlamlı derecede ( $p < 0.05$ ) yüksek bulunmuştur ( Tablo-9, Şekil-15).





**Şekil 11** Dalak dokularında gruplara göre Amiloid A antikoruna ile IHC boyama

**A** Amiloid negatif dalak, Negatif kontrol grubu, Bar = 200  $\mu$

**B** Dalakta hafif şiddette perifoliküler amiloid birikimi, DYSK grubu, Bar = 200  $\mu$

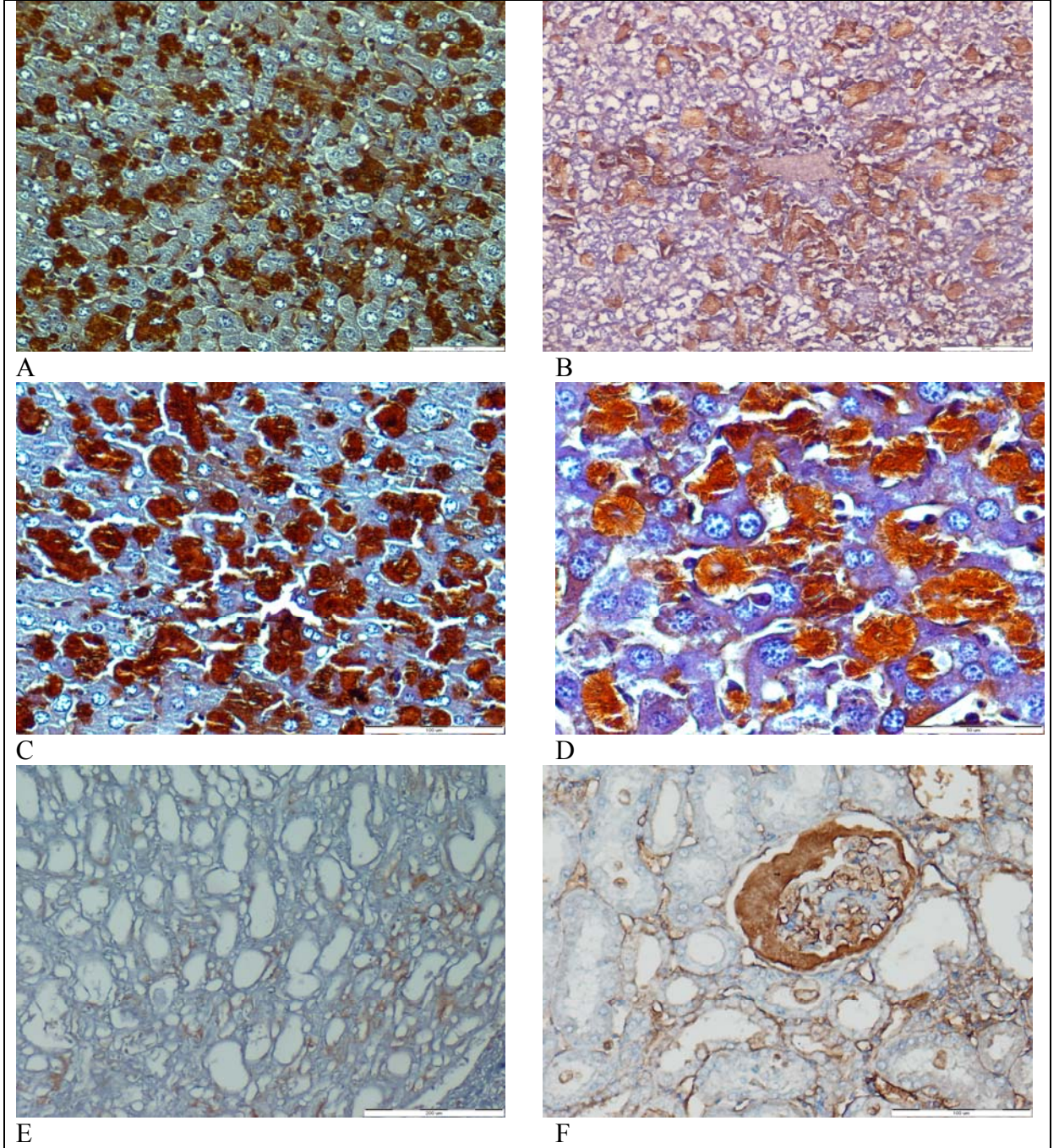
**C** Dalakta orta şiddette amiloid birikimi, NYNK grubu, Bar = 200  $\mu$

**D** Dalakta orta şiddette amiloid birikimi, DYYK grubu, Bar = 200  $\mu$

**E** Dalakta şiddetli amiloid birikimi, YYYK grubu, Bar = 500  $\mu$

**F** Dalakta yaygın ve şiddetli amiloid birikimi, YYSK grubu, Bar = 200  $\mu$





**Şekil-12** Amiloid pozitif karaciğer ve böbrek, Amiloid A antikoruna ile IHC boyama

**A** Karaciğerde orta şiddette amiloid birikimi, NYNK grubu, Bar = 50  $\mu$

**B** Karaciğerde orta şiddette amiloid birikimi, DYYK grubu, Bar = 50  $\mu$

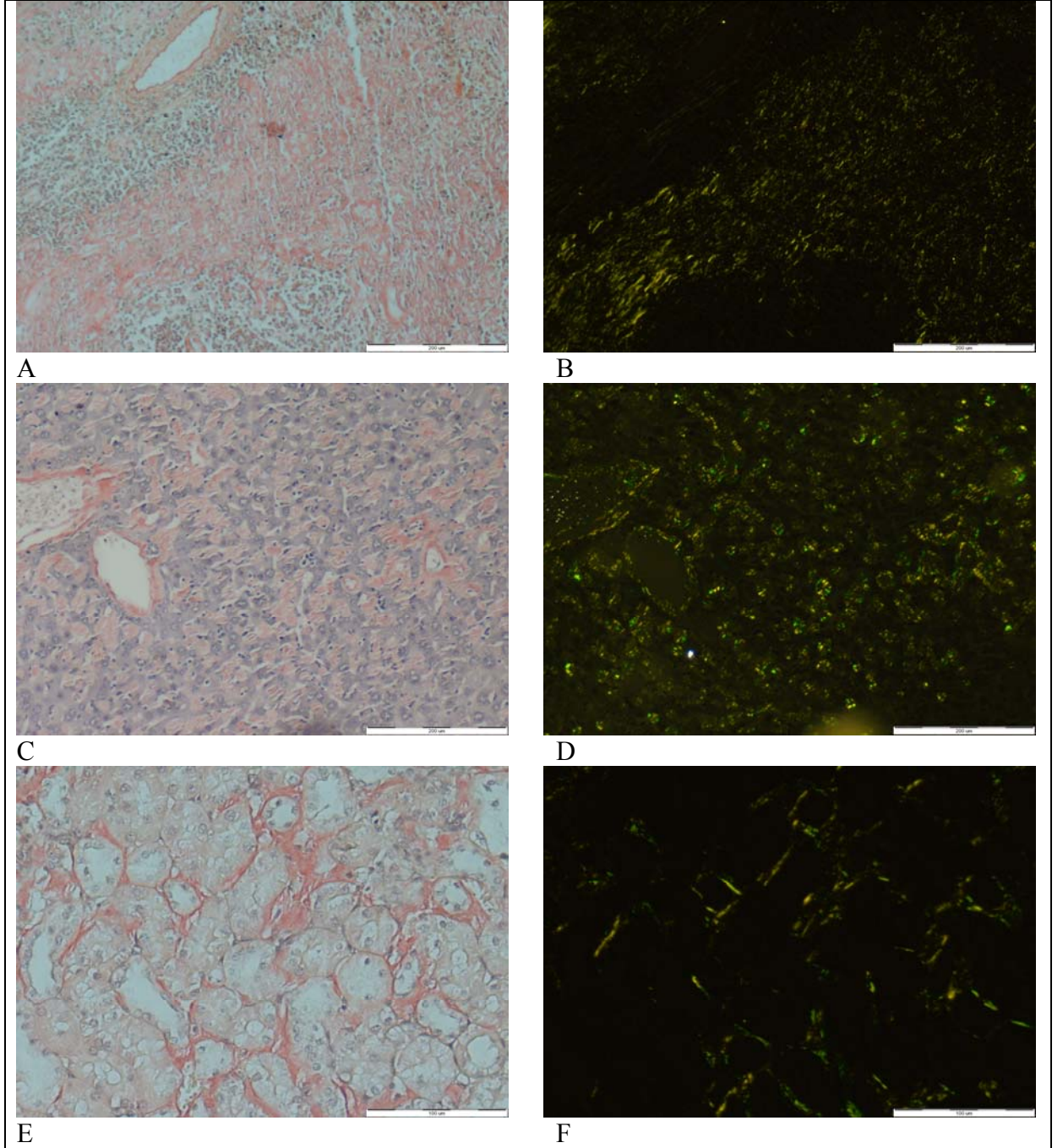
**C** Karaciğerde şiddetli amiloid birikimi, YYDK grubu, Bar = 100  $\mu$

**D** Karaciğerde şiddetli amiloid birikimi, YYYY grubu, Bar = 50  $\mu$

**E** Böbrekte hafif şiddette peritubuler amiloid birikimi, DYYK grubu, Bar = 200  $\mu$

**F** Böbrekte orta şiddette glomeruler amiloid birikimi, YYYY grubu, Bar = 100  $\mu$





**Şekil-13** Dalak, karaciğer, böbrek dokularında congo red boyanma

**A** Dalakta şiddetli amiloid birikimi, YYSK grubu, Bar = 200 µ

**B** Polarize fitrede amiloid yansıması, dalak, YYSK grubu, Bar = 200 µ

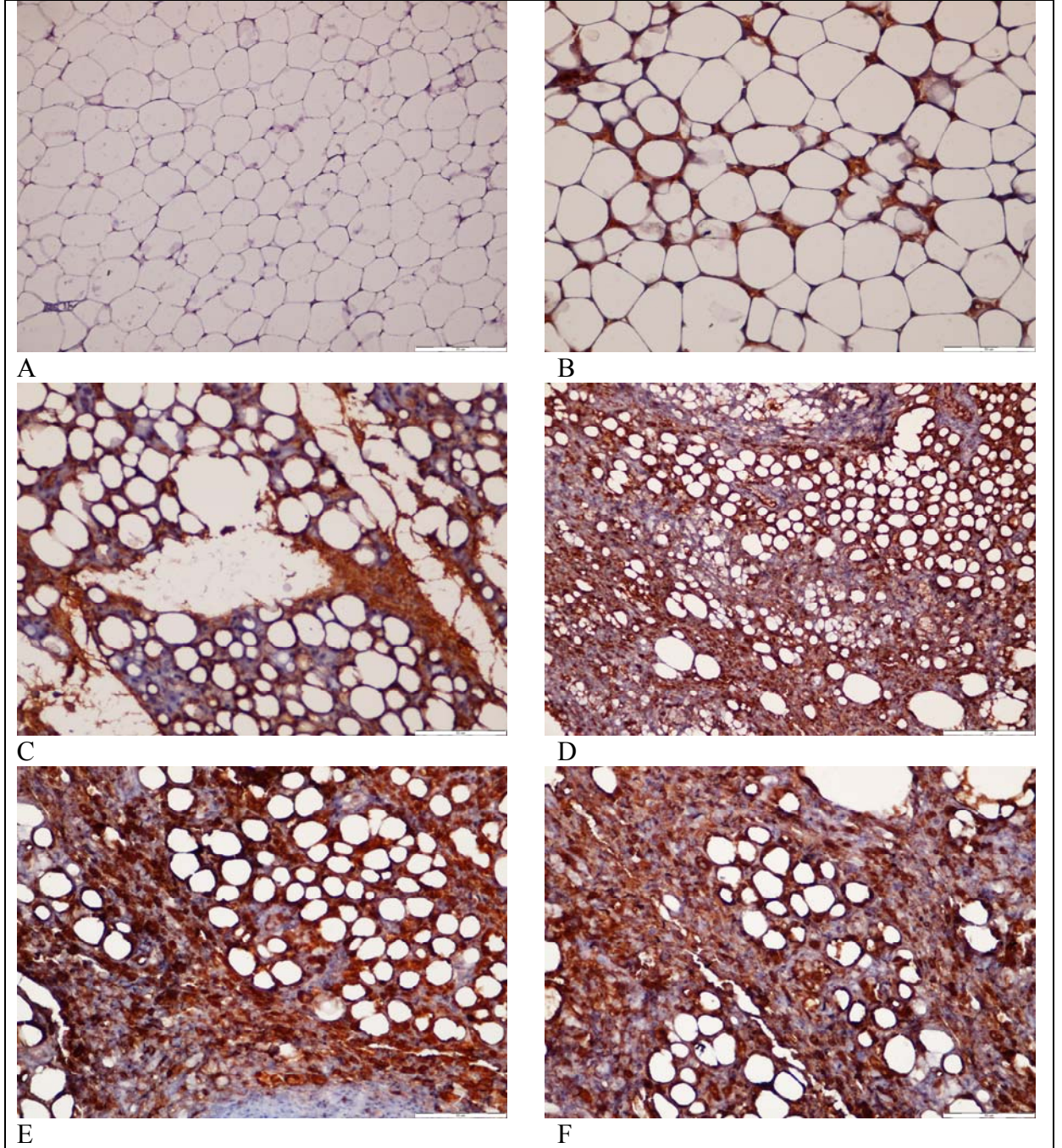
**C** Karaciğerde şiddetli amiloid birikimi, YYK grubu, , Bar = 200 µ

**D** Polarize fitrede amiloid yansıması, karaciğer, YYK grubu, Bar = 200µ

**E** Böbrekte şiddetli amiloid birikimi, YYSK grubu, Bar = 100µ

**F** Polarize fitrede amiloid yansıması, böbrek, YYSK grubu, Bar = 100µ





**Şekil-14** Yağ dokusunda amiloid A antikoru ile IHC boyama

**A** Negatif kontrol grubu, yağ dokusu, Bar = 100  $\mu$

**B** Yağ dokusunda hafif şiddette amiloid birikimi, NYNK grubu, Bar = 50  $\mu$

**C** Yağ dokusunda hafif-orta şiddette amiloid birikimi, DYYK grubu, Bar = 50  $\mu$

**D** Yağ dokusunda orta şiddette-şiddetli amiloid birikimi, YYYK grubu, Bar = 200  $\mu$

**E** Yağ dokusunda şiddetli amiloid birikimi, YYYK grubu, Bar = 50 $\mu$

**F** Yağ dokusunda şiddetli amiloid birikimi, YYYK grubu, Bar = 50 $\mu$

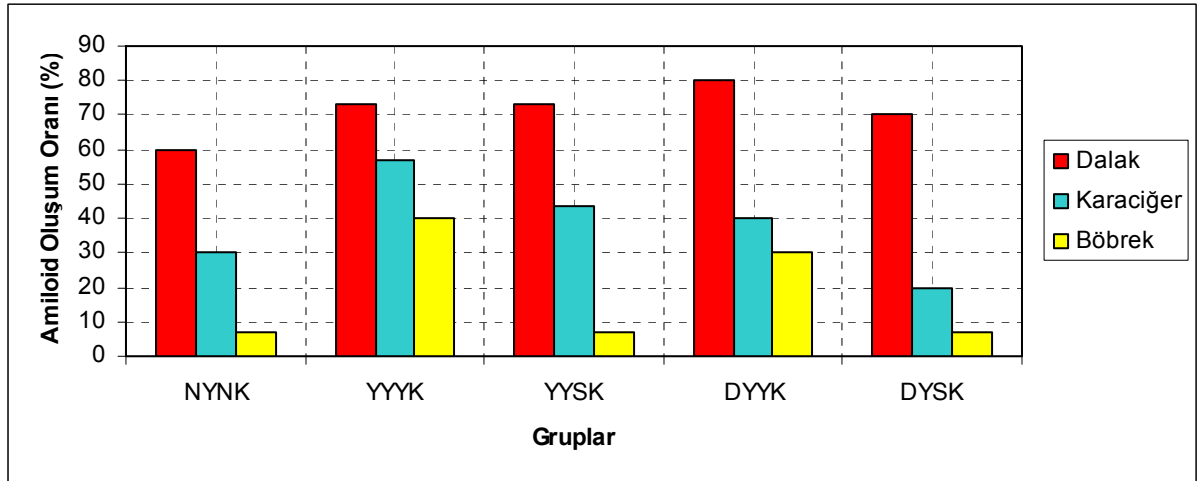


**Tablo-9** Deneme grubu farelerde yem gruplarına göre amiloidozis oluşum oranları ve organlara göre dağılımı (n=30).

Gruplar	n	Amiloid Pozitif Fare Sayısı		Organlara Göre Amiloid Pozitiflik Sayısı ve Oranı			
				Dalak	Karaciğer	Böbrek	Toplam Etkilenen Organ Sayısı
NYNK	30	n %	18 (% 60)	18 (% 60)	9 <sup>ab</sup> (% 30)	2 <sup>b</sup> (% 6.7)	29
YYK	30	n %	22 (% 73.34)	22 (% 73.34)	17 <sup>a</sup> (% 56.7)	12 <sup>a</sup> (% 40)	51
YYSK	30	n %	22 (%73.34)	22 (%73.34)	13 <sup>ab</sup> (%43.3)	2 <sup>b</sup> (% 6.7)	37
DYYK	30	n %	24 (% 80)	24 (% 80)	12 <sup>ab</sup> (% 40)	9 <sup>a</sup> (% 30)	45
DYSK	30	n %	21 (70)	21 (% 70)	6 <sup>b</sup> (% 20)	2 <sup>b</sup> (% 6.7)	29

a - b: Aynı sütunda değişik harfler ile gösterilen gruplar arasındaki farklar önemlidir (p< 0.05). (Khi-kare ve Fischer kesin Khi kare testleri)

NYNK: Normal yağ-normal kolesterol, YYK:Yüksek yağ-yüksek kolesterol, YYSK:Yüksek yağ-sıfır kolesterol, DYYK:Düşük yağ-yüksek kolesterol, DYSK:Düşük yağ-sıfır kolesterol



**Şekil-15** Deneme grubu farelerde, yem gruplarına göre amiloidozis oluşum oranları ve organlara göre dağılımı (n=30)

NYNK: Normal yağ-normal kolesterol, YYK:Yüksek yağ-yüksek kolesterol, YYSK:Yüksek yağ-sıfır kolesterol, DYYK:Düşük yağ-yüksek kolesterol, DYSK:Düşük yağ-sıfır kolesterol

### 3.2.d. Amiloid Birikimlerinin Şiddeti

Freund's adjuvant-kazein enjeksiyonu uygulamasından sonra amiloid pozitif farelerde amiloid birikim şiddetinin gruplara göre dağılımı Tablo-10 ve Şekil-16'da verilmiştir.

Amiloid pozitif olduğu belirlenen dalaklarda görüntülü analiz sistemi ile ölçülen amiloid birikimlerinin şiddeti (yoğunluğu) yüksek yağlı ve kolesterollü yemler ile beslenmiş olan YYYYK, YYSK ve DYYK gruplarında, diğer gruplara (NYNK ve DYSK) göre oldukça yüksek çıkmıştır. Sıralama yüksekten alçağa YYSK, YYYYK, DYYK ve NYNK şeklinde olmuş, yağ ve kolesterolün kısıtlandığı DYSK grubunun amiloid birikim yoğunluğu tüm gruplardan daha düşük bulunmuştur ( $p < 0.05$ ) (Tablo-10 ve Şekil-16).

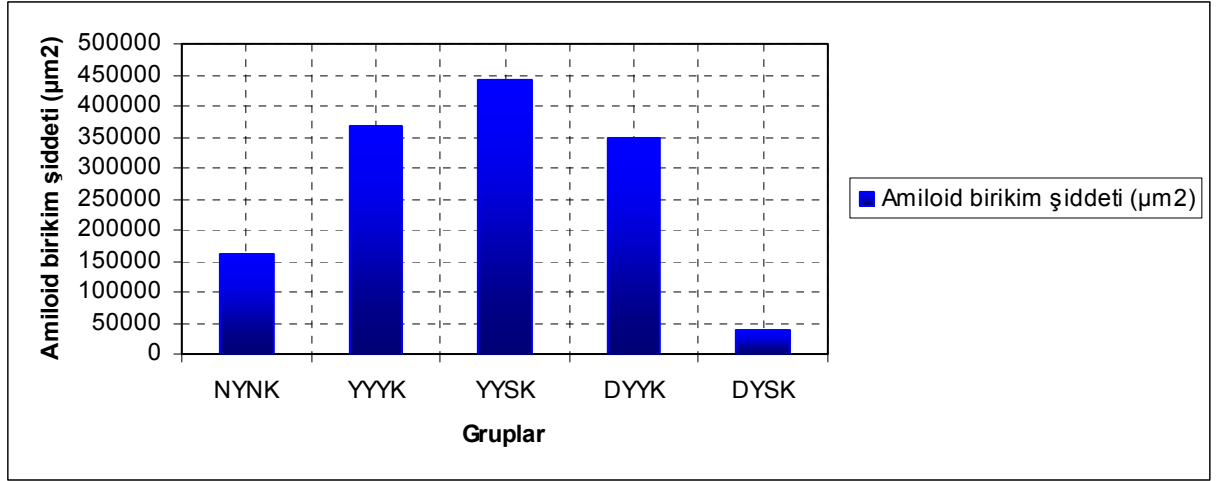
**Tablo -10** Amiloid pozitif dalaklarda amiloidin birikim şiddeti ( $\mu\text{m}^2$ )

Gruplar*	Amiloid Pozitif Dalak Sayısı	Amiloid Birikim Şiddeti
		$\bar{x} \pm S\bar{x}$
NYNK	18	160 986.1 $\pm$ 60 592.4 <sup>ab</sup>
YYYYK	22	366 303.2 $\pm$ 55 220 <sup>ab</sup>
YYSK	22	442 667 $\pm$ 170 651.6 <sup>a</sup>
DYYK	24	346 832.8 $\pm$ 109 937.5 <sup>ab</sup>
DYSK	21	38.858.6 $\pm$ 14 993.6 <sup>b</sup>

a-b: Aynı sütunda değişik harfler taşıyan grup ortalamaları arasındaki farklar önemlidir ( $p < 0.05$ ). (Varyans analizi ve Tukey Gerçek Önemli Fark testi)

*NYNK: Normal yağ-normal kolesterol, YYYYK: Yüksek yağ-yüksek kolesterol, YYSK: Yüksek yağ-sıfır kolesterol, DYYK: Düşük yağ-yüksek kolesterol, DYSK: Düşük yağ-sıfır kolesterol*

Yağlı ve/veya kolesterollü yem gruplarında etkilenen organ sayısı ve dalaktaki amiloid yoğunluğu, NYNK ve DYSK yem gruplarından daha yüksek bulunmuştur. Karaciğerin etkilenme oranı DYSK grubunda önemli derecede düşük ( $p < 0.05$ ) olup, böbrek tutulumunun yüksek kolesterol gruplarında (YYYYK, DYYK) anlamlı derecede ( $p < 0.05$ ) yüksek olduğu gözlenmiştir. Dalakta en yoğun amiloid birikimine YYSK ( $442.667 \mu\text{m}^2$ ) grubunda rastlanmıştır, bunu sırasıyla YYYYK ( $366 303 \mu\text{m}^2$ ), DYYK ( $346 832.8 \mu\text{m}^2$ ) ve NYNK ( $160 986 \mu\text{m}^2$ ) grupları takip etmiştir.



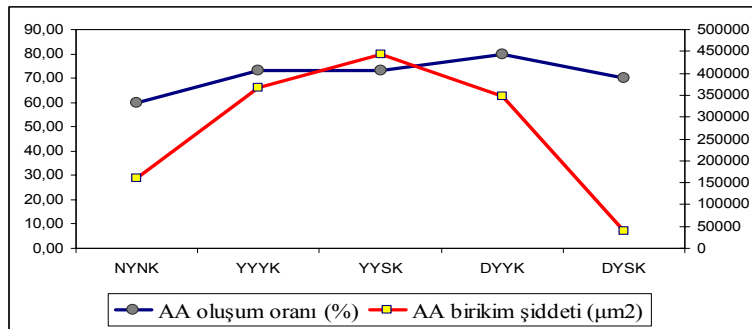
**Şekil-16** Deneme grubu farelerde, yem gruplarına göre dalaktaki amiloid birikim şiddeti.

*NYNK: Normal yağ-normal kolesterol, YYK:Yüksek yağ-yüksek kolesterol, YYSK:Yüksek yağ-sıfır kolesterol, DYYK:Düşük yağ-yüksek kolesterol, DYSK:Düşük yağ-sıfır kolesterol*

DYSK (38.858 µm<sup>2</sup>) grubundaki dalak amiloid yoğunluğu önemli derecede (p<0.05) düşük olup, DYSK grubunda, plazma IL-6 ve plazma total lipit değerlerinde de diğer gruplara göre anlamlı düşüş saptanmıştır (p<0.001). Ayrıca, dalakta en fazla amiloid yoğunluğuna sahip YYSK grubunda yağın vücut ağırlığına oranı da tüm gruplardan daha yüksek bulunmuştur.

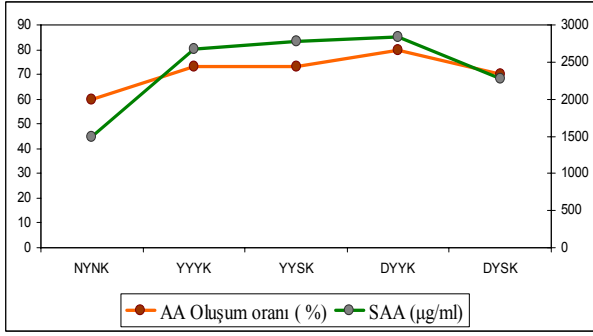
#### 4. PARAMETRELERİN KENDİ ARALARINDA KARŞILAŞTIRILMASI

Çalışma sonucunda elde edilen bazı doku ve kan değerleri kendi aralarında karşılaştırılmış, sonuçları aşağıdaki şekillerle (Şekil 17-39) verilmiştir.

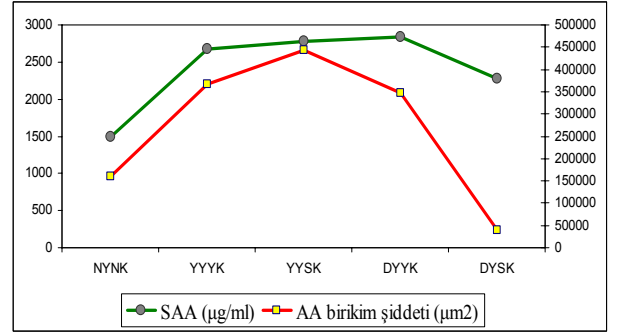


**Şekil-17** Amiloidozis oluşum oranı ile amiloid birikim şiddetinin karşılaştırılması

Şekil-17’de gözlenildiği gibi gruplardaki amiloidozis oluşum oranları ile amiloid birikim şiddeti arasında doğrudan ilişkili bulunmamıştır.

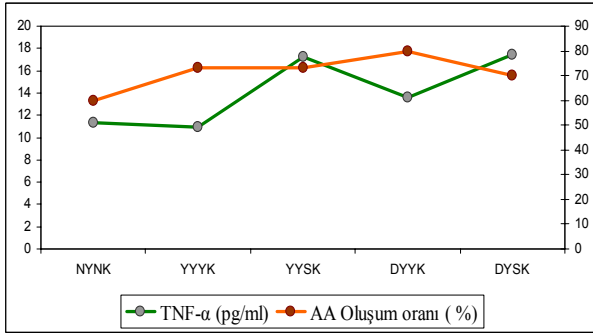


**Şekil-18** Amiloidozis oluşum oranı ile SAA değerlerinin karşılaştırılması

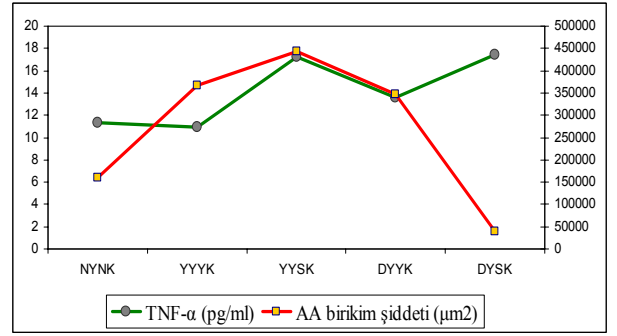


**Şekil-19** Amiloid birikim şiddeti ile SAA değerlerinin karşılaştırılması

Şekil-18 ve 19’da gözlemlendiği gibi SAA eğrisi, amiloidozis pozitiflik oranı ile oldukça paralel seyretmiş, ancak aynı derecede paralel bir ilişki amiloid birikim şiddeti ile SAA değerleri arasında gözlenmemiştir.



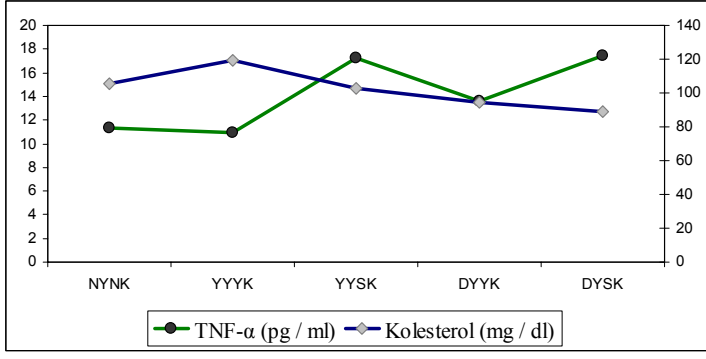
**Şekil-20** Amiloidozis oluşum oranı ile TNF-α değerlerinin karşılaştırılması



**Şekil-21** Amiloid birikim şiddeti ile TNF-α değerlerinin karşılaştırılması

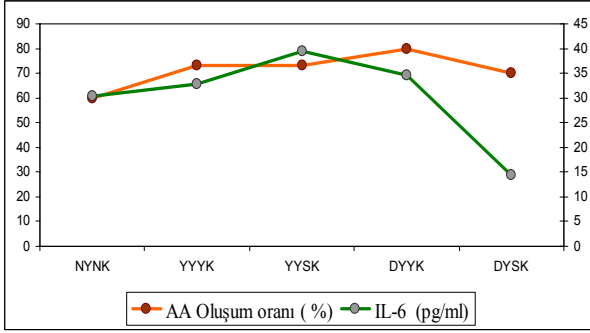
Şekil-20 ve 21’de gözlemlendiği gibi amiloidozis oluşum oranı ile plazma TNF- α değerleri arasında ters korelasyon saptanmıştır (Şekil-20). Amiloidozis oluşum oranı arttıkça TNF- α azalmış, oluşum oranı azaldıkça da TNF- α artmıştır. Amiloid birikim şiddet eğrisi ile plazma TNF- α eğrisi sadece YYSK ve DYYK grubunda paralellik göstermiş ancak, amiloid şiddet eğrisinin DYSK grubuna denk gelen düşüşüne TNF- α eğrisi tam tersine pik bir yükselme ile cevap vermiştir (Şekil-21).

Bunların dışında dikkati çeken bir bulgu kolesterol ile TNF- α arasındaki ters korelasyondur. Yüksek kolesterolü yem yiyen gruplarda TNF-α’nın düştüğü ve düşük kolesterolü gruplarda ise TNF-α’nın yükseldiği görülmüştür. Bu ters korelasyon Şekil-22’de gösterilmiştir.

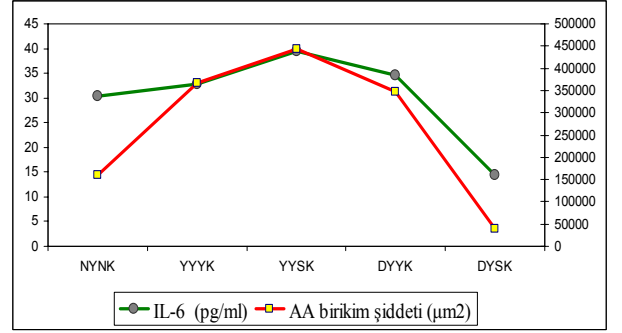


**Şekil-22** Plazma TNF- $\alpha$  değerleri ile plazma kolesterol değerlerinin karşılaştırılması

Şekil-22’de gözlemlendiği gibi plazma TNF- $\alpha$  değerleri ile plazma kolesterol değerleri arasında ters korelasyon olup, biri artarken diğeri azalmıştır.

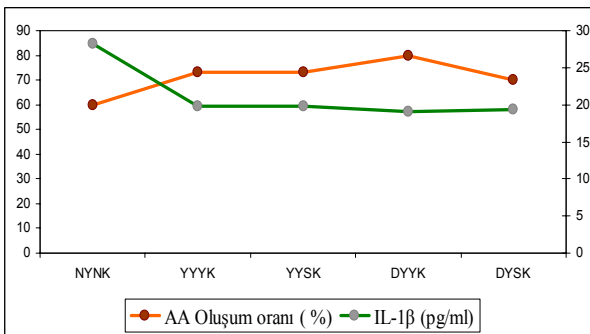


**Şekil-23** Amiloidozis oluşum oranı ile IL-6 değerlerinin karşılaştırılması

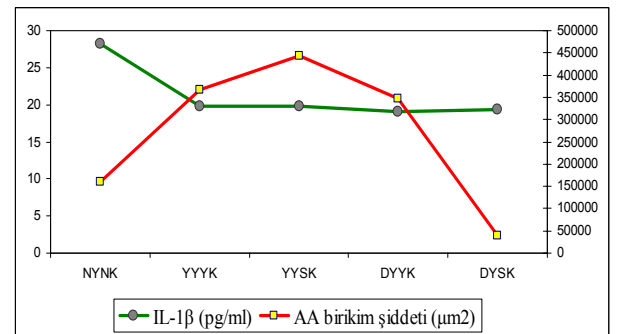


**Şekil-24** Amiloid birikim şiddeti ile IL-6 değerlerinin karşılaştırılması

Şekil-23 ve Şekil-24’de gözlemlendiği gibi plazma IL-6 değeri ile amiloidozis oluşum oranı arasında paralellik bulunamamış (Şekil-23), amiloid birikim şiddeti ile plazma IL-6 değeri arasında ise mutlak bir paralellik gözlenmiştir (Şekil-24).

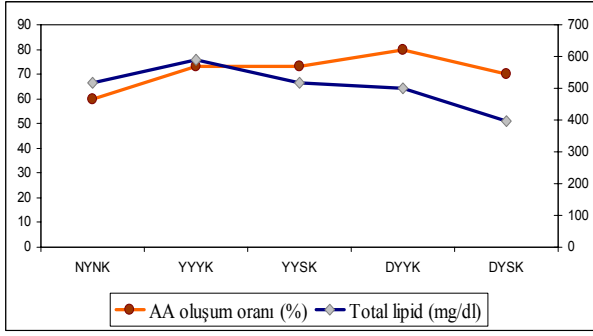


**Şekil-25** Amiloidozis oluşum oranı ile IL-1 $\beta$  değerlerinin karşılaştırılması

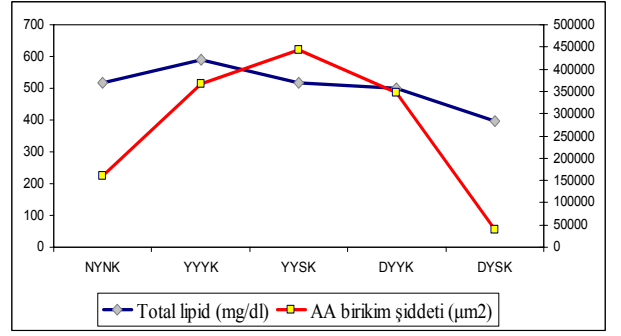


**Şekil-26** Amiloid birikim şiddeti ile IL-1 $\beta$  değerlerinin karşılaştırılması

Şekil-25 ve 26’da görüldüğü gibi amiloidozis oluşum oranı ve birikim şiddeti ile IL-1 $\beta$  değerleri arasında ilişki gözlenmemiştir.

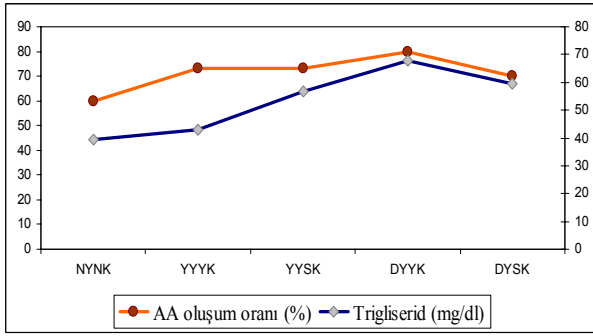


**Şekil-27** Amiloidozis oluşum oranı ile total lipit değerlerinin karşılaştırılması

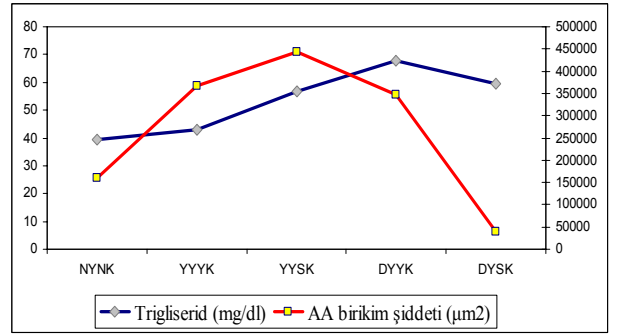


**Şekil-28** Amiloid birikim şiddeti ile total lipit değerlerinin karşılaştırılması

Şekil-27 ve Şekil-28’de gözlendiği gibi plazma total lipit eğrisi ile amiloidozis oluşum oranı ve şiddet eğrileri arasında mutlak bir paralellik olmamakla birlikte özellikle amiloid birikim şiddeti eğrisindeki DYSK grubuna denk gelen düşüş ile plazma total lipit eğrisindeki aynı gruba denk gelen düşüş arasında paralellik bulunmuştur (Şekil-28).

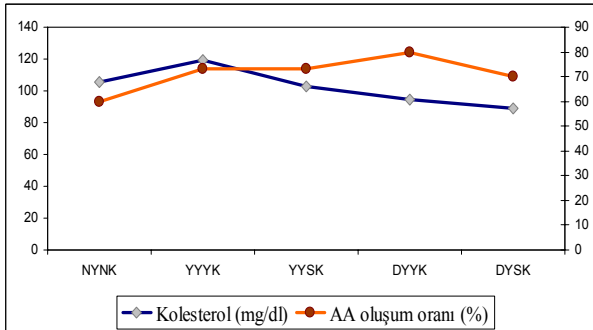


**Şekil-29** Amiloidozis oluşum oranı ile trigliserit değerlerinin karşılaştırılması

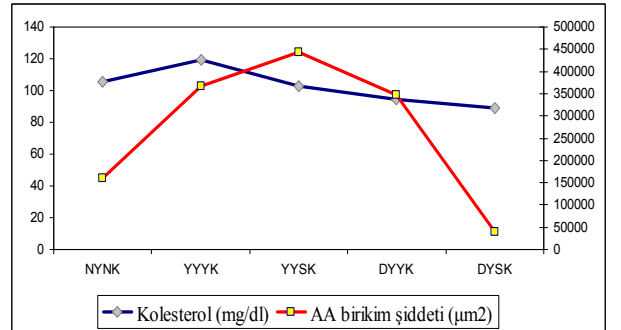


**Şekil-30** Amiloid birikim şiddeti ile trigliserit değerlerinin karşılaştırılması

Şekil 29 ve 30’da görüldüğü gibi trigliserit değerleri ile amiloidozis oluşum oranı ve şiddeti arasında bariz bir paralellik gözlenmemiştir.

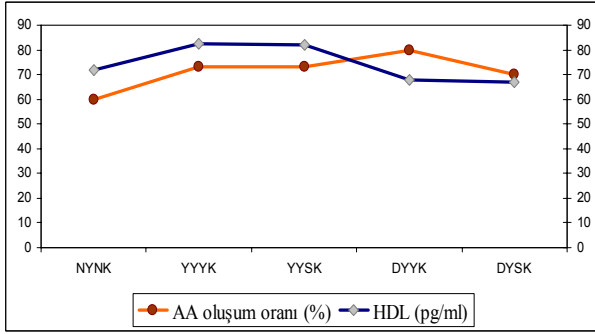


**Şekil-31** Amiloidozis oluşum oranı ile kolesterol değerlerinin karşılaştırılması

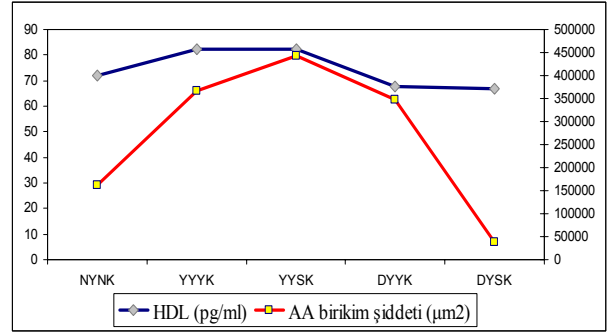


**Şekil-32** Amiloid birikim şiddeti ile kolesterol değerlerinin karşılaştırılması

Şekil-31 ve 32’de görüldüğü gibi plazma kolesterol değer eğrisi ile amiloidozis oluşum oranı ve amiloid birikimi şiddet eğrileri arasında belirgin bir paralellik bulunmamıştır.

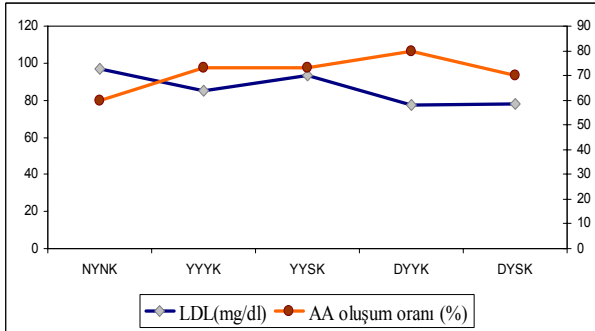


Şekil-33 Amiloidozis oluşum oranı ile HDL değerlerinin karşılaştırılması

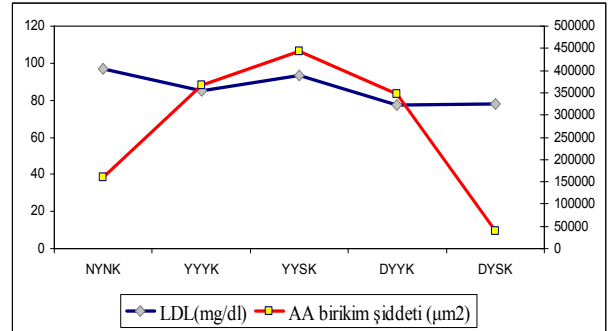


Şekil-34 Amiloid birikim şiddeti ile HDL değerlerinin karşılaştırılması

Şekil-33 ve 34’de gözlemlendiği gibi plazma HDL-kolesterol eğrisi ile amiloidozis oluşum oranı eğrisi arasında kısmi bir paralellik gözlenirken (Şekil-33), HDL-kolesterol ve amiloid birikimi şiddet eğrileri arasında daha belirgin bir pozitif korelasyon kaydedilmiştir (Şekil-34).

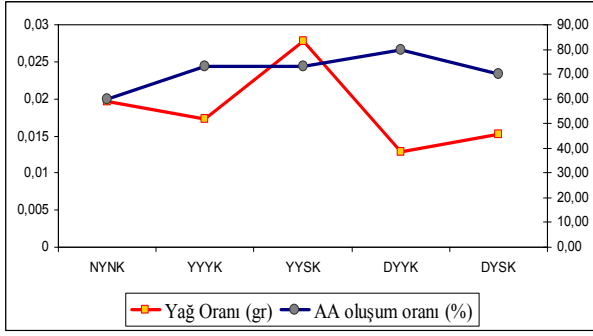


Şekil-35 Amiloidozis oluşum oranı ile LDL değerlerinin karşılaştırılması

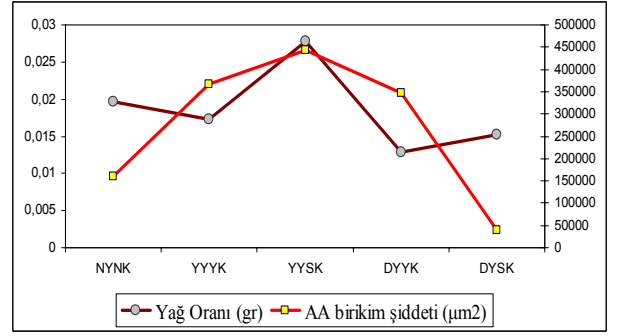


Şekil-36 Amiloid birikim şiddeti ile LDL değerlerinin karşılaştırılması

Şekil-35 ve 36’da gözlemlendiği gibi plazma LDL-kolesterol değeri ile amiloidozis oluşum oranı arasında ters korelasyon gözlenmiştir (Şekil-35). Plazma LDL-kolesterol değeri ile amiloid birikim şiddeti eğrileri yüksek yağlı ve/veya kolesterolü gruplara denk gelen kısımlarda birbirine paralel olarak yükselmiş ve yine her iki eğri DYSK grubuna karşılık düşüş göstermiştir (Şekil-36).

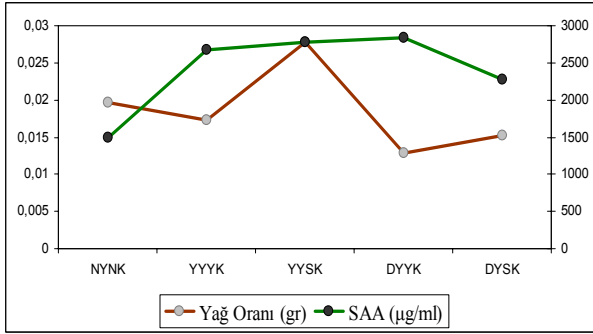


**Şekil-37** Amiloidozis oluşum oranı ile vücut yağ oranı değerleri karşılaştırılması

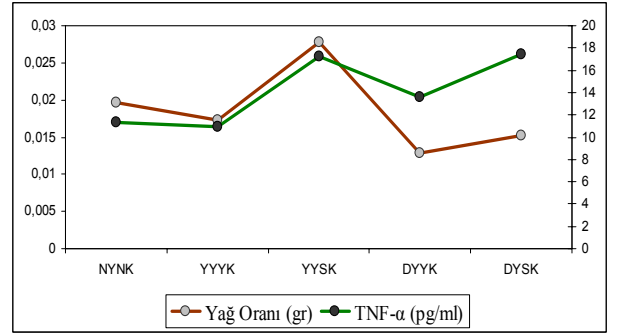


**Şekil-38** Amiloid birikim şiddeti ile vücut yağ oranı değerlerinin karşılaştırılması

Şekil 37 ve 38’de gözleendiği gibi amiloidozis oluşum oranı ile vücut yağ oranı arasında paralellik saptanamamıştır (Şekil-37), ancak vücut yağ oranı eğrisi ile amiloid birikim şiddeti eğrilerinin her ikisi de YYSK grubunda pik yaparak yükselmiştir. Ayrıca tıpkı TNF- $\alpha$  değerlerinde olduğu gibi, vücut yağ oranı yüksek kolesterolü yem yiyen gruplarda düşmüş, düşük kolesterolü yem yiyen gruplarda yükselmiştir (Şekil-38).



**Şekil-39** Vücut yağ oranı ile SAA değerlerinin karşılaştırılması

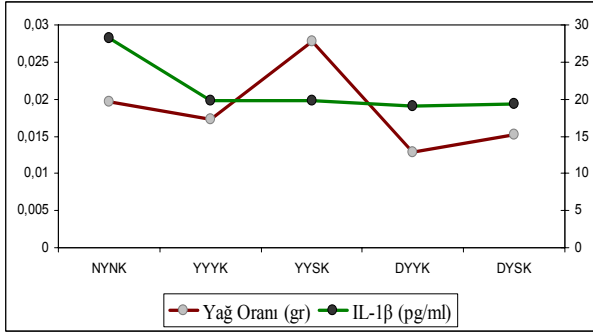


**Şekil-40** Vücut yağ oranı ile TNF- $\alpha$  değerlerinin karşılaştırılması

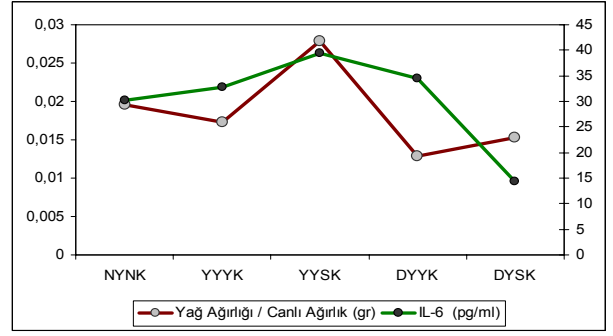
Şekil- 39’da gözlenildiği gibi SAA değerleri ile vücut yağ oranı arasında direkt bir ilişki gözlenememiştir.

Şekil-40’da görüldüğü gibi vücut yağ oranı ile TNF-  $\alpha$  eğrileri kısmen paralel seyretmiştir.





**Şekil-41** Vücut yağ oranı ile IL-1 $\beta$  değerlerinin karşılaştırılması



**Şekil-42** Vücut yağ oranı ile IL-6 değerlerinin karşılaştırılması

Şekil-41’de görüldüğü gibi vücut yağ oranı ile IL-1 $\beta$  değerleri ilişkili görülmemiştir.

Şekil-42’de görüldüğü gibi vücut yağ oranı eğrisi ile plazma IL-6 eğrisi arasında mutlak bir paralellik olmasa da her iki eğri de YYSK grubunda pik yapmıştır.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Farklı amiloidozis türleri ile diyet arasındaki ilişkiyi açıklayan ve özellikle yüksek kolesterol diyetlerinin önemini bildiren bazı çalışmalar mevcuttur (35, 53, 196, 197). Buna karşılık, uzun yıllardır bilinen ve birçok hastalıkla ilişkisi ortaya konulan (75, 78, 80-83) sistemik AA amiloidozisin patogenezi hakkında bilgiler hala yeterli olmayıp, beslenme ile ilişkisi son yıllarda araştırılmaya başlanmıştır (43- 45).

Yemlerdeki yağ ve kolesterolün sistemik AA amiloidozis üzerine etkilerinin incelendiği bu çalışmada, gruplardaki amiloid pozitif hayvan oranına bakıldığında, yüksek yağ ve/veya yüksek kolesterol içeren yemlerle beslenmiş DYYK (% 80), YYYK (% 73.34) ve YYSK (% 73.34) gruplarına ait oranların yağ ve kolesterolü kısıtlanmış DYSK (% 70) ile, normal yemle beslenen NYNK (% 60) gruplarına kıyasla daha yüksek olması, dikkate değer bulunmuştur (Tablo-9, Şekil-15). Gruplardaki amiloidozis pozitiflik oranının birbirine yakın seyretmesi beklenmeyen bir sonuç değildir, zira amiloid oluşturmak için farelere enjekte edilen yağlı ve kazeinli solüsyonun peritondan yavaş yavaş emilmesi SAA'nın ve sitokinlerin sürekli uyarılarak yüksek tutulmasına neden olmuş ve gruplarda % 60-% 80 arasında amiloidozis oluşumuna yol açmıştır. Nitekim enjeksiyonu takiben tüm gruplardaki SAA ve plazma sitokin değerlerinin enjeksiyon öncesine göre önemli derecede yükselmiş olduğu gözlenmiştir ki (Tablo-5, Şekil-3, 4, 5) dolaşımdaki SAA ve bazı sitokinlerin artışının amiloid oluşumu üzerindeki etkisi daha önce de bildirilmiştir (28-30, 103, 116).

Amiloidozis tipik olarak progressif bir tablo sergiler ve birikimin yoğunluğu ile doğru orantılı olan organ yetmezliğine yol açar (1). Dolayısı ile etkilenen organ çeşiti ne kadar fazla olur ve organda biriken amiloid miktarı ne kadar şiddetli olursa hastalığın prognozu da o derece ağır olup, ölüme yol açabilir ( 2, 3, 199). Bu sebeple bu çalışmadaki tek kriter amiloid pozitiflik oranı olarak düşünülmemiş, etkilenen organ sayısı ve etkilenen organlarda biriken amiloidin miktarı daha önemli kriterler olarak öngörülmüştür. Nitekim, değerlerin karşılaştırılması sonucunda gruplardaki amiloidozis oluşum oranları ile amiloid birikim şiddeti arasında doğrudan ilişki bulunmamış (Şekil-17), amiloidozis pozitiflik oranı gruplarda yakın seyretmesine rağmen, etkilenen organ sayısı ve birikimin şiddeti bakımından gruplar arasında önemli farklılıklar kaydedilmiştir (Tablo-9, 10, Şekil-15).

Farelerdeki deneysel sistemik amiloidozis olgularında AA amiloid birikiminin önce dalakta ve özellikle perifoliküler bölgede şekillendiği, daha sonra ise sırasıyla karaciğer ve böbreklere yayılım gösterdiği bildirilmektedir (178). Bu çalışmada da amiloid birikimlerinin tüm gruplarda öncelikle dalakta şekillenmiş olması ve dalakta amiloid gözlenmeyen

hayvanların diğer organlarında amiloid varlığına rastlanılmaması literatür bilgisiyle (178) uyumlu bulunmuştur.

Gruplar etkilenen organ sayısı bakımından karşılaştırıldığında; en yaygın organ tutulumunun toplam 51 organ ile yağ ve kolesterolün yüksek olduğu YYYYK grubunda izlenmesi, buna karşılık yağ ve kolesterolün normal olduğu ve kısıtlandığı NYNK ve DYSK gruplarında ise anlamlı olarak düşük olması (29 organ) (Tablo-9, Şekil-15) kayda değer bir sonuç olarak kabul edilmiştir. Ayrıca yüksek kolesterol içeren YYYYK grubunda 12 farenin ve DYYK grubunda 9 farenin böbreklerinde amiloid oluşumu gözlenirken, diğer gruplarda sadece 2'şer farenin böbreğinde amiloid varlığına rastlanmış olması da önemli bir bulgu olarak kaydedilmiştir ( $p < 0.05$ ). Bu sonuç, diyetteki yüksek kolesterolün amiloidozisin vücutta yayılımını hızlandırmada yağdan daha etkili olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Ayrıca, amiloidozis prognozunda etkili olan (2, 3, 199) amiloid birikim şiddetinin DYSK grubunda diğer gruplardan düşük olması ve en yüksek birikimin gözleendiği YYSK grubu ile arasındaki farkın istatistiki önemde ( $p < 0.05$ ) bulunmuş olması, diyetle yağ ve kolesterol kısıtlamasına gidilmesinin önemini vurgulamıştır. YYSK grubunun yanı sıra, amiloid birikim şiddetinin YYYYK ve DYYK gruplarında da normal yem (NYNK) grubundan daha yüksek çıkmış olması da önemli bir bulgu olarak kaydedilmiştir. Bütün bu sonuçlar, gıda ile alınan yağ ve kolesterolün amiloid oluşumu, amiloidin organlara dağılımı ve biriken amiloidin miktarı üzerinde önemli arttırıcı bir etkisi bulunduğunu açıkça göstermiştir.

Bildiğimiz kadarı ile herhangi bir hastalık oluşturulmadan diyetle yağın farelerde tek başına SAA'yı indükleyebileceğini bildiren yalnız bir rapor mevcuttur (200). Bu nedenle bu çalışmanın ilk bölümünde sadece besindeki yağ ve kolesterol artışının SAA ve sitokinler üzerine bir etkisinin olup olmadığı sağlıklı farelerde incelenmiştir. Sonuçta 4 haftalık besi sonunda yüksek yağ gruplarında (YYYYK ve YYSK), IL-6 seviyesinde anlamlı bulunmasa da hafif yükselmeler görülmüştür (Tablo-1, Şekil-5). Aynı zamanda YYYYK, YYSK ve DYYK gruplarının hepsinde de SAA değerleri diğer iki gruba göre daha yüksek bulunmuş (Tablo-1; Şekil-3) ve sırasıyla DYYK ve YYSK gruplarında SAA değerlerindeki yükselmelerin anlamlı ( $p < 0.01$  ve  $p < 0.05$ ) olduğu görülmüştür. Tüm bu bulgular (Tablo-1, Şekil-3), son yıllarda diyetle yüksek yağ ve kolesterolün akut faz reaksiyonunu uyurabildiği ve (32, 36-38) obezite ile akut faz reaksiyonu ve sitokinler arasında bir ilişki olabileceğini bildiren (42-45) araştırmacıların raporlarını desteklemiştir. Lewis ve arkadaşları (201), yağ diyetlerinin SAA'yı arttırmada kolesterolden daha etkili olduğunu, ancak yağa kolesterol ilavesi yapıldığında bu etkinin katlandığını belirtmişlerdir (201). Bu araştırmacıların aksine bu çalışmada ise, yağın SAA değerleri üzerine kolesterolden farklı bir etkisi saptanamamıştır

(Tablo-1, Şekil-3). Buna karşılık, dört haftalık besiye tabi tutulan kontrol grubu farelerde IL-6 seviyelerinin özellikle yüksek yağlı yem gruplarında (YYYK, YYSK) arttığı, düşük yağlı (DYYK) yem grubunda ise yükselmediği dikkati çekmiştir (Tablo-1, Şekil-5). Bu sonuç, yağın IL-6'nın yükselmesinde kolesterolden daha etkili olup olmadığı sorusunu akla getirmiştir.

Amiloid fibrillerinin prekürsörü olan SAA artışının amiloid oluşumu üzerindeki etkisi bilinmektedir (28, 103, 116). Bu çalışmada dolaşımdaki SAA değerlerinin amiloidozis pozitiflik oranı ile oldukça paralel seyrettiği (Şekil-18) fakat amiloid birikim şiddeti ile SAA değerleri arasında aynı derecede paralel bir ilişki bulunmadığı (Şekil-19) gözlenmiştir. Bu sonuca göre, SAA'nın amiloidozis oluşumundaki önemi bir kez daha vurgulanmış olmakla birlikte, dolaşımdaki SAA seviyelerinin tek başına amiloid birikim şiddetini etkilemediği sonucuna varılmıştır.

Sitokin inhibitörlerinin kanatlılarda deneysel olarak indüklenmiş amiloidozis şiddetini azalttığı daha önce gösterilmiştir (103, 202). Ayrıca, dolaşımda artan IL-6 ve TNF- $\alpha$ 'nın amiloid oluşumu üzerindeki etkisini (29, 30) ve dolaşımdaki IL-6 seviyelerinin düşürülmesinin amiloidozis oluşumunu azalttığını bildiren (155) yayınlar da mevcuttur. Bu çalışmada IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  seviyelerinin amiloidozis ile ilişkisi incelenmiş, sonuç olarak IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$ 'nın deneme farelerinde amiloid oluşumu üzerinde anlamlı etkisi gözlenmemiştir (Tablo-1 ve 3, Şekil-4, 20 ve 21, Şekil-6, 25 ve 26). Hatta ilginç bir şekilde amiloidozis oluşum oranı ile plazma TNF- $\alpha$  değerleri arasında ters korelasyon saptanmıştır (Şekil-20). Buna karşılık, en az amiloid şiddetinin gözlendiği DYSK grubunda IL-6 değerlerinin tüm gruplardan önemli derecede ( $p < 0.05$ ) (Tablo-3, Şekil-5) düşük olması dikkati çekmiş ve amiloid birikim şiddeti ile plazma IL-6 değeri arasında mutlak bir paralellik gözlenmiştir (Şekil-24). Bu bulgu amiloidozis oluşumunda IL-6'nın önemini vurgulayan literatür bilgisini (29, 155, 158) desteklemiş ve IL-6 seviyelerinin kanda düşük tutulmasının amiloidin şiddetini azaltabileceğini bir kez daha göstermiştir. Bu nedenle bu çalışma diyetteki yağ ve kolesterol kısıtlamasıyla IL-6 seviyelerinin önemli ölçüde düşürülebileceğine ve bu sayede amiloidozis prognozunda düzelme sağlanabileceğine de dikkati çekmiştir.

Yağ dokusu, olgun adipositleri, preadipositleri kapsayan stromavasküler alan ile endotelial hücreler ve makrofajları içerir. Obez rodentlerde yağ dokuda makrofaj infiltrasyonunda artış gözlenmesi, bu dokunun yangının önemli bir kaynağı olduğu şeklinde yorumlanmaktadır (48, 49). Bazı araştırmacılar, obez bireylerde yangısel marker seviyelerindeki artışın yağ dokudan köken alan sitokinlerle ilişkili olduğunu iddia etmişler (46,47) ve obez bireylerde SAA seviyesinde gözlenen artışın, yağ doku içine göç eden

makrofajların SAA indükleyici sitokinleri salgılamalarından kaynaklanabileceğini (28, 48, 49, 203) bildirmişlerdir. Bu sebeple, vücut kitle indeksi ile SAA seviyeleri arasında güçlü bir korelasyon olduğu düşünülmektedir (168). Salazar ve arkadaşları (117), yağ dokusu fazla olan hayvanlarda SAA üretiminin de daha fazla olduğunu bildirmişler; Fried ve arkadaşları ise (204), adipositlerden ve adiposit stromal hücrelerinden IL-6 salgılanabileceğini ifade ederek, yangısel sitokinlerin salınımı ve üretiminin visceral yağ dokusunun artmasıyla ilişkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Bu çalışmada 4 haftalık besi sonrası en yüksek yağ doku miktarına sahip YYYYK ve YYSK gruplarının (Tablo-7) aynı zamanda da en yüksek IL-6 seviyesine sahip olan gruplar olduğu (Tablo-1, Şekil-5) ve YYSK grubunun aynı zamanda anlamlı ( $p < 0.05$ ) SAA artışı gösterdiği (Tablo-1, Şekil-3) gözlenmiştir. Ayrıca, enjeksiyonları takiben en yüksek yağ doku miktarına sahip YYSK grubunun (Tablo-8) aynı zamanda en yüksek IL-6 seviyesine de sahip olduğu (Tablo-3, Şekil-5, 42) görülmüştür. Bu bulgular, yağ hücrelerinin IL-6 ve SAA salgılanmasında rolü olabileceğini ve vücut yağ miktarındaki artışın SAA ve IL-6 seviyelerinin yükselteceğini söyleyen araştırmacıları (42- 49, 117, 168, 203, 204 ) ayrıca diyetle zayıflayan insanlarda SAA salınımının azaldığını ve kalori kısıtlamasından sonra obez bireylerde yağ dokuda IL-6'nın azaldığını belirten araştırmacıları (44,45) da desteklemiştir.

Poitou ve arkadaşları (43), obez bireylerin derialtı beyaz yağ dokusu örneklerinde IHC boyama ile adipositlerin perinükleer bölgesinde amiloid proteinlerinin varlığı yanı sıra, yağ dokuda fibroblast aktivasyonu ve makrofaj infiltrasyonunu göstermişlerdir. Bu çalışmada da benzer şekilde, özellikle yağlı ve kolesterollü yemlerle beslenen farelerde daha belirgin olmak üzere karın bölgesi adipozitlerinde amiloid A komponent proteinine karşı IHC ile pozitif boyanma saptanmış ve amiloidli farelerde yağ doku içerisinde fibroblast aktivasyonu ve makrofaj infiltrasyonları dikkati çekmiştir. Bu bulgular yağ hücrelerinin bizzat kendilerinin SAA salgılayabildiklerini ileri süren araştırmacıların (28, 42-45, 50) görüşünü de desteklemiştir.

Yüksek oranda yağ içeren ve kolesterol ile desteklenmiş diyetle uzun süre beslenen farelerde karaciğer total kolesterol ve total trigliserit oranları, plazma total kolesterol değerleri, vücut ağırlığı ve yağ doku miktarında artış şekillenir (31). Bununla birlikte ilgili gen ekspresyonu ile karaciğerde akut faz proteinlerinin sentezlenmesinde artış saptandığı (39) ve dolaşımdaki SAA seviyelerinin arttığı (31) bildirilmektedir.

Bu araştırmacıların bulgularını doğrular şekilde, bu çalışmada yemdeki yağ ve kolesterolü kısıtlamak sureti ile YYSK grubunda plazma total lipit değerlerinin tüm gruplara kıyasla anlamlı ( $p < 0.05$ ) düşüşü ile (Tablo-4, Şekil-8, 28), kolesterol ve HDL, LDL-

kolesterol seviyelerinde de düşüş saptanmıştır (Tablo-4, Şekil-8, 34, 36). DYSK grubunun aynı zamanda amiloidin de şiddet bakımından en hafif olarak gözlemlendiği grup olması (Tablo-10, Şekil-16) plazmadaki total lipit değeri başta olmak üzere, çeşitli plazma lipit değerlerinin düşük tutulmasının amiloid oluşum şiddetini azaltmak bakımından faydalı olabileceğini düşündürmüştür.

Sonuç olarak, bu çalışmadan elde edilen bulgularla, yağ ve/veya kolesterolden zengin gıdalarla beslenmenin indüklenmiş ( kazein ve Freund's adjuvant emülsiyonu ile) amiloidozisin şiddet ve yaygınlığını artırdığı sonucuna varılmıştır. Gıdada yağ ve kolesterol kısıtlamasına gidilmesinin, etkilenen organ sayısını kısıtladığı ve etkilenmiş organlarda biriken amiloidin miktarını sınırladığı ortaya konmuştur. Bu nedenle diyetle yağ ve kolesterol kısıtlamasına gidilmesinin amiloidozis hastalarında kötü prognoza karşı etkili bir önlem olacağı ve dolaşımdaki IL-6 ve plazma total lipit seviyelerindeki düşüşün bunda özellikle etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

## DESCRIPTION

Modification of TestDiet® Basal Diet 5755 with 0.025% Cholesterol and Lard.

Storage conditions are particularly critical to TestDiet® products, due to the absence of antioxidants or preservative agents. To provide maximum protection against possible changes during storage, store in a dry, cool location. Storage under refrigeration (2° C) is recommended. Maximum shelf life is six months. (If long term studies are involved, storing the diet at -20° C or colder may prolong shelf life.) Be certain to keep in air tight containers.

Product Forms Available*	Catalog #
1/2" Pellet	1811240

\*Other Forms Available By Request

## INGREDIENTS (%)

Casein - Vitamin Free	25.8448
Lard	23.7000
Sucrose	12.5219
Dextrin	11.2696
Crisco	7.9599
Powdered Cellulose	6.4612
Soybean Oil	3.2306
Potassium Citrate, Tribasic Monohydrate	2.1322
Dicalcium Phosphate	1.6799
AIN-76A Vitamin Mix	1.2922
DIO Mineral Mix	1.2922
Maltodextrin	1.2522
Calcium Carbonate	0.7107
L-Cystine	0.3877
Choline Bitartrate	0.2584
Yellow Dye	0.0065

## FEEDING DIRECTIONS

Feed ad libitum. Plenty of fresh, clean water should be available at all times.

### CAUTION:

Perishable, upon receipt store in a cool dry place, refrigeration recommended.

For laboratory animal experimental use only, NOT for human consumption.

2/8/2006

## NUTRITIONAL PROFILE <sup>1</sup>

<b>Protein, %</b>	<b>23.6</b>	<b>Minerals</b>	
Arginine, %	0.90	Calcium, %	0.63
Histidine, %	0.67	Phosphorus, %	0.52
Isoleucine, %	1.24	Phosphorus (available), %	0.52
Leucine, %	2.24	Potassium, %	0.77
Lysine, %	1.88	Magnesium, %	0.07
Methionine, %	0.67	Sodium, %	0.13
Cystine, %	0.48	Chlorine, %	0.21
Phenylalanine, %	1.24	Fluorine, ppm	26.4
Tyrosine, %	1.31	Iron, ppm	198
Threonine, %	1.00	Zinc, ppm	48
Tryptophan, %	0.29	Manganese, ppm	84
Valine, %	1.47	Copper, ppm	7.8
Alanine, %	0.71	Cobalt, ppm	0.1
Aspartic Acid, %	1.66	Iodine, ppm	0.27
Glutamic Acid, %	5.28	Chromium, ppm	4.0
Glycine, %	0.50	Molybdenum, ppm	3.09
Proline, %	3.04	Selenium, ppm	0.21
Serine, %	1.43		
Taurine, %	0.00	<b>Vitamins</b>	
<b>Fat, %</b>	<b>34.9</b>	Vitamin A, IU/g	5.2
Cholesterol, ppm	225	Vitamin D-3 (added), IU/g	1.3
Linoleic Acid, %	3.93	Vitamin E, IU/kg	64.6
Linolenic Acid, %	0.35	Vitamin K (as menadione), ppm	0.65
Arachidonic Acid, %	0.05	Thiamin Hydrochloride, ppm	7.8
Omega-3 Fatty Acids, %	0.35	Riboflavin, ppm	7.8
Total Saturated Fatty A	10.38	Niacin, ppm	39
Total Monounsaturated Fatty Acids, %	10.73	Pantothenic Acid, ppm	19
Polyunsaturated Fatty Acids, %	4.40	Folic Acid, ppm	2.6
<b>Fiber (max), %</b>	<b>6.5</b>	Pyridoxine, ppm	7.4
<b>Carbohydrates, %</b>	<b>26.8</b>	Biotin, ppm	0.3
<b>Energy (kcal/g) <sup>2</sup></b>	<b>5.16</b>	Vitamin B-12, mcg/kg	13
<b>From:</b>	<b>kcal</b>	<b>%</b>	
Protein	0.943	18.3	
Fat (ether extract)	3.140	60.9	
Carbohydrates	1.070	20.8	
			1. Based on the latest ingredient analysis information. Since nutrient composition of natural ingredients varies, analysis will differ accordingly. Nutrients expressed as percent of ration on an As Fed basis except where otherwise indicated.
			2. Energy (kcal/gm) - Sum of decimal fractions of protein, fat and carbohydrate x 4,9,4 kcal/gm respectively.



## DESCRIPTION

Modification of TestDiet® Basal Diet 5755 with no Cholesterol or Lard.

Storage conditions are particularly critical to TestDiet® products, due to the absence of antioxidants or preservative agents. To provide maximum protection against possible changes during storage, store in a dry, cool location. Storage under refrigeration (2° C) is recommended. Maximum shelf life is six months. (If long term studies are involved, storing the diet at -20° C or colder may prolong shelf life.) Be certain to keep in air tight containers.

<b>Product Forms Available*</b>	<b>Catalog #</b>
1/2" Pellet	1811241

\*Other Forms Available By Request

## INGREDIENTS (%)

Crisco	31.6599
Casein - Vitamin Free	25.8448
Sucrose	12.5219
Dextrin	11.2696
Powdered Cellulose	6.4612
Soybean Oil	3.2306
Potassium Citrate, Tribasic Monohydrate	2.1322
Dicalcium Phosphate	1.6799
DIO Mineral Mix	1.2922
AIN-76A Vitamin Mix	1.2922
Maltodextrin	1.2522
Calcium Carbonate	0.7107
L-Cystine	0.3877
Choline Bitartrate	0.2584
Yellow Dye	0.0044
Red Dye	0.0021

## FEEDING DIRECTIONS

Feed ad libitum. Plenty of fresh, clean water should be available at all times.

### CAUTION:

**Perishable, upon receipt store in a cool dry place, refrigeration recommended.**

**For laboratory animal experimental use only, NOT for human consumption.**

2/8/2006

## NUTRITIONAL PROFILE <sup>1</sup>

<b>Protein, %</b>	<b>23.6</b>	<b>Minerals</b>	
Arginine, %	0.90	Calcium, %	0.63
Histidine, %	0.67	Phosphorus, %	0.52
Isoleucine, %	1.24	Phosphorus (available), %	0.52
Leucine, %	2.24	Potassium, %	0.77
Lysine, %	1.88	Magnesium, %	0.07
Methionine, %	0.67	Sodium, %	0.13
Cystine, %	0.48	Chlorine, %	0.21
Phenylalanine, %	1.24	Fluorine, ppm	26.4
Tyrosine, %	1.31	Iron, ppm	198
Threonine, %	1.00	Zinc, ppm	48
Tryptophan, %	0.29	Manganese, ppm	84
Valine, %	1.47	Copper, ppm	7.8
Alanine, %	0.71	Cobalt, ppm	0.1
Aspartic Acid, %	1.66	Iodine, ppm	0.27
Glutamic Acid, %	5.28	Chromium, ppm	4.0
Glycine, %	0.50	Molybdenum, ppm	3.09
Proline, %	3.04	Selenium, ppm	0.21
Serine, %	1.43		
Taurine, %	0.00		

<b>Fat, %</b>	<b>34.9</b>	<b>Vitamins</b>	
Cholesterol, ppm	0	Vitamin A, IU/g	5.2
Linoleic Acid, %	1.65	Vitamin D-3 (added), IU/g	1.3
Linolenic Acid, %	0.25	Vitamin E, IU/kg	64.6
Arachidonic Acid, %	0.00	Vitamin K (as menadione), ppm	0.65
Omega-3 Fatty Acids, %	0.25	Thiamin Hydrochloride, ppm	7.8
Total Saturated Fatty A	0.50	Riboflavin, ppm	7.8
Total Monounsaturated Fatty Acids, %	0.76	Niacin, ppm	39
Polyunsaturated Fatty Acids, %	1.97	Pantothenic Acid, ppm	19
		Folic Acid, ppm	2.6
		Pyridoxine, ppm	7.4
		Biotin, ppm	0.3
		Vitamin B-12, mcg/kg	13
		Choline Chloride, ppm	1,292
		Ascorbic Acid, ppm	0.0

**Energy (kcal/g) <sup>2</sup> 5.16**

From:	kcal	%
Protein	0.943	18.3
Fat (ether extract)	3.140	60.9
Carbohydrates	1.070	20.8

1. Based on the latest ingredient analysis information. Since nutrient composition of natural ingredients varies, analysis will differ accordingly. Nutrients expressed as percent of ration on an As Fed basis except where otherwise indicated.

2. Energy (kcal/gm) - Sum of decimal fractions of protein, fat and carbohydrate x 4,9,4 kcal/gm respectively.





## DESCRIPTION

Modification of TestDiet® Basal Diet 5755 with 0% Cholesterol and no Lard.

Storage conditions are particularly critical to TestDiet® products, due to the absence of antioxidants or preservative agents. To provide maximum protection against possible changes during storage, store in a dry, cool location. Storage under refrigeration (2° C) is recommended. Maximum shelf life is six months. (If long term studies are involved, storing the diet at -20° C or colder may prolong shelf life.) Be certain to keep in air tight containers.

Product Forms Available*	Catalog #
1/2" Pellet	1811242

\*Other Forms Available By Request

## INGREDIENTS (%)

Sucrose	33.1729
Dextrin	29.8562
Casein - Vitamin Free	18.9560
Powdered Cellulose	4.7390
Maltodextrin	3.3174
Soybean Oil	2.3700
Crisco	1.8962
Potassium Citrate, Tribasic Monohydrate	1.5640
Dicalcium Phosphate	1.2320
DIO Mineral Mix	0.9480
AIN-76A Vitamin Mix	0.9480
Calcium Carbonate	0.5210
L-Cystine	0.2843
Choline Bitartrate	0.1900
Red Dye	0.0050

## FEEDING DIRECTIONS

Feed ad libitum. Plenty of fresh, clean water should be available at all times.

### CAUTION:

Perishable, upon receipt store in a cool dry place, refrigeration recommended.

For laboratory animal experimental use only, NOT for human consumption.

2/8/2006

## NUTRITIONAL PROFILE <sup>1</sup>

<b>Protein, %</b>	<b>17.3</b>	<b>Minerals</b>	
Arginine, %	0.66	Calcium, %	0.46
Histidine, %	0.49	Phosphorus, %	0.38
Isoleucine, %	0.91	Phosphorus (available), %	0.38
Leucine, %	1.64	Potassium, %	0.57
Lysine, %	1.38	Magnesium, %	0.05
Methionine, %	0.49	Sodium, %	0.10
Cystine, %	0.35	Chlorine, %	0.15
Phenylalanine, %	0.91	Fluorine, ppm	19.3
Tyrosine, %	0.96	Iron, ppm	145
Threonine, %	0.73	Zinc, ppm	35
Tryptophan, %	0.21	Manganese, ppm	62
Valine, %	1.08	Copper, ppm	5.7
Alanine, %	0.52	Cobalt, ppm	0.0
Aspartic Acid, %	1.22	Iodine, ppm	0.20
Glutamic Acid, %	3.87	Chromium, ppm	2.9
Glycine, %	0.37	Molybdenum, ppm	2.27
Proline, %	2.23	Selenium, ppm	0.15
Serine, %	1.05		
Taurine, %	0.00	<b>Vitamins</b>	
		Vitamin A, IU/g	3.8
<b>Fat, %</b>	<b>4.3</b>	Vitamin D-3 (added), IU/g	0.9
Cholesterol, ppm	0	Vitamin E, IU/kg	47.4
Linoleic Acid, %	1.21	Vitamin K (as menadione), ppm	0.48
Linolenic Acid, %	0.18	Thiamin Hydrochloride, ppm	5.7
Arachidonic Acid, %	0.00	Riboflavin, ppm	5.7
Omega-3 Fatty Acids, %	0.18	Niacin, ppm	28
Total Saturated Fatty A	0.37	Pantothenic Acid, ppm	14
Total Monounsaturated Fatty Acids, %	0.56	Folic Acid, ppm	1.9
Polyunsaturated Fatty Acids, %	1.45	Pyridoxine, ppm	5.5
		Biotin, ppm	0.2
<b>Fiber (max), %</b>	<b>4.7</b>	Vitamin B-12, mcg/kg	9
		Choline Chloride, ppm	950
<b>Carbohydrates, %</b>	<b>67.5</b>	Ascorbic Acid, ppm	0.0
<b>Energy (kcal/g) <sup>2</sup></b>	<b>3.78</b>		
<b>From:</b>	<b>kcal</b>	<b>%</b>	
Protein	0.692	18.3	
Fat (ether extract)	0.384	10.2	
Carbohydrates	2.699	71.5	

1. Based on the latest ingredient analysis information. Since nutrient composition of natural ingredients varies, analysis will differ accordingly. Nutrients expressed as percent of ration on an As Fed basis except where otherwise indicated.  
2. Energy (kcal/gm) - Sum of decimal fractions of protein, fat and carbohydrate x 4,9,4 kcal/gm respectively.



**DESCRIPTION**

Modification of TestDiet® Basal Diet 5755 with 47 PPM Cholesterol from Lard.

Storage conditions are particularly critical to TestDiet® products, due to the absence of antioxidants or preservative agents. To provide maximum protection against possible changes during storage, store in a dry, cool location. Storage under refrigeration (2° C) is recommended. Maximum shelf life is six months. (If long term studies are involved, storing the diet at -20° C or colder may prolong shelf life.) Be certain to keep in air tight containers.

Product Forms Available*	Catalog #
1/2" Pellet	1811243

\*Other Forms Available By Request

**INGREDIENTS (%)**

Sucrose	30.3064
Dextrin	27.2757
Casein - Vitamin Free	18.9560
Lard	5.0300
Powdered Cellulose	4.7390
Maltodextrin	3.0306
Crisco	2.6000
Soybean Oil	2.3700
Potassium Citrate, Tribasic Monohydrate	1.5640
Dicalcium Phosphate	1.2320
AIN-76A Vitamin Mix	0.9480
DIO Mineral Mix	0.9480
Calcium Carbonate	0.5210
L-Cystine	0.2843
Choline Bitartrate	0.1900
Blue Dye	0.0050

**FEEDING DIRECTIONS**

Feed ad libitum. Plenty of fresh, clean water should be available at all times.

**CAUTION:**

Perishable, upon receipt store in a cool dry place, refrigeration recommended.

For laboratory animal experimental use only, NOT for human consumption.

2/8/2006

**NUTRITIONAL PROFILE <sup>1</sup>**

<b>Protein, %</b>	<b>17.3</b>	<b>Minerals</b>	
Arginine, %	0.66	Calcium, %	0.46
Histidine, %	0.49	Phosphorus, %	0.38
Isoleucine, %	0.91	Phosphorus (available), %	0.38
Leucine, %	1.64	Potassium, %	0.57
Lysine, %	1.38	Magnesium, %	0.05
Methionine, %	0.49	Sodium, %	0.10
Cystine, %	0.35	Chlorine, %	0.15
Phenylalanine, %	0.91	Fluorine, ppm	19.3
Tyrosine, %	0.96	Iron, ppm	145
Threonine, %	0.73	Zinc, ppm	35
Tryptophan, %	0.21	Manganese, ppm	62
Valine, %	1.08	Copper, ppm	5.7
Alanine, %	0.52	Cobalt, ppm	0.0
Aspartic Acid, %	1.22	Iodine, ppm	0.20
Glutamic Acid, %	3.87	Chromium, ppm	2.9
Glycine, %	0.37	Molybdenum, ppm	2.27
Proline, %	2.23	Selenium, ppm	0.15
Serine, %	1.05		
Taurine, %	0.00		

<b>Fat, %</b>	<b>10.0</b>	<b>Vitamins</b>	
Cholesterol, ppm	48	Vitamin A, IU/g	3.8
Linoleic Acid, %	1.70	Vitamin D-3 (added), IU/g	0.9
Linolenic Acid, %	0.21	Vitamin E, IU/kg	47.4
Arachidonic Acid, %	0.01	Vitamin K (as menadione), ppm	0.48
Omega-3 Fatty Acids, %	0.21	Thiamin Hydrochloride, ppm	5.7
Total Saturated Fatty A	2.46	Riboflavin, ppm	5.7
Total Monounsaturated Fatty Acids, %	2.67	Niacin, ppm	28
Polyunsaturated Fatty Acids, %	1.96	Pantothenic Acid, ppm	14
		Folic Acid, ppm	1.9
		Pyridoxine, ppm	5.5
		Biotin, ppm	0.2
		Vitamin B-12, mcg/kg	9
		Choline Chloride, ppm	950
		Ascorbic Acid, ppm	0.0

<b>Energy (kcal/g) <sup>2</sup></b>	<b>4.07</b>
-------------------------------------	-------------

From:	kcal	%
Protein	0.692	17.0
Fat (ether extract)	0.900	22.2
Carbohydrates	2.470	60.8

1. Based on the latest ingredient analysis information. Since nutrient composition of natural ingredients varies, analysis will differ accordingly. Nutrients expressed as percent of ration on an As Fed basis except where otherwise indicated.  
 2. Energy (kcal/gm) - Sum of decimal fractions of protein, fat and carbohydrate x 4,9,4 kcal/gm respectively.



## DESCRIPTION

Modification of TestDiet® Basal Diet 5755 with 225 PPM Cholesterol from Lard.

Storage conditions are particularly critical to TestDiet® products, due to the absence of antioxidants or preservative agents. To provide maximum protection against possible changes during storage, store in a dry, cool location. Storage under refrigeration (2° C) is recommended. Maximum shelf life is six months. (If long term studies are involved, storing the diet at -20° C or colder may prolong shelf life.) Be certain to keep in air tight containers.

Product Forms Available*	Catalog #
1/2" Pellet	1811244

\*Other Forms Available By Request

## INGREDIENTS (%)

Sucrose	33.1660
Dextrin	29.8500
Casein - Vitamin Free	18.9521
Powdered Cellulose	4.7380
Maltodextrin	3.3167
Soybean Oil	2.3695
Lard	1.8958
Potassium Citrate, Tribasic Monohydrate	1.5637
Dicalcium Phosphate	1.2317
DIO Mineral Mix	0.9478
AIN-76A Vitamin Mix	0.9478
Calcium Carbonate	0.5209
L-Cystine	0.2843
Choline Bitartrate	0.1900
Cholesterol	0.0207
Yellow Dye	0.0033
Blue Dye	0.0017

## FEEDING DIRECTIONS

Feed ad libitum. Plenty of fresh, clean water should be available at all times.

### CAUTION:

Perishable, upon receipt store in a cool dry place, refrigeration recommended.

For laboratory animal experimental use only, NOT for human consumption.

2/8/2006

## NUTRITIONAL PROFILE <sup>1</sup>

<b>Protein, %</b>	<b>17.3</b>	<b>Minerals</b>	
Arginine, %	0.66	Calcium, %	0.46
Histidine, %	0.49	Phosphorus, %	0.38
Isoleucine, %	0.91	Phosphorus (available), %	0.38
Leucine, %	1.64	Potassium, %	0.57
Lysine, %	1.38	Magnesium, %	0.05
Methionine, %	0.49	Sodium, %	0.10
Cystine, %	0.35	Chlorine, %	0.15
Phenylalanine, %	0.91	Fluorine, ppm	19.3
Tyrosine, %	0.96	Iron, ppm	145
Threonine, %	0.73	Zinc, ppm	35
Tryptophan, %	0.21	Manganese, ppm	62
Valine, %	1.08	Copper, ppm	5.7
Alanine, %	0.52	Cobalt, ppm	0.0
Aspartic Acid, %	1.22	Iodine, ppm	0.20
Glutamic Acid, %	3.87	Chromium, ppm	2.9
Glycine, %	0.37	Molybdenum, ppm	2.26
Proline, %	2.23	Selenium, ppm	0.15
Serine, %	1.05		
Taurine, %	0.00	<b>Vitamins</b>	
<b>Fat, %</b>	<b>4.3</b>	Vitamin A, IU/g	3.8
Cholesterol, ppm	225	Vitamin D-3 (added), IU/g	0.9
Linoleic Acid, %	1.39	Vitamin E, IU/kg	47.4
Linolenic Acid, %	0.19	Vitamin K (as menadione), ppm	0.48
Arachidonic Acid, %	0.00	Thiamin Hydrochloride, ppm	5.7
Omega-3 Fatty Acids, %	0.19	Riboflavin, ppm	5.7
Total Saturated Fatty A	1.16	Niacin, ppm	28
Total Monounsaturated Fatty Acids, %	1.35	Pantothenic Acid, ppm	14
Polyunsaturated Fatty Acids, %	1.64	Folic Acid, ppm	1.9
		Pyridoxine, ppm	5.5
<b>Fiber (max), %</b>	<b>4.7</b>	Biotin, ppm	0.2
		Vitamin B-12, mcg/kg	9
<b>Carbohydrates, %</b>	<b>67.5</b>	Choline Chloride, ppm	950
		Ascorbic Acid, ppm	0.0
<b>Energy (kcal/g) <sup>2</sup></b>	<b>3.78</b>		
<b>From:</b>	<b>kcal</b>	<b>%</b>	
Protein	0.692	18.3	
Fat (ether extract)	0.386	10.2	
Carbohydrates	2.698	71.5	

1. Based on the latest ingredient analysis information. Since nutrient composition of natural ingredients varies, analysis will differ accordingly. Nutrients expressed as percent of ration on an As Fed basis except where otherwise indicated.  
2. Energy (kcal/gm) - Sum of decimal fractions of protein, fat and carbohydrate x 4,9,4 kcal/gm respectively.



## KAYNAKLAR

1. SIPE JD. Amyloidosis. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 31: 325-354, 1994.
2. BERGESIO F, CICIANI AM, MANGANARO M, PALLADINI G, SANTOSTEFANO M, BRUGNANO R, DI PALMA AM, GALLO M, ROSATI A, TOSI PL, SALVADORI M. Renal involvement in systemic amyloidosis an Italian collaborative study on survival and renal outcome. *Nephrology, Dialysis, Transplantation : Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 23: 941-951, 2008.
3. EBERT EC, NAGAR M. Gastrointestinal manifestations of amyloidosis. *The American Journal of Gastroenterology*, 103:776-787, 2008.
4. ÖZDOĞAN H, KASAPCOPUR O, DEDE H, ARISOY N, BECEREN T, YURDAKUL S, YAZICI H. Juvenil chronic arthritis in Turkish population. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 9: 431-435, 1991.
5. BESBAŞ N, SAATÇI U, BAKKALOĞLU A, ÖZEN S. Amyloidosis of juvenil arthritis in Turkish children. *Scandinavian Journal of Rheumatology*, 21: 257-259, 1992.
6. AKÇAY S, AKMAN B, ÖZDEMİR H, EYÜBOĞLU FO, KARACAN O, ÖZDEMİR N. Bronchiectasis-related amyloidosis as a cause of chronic renal failure. *Renal Failure*, 24: 815-823, 2002.
7. ENSARİ C, ENSARİ A, TÜMER N, ERTUĞ E. Clinicopathological and epidemiological analysis of amyloidosis in Turkish patients. *Nephrology, Dialysis, Transplantation : Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 20: 1721-1725, 2005.
8. BALCI B, TINAZTEPE K, YILMAZ E, GUCER S, ÖZEN S, TOPALOĞLU R, BEBAS N, ÖZGÜÇ M, BAKKALOĞLU A. MEFV gene mutations in familial mediterranean fever phenotype II patients with renal amyloidosis in childhood, a retrospective clinicopathological and molecular study. *Nephrology, Dialysis, Transplantation : Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 17: 1921-1923, 2002.
9. BAKKALOĞLU A, DÜZOVA A, ÖZEN S, BALCI B, BEBAS N, TOPALOĞLU R, ÖZALTIN F, YILMAZ E. Influence of serum amyloid A (SAA1) and SAA2 gene polymorphisms on renal amyloidosis, and on SAA/C-reactive protein values in patients with familial mediterranean fever in the Turkish population. *The Journal of Rheumatology*, 31: 1139-1142, 2004.
10. TUNCA M, AKAR S, ÖNEN F, ÖZDOĞAN H, KASAPCOPUR O, YALÇINKAYA F, TUTAR E, ÖZEN S, TOPALOĞLU R, YILMAZ E, ARICI M, BAKKALOĞLU A, BEBAS N, AKPOLAT T, DİNÇ A, ERKEN E. Familial mediterranean fever (FMF) in Turkey, results of a nationwide multicenter study. *Medicine*, 84: 1-11, 2005.
11. AKAR N, HASİPEK M, ÖZTÜRK A, AKAR E, TEKİN M. Serum amyloid A1-13T/C alleles in Turkish familial mediterranean fever patients with and without amyloidosis. *Journal of Nephrology*, 19: 318-321, 2006.
12. YİĞİT S, BAĞCI H, ÖZKAYA O, ÖZDAMAR K, CENGİZ K, AKPOLAT T. MEFV mutations in patients with familial mediterranean fever in the Black Sea region of Turkey. *The Journal of Rheumatology*, 35: 106-113, 2008.
13. SEGALÉS J, VICENTE J, LUJÁN L, TOUSSAINT MJ, GRUYS E, GORTÁZAR C. Systemic AA-amyloidosis in a European wild boar (*Sus scrofa*) suffering from generalized tuberculosis. *Journal of Veterinary Medicine A, Physiology, Pathology, Clinical medicine*, 52: 135-137, 2005.
14. MCADAM KP, ANDERS RF, SMITH SR, RUSSELL DA, PRICE MA. Association of amyloidosis with erythema nodosum leprosum reactions and recurrent neutrophil leucocytosis

in leprosy. *Lancet*, 2:572-573, 1975.

15. TUĞLULAR S, YALÇINKAYA F, PAYDAŞ S, ÖNER A, ULAŞ C, BOZFAKİOĞLU S, ATAMAN R, AKPOLAT T, OK E, SEN S, DÜŞÜNSEL R, EVRENKAYA R, AKOĞLU E. A retrospective analysis for aetiology and clinical findings of 287 secondary amyloidosis cases in Turkey. *Nephrology, Dialysis, Transplantation: official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 17: 2003-2005, 2002.
16. KAYHAN B, KURAN OS, TURHAN N, AKDOĞAN M, ŞAHİN T. Is celiac sprue an etiology of amyloidosis?, *The Turkish Journal of Gastroenterology : The Official Journal of Turkish Society of Gastroenterology*, 14: 197-199, 2002.
17. CENGİZ K, BAKAN A, YILMAZ H. Lipoprotein abnormalities in patients with secondary renal amyloidosis. *International Urology and Nephrology*, 32: 615-619, 2001.
18. CENGİZ K, KILIC M, BEDİR A. Apolipoprotein and anticardiolipin antibodies in patients with renal amyloidosis. *Nephrology (Carlton, Vic.)*, 9: 118-21, 2004.
19. ÖZDEMİR BH, ÖZDEMİR FN, SEZER S, SAR A, HABERAL M. Among therapy modalities of end-stage renal disease, renal transplantation improves survival in patients with amyloidosis. *Transplantation Proceedings*, 38: 432-434, 2006.
20. ŞİRİN A, EMRE S, ALPAY H, NAYIR A, BİLGE I, TANMAN F. Etiology of chronic renal failure in Turkish children. *Pediatric Nephrology (Berlin, Germany)*, 9: 549-52, 1995.
21. NIEWOLD TA, VAN DER LINDE-SIPMAN JS, MURPHY C, TOOTEN PC, GRUYS E. Familial amyloidosis in cats: Siamese and Abyssinian AA proteins differ in primary sequence and pattern of deposition. *Amyloid*, 6:205-209, 1999.
22. BENSON MD, DWULET FE, DIBARTOLA SP. Identification and characterization of amyloid protein AA in spontaneous canine amyloidosis. *Laboratory Investigation; A Journal of Technical Methods and Pathology*, 52: 448-52, 1985.
23. WESTERMARK P, JOHNSON KH, SLETTEN K, HAYDEN DW. AA-amyloidosis in dogs: partial amino acid sequence of protein AA and immunohistochemical cross-reactivity with human and cow AA-amyloid. *Comparative Biochemistry and Physiology. B, Comparative Biochemistry*, 82: 211-215, 1985.
24. ŞENTURK S, ÖZYİĞİT Ö. Renal AA amyloidosis in a dairy cow in Turkey. *The Veterinary Record*, 158: 448-449, 2006.
25. YAMADA M, KOTANI Y, NAKAMURA K, KOBAYASHI Y, HORIUCHI N, DOI T, SUZUKI S, SATO N, KANNO T, MATSUI T. Immunohistochemical distribution of amyloid deposits in 25 cows diagnosed with systemic AA amyloidosis. *The Journal of Veterinary Medical Science / The Japanese Society of Veterinary Science*, 68: 725-729, 2006.
26. ÖZDEMİR Ö, HATİPOĞLU F., KARAMAN M. Bir Ceylanda Generalize Amiloidozis Olgusu. II. Veteriner Patoloji Kongresi Bildiri Kitapçığı, 6-10 Eylül, Nevşehir, sayfa 138-139, 2004.
27. SEVİMLİ A, MISIRLIOĞLU D. Kahverengi Yumurtacı Bir Tavukta Sol Böbrekte Kongenital Aplazi Olgusu. *Veteriner Bilimleri Dergisi*, 17: 123-128, 2001.
28. UHLAR CM, WHITEHEAD AS. Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant. *European Journal of Biochemistry / FEBS*, 265: 501-523, 1999.
29. RAY A, SCHATTEH H, RAY BK, Activation of sp1 and its functional cooperation with serum amyloid A-activating sequence binding factor in synoviocyte cells trigger synergistic action of IL-1 and IL-6 in serum amyloid A gene expression. *The Journal of Biological Chemistry*, 274: 4300-4308, 1999.
30. KALLINICH T, BRIESE S, ROESTER J, RUDOLPH B, SARIOĞLU N, BLANKENSTEIN O, KEITZER R, QWERFELD U, HOFFNER D. Two familial cases with tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome caused by a non-cysteine mutation (TSOM) in the TNFRS1A gene associated with severe multiorganic amyloidosis. *The Journal of Rheumatology*, 31: 2519-2522, 2004.

31. LEVIS KE, KIRK EA, McDONALD TO, WANG S, WIGHT TN, O'BRIEN KD, CHAIT A. Increase in serum amyloid A evoked by dietary cholesterol is associated with increased atherosclerosis in mice, *Circulation*, 110: 540-545, 2004.
32. HUANG H, LIU T, ROSE JL, STEVENS RL, HOYT DG. Sensitivity of mice to lipopolysaccharide is increased by a high saturated fat and cholesterol diet. *Journal of Inflammation*, 4: 4-22, 2007.
33. VAN LENTEN BJ, WAGNER AC, NAVAB M, ANANTHARAMAIAH GM, HAMA S, REDDY ST, FOGELMAN AM. Lipoprotein inflammatory properties and serum amyloid A levels but not cholesterol levels predict lesion area in cholesterol-fed rabbits. *Journal of Lipid Research*, 48: 2344-2353, 2007.
34. LIAO F, ANDALIBI A, deBEER FC, FOGELMAN AM, LUSIS AJ. Genetic control of inflammatory gene induction and NF-kappa B-like transcription factor activation in response to an atherogenic diet in mice. *The Journal of Clinical Investigation*, 91, 2572-2579, 1993.
35. SPARKS DL, KUO YM, ROHER A, MARTIN T, LUKAS RJ. Alterations of Alzheimer's disease in the cholesterol-fed rabbit, including vascular inflammation. Preliminary observations, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 903: 335-344, 2000.
36. VERGNES L, PHAN J, STRAUSS M, TAFURI S, REUE K. Cholesterol and cholate components of an atherogenic diet induce distinct stages of hepatic inflammatory gene expression. *The Journal of Biological Chemistry*, 278: 42774-42784, 2003.
37. PUSKAS LG, NAGY ZB, GIRICZ Z, ONODY A, CSONKA A, KITAJKA K, HACKLER L, ZVARA A, FERDINANDY P. Cholesterol diet-induced hyperlipidemia influences gene expression pattern of rat hearts, a DNA microarray study. *FEBS Letters*, 562: 99-104, 2004.
38. PUSKAS LG, BERECZKI E, SANTHA M, VIGH L, CSANADI G, SPENER F, FERDINANDY P, ONOCHY A, KITAJKA K. Cholesterol and cholesterol plus DHA diet-induced gene expression and fatty acid changes in mouse eye and brain. *Biochimie*, 86: 817-824, 2004.
39. KIM S, SOHN I, AHN JI, LEE YS. Hepatic gene expression profiles in a long-term high fat diet-induced obesity mouse model. *Gene*, 340: 95-109, 2004.
40. VISSER M, BOUTER LM, MCQUILLAN GM, WENER MH, HARRIS TB. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *Journal of the American Medical Association*, 282: 2131-2135, 1999.
41. LEIONEN E, HURT-CAMEJO E, WIKLUND O, HULTEN LM, HIUKKA A, TASKINEN MR. Insulin resistance and adiposity correlate with acute-phase reaction and soluble cell adhesion molecules in type 2 diabetes. *Atherosclerosis*, 166: 387-394, 2003.
42. TRAYHURN P, WOOD IS. Adipokines, inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *The British Journal of Nutrition*, 92: 347-355, 2004.
43. POITOU C, VIQUERIE N, CANCELLO R, De MATTEIS R, CINTI S, STICH V, COSSIEU C, GAUTHIER E, COURTINE M, ZUCKER JD, BARSH GS, SARIS W, BRUNEVALL P, BASDEVANT A, LANGIN D, CLEMENT K. Serum amyloid A, production by human white adipocyte and regulation by obesity and nutrition. *Diabetologia*, 48: 519-528, 2005.
44. POITOU C, COSSIEU C, ROUAULT C, COUPAYE M, CANCELLO R, BEDEL JF, GOUILLON M, BOUILLOT JL, OPPERT JM, BASDEVANT A, CLEMENT K. Serum amyloid A: A marker of adiposity-induced low-grade inflammation but not of metabolic status. *Obesity*, 14: 309-318, 2006.
45. YANG RZ, LEE MJ. Acute phase serum amyloid A: An inflammatory adipokine and potential link between obesity and its metabolic complications. *PLoS Medicine*, 3: 884-894, 2006.

46. McCARTY MF. Interleukin-6 as a central mediator of cardiovascular risk associated with chronic inflammation, smoking, diabetes and visceral obesity; down regulation with essential fatty acids, ethanol and pentoxifylline. *Medical Hypotheses*, 52: 465-477, 1999.
47. WISSE BE. The inflammatory syndrome, the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. *Journal of the American Society of Nephrology*, 15: 2792-2800, 2004.
48. WEISBERG SP, MCCANN D, DESAI M, ROSENBAUM M, LEIBEL RL, FERRANTE AW. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *The Journal of Clinical Investigation*, 112: 1796-1808, 2003.
49. XU H, BARNES GT, YANG Q, TAN G, YANG D, CHOU CJ, SOLE J, NICHOLS A, ROSS JS, TARTAGLIA LA, CHEN H. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *The Journal of Clinical Investigation*, 112(12): 1821-30, 2003.
50. LIN Y, RAJALA MW, BERGER JP, MOLLER DE, BARZILAI N, SCHERER PE. Hyperglycemia-induced production of acute phase reactants in adipose tissue. *The Journal of Biological Chemistry*, 276: 42077-42083, 2001.
51. CHARGE SB, ESIRI MM, BETHUNE CA, HANSEN BC, CLARK A. Apolipoprotein E is associated with islet amyloid and other amyloidoses, implications for Alzheimer's disease. *The Journal of Pathology*, 179: 443-447, 1996.
52. VERCHERE CB, ANDRIKOPOULOS S, D'ALESSIO DA, O'BRIEN KD, WRIGHT TN, SNOW AD, OLIN KL, KAHN SE. Role of apolipoprotein E and perlecan in islet amyloid formation in transgenic mice expressing human islet amyloid polypeptide. *Diabetes*, 47, A30, 1998.
53. REFOLO LM, PAPPOLLA MA, MALESTER B, LAFRANCOIS J, BRYANT-THOMAS T, WANG R, TINT GS, SAMBAMURTI K, DUFF K. Hypercholesterolemia accelerates the Alzheimer's amyloid pathology in a transgenic mouse model. *Neurobiology of Disease*, 7: 321-331, 2000.
54. CANEVARI L, CALRK JB. Alzheimers disease and cholesterol: The fat connection. *Neurochemical Research*, 32: 739-750, 2007.
55. EREM C, YILDIZ R, LAVGACI H, KARAHAN C, DEĞER O, CAN G, TELATAR M. Prevalance of diabetes, obesity and hypertension in a Turkish population (Tarbzon city). *Diabetes Research and Clinical Practice*, 54: 203-208, 2001.
56. ONAT A. Lipids, lipoproteins and apolipoproteins amongs Turks, and impact on coronary heart disease,. *Anadolu Kardoloji Derneği Dergisi*, 4: 236-245, 2004.
57. ERSOY C, İMAMOĞLU S, TUNCEL E, ERTÜRK E, ERCAN I. Comparison of the factors that influence obesity prevalance in three distinct municipalities of the same city with different socioeconomical status, a survey analysis in urban Turkish population. *Preventive Medicine*, 40: 181-188, 2005.
58. GLISSON E. *Francisci Glissonii Anatomia Hepatis: Cui praemittuntur quaedam ad rem anatomicam universe spectantia, ed calcem operis subjiucuntur nonnulla de lymphaeductibus nuper repertis*, London, page 99, 1654.
59. VIRCHOW R. Ueber eine imgehirn und rückenmark des menschen aufgefundene substanz mit der chemischen reaktion der cellulose. *Virchow Archiv für Pathologische Anatomie und Physiologie für Klinische Medizin*, 6: 135-138, 268-271, 416-426, 1854. (LANDMAN WJM, GRUYS E, GIELKENS ALJ. *Avian Pathology*, 27: 437-449, 1998' den alinti)
60. GLENNER GG. Amyloid deposits and amyloidosis. The  $\beta$  fibrilloses. *New England Journal of Medicine*, 302: 1283-1292, 1980.

61. COHEN AS, CALKINS E. Electron microscopic observations on a fibrous component in amyloid of diverse origins. *Nature*, 183: 1202-1203, 1959. (LANDMAN WJM, GRUYS E, GIELKENS ALJ. Avian amyloidosis. *Avian Pathology*, 27: 437-449, 1998'den alıntı.)
62. SNOW AD, KISILEVSKY R, STEPHENS C, ANASTASSIADES. Characterization of tissue and plasma glycosaminoglycans during experimental AA amyloidosis and acute inflammation. Qualitative and quantitative analysis. *Laboratory Investigation*, 56: 665-75, 1987.
63. NIEWOLD TA, FLORES LJM, VAN DEN HEUVEL LP, ULTEE A, TOOTEN PC, VEERKAMP JH. Characterization of proteoglycans and glycosaminoglycans in bovine renal AA-type amyloidosis. *Virchows Archiv B Cell Pathology Including Molecular Pathology*, 60: 321-328, 1991.
64. MAGNUS JH, KOLSET SO, HUSBY G. High molecular weight glycosaminoglycans in AA type amyloid fibril extracts from human liver. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 50: 562-566, 1991.
65. SLAUSON DO, COOPER BJ. Mechanism of disease, A textbook of comparative general pathology, 2nd edition, Williams & Wilkins, USA, page 83-85, 1990.
66. WESTERMARK P, BENSON MD, BUXBAUM JN, COHEN AS, FRANGIONE B, IKEDA S, MASTERS CL, MERLINI G, SARAIVA MJ, SIPE JD. A Primer Of Amyloid Nomenclature. *Amyloid*, 14(3):179-83, 2007.
67. SOLOMON A. What is amyloidosis? *Myeloma Today*, 3: 1-9, 1996.
68. VAN ANDEL ACJ, HOL PR, VAN DER MASS JH, LUTZ ETG, KRABBENDAM, GRUYS E. Reaggregation of bovine amyloid fibril components to  $\beta$  pleated fibrillar structures, In: GLENNER GG, OSSERMAN EF, BENDITT EP, CALKINS E, COHEN AS, ZUCKER-FRANKLIN (Eds). *Amyloidosis*, New York, Plenum Press, page 39-48, 1986.
69. BENDITT EP, ERIKSEN N. Amyloid. II. Starch Gel Electrophoretic Analysis Of Some Proteins Extracted From Amyloid. *Archives of Pathology*, 78: 325-30, 1964.
70. ERER H, KIRAN MM, ÇİFTÇİ K. Veteriner Genel Patoloji, 2. baskı, Bahçıvanlar Basım Sanayi A.Ş., Konya , sayfa 13-100-102, 2007.
71. LIEPNIEKS JJ, DIBARTOLA SP, BENSON MD. Systemic immunoglobulin (AL) amyloidosis in cat: complete primary structure of a feline lambda light chain. *Amyloid: The International Journal of Experimental and Clinical Investigation*, 3: 177-182, 1996.
72. TANIYAMA H, YAMAMOTO S, SAKO T, HIRAYAMA K, HIGUCHI H, NAGAHATA H. Systemic kappaAL amyloidosis associated with bovine leukocyte adhesion deficiency. *Veterinary Pathology*, 37: 98-100, 2000.
73. NIEWOLD TA, MURPHY C, GRUYS E, WEISS DT, SOLOMON A. Equine light-chain associated amyloidosis. *Amyloid: The International Journal of Experimental and Clinical Investigation*, 3:183-186, 1996.
74. HUSBY G. Classification of amyloidosis. *Baillière's Clinical Rheumatology*, 8: 503-11, 1994.
75. DHILLON V, WOO P, ISENBERG D. Amyloidosis in the rheumatic diseases. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 48: 696-701, 1989.
76. MAVRAGANI CP, YIANNAKOURIS N, ZINTZARAS E, MELISTAS L, RITIS K, SKOPOULI FN. Analysis of SAA1 gene polymorphisim in the greek population: rheumatoid arthritis and FMF patients relative to normal controls. Homogeneous distribution and low incidence of AA amyloidosis. *Amyloid*, 14: 271-275, 2007.
77. NAKAMURA T, HIGASHI S, TOMODA K, TSUKANO M, BABA S. Efficacy of etanercept in patients with AA amyloidosis secondary to rheumatoid arthritis. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 25: 518-522, 2007.
78. LORENZO A, YANKNER BA. Amyloid fibril toxicity in Alzheimer's disease and diabetes, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 777: 89-95, 1999.



79. FANGMARK TUCKER SM, BORCHELT DR, TRONCOSO JC. Limited clearance of pre-existing amyloid plaques after intracerebral injection of abeta antibodies in two Mouse models of Alzheimer disease. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 67: 30-40, 2008.
80. DRUEKE T, TOUAM M, ZINGRAFF J. Dialysis associated amyloidosis. *Advances in Renal Replacement Therapy*, 2: 24-39, 1995.
81. KIMURA A, ANDO E, FUKUSHIMA M, KOGA T, HIRATA A, AIMURA K, ANDO Y, NEGI A, TANIHARA H. Secondary glaucoma in patients with familial amyloidotic polyneuropathy. *Archives D'ophtalmologie*, 351-356, 2003.
82. PEREZ-VILLA F, CAMPUTOL JM, FERRENDOS J, BOTEY A. Renal amyloidosis secondary to acne conglobata, *International Journal of Dermatology*, 28: 132-133, 1989.
83. SHINOZUKA N, KASAMATSU N, SETO T, YASUI T, NAKAMURA A, HASHIZUME I. A fatal case of pulmonary non-tuberculous mycobacteriosis with reactive AA amyloidosis. *Nihon Kokyūki Gakkai Zasshi = The Journal of the Japanese Respiratory Society*, 45: 636-642, 2007.
84. BECKES M, BALDAUF E, CASSENS S, DIRINGER H, KEYES P, SCOTT AC, WELLS GA, BROWN P, GIBBS CJ, GAJDUSEK DC. Western blot mapping of disease specific amyloid in various animal species and humans with transmissible spongiform encephalopathies using a high-yield purification method. *The Journal of General Virology*, 76: 2567-2576, 1995.
85. JEFFREY M, GOODSIR CM, HOLLIMAN A, HIGGINS RS, BRUCE ME, MCBRIDE PA, FRASER JR. Determination of the frequency and distribution of vascular and parenchymal amyloid with polyclonal and N-terminal-specific P.P antibodies in scrapie affected sheep and mice. *Veterinary Record*, 142: 534-537, 1998.
86. GLIATTO JM, ALROY J. Cutaneous amyloidosis in a horse with lymphoma. *Veterinary Record*, 137:68-69, 1995.
87. PALOTAY JL, HOWARD CF JR. Insular amyloidosis in spontaneously diabetic Nonhuman primates. *Veterinary Pathology Supplement*, 7: 181-192, 1982.
88. WAALLEN K, SLETTEN K, HUSBY G, NORDSTOGA K. The primer structure of amyloid fibril protein AA in endotoxin-induced amyloidosis of the mink. *European Journal of Biochemistry*, 104:407-412, 1980.
89. NIEWOLD TA, MURPHY C, GRUYS E. Hamster hepatic amyloid A (AA) protein is derived from a novel member of the SAA gene family. *Scandinavian Journal of Immunology*, 39: 225-227, 1994.
90. GUO JT, ALDRICH CE, MASON WJ, PUGH JC. Characterization of serum amyloid A protein mRNA expression and secondary amyloidosis in the domestic duck. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 93:14548-14553, 1996.
91. BRAYTON C. Amyloidosis, Hemochromatosis and Atherosclerosis in a Roseate Flamingo. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 653:184-190, 1992.
92. ZSCHIESCHE W, LINKE RP. Zur Amyloidose der Zoovögel unter besonderer Berücksichtigung des Wassergeflügels. *Erkrankungen der Zootiere*, 28:301-306, 1986.
93. SHIVAPRASAD HL, METEYER CU, JEFFRAY JS. Amyloidosis in turkeys. *Proceedings of the 34<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnostics*, San Diego, California, page 57, 1991.
94. NAKAMURA K, TANAKA H, KODAMA Y, KUBO M, SHIBAHARA T. Systemic amyloidosis in laying Japanese quail. *Avian Diseases*, 42:209-214, 1998.
95. HOENIG M, HALL G, FERGUSON D, JORDAN K, HENSON M, JOHNSON K, O'BRIEN T. A feline model of experimentally induced islet amyloidosis. *The American Journal of Pathology*, 157: 2143-50, 2000.

96. TANIYAMA H, KITAMURA A, KAGAWA Y, HIRAYAMA K, YOSHINO T, KAMIYA S. Localized Amyloidosis in Canine Mammary Tumors. *Veterinary Pathology*, 37: 104-107, 2000.
97. DOERR HW, RABENAU H. Slow virus disease and transmissible amyloidosis of the central nervous system. The Fundamentals and significance of bovine spongiform encephalopathy (BSE). *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 25-26: 899-901, 1995.
98. WILLE H, ZHANG GF, BALDWIN MA, COHEN FE, PRUSINER SB. Separation of scrapie prion infectivity from Prp amyloid polymers. *Journal of Molecular Biology*, 259: 608-621, 1996.
99. PAPAIOANNOU N, TOOTEN PC, VAN EDEREN AM, BOHL JR, ROFINA J, TSANGARIS T, GRUYS E. Immunohistochemical investigation of the brain of aged dogs. I. Detection of neurofibrillary tangles and of 4-hydroxynonenal protein, an oxidative damage product, in senile plaques. *Amyloid*, 8(1):11-21, 2001.
100. STRISSEL KJ, GIRARD MT, WEST-MAYS JA, RINEHART WB, COOK JR, BRINCKERHOFF CE, FINI ME. Role of serum amyloid A as an intermediate in the IL-1 and PMA-stimulated signaling pathways regulating expression of rabbit fibroblast collagenase. *Experimental Cell Research*, 237(2):275-87, 1997.
101. YAMADA T, LIEPNIKES J, BENSON M, KLUVE V, BECKERMAN B. Accelerated amyloid deposition in mice treated with the aspartic protease inhibitor, pepstatin. *Journal of Immunology*, 11: 533-540, 1980.
102. LYON AW, NARINDRA SORAJAK ID, ANASTASSIADES T, COUCHMAN JR, MC CARTHY KJ, KISILEVSKY R. Co-deposition of basement membrane components during the induction of murine splenic AA. *Amyloid*, 64:785-790, 1991.
103. SEVİMLİ A, MISİRLİOĞLU D, POLAT Ü, YALÇIN M, AKKOÇ A, UĞUZ C. The effects of vitamin A, pentoxifylline and methylprednisolone on experimentally induced amyloid arthropathy in brown layer chicks. *Avian Pathology*, 34, 1-7, 2005.
104. LINGS YS. Experimental production of amyloidosis in ducks. *Avian Pathology*, 1:141-145, 1992.
105. BENSON MD, SCHEINBERG MA, SHIRAHAMA T, CATHCART ES, SKINNER M. Kinetics of serum amyloid protein A in casein-induced murine amyloidosis. *The Journal of Clinical Investigation*, 59: 412-417, 1977.
106. WANG L, LIEPNIKS JJ, BENSON MD, KLUVE-BECKERMAN B. Expression of SAA and amyloidogenesis in congenic mice of CE/J and C57BL/6 strains. *Amyloid*. 7: 26-31, 2000.
107. LIANG J, ELLIOTT-BRYANT R, HAJRI T, SIPE JD, CATHCART ES. A unique amyloidogenic apolipoprotein serum amyloid A (apoSAA) isoform expressed by the amyloid resistant CE/J mouse strain exhibits higher affinity for macrophages than apoSAA1 and apoSAA2 expressed by amyloid susceptible CBA/J mice. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2:121-6, 1998.
108. HAM D, CAOURAS V, RADZIOCH D, GERVAIS F. Degradation of Amyloid A Precursor Protein SAA by Macrophage Cell Lines Obtained from Amyloid Resistant and Susceptible Strains of Mice. *Scandinavian Journal of Immunology*, 45: 354-360, 1997.
109. BOTTO M, HAWKINS PN, BICKERSTAFF MC, HERBERT J, BYGRAVE AE, MCBRIDE A, HUTCHINSON WL, TENNENT GA, WALPORT MJ, PEPYS MB. Amyloid deposition is delayed in mice with targeted deletion of the serum amyloid P component gene. *Nature Medicine*, 3: 855-859, 1997.
110. MAMBULE C, ANDO Y, ANAN I, HOLMGREN G, SANDGREN O, STIGBRANDT T, TASHIMA K, SUHR OB. Enhancement of AA-amyloid formation in mice by transthyretin amyloid fragments and polyethylene glycol. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1474: 331-6, 2000.

111. KAWABE S, ABE T, KAWAMURA H, GEJYO F, ABO T. Generation of B220low B cells and production of autoantibodies in mice with experimental amyloidosis: association of primordial T cells with this phenomenon. *Clinical and Experimental Immunology*, 135:200-208, 2004.
112. LINKE RP, SIPE JD, POLLOCK PS, IGNACZAK TF, GLENNER GG. Isolation of a low molecular weight serum component antigenically related to an amyloid fibril protein of unknown origin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 72:1473-1476, 1975.
113. BENSON MD, KLEINER E. Synthesis and secretion of serum amyloid protein A (SAA) by hepatocytes in mice treated with casein. *Journal of Immunology*, 124: 495-499, 1980.
114. TAPE C, TAN R, NESHEIM M, KISILEVSKY R. Direct evidence for circulating apoSAA as the precursor of tissue AA amyloid deposits. *Scandinavian Journal of Immunology*, 28: 317-324, 1988.
115. ALASONYALILAR A, SEVİMLİ A, MISIRLIOĞLU D, CEVDET UĞUZ C. Chronic amyloid arthropathy and increased serum amyloid levels in Brown layers. *Bulletin Of The Veterinary Institute In Pulawy*, 50, 557-560, 2006.
116. ALSEMGEEST SP, LAMBOOY IE, WIERENGA HK, DIELEMAN SJ, MEERKERK B, VAN EDEREN AM, NIEWOLD TA. Influence of physical stress on the plasma concentration of serum amyloid-A (SAA) and haptoglobin (Hp) in calves. *The Veterinary quarterly*, 17(1): 9-12, 1995.
117. SALAZAR A, PINTO X, MANA J. Serum amyloid A and high density lipoprotein cholesterol: serum markers of inflammation in sarcoidosis and other systemic disorders. *European Journal of Clinical Investigation*, 31:1070-107, 2001.
118. MIWATA H, YAMADA T, OKADA M, KUDO T, KIMURA H, MORISHIMA T. Serum amyloid A protein in acute viral infections. *Archives of disease in childhood*, 68: 210-214, 1993.
119. LANDMAN WJM, PEPPERKAMP NHMT, KOCH CAM, TOOTEN PCJ, CRAVWELS PAP, GRUYS E. Induction of amyloid arthropathy in chickens amyloid. *The International Journal of Experimental and Clinical Investigation*, 4, 87-97, 1997.
120. PUTTO A, RUUSKANEN O, MEURMAN O, EKBLAD H, KORVENRANTA H, MERTSOLA J, PELTOLA H, SARKKINEN H, VILJANEN MK, HALONEN P. C reactive protein in the evaluation of febrile illness. *Archives of Disease in Childhood*, 61: 24-29, 1986.
121. CHAMANZA R, TOUSSAINT MJ, VAN EDEREN AM, VAN VEEN L, HULSKAMP-KOCH C, FABRI TH. Serum amyloid A and transferrin in chicken. A preliminary investigation of using acute-phase variables to assess diseases in chickens. *The Veterinary Quarterly*, 21:158-162, 1999.
122. DREN CN, NEMETH I, SARI I, RATZ F, GLAVITZ R, SOMOGYI P. Isolation of reticuloendotheliosis-like virus from naturally occurring lymphoreticular tumours of domestic goose. *Avian Pathology*, 17: 259-277, 1988.
123. WHITEHEAD AS, DEBEER MC, STEEL DM, RITS M, LELIAS JM, LANE WS, DEBEER FC: Identification of novel members of the serum amyloid A protein superfamily as constitutive apolipoproteins of high density lipoprotein. *The Journal of Biological Chemistry*, 267: 3862-3867, 1992.
124. HOFFMAN JS, BENDITT EP. Secretion of serum amyloid protein and assembly of serum amyloid protein-rich high density lipoprotein in primary mouse hepatocyte culture. *The Journal of Biological Chemistry*, 257: 10518-10522, 1982.
125. LINDER E, ANDERS PF, NATVIG JB. Connective tissue origin of the amyloid-related protein SAA. *The Journal of Experimental Medicine*, 144, 1336-1346, 1976.
126. SACK GH, ZINK MC. Serum amyloid A gene transcription in synovial cells during retroviral arthritis. *The American Journal of Pathology*, 141, 525-529, 1992.

127. MEEK RL, ERIKSEN N, BENDITT EP. Murine serum amyloid A<sub>3</sub> is a high density apolipoprotein and is secreted by macrophages. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89: 7949-7954, 1992.
128. BENSON MD, ALDO-BENSON M. Effect of purified protein SAA on immune response in vitro: mechanisms of suppression. *Journal of Immunology*, 122: 2077–2082, 1979.
129. BETTS JC, EDBROOKE MR, THAKKER RV, WOO P. The human acute-phase serum amyloid A gene family: structure, evolution and expression in hepatoma cells. *Scandinavian journal of Immunology*, 34: 471-82, 1991.
130. WANG L. The Interaction between apolipoprotein serum amyloid A and high-density lipoprotein. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 317: 157-161, 2004.
131. LANDMAN WJ, GRUYS E, GIELKENS AL. Avian amyloidosis. *Avian Pathology*, 27: 437-49, 1998.
132. SELLAR GC, JORDAN SA, BICKMORE WA, FANTES JA, VAN HEYNINGEN V, WHITEHEAD AS. The human serum amyloid A protein (SAA) superfamily gene cluster: mapping to chromosome 11p15.1 by physical and genetic linkage analysis. *Genomics*, 19: 221-227, 1994.
133. WATSON G, SEE CG, WOO P. Use of somatic cell hybrids and fluorescence in situ hybridization to localize the functional serum amyloid A (SAA) genes to chromosome 11p15.4-p15.1 and the entire SAA superfamily to chromosome 11p15, *Genomics*, 23: 694-696, 1994.
134. DE BEER MC, YUAN T, KINDY MS, ASZTALOS BF, ROHEIM PS, DE BEER FC. Characterization of constitutive human serum amyloid A protein (SAA4) as an apolipoprotein. *Journal of Lipid Research*, 36: 526–534, 1995.
135. DE BEER MC, KINDY MS, LANE WS, DE BEER FC. Mouse serum amyloid A protein (SAA5): structure and expression. *The Journal of Biological Chemistry*, 269: 4661–4667, 1994.
136. DE BEER MC, DE BEER FC, GERARDO CJ, CECIL DR, WEBB NR, GOODSON ML, KINDY MS. Structure of the mouse SAA4 gene and its linkage to the serum amyloid A gene family. *Genomics*, 34:139–142, 1996.
137. LINKE RP, BOCK V, VALET G, ROTHE G. Inhibition of the oxidative burst response of N formyl peptide-stimulated neutrophils by serum amyloid A protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 176:1100–1105, 1991.
138. GATT ME, URIELI-SHOVAL S, PRECIADO-PATT L, FRIDKIN M, CALCO S, AZAR Y, MATZNER Y. Effect of serum amyloid A on selected in vitro functions of isolated human neutrophils. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 132: 414-420, 1998.
139. SHAINKIN-KESTENBAUM R, LEVARTOWSKY D, ZIMLICHMAN S, FRIDKIN M, PRAS M. Antiplatelet aggregation activity of serum amyloid A (SAA) In: NATVIG JB, FORRE Q, HUSBY G, HUSEBEKK A, SHOGEN B, SLETTA K, WESTERMARK P (Eds). *Amyloid and amyloidosis*, Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, page 139-142, 1991.
140. ZIMLICHMAN S, DANON A, NATHAN I, MOZES G, SHAINKIN-KESTENBAUM R. Serum amyloid A, an acute phase protein, inhibits platelet activation. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 116:180-6, 1990
141. XU L, BADOLATO R, MURPHY WJ, LONGO DL, ANVER M, HALE S, OPPENHEIM JJ, WANG JM. A novel biologic function of serum amyloid A: induction of T lymphocyte migration and adhesion. *Journal of Immunology*, 155: 1184–1190, 1995.
142. BADOLATO R, WANG JM, MURPHY WJ, LLOYD AR, MICHIEL DF, BAUSSERMAN LL, KELVIN DJ, OPPENHEIM JJ. Serum amyloid A is a chemoattractant: induction of migration, adhesion and tissue infiltration of monocytes and polymorphonuclear leukocytes. *The Journal of Experimental Medicine*, 180:203–209, 1994.

143. SHAINKIN-KESTENBAUM R, ZIMLICHMAN S, LIS M, LIDOR C, POMERANTZ M, KNYSZYNSKI A, PRECIADO PATT L, FRITKIN M. Effect of serum amyloid A, HDL-apolipoprotein on endothelial cell proliferation: implication of an enigmatic protein to atherosclerosis. *Biomedical Peptides, Proteins & Nucleic Acids : Structure, Synthesis & Biological Activity*, 2:79–84, 1997.
144. PERISTERIS P, GASPAR A, GROS P, LAURENT P, BERNON H, BIENVENU J. Effects of serum amyloid A protein on lymphocytes, HeLa, and MRC5 cells in culture. *Biochemistry and Cell Biology = Biochimie et Biologie Cellulaire*, 67:365–370, 1989.
145. PRECIADO-PATT L, LIDER O, FRIDKIN M, DASTYCH J, METCALFE DD, MEKORI YA. Extracellular matrix-anchored serum amyloid A preferentially induces mast cell adhesion. *The American Journal of Physiology*, 273: 179-187, 1997.
146. PRECIADO-PATT L, HERSHKOVIZ R, FRIDKIN M, LIDER O. Serum amyloid A binds specific extracellular matrix glycoproteins and induces the adhesion of resting CD4+ T cells. *Journal of Immunology*, 156:1189-1195, 1996.
147. ARTL A, MARSCHE G, LESTAVEL S, SATTLER W, MALLE E. Role of serum amyloid A during metabolism of acute-phase HDL by macrophages. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 20:763-72, 2000.
148. BAUMBERGER C, ULEVITCH R, DAYER J. Modulation of endotoxic activity of lipopolysaccharide by high-density lipoprotein. *Pathobiology*, 1991, 59:378–383.
149. MITCHELL TI, JEFFREY JJ, PALMITER RD, BRINCKERHOFF CE. The acute phase reactant serum amyloid A (SAA3) is a novel substrate for degradation by the metalloproteinases collagenase and stromelysin. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1993, 1156: 245–254, 1993.
150. SHAINKIN-KESTENBAUM R, ZIMLICHMAN S, LIS M, PRECIADO-PATT L, FRIDKIN M, BERENHEIM J. Modulation of prostaglandin I<sub>2</sub> production from bovine aortic endothelial cells by serum amyloid A and its N-terminal tetradecapeptide. *Biomedical Peptides, Proteins & Nucleic Acids : Structure, Synthesis & Biological Activity*, 2:101-106, 1997.
151. De BEER F. High Density Lipoprotein (HDL) Function During Active Rheumatoid Arthritis. *Arthritis and Rheumatism*, 36: 29,1993.
152. KISILEVSKY R, SUBRAHMANYAN L. Serum amyloid A changes HDL's cellular affinity: a clue to serum amyloid A's principal function. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology*, 66: 778-785, 1992.
153. STEINMETZ A, HOCKE G, SAILE R, PUCHOIS P, FRUCHART JC. Influence of serum amyloid A on cholesterol esterification in human plasma. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2006:173–178, 1989.
154. RYSAVÁ R, MERTA M, TESAR V, JIRSA M, ZIMA T. Can serum amyloid A or macrophage colony stimulating factor serve as marker of amyloid formation process? *Biochemistry and Molecular Biology International*, 47(5):845-50, 1999.
155. CUI D, HOSHII Y, KAWANO H, SUGIYAMA S, GONDO T, LIU Y, ISHIHARA T. Experimental AA amyloidosis in mice is inhibited by treatment with triptolide, a purified traditional Chinese medicine. *International Immunopharmacology*, 7(9):1232-40, 2007.
156. MIHARA M, SHIINA M, NISHIMOTO N, YOSHIZAKI K, KISHIMOTO T, AKAMATSU K. Anti-interleukin 6 receptor antibody inhibits murine AA amyloidosis. *The Journal of Rheumatology*, 31: 1132–1138, 2004.
157. GOTTENBERG E, MERLE-VINCENT F, BENTABERRY F, ALLANORE Y, BERENBAUM F, AND B, FAUTREL COMBE B, DURBACH A, SIBILIA J, DOUGADOS M, MARIETTE X. Anti-tumor necrosis factor- $\alpha$  therapy in fifteen patients with AA amyloidosis secondary to inflammatory arthritides: a follow up report of tolerability and efficacy. *Arthritis and Rheumatism*, 48: 2019–2024, 2003.

158. HAGIHARA K, NISHIKAWA T, ISOBE T, SONG J, SUGAMATA Y, YOSHIKAWA K. IL-6 plays a critical role in the synergistic induction of human serum amyloid A (SAA) gene when stimulated with proinflammatory cytokines as analyzed with an SAA isoform real-time quantitative RT-PCR assay system. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 314: 363–369, 2003.
159. SKOGEN B, THORSTEINSSON L, NATVIG IB. Degradation of protein SAA to an AA-like fragment by enzymes of monocytic origin. *Scandinavian Journal of Immunology*, 11: 533-540, 1980.
160. SHIRAHAMA T, COHEN AS. An analysis of the close relationship of lysosomes to early deposits of amyloid. Ultrastructural evidence in experimental mouse amyloidosis, *The American Journal of Pathology*, 73: 97-114, 1973.
161. DU T, ALI-KAHN Z. Pathogenesis of secondary amyloidosis in an alveolar hydatid cyst-mouse model, histopathology and immune-enzyme-histochemical analysis of splenic marginal zone cells during amyloidogenesis. *British Journal of Experimental Pathology*, 71: 313-335, 1991.
162. CHRONOPOULOS S, LAIRD DW, ALI-KHAN Z. Immunolocalization of serum amyloid A and AA amyloid in lysosomes in murine monocytoid cells, confocal and, immunogold electron microscopic studies. *The Journal of Pathology*, 173: 361-369, 1994.
163. FUKS A, ZUCKER-FRANKLIN D. Impaired Kupffer cell function precedes development of secondary amyloidosis. *The Journal of Experimental Medicine*, 161: 1013-1028, 1985.
164. BELL AW, CHAN SL, ALI-KHAN Z. N-terminal sequence analysis of SAA-derivatives purified from murine inflammatory macrophages. *Amyloid*, 6: 31-36, 1999.
165. BAER DJ, JUDD JT, CLEVIDENCE BA, TRACY RP. Dietary fatty acids affect plasma markers of inflammation in healthy men fed controlled diets: a randomized cross over study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79: 969-73, 2004.
166. TANNOCK LR, O'BRIEN KD, KNOPP RH. Cholesterol feeding increases C-reactive protein and serum amyloid A levels in lean insulin-sensitive subjects. *Circulation*, 111: 3058-3062, 2005.
167. KASIM-KARAKAS SE, TSODIKOV A, SINGH U, JIALAL I. Responses of inflammatory markers to a low-fat, high-carbohydrate diet: effects of energy intake. *American Journal of Clinical Nutrition*, 83: 774-779, 2006.
168. SJÖHOLM K, PALMING J, OLOFSSON LE, GUMMESSON A, SVENSSON PA, LYSTIG TC, JENNISCHE E, BRANDBERG J, TORGERSON JS, CARLSSON B, CARLSSON LM. A microarray search for genes predominantly expressed in human omental adipocytes: adipose tissue as a major production site of serum amyloid A. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 90:2233-2239, 2005.
169. McCUBBIN WD, KAY CM, NARINDRASORASAK S, KISILEVSKY R. Circular-dichroism studies on two murine serum amyloid A proteins. *The Biochemical Journal*, 256: 775-783, 1988.
170. PEPYS MB, RADEMACHER TW, AMATAYAKUL-CHANTLER S, WILLIAMS P, NOBLE GE, HUTCHINSON WL, HAWKINS PN, NELSON SR, GALLIMORE JR, HERBERT J, HUTTON T, DWEK RA. Human serum amyloid P component is an invariant constituent of amyloid deposits and has a uniquely homogeneous glycostructure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91: 5602–5606, 1994.
171. KISILEVSKY R. Heparan sulfate proteoglycans in amyloidogenesis: an epiphenomenon, a unique factor, or the tip of a more fundamental process? *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 63: 589-591, 1990.

- 172 . ANCSIN JB, KISILEVSKY R. Characterization of high affinity binding between laminin and the acute-phase protein, serum amyloid A. *The Journal of Biological Chemistry*, 272: 406-413, 1997.
173. ANCSIN JB, KISILEVSKY R. Laminin interactions with the apoproteins of acute-phase HDL: preliminary mapping of the laminin binding site on serum amyloid A. *Amyloid*, 6: 37-47,1999.
174. GALLO G, WISNIEWSKI T, CHOI-MIURA NH, GHISO J, FRANGIONE B. Potential role of apolipoprotein-E in fibrillogenesis. *The American Journal of Pathology*, 145: 526-530, 1994.
175. CATRINA AI, LAMPA J, ERNESTAM S, AF KLINT E, BRATT J, KLARESKOG L, ULFGREN AK. Anti-tumour necrosis factor (TNF)-alpha therapy (etanercept) down-regulates serum matrix metalloproteinase (MMP)-3 and MMP-1 in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford, England)*, 41: 484-489, 2002.
176. ALIZADEH-KHIAVI K, NORMAND J, CHRONOPOULOS S, ALI A, ALI-KHAN Z. Amyloid enhancing factor activity is associated with ubiquitin. *Virchows Archiv. A, Pathological Anatomy and Histopathology*, 420:139-148, 1992.
- 177- SKINNER MS, KATTINE AA, SPURLOCK BO. Electron microscopic observations of early amyloidosis in human liver. *Gastroenterology*, 50: 243-247, 1966.
178. SORENSON GD, HEEFNER WA, KIRKPATRICK JB. Experimental amyloidosis. II. Light and electron microscopic observations of liver. *The American Journal of Pathology*, 44: 629-644, 1964.
- 179- COHEN AS, SKINNER M. Amyloidosis of the liver, 5th edition, Edited by Schiff L, Schiff ER, Philadelphia, JB, Lippincott, page 1081-1099, 1982.
180. PUCHTLER H, SWEAT F, LEVINE M. On the binding of congo red by amyloid. *The journal of histochemistry and cytochemistry. Official Journal of the Histochemistry Society*, 10: 355-364, 1962.
181. SHIRAHAMA T, COHEN AS. High-resolution electron microscopic analysis of the amyloid fibril. *The Journal of Cell Biology*, 33: 679-708, 1967.
182. TURGUT K. Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis, 2. baskı, Bahçivanlar basım, Konya, sayfa 472-482, 2000.
183. GUYTON AC, HALL JE. *Textbook of Medical Physiology*, 10th edition, W.B. Saunders Company, page 781-788, 2000.
184. KALAYCIOĞLU L, SERPEK B, NİZAMLIOĞLU M, BAŞPINAR N. *Biyokimya*, 2. Baskı, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, sayfa 485-486, 2000.
185. VAN DER WESTHUYZEN DR, COETZEE GA, DE BEER FC. Serum Amyloid A Protein in Plasma: Characteristics of Acute Phase HDL. In: *Amyloidosis*, edited by Marrink, J., Van Rijswijk, M. H., p. 115, Martinus, Nijhoff, Dordrecht, 1986.
186. RÖCKEN C, SHAKESPEARE A. Pathology, diagnosis and pathogenesis of AA amyloidosis. *Virchows Archiv : An International Journal of Pathology*, 440:111-122, 2002.
187. FIELDING CJ, FIELDING PE. Molecular physiology of reverse cholesterol transport. *Journal of Lipid Research*, 36: 211-28, 1995.
188. OBICI L, FRANCESCHINI G, CALABRESI L, GIORGETTI S, STOPPINI M, MERLINI G, BELLOTTI V. Structure, function and amyloidogenic propensity of apolipoprotein A-I. *Amyloid*, 13: 191-205, 2006.
- 189- MÄKELÄ SM, JAUHAINEN M, ALA-KORPELA M, METSO J, LEHTO TM, SAVOLAİNEN MJ, HANNUKSELA ML. HDL2 of heavy alcohol drinkers enhances cholesterol efflux from raw macrophages via phospholipid-rich HDL 2b particles. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 32: 991-1000, 2008.
190. DİKER S. *İmmunoloji*, Medisan Yayınevi, Ankara, sayfa 90-92, 1998.

191. KILIÇTURGAY K. *İmmunoloji*, 3. baskı, Nobel & Güneş Kitabevi, sayfa 134-144, 2003.
192. ABBAS AK, LICHTMAN AH, POBER JS. *Cellular and Molecular Immunology*, W.B. Saunders Company, Pennsylvania, page 258-263, 1997.
193. BOURASSA PA, MILOS PM, GAYNOR BJ, BRESLOW JL, AIELLO RJ. Estrogen reduces atherosclerotic lesion development in apolipoprotein E-deficient mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93:10022-10027, 1996.
194. BAUMGÄRTNER W, DETTINGER H, SCHMEER N, HOFFMEISTER E. Evaluation of different fixatives and treatments for immunohistochemical demonstration of *Coxiella burnetti* in paraffin-embedded tissues. *Journal of Clinical Microbiology*, 26: 2044-2047, 1988.
195. CARSON FL. *Histotechnology: A Self-Instructional Text* American Society Clinical Pathology; 1st edition ASCP Press, page 19, 1992.
196. SPARKS DL, SCHEFF SW, HUNSAKER JC 3RD, LIU H, LANDERS T, GROSS DR. Induction of Alzheimer-like beta-amyloid immunoreactivity in the brains of rabbits with dietary cholesterol. *Experimental Neurology*, 126: 88-94, 1994.
197. ZATTA P, ZAMBENEDETTI P, STELLA MP, LICASTRO F. Astrocytosis, microgliosis, metallothionein-I-II and amyloid expression in high cholesterol-fed rabbits. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 4:1-9, 2002.
198. GILLMORE JD, LOVAT LB, PERSEY MR, PEPYS MB, HAWKINS PN. Amyloid load and clinical outcome in AA amyloidosis in relation to circulating concentration of serum amyloid A protein. *Lancet*, 358: 24-29, 2001.
199. ORIBE M, TATSUKAWA H, NAGANO S. Causes of death in 66 patients with rheumatoid arthritis-with special reference to amyloidosis and characteristic causes of death in rheumatoid arthritis. *Clinical Rheumatology and Related Research*, 14:28-35, 2002.
200. DEJEANS N, AUCLAIR S, HENRY-BERGER J, LOBACCARO JM, MAZUR A. A specialized cDNA microarray (Mouse Lipid Chip) reveals hepatic overexpression of serum amyloid a in high-fat diet-fed mice. *Hormone and metabolic research. Hormon- und Stoffwechselforschung. Hormones et métabolisme*, 40: 228-30, 2008.
201. LEWIS KE, KIRK EA, MCDONALD TO, WANG S, WIGHT TN, O'BRIEN KD, CHAIT A. Increase in serum amyloid a evoked by dietary cholesterol is associated with increased atherosclerosis in mice. *Circulation*, 110:540-505, 2004.
202. SEVİMLİ A, MISIRLIOĞLU D, YAĞCI A, BÜLBÜL A, YILMAZTEPE A, ALTUNBAŞ K. The Role of Chicken IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$  in the Occurrence of Amyloid Arthropathy. *Veterinary research communications 1: (In press)*, 2008.
203. MOHAMED-ALİ V, GOODRICK S, RAWESH A, KATZ DR, MILES JM, YUDKIN JS, KLEIN S, COPPACK SW. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 82: 4196-4200, 1997.
- 204- FRIED SK, BUNKIN DA, GREENBERG AS. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 83: 847-850, 1998.



## TEŞEKKÜR

Bir doktora tezinin yapımını, içindeki özveriye ve karşılaşılabilecek tüm zorluklara rağmen çıkış yolunu bana gösteren Sevgili Danışmanım Prof.Dr. Deniz MISIRLIOĞLU'na, Patoloji Ana Bilim Dalı'nı seçmemde büyük rolü olan Sevgili Hocam Prof.Dr. M. Müfit KAHRAMAN'a, Ana Bilim Dalı Başkanımız Sevgili Hocam Prof.Dr. Gürsel SÖNMEZ'e, yabancı dil ve çeviri konusunda yardımlarını esirgemeyen Yard. Doç.Dr. İ. Taci CANGÜL'e, projemizde de yardımları olan Yard.Doç.Dr. M. Özgür ÖZYİĞİT'e, her konuda manevi desteklerini esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Araş.Gör.Dr. Ahmet AKKOÇ ve Araş.Gör. Rahşan YILMAZ'a, teknisyenimiz Mehmet Ali KARAHAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Uludağ Üniversitesi Deneysel Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi'nde bana gösterdikleri yakın ilgi ve yardımları için başta Vet.Hek. Faruk BÜYÜKYILDIZ olmak üzere Merkezin tüm personeline, kan alımları sırasında büyük desteği olan Doç.Dr. Cenk AYDIN'a, homojenatları hazırlamama yardımcı olan Dr. A. Burak GÜNGÖR'e, Doç.Dr. Kadir YEŞİLBAĞ'a, çalışmamızın biyokimyasal analizlerini yapan Fakültemiz Biyokimya A.B.D. Sevgili Hocam Prof.Dr. Meltem ÇETİN ve arkadaşlarım Araş.Gör.Dr. Saime AYDINLI ve Araş.Gör. Duygu UDUM'a, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji A.B.D. Öğretim Üyesi Sevgili Hocam Prof.Dr. Güher GÖRAL'a ve Dr. Ferah BUDAK'a, bu çalışmada tezini kaynak olarak kullandığım ve her aşamasında bana manevi destek olan Yard.Doç.Dr. Alper SEVİMLİ'ye, tezimde istatistik konusunda her türlü desteği ve morali veren Değerli Hocam Doç.Dr. Faruk BALCI'ya, yine istatistik konusunda destek veren Araş.Gör. Ender ÇARKUNGÖZ'e, çalışmanın başından itibaren her türlü yardımını ve desteğini esirgemeyen Vet.Hek.Dr. Ahmet MISIRLIOĞLU ve Sevgili kardeşim Denizhan MISIRLIOĞLU'na, deney hayvanlarına manipulasyon sırasında yardımları olan Dr. Özgür Bülent TİMUÇİN'e, enjeksiyon ve tartımlarda yardımları olan Vet.Hek. Eren ERGUN, Vet. Hek. Mehmet-Şifa DEMİRPENÇE'ye, yardımları için Vet.Hek. Emre BAHADIROĞLU ve Sevgili Arkadaşım Araş.Gör.Dr. Füsun AK'a ve son olarak her konuda desteklerini hissettiğim aileme ve tüm dostlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZGEÇMİŞ

19.06.1979 tarihinde İzmir’de doğdum. İlk öğrenimimi Bornova Kars İlkokulu’nda, ortaöğrenimimi Bornova Suphi Koyuncuoğlu Ortaokulu’nda, liseyi Bornova Hayrettin Duran Lisesinde bitirdim. 1997 yılında başladığım Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi’ni, 2002 yılında bitirdim. 10 Eylül 2002 tarihinde Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü’nde doktora eğitimime başladım. 15 Aralık 2002 tarihinde Uludağ Ünivesitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı’na Araştırma Görevlisi olarak girdim. Halen aynı Ana Bilim Dalı’nda Araştırma Görevlisi olarak görevime devam etmekteyim.