
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Gazi
1926

YÜKSEK YAĞLI DİYETLE BESLENEN FARELERDE OMEGA 3 YAĞ ASİTLERİNİN ADİPOZ DOKUDA TERMOJENEZE VE METABOLİK PARAMETRELERE ETKİSİ

Meryem SABAN GÜLER

DOKTORA TEZİ
BESLENME VE DİYETETİK ANA BİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MAYIS 2025

ETİK BEYAN

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

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

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

Meryem SABAN GÜLER

08/05/2025

YÜKSEK YAĞLI DİYETLE BESLENEN FARELERDE OMEGA 3 YAĞ ASİTLERİNİN ADİPOZ DOKUDA TERMOJENEZE VE METABOLİK PARAMETRELERE ETKİSİ

(Doktora Tezi)

Meryem SABAN GÜLER

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mayıs 2025

ÖZET

Obezite, enerji dengesizliği nedeniyle aşırı yağ birikimiyle karakterize bir metabolik bozukluktur. Bu çalışma, sütten kesim sonrası yüksek yağlı diyetle beslenen fare modelinde, diyete eş zamanlı olarak ilave edilen omega-3 (n-3) yağ asitlerinin, vücut ağırlığı, biyokimyasal parametreler ile adipoz dokunun termojenik gen ekspresyonu ve histolojik özellikleri üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Şubat–Haziran 2023 tarihleri arasında yürütülen araştırmada Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden temin edilen 3 haftalık C57BL/6 cinsi 25 adet erkek fare kullanılmıştır. Bir haftalık adaptasyon sürecinin ardından fareler standart diyetle beslenen kontrol grubu (%7,7 yağ) (n=7) ile yüksek yağlı diyet (%45 yağ) (n=6) ve farklı oranlarda (%1,2 ve %2,4) n-3 yağ asitleri ile zenginleştirilmiş yüksek yağlı (%45 yağ) (n=6, n=6) diyet alan deney grupları olmak üzere rastgele dört gruba ayrılmışlardır. Tüm gruplar 12 hafta boyunca ad libitum beslenmiş; bu süre boyunca yem tüketimleri günlük, vücut ağırlıkları ise haftalık olarak izlenmiştir. Farelere 8. haftada glukoz tolerans testi, 11. haftada ise insülin tolerans testi yapılmıştır. Çalışma sonunda fareler derin anestezi altında intrakardiyak kan alınmasıyla ötenazi edilmiştir. Alınan kan örneklerinden serum glukoz, lipit profili, insülin, leptin ve adiponektin düzeyleri değerlendirilmiştir. Ayrıca, kahverengi ve beyaz adipoz dokulardan alınan örneklerde ayrıştırma proteini 1 (UCP-1), peroksizom proliferatör ile aktive edilmiş reseptör gama ko-aktivatörü 1 alfa (PGC-1α), PR bölgesi içeren protein 16 (PRDM16) ve G proteinine bağlı reseptör 120 (GPR120) genlerinin ekspresyon düzeyleri ile histolojik değerlendirmeler gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonunda elde edilen veriler, yüksek yağlı diyetle birlikte n-3 yağ asidi takviyesi yapılan gruplarda, yalnızca yüksek yağlı diyet alan gruba kıyasla, vücut ağırlığı ve enerji alımında anlamlı bir değişiklik olmaksızın serum trigliserit, kolesterol ve LDL düzeylerinde azalma; glukoz ve insülin duyarlılığında artış olduğunu ortaya koymuştur. Gen ekspresyon analizleri, UCP-1, PGC-1α ve PRDM16 gibi termojenik ve mitokondriyal biyogenezle ilişkili genlerin ekspresyon düzeylerinin arttığını göstermiştir. Histolojik bulgular, n-3 yağ asitlerinin kahverengi adipoz dokuda (KAD) beyazlaşmayı engellediğini, beyaz adipoz dokuda (BAD) ise kahverengileşmeyi teşvik ettiğini ve inflamasyonu azalttığını göstermektedir. Bu bulgular, n-3 yağ asitlerinin adipoz doku üzerinde genetik, biyokimyasal ve histolojik düzeylerde çok yönlü koruyucu etkiler gösterebileceğini desteklemektedir.

Bilim Kodu : 1007
Anahtar Kelimeler : Beyaz adipoz doku, Kahverengi adipoz doku, Obezite, Termojenez, Omega-3 yağ asitleri, Yüksek yağlı diyet
Sayfa Adedi : 135
Danışman : Prof. Dr. Hilal YILDIRAN

EFFECT OF OMEGA 3 FATTY ACIDS ON THERMOGENESIS AND METABOLIC PARAMETERS IN ADIPOSE TISSUE IN MICE FED WITH A HIGH-FAT DIET

(Ph. D. Thesis)

Meryem SABAN GÜLER

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

May 2025

ABSTRACT

Obesity is a metabolic disorder characterized by excessive fat accumulation resulting from an imbalance in energy intake and expenditure. This study aimed to evaluate the effects of omega-3 (n-3) fatty acids, concurrently supplemented in the diet, on body weight, biochemical parameters, thermogenic gene expression, and histological features of adipose tissue in a weaned mouse model fed a high-fat diet. The experiment was conducted between February and June 2023 using twenty-five 3-week-old male C57BL/6 mice obtained from the Gazi University Center for Laboratory Animal Breeding and Experimental Research. Following a one-week adaptation period, the animals were randomly assigned to four groups: a control group fed a standard diet (7.7% fat) (n=7); a high-fat diet group (45% fat) (n=6); and two experimental groups receiving high-fat diets (45% fat) enriched with n-3 fatty acids at different concentrations (1.2% and 2.4%) (n=6 for each). All groups were fed ad libitum for 12 weeks. During this period, food intake was monitored daily and body weight was measured weekly. A glucose tolerance test (GTT) was performed in the 8th week and an insulin tolerance test (ITT) in the 11th week. At the end of the study, the mice were euthanized under deep anesthesia via intracardiac blood collection. Serum samples were analyzed for glucose, lipid profile, insulin, leptin, and adiponectin levels. Additionally, brown and white adipose tissue samples were collected for gene expression and histological analysis. The expression levels of thermogenesis-related genes including uncoupling protein 1 (UCP-1), peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC-1α), PR domain containing 16 (PRDM16), and G protein-coupled receptor 120 (GPR120) were measured. The findings revealed that, compared to the high-fat diet group alone, the groups receiving n-3 fatty acid supplementation exhibited reduced serum triglyceride, cholesterol, and LDL levels without significant changes in body weight or energy intake, and showed improved glucose and insulin sensitivity. Gene expression analysis demonstrated increased expression of thermogenic and mitochondrial biogenesis-related genes such as UCP-1, PGC-1α, and PRDM16. Histological evaluations indicated that n-3 fatty acids prevented whitening in brown adipose tissue (BAT), promoted browning in white adipose tissue (WAT), and reduced inflammation. These findings support that omega-3 fatty acids may exert multifaceted protective effects on adipose tissue at genetic, biochemical, and histological levels.

Science Code : 1007
Key Words : White adipose tissue, Brown adipose tissue, Obesity, Thermogenesis, Omega-3 fatty acids, High fat diet
Page Number : 135
Supervisor : Prof. Dr. Hilal YILDIRAN

TEŞEKKÜR

Tezimin planlanması, yürütülmesi ve değerlendirilmesi sürecinde; değerli bilgi ve deneyimiyle bana yol gösteren, rehberliğiyle bu zorlu akademik süreci aydınlatan ve manevi desteğiyle her daim motivasyonumu yüksek tutmamı sağlayan kıymetli tez danışmanım Prof. Dr. Hilal YILDIRAN'a,

Tez süreci boyunca sundukları katkılar ve akademik destekleri için tez izleme komitesi üyeleri hocalarım Prof. Dr. Makbule GEZMEN KARADAĞ ve Prof. Dr. Perim Fatma TÜRKER'e,

Histolojik analizlerin gerçekleştirilmesindeki katkılarından dolayı Doç. Dr. Cemile Merve SEYMEN'e

Deneysel çalışmaların yürütülmesinde desteklerini esirgemeyen Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezinde görev yapan Prof. Dr. Elvan ANADOL'a, deney sürecindeki kıymetli yardımları için Öğr. Gör. Dr. Şeyda DİKER'e ve merkezde görev yapan tüm teknik personele,

Varlıklarıyla her zaman güç bulduğum, sevgisiyle en zorlu anları bile kolaylaştıran sevgili eşime ve bana yaşamın en derin anlamını öğreten canım kızım ve oğluma,

Tüm kalbimle teşekkür ediyorum.

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDK-2022-7794 proje kodu ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET iv

ABSTRACT v

TEŞEKKÜR vi

İÇİNDEKİLER vii

ÇİZELGELERİN LİSTESİ x

ŞEKİLLERİN LİSTESİ xii

RESİMLERİN LİSTESİ xiii

SİMGELER VE KISALTMALAR xiv

1. GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİLER 5

2.1. Obezite 5

2.2. Adipoz Doku 6

2.2.1. Beyaz adipoz doku (BAD) 7

2.2.2. Kahverengi adipoz doku (KAD) 10

2.3. Omega 3 Yağ Asitleri 17

2.3.1. Omega-3 yağ asitlerinin emilimi ve metabolik işlevleri 18

2.3.2. Omega-3 yağ asitlerinin alım önerileri 19

2.3.3. Omega 3 yağ asitlerinin ve farklı yağ türlerinin obezite yönetimi ve termojenez üzerindeki etkisi 21

3. YÖNTEM 25

3.1. Araştırma Yeri ve Süresi 25

3.2. Çalışmanın Genel Planı 25

3.3. Deney Hayvanlarının, Bakımı ve Deney Planı 27

3.3.1. Yem bileşimi 27

3.3.2. Farelerin kan örneklerin alınması ve değerlendirilmesi 29

Sayfa

3.3.3. Farelerin gen ekspresyonu analizlerinin değerlendirilmesi 30

3.3.4. Farelerin glukoz ve insülin toleransının değerlendirilmesi 32

3.3.5. Farelerin obezite durumlarının ve adipozite indekslerinin değerlendirilmesi 34

3.4. Kahverengi ve Beyaz Adipoz Dokuların Histolojik Değerlendirmesi 34

3.5. Verilerin Değerlendirilmesi 36

3.6. Çalışmada Karşılaşılan Zorluklar ve Araştırmanın Sınırlılıkları 37

4. BULGULAR 39

4.1. Grupların Yem Tüketimleri ile Günlük Enerji ve Besin Ögesi Alımlarının Değerlendirilmesi 39

4.2. Farelerin Mürinometrik Parametrelerinin Değerlendirilmesi 46

4.3. Farelerin Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi 53

4.4. Farelerin İntraperitonel Glukoz ve İnsülin Tolerans Testlerinin Değerlendirilmesi 53

4.5. Farelerin Kahverengi Adipoz Doku Üzerindeki Gen Ekspresyonuna Etkilerinin Değerlendirilmesi 56

4.6. Farelerin Ölçümlerindeki Değişkenler Arası Korelasyonların Analizi 58

4.7. Farelerin Beyaz ve Kahverengi Adipoz Dokularına Ait Histolojik Bulgular 65

4.7.1. Beyaz adipoz dokulara ait hematoksilen-eozin boyama bulguları 65

4.7.2. Kahverengi adipoz dokulara ait hematoksilen-eozin boyama bulguları 69

4.7.3. Farelerin kahverengi ve beyaz adipoz dokularına ait immünohistokimya boyama bulguları 72

5. TARTIŞMA 79

5.1. Farelerin Yem Tüketimleri, Enerji ve Besin Ögesi Alımları ile Vücut Ağırlıklarının Değerlendirilmesi 80

5.2. Farelerin Biyokimyasal Parametrelerinin Değerlendirilmesi 84

5.3. Farelerin Gen Ekspresyonlarının Değerlendirilmesi 90

5.4. Farelerin Adipoz Dokularının Değerlendirilmesi 94

6. SONUÇ VE ÖNERİLER 101

Sayfa

KAYNAKLAR 107

EKLER 123

EK-1. Etik Kurul İzni 124

EK-2. Başlık Değiştirme Formu 126

EK-3. Yemlerin İçerikleri 128

EK-4. Menhaden Yağı Yağ Asidi Analiz Raporu 129

EK-5. Farelerin Haftalık Vücut Ağırlıkları Ölçüm Çizelgesi 130

EK-6. Farelerin Yem Tüketim Miktarları Ölçüm Çizelgesi 131

EK-7. GTT/ITT için Kayıt Formu Örneği 132

ÖZGEÇMİŞ 133

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 2.1. Adipoz doku salgıları 12

Çizelge 2.2. UCP1 aktivasyonundan sorumlu faktörler 16

Çizelge 2.3. Omega-3 yağ asitleri için yeterli alım düzeyleri 20

Çizelge 3.1. Yüksek yağlı yemlerin (YYD, 1,2YYD, 2,4 YYD) enerji ve makro besin ögesi bileşimleri 28

Çizelge 3.2. Standart yemin enerji ve makro besin ögesi bileşimleri 28

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan primerler ve dizileri 31

Çizelge 4.1. Farelerin günlük ortalama yem tüketimi, enerji ve makro besin ögeleri alımları 39

Çizelge 4.2. Farelerin haftalık ortalama yem tüketim durumları 40

Çizelge 4.3. Farelerin haftalık ortalama enerji alım durumları 42

Çizelge 4.4. Farelerin haftalık ortalama karbonhidrat alımları 43

Çizelge 4.5. Farelerin haftalık ortalama protein alımları 43

Çizelge 4.6. Farelerin haftalık ortalama yağ alımları 44

Çizelge 4.7. Farelerin haftalık ortalama omega 3 yağ asitleri alımları 46

Çizelge 4.8. Farelerin haftalara göre ortalama ağırlık değişimleri 48

Çizelge 4.9. Farelerin mürinometrik özellikleri 51

Çizelge 4.10. Farelerin serum biyokimyasal parametre değerleri 53

Çizelge 4.11. Farelerin intraperitonel glukoz ve insülin tolerans testi değerleri 54

Çizelge 4.12. Farelerin gen ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması 57

Çizelge 4.13. STD grubunun organ ve vücut ağırlık ölçümleri, enerji ve n-3 alımları ile metabolik ve gen ekspresyon parametreleri arasındaki korelasyon 61

Çizelge 4.14. YYD grubunun organ ve vücut ağırlık ölçümleri, enerji ve n-3 alımları ile metabolik ve gen ekspresyon parametreleri arasındaki korelasyon 62

Çizelge 4.15. 1,2 YYD grubunun organ ve vücut ağırlık ölçümleri, enerji ve n-3 alımları ile metabolik ve gen ekspresyon parametreleri arasındaki korelasyon 63

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 4.16. 2,4 YYD grubunun organ ve vücut ağırlık ölçümleri, enerji ve n-3 alımları ile metabolik ve gen ekspresyon parametreleri arasındaki korelasyon..... 64

Çizelge 4.17. Farelerin gruplara göre adipoz dokularına ait dejenerasyon kriterleri..... 72

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 2.1. Kahverengi, beyaz ve bej adipositlerin lokalizasyonu, morfolojisi, fizyolojik fonksiyonları, marker genleri ile farklılaşma yolları 7

Şekil 2.2. Beyaz ve kahverengi adipoz dokularının vücutta dağılımı 9

Şekil 2.3. Yağ dokularında metabolik homeostazla ilişkili GPR120 aktivasyonunun rolü..... 22

Şekil 3.1. Çalışmanın tasarımı..... 26

Şekil 4.1. Farelerin çalışma süresince haftalık ortalama yem tüketim miktarları (A) ile yem tüketim değişimleri (B)..... 41

Şekil 4.2. Farelerin haftalık yem etkinliği katsayısının değişimi 41

Şekil 4.3. Farelerin haftalık yağ alımlarının değişimi 45

Şekil 4.4. Farelerin haftalık ağırlık değişimi 49

Şekil 4.5. Farelerin haftalık ağırlık kazanım değişimleri 49

Şekil 4.6. Farelerin beyaz adipoz doku ağırlıkları (A) ile adipozite indeksi (B)..... 52

Şekil 4.7. Farelerin kahverengi adipoz doku ağırlıkları 52

Şekil 4.8. Farelerin GTT sonucu kan glukoz değerlerinin değişimi..... 55

Şekil 4.9. Farelerin ITT sonucu kan glukoz değerlerinin değişimi 56

Şekil 4.10. Farelerin kahverengi yağ dokudaki gen ekspresyon düzeyleri 57

Şekil 4.11. Farelerin kahverengi yağ dokuda UCP-1, PRDM16, PGC1A ve GPR120 gen ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması 58

Şekil 4.12. UCP-1 immün boyamasına ait H-Skor analizlerini içeren karşılaştırmalı istatistiksel grafik 78

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim **Sayfa**

Resim 4.1. STD grubundaki farelere ait beyaz adipoz doku incelemeleri 65

Resim 4.2. YYD grubundaki farelere ait beyaz adipoz doku incelemeleri 66

Resim 4.3. 1,2 YYD grubundaki farelere ait beyaz adipoz doku incelemeleri 66

Resim 4.4. 2,4 YYD grubundaki farelere ait beyaz adipoz doku incelemeleri 67

Resim 4.5. 2,4 YYD grubundaki farelere ait beyaz adipoz doku incelemeleri 68

Resim 4.6. 2,4 YYD grubundaki farelere ait beyaz adipoz doku incelemeleri 68

Resim 4.7. STD grubundaki farelere ait kahverengi adipoz doku incelemeleri 69

Resim 4.8. YYD grubundaki farelere ait kahverengi adipoz doku incelemeleri 70

Resim 4.9. YYD grubundaki farelere ait kahverengi adipoz doku incelemeleri 70

Resim 4.10. 1,2 YYD grubundaki farelere ait kahverengi adipoz doku incelemeleri 71

Resim 4.11. 2,4 YYD grubundaki farelere ait kahverengi adipoz doku incelemeleri 71

Resim 4.12. STD grubuna ait kahverengi yağ dokusunun UCP-1 primer antikoru ile immün boyama incelemeleri 73

Resim 4.13. YYD grubuna ait kahverengi yağ dokusunun UCP-1 primer antikoru ile immün boyama incelemeleri 74

Resim 4.14. 1,2 YYD grubuna ait kahverengi yağ dokusunun UCP-1 primer antikoru ile immün boyama incelemeleri 75

Resim 4.15. 2,4 YYD grubuna ait kahverengi yağ dokusunun UCP-1 primer antikoru ile immün boyama incelemeleri 76

Resim 4.16. Farelerin beyaz yağ dokularının UCP-1 primer antikoru ile immün boyama incelemeleri 77

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	**Açıklamalar**
%	Yüzde
$\overline{X}$	Ortalama
cm	Santimetre
dk	Dakika
dL	Desilitre
g	Gram
IU	İnternasyonel ünite
kg	Kilogram
kkal	Kilokalori
L	Litre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	milimetre
n	Örneklem sayısı
ng	Nanogram
SS	Standart sapma
χ^2	Kikare

Kısaltmalar	**Açıklamalar**
ALA	Alfa-Linolenik Asit
AUC	Eğri Altında Kalan Alan (Area Under the Curve)
BAD	Beyaz Adipoz Doku
BAP	Bilimsel Araştırma Projeleri
BKİ	Beden Kütle İndeksi
BMH	Bazal Metabolizma Hızı
BMP	Kemik Morfogenetik Proteini (Bone Morphogenetic Protein)

Kısaltmalar	Açıklamalar
cDNA	Tamamlayıcı DNA
CIDEA	Hücre Ölümünü İndükleyen DFFA Benzeri Efektör A (Cell Death-Inducing DNA Fragmentation Factor-Like Effector A)
DHA	Dokosahekzaenoik asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EDTA	Etilendiamin Tetra Asetik Asit
ELISA	Enzim-Bağlı İmmünosorbent Tayini (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)
EPA	Eikosapentaenoik Asit
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü (Fibroblast Growth Factor)
GTT	Glukoz Tolerans Testi
GÜDAM	Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (High Density Lipoprotein)
IL	İnterlökin
ITT	İnsülin Tolerans Testi
KAD	Kahverengi Adipoz Doku
LAS	Leica Uygulama Paketi (Leica Application Suite)
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (Low Density Lipoprotein)
mRNA	Mesajcı RNA
n-3	Omega-3
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
PGC1a	Peroksizom Proliferatörle Aktive Olan Reseptör Gama Koaktivatörü 1-Alfa (Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma Coactivator 1-alpha)
PPAR-α	Peroksizom Proliferatör-Aktive Edici Reseptör Alfa (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha)
PPAR-γ	Peroksizom Proliferatörle Aktive Olan Reseptör Gama (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma)
PRDM16	PR Domain İçeren Çinko Parmak Proteini 16 (PR Domain Containing 16)
PUFA	Çoklu Doymamış Yağ Asitleri (Polyunsaturated Fatty Acid)
RT-qPCR	Real-Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Reverse Transcription Quantitative Polymerase Chain Reaction)
SPSS	Sosyal Bilimler İçin İstatistik Programı

Kısaltmalar	Açıklamalar
TNF	Tümör Nekroz Faktörü
UCP-1	Ayrıştırma Proteini 1 (Uncoupling Protein 1)
YYD	Yüksek Yağlı Diyet

1. GİRİŞ

Enerji dengesinin bozulması sonucu yağ dokusunun aşırı birikimi ile karakterize olan obezite, dünya genelinde artan morbidite ve mortaliteye katkıda bulunan önemli bir metabolik hastalıktır (Jin ve diğerleri, 2023; Koliaki, Dalamaga ve Liatis, 2023). Obezite, bireylerin yaşam kalitesini olumsuz etkilemenin yanı sıra, hipertansiyon, hiperlipidemi, Tip 2 diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, metabolik sendrom ve bazı kanser türleri gibi bulaşıcı olmayan hastalıkların gelişiminde önemli bir risk faktörü olarak öne çıkmaktadır (Ejigu ve Tiruneh, 2023). Çocukluk çağında başlayan obezite, bu hastalıkların erken yaşlarda görülme riskini artırarak yaşam boyu sürebilecek sağlık sorunlarına zemin hazırlamaktadır (Yang ve diğerleri, 2021). Anne sütünden ek besinlere geçiş sürecinde bebeğin maruz kaldığı obezojenik çevre, çocukluk çağı obezitesini artıran başlıca etkenlerden biridir (Thompson, 2020). Bu nedenle, çocukluk çağı obezitesini önlemek ve etkili mücadele stratejileri geliştirmek erken müdahalede kritik bir öneme sahiptir.

Adipoz doku ve fonksiyonlarının anlaşılması, obezite ve obeziteye bağlı metabolik bozuklukların mekanizmalarını da aydınlatmak için önemlidir (Chait ve den Hartigh, 2020)**.** Adipoz doku, enerji depolama, endokrin düzenleme ve bağışıklık yanıtında önemli işlevler üstlenen, insan metabolizmasının temel bir bileşenidir (Richard, White, Elks ve Stephens, 2000). Beyaz adipoz doku (BAD), fazla enerjiyi trigliseritler halinde depolar ve enerji rezervi olarak işlev görürken, kahverengi adipoz doku (KAD) adaptif termojenez yoluyla enerji harcamasını artırır. Beyaz adipoz dokunun içinde bulunan bej adipositler, uygun çevresel ve hormonal koşullarda "kahverengileşme" sürecine girerek KAD benzeri termojenik özellikler kazanabilmektedir (Cheng ve diğerleri, 2021; Noriega, Yang ve Wang, 2023).

Obezitenin patogenezinde diyet önemli bir rol oynamaktadır. Sınırlayıcı diyetlerin uzun vadede etkisiz olması, obezite tedavisinin ve önlenmesinin iyileştirilmesi için alternatif stratejiler geliştirilmesini gerekli kılmaktadır. Bu stratejilerden biri, BAD esmerleşmesini indükleyerek ve/veya KAD aktivitesini ve termojenezini uyararak enerji harcamasını artırmaktır (Zapata ve diğerleri, 2022). Obezite ve ilişkili hastalıkların yönetimi amacıyla yapılan çalışmalar, bu hedefe bazı diyet bileşenleri sayesinde ulaşılabileceğini göstermektedir (D'Angelo, Motti ve Meccariello, 2020; Hwalla ve Jaafar, 2020; Dominguez ve diğerleri, 2023). Özellikle omega-3 (n-3) yağ asitlerinin kahverengi ve bej adipoz

dokuların termojenik aktivitelerini artırmada etkili olduğunu gösteren güncel çalışmalar dikkat çekmektedir (Fernández-Galilea, Félix-Soriano, Colón-Mesa, Escoté ve Moreno-Aliaga, 2020; Jia, Xu, Xu ve Liu, 2023; Negroiu ve diğerleri, 2024). n-3 yağ asitlerinin anti-inflamatuar ve lipid metabolizmasını düzenleyici etkileriyle sağlığa katkı sağladığı bilinmekle birlikte, BAD esmerleşmesi ve KAD aktivasyonu üzerindeki mekanizmalarının daha iyi anlaşılması ve obeziteye bağlı metabolik bozuklukların yönetiminde ideal dozaj ve sürelerin belirlenmesi önemlidir (Zivkovic, Telis, German ve Hammock, 2011). Literatürde yapılan çalışmalar, hayvan modellerine eklenen n-3 yağ asitlerinin genellikle insan gereksinimlerini aşan ve diyetle ulaşılması güç olan dozlarda kullanıldığını göstermektedir (Bargut, Souza-Mello, Mandarim-de-Lacerda ve Aguila, 2016b; Laiglesia ve diğerleri, 2016; Pahlavani ve diğerleri, 2017). Ayrıca, çalışmalarda kullanılan çoğu kemirgen, yaş açısından değerlendirildiğinde, insanlardaki ergenlik veya yetişkinlik dönemine karşılık gelmektedir (Kim ve diğerleri, 2016; Ghandour ve diğerleri, 2018). Bu çalışmada, ek besinlere geçiş sürecinden itibaren yüksek yağlı diyetle indüklenen obezitenin, diyete eklenen n-3 yağ asitlerinin etkisiyle, BAD'da esmerleşmenin teşvik edilmesi ve KAD'da termojenez aktivitesinin artırılması yoluyla, obezite ve ilişkili sağlık sorunlarının azaltılmasındaki etkilerine odaklanılmıştır. Diyete eklenen n-3 yağ asitlerinin fizyolojik dozlarda olması ve insan beslenmesini yansıtacak şekilde modellenmesi ile bu çalışma öne çıkmaktadır. Sonuç olarak bu çalışma; yüksek yağlı diyetle indüklenen obeziteye yönelik n-3 yağ asitlerinin genetik, histolojik ve metabolik etkilerini değerlendirme imkânı sunması açısından önemli bilimsel katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

Çalışmanın amacı; anne sütünden kesildikten sonra yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde, diyetle birlikte verilen n-3 yağ asitlerinin vücut ağırlığı, biyokimyasal parametreler ile adipoz dokunun termojenik ve histolojik özellikleri üzerindeki etkilerini değerlendirmektir. Ayrıca, elde edilen bulgular doğrultusunda, obezite ve obeziteyle ilişkili metabolik bozuklukların önlenmesinde n-3 yağ asitlerinin etkinliğinin belirlenmesi ve bu doğrultuda öneriler geliştirilmesine katkı sağlanması öngörülmektedir. Bu amaç doğrultusunda, yüksek yağlı diyet ile birlikte verilen n-3 yağ asitlerinin, vücut ağırlığı, besin tüketimi, obezite ile ilişkili biyokimyasal parametreler ve bazı gen ekspresyonları üzerine etkileri incelenmiştir.

Çalışmanın hipotezleri:

Yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin diyetine eş zamanlı eklenen n-3 yağ asitleri, n-3 yağ asitleri eklenmeyen yüksek yağlı diyete göre;

- Ağırlık artış hızını azaltır.
- Kahverengi yağ dokusunda termojenezde görev alan UCP-1, PGC-1α, PRDM16 ve GPR120 genlerinin ekspresyonunda artış sağlar.
- Serum trigliserit, kolesterol ve LDL düzeylerini azaltır.
- Beyaz ve kahverengi adipoz dokuların histolojik yapılarında olumlu değişimler sağlar.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Obezite

Obezite, dünya genelinde önde gelen ölüm nedenlerinden biri olup, ciddi bir halk sağlığı sorunu olarak kabul edilmektedir. Genetik, çevresel, psikolojik ve sosyal faktörlerin etkileşimiyle gelişen bu kronik hastalık, kardiyovasküler hastalıklar, Tip 2 diyabet ve bazı kanser türleri gibi bulaşıcı olmayan komorbiditelerle ilişkilendirilmektedir (Schirinzi, Poli, Berteotti ve Leone, 2023). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre, 2022 yılında 18 yaş ve üzerindeki 2,5 milyar yetişkin fazla kilolu olarak sınıflandırılmış, bunların 890 milyonu obez olarak rapor edilmiştir (World Health Organization, 2024). Dünya Sağlık Örgütü Avrupa Bölgesel Obezite Raporu 2022 verilerine göre Türkiye'de ise, yetişkin nüfusun %32,1'inde obezite görüldüğü ve bu oranla Avrupa ülkeleri arasında ilk sırada yer aldığı bildirilmektedir (WHO European Regional Obesity Report, 2022). Dünya Obezite Federasyonu tarafından yayınlanan, Dünya Obezite Atlası'na göre ise, mevcut eğilimlerin devam etmesi halinde, 2035 yılı itibarıyla küresel nüfusun %51'inin, yani 4 milyardan fazlasının aşırı kilolu veya obez olacağı öngörülmektedir (World Obesity Atlas, 2023). Çocukluk çağı obezitesinin ise, 2020 seviyelerine kıyasla 2035 yılına kadar iki katından fazla artması beklenmektedir. Erkek çocuklarda %100 artışla 208 milyona, kız çocuklarda %125 artışla 175 milyona ulaşacağı öngörülmektedir (World Obesity Atlas, 2023).

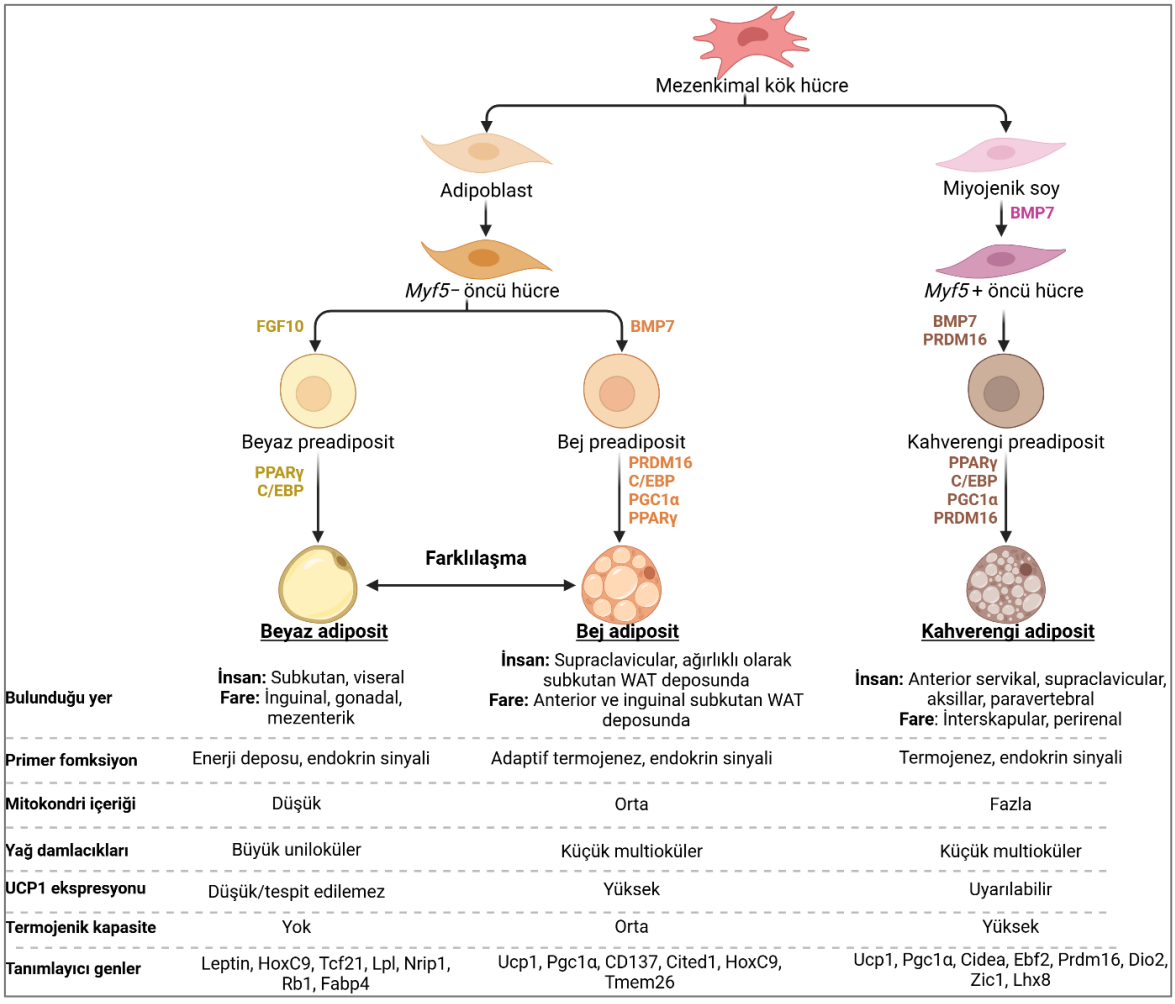
Çocukluk ve ergenlik, adipoz dokusunun gelişimi açısından kritik dönemler olarak kabul edilmektedir. Hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalar, anne sütü kesildikten sonra yavruların yüksek yağlı diyetle beslenmesinin, ergenlik döneminde erken başlangıçlı belirgin obezite ve lipid bozukluklarına yol açarak metabolik sağlık üzerinde önemli olumsuz etkiler oluşturabileceğini ortaya koymaktadır (Ji ve diğerleri, 2014; Chen Ran ve diğerleri, 2017; Yang ve diğerleri, 2021). Çocukluk çağı obezitesinin yetişkinlik döneminde bireyi metabolik hastalıklara daha yatkın hale getirdiği düşünüldüğünde, çocukluk çağı obezitesindeki hızlı yükselişin gelecekteki sağlık yükünü ciddi ölçüde artırma potansiyeli olduğu söylenebilir. Bu nedenle, yaşamın erken döneminde vücut ağırlığını düzenleyici faktörlerin belirlenmesi, çocukluk çağı obezitesini önlemek ve obezite ile mücadelede etkili stratejiler geliştirmek açısından önemlidir (Thompson, 2020; Yang ve diğerleri, 2021).

2.2. Adipoz Doku

Adipoz doku, enerji depolama, bağışıklık yanıtı ve termoregülasyon gibi temel süreçlerde rol oynayan, enerji homeostazının düzenlenmesinde merkezi bir görev üstlenen ve obeziteyle ilişkili patolojik mekanizmaların anlaşılmasında araştırmaların odak noktası haline gelen bir endokrin organdır (Noriega ve diğerleri, 2023; Ziqubu ve diğerleri, 2023). Adipoz doku; adipositler, preadipositler, makrofajlar, endotelyal hücreler, fibroblastlar ve lökositler gibi birçok hücre tipinden oluşmaktadır (Zapata ve diğerleri, 2022).

Memelilerde temel olarak BAD ve KAD olmak üzere iki tür adipoz doku tanımlanmıştır. Bu dokular, morfoloji, dağılım, mitokondri içeriği ve işlevler açısından farklılık göstermektedir (Noriega ve diğerleri, 2023). Adipoz dokuda bulunan adipositler genellikle üç farklı türe ayrılır: (i) kahverengi adipositler, (ii) beyaz adipositler ve (iii) bej veya brite adipositler. Kahverengi adipositler genellikle KAD depolarında yoğunlaşırken, beyaz ve bej adipositler BAD depolarında bulunur (Ziqubu ve diğerleri, 2023).

Kahverengi, beyaz ve bej adipositler benzer mezenkimal kök hücrelerden türemelerine rağmen, her biri kendine özgü belirteç genlere sahip farklı öncül hücrelerden köken almaktadır. Genetik soy izleme çalışmaları, beyaz adipositlerin Myf5- öncüllerden, kahverengi adipositlerin ise Myf5+ öncüllerden türediğini ve bu öncüllerin olgun adipositlere farklılaştığını göstermektedir (Şekil 2.1) (Ziqubu ve diğerleri, 2023). Ayrıca, oto/parakrin bir aracı olarak işlev gören kemik morfogenetik protein (BMP)-7, hem kahverengi hem de bej adipositlerin farklılaşmasını desteklemektedir (Shaw ve diğerleri, 2021).



	Beyaz adiposit	Bej adiposit	Kahverengi adiposit
Bulunduğu yer	**İnsan:** Subkutan, viseral **Fare:** İnguinal, gonadal, mezenterik	**İnsan:** Supraclavicular, ağırlıklı olarak subkutan WAT deposunda **Fare:** Anterior ve inguinal subkutan WAT deposunda	**İnsan:** Anterior servikal, supraclavicular, aksillar, paravertebral **Fare**: İnterskapular, perirenal
Primer fomksiyon	Enerji deposu, endokrin sinyali	Adaptif termojenez, endokrin sinyali	Termojenez, endokrin sinyali
Mitokondri içeriği	Düşük	Orta	Fazla
Yağ damlacıkları	Büyük uniloküler	Küçük multioküler	Küçük multioküler
UCP1 ekspresyonu	Düşük/tespit edilemez	Yüksek	Uyarılabilir
Termojenik kapasite	Yok	Orta	Yüksek
Tanımlayıcı genler	Leptin, HoxC9, Tcf21, Lpl, Nrip1, Rb1, Fabp4	Ucp1, Pgc1α, CD137, Cited1, HoxC9, Tmem26	Ucp1, Pgc1α, Cidea, Ebf2, Prdm16, Dio2, Zic1, Lhx8

Şekil 2.1. Kahverengi, beyaz ve bej adipositlerin lokalizasyonu, morfolojisi, fizyolojik fonksiyonları, marker genleri ile farklılaşma yolları (Obregon, 2014; Ziqubu ve diğerleri, 2023; Martins ve diğerleri, 2024. BMP: Kemik morfogenetik proteini; C/EBP: CCAAT/güçlendirici bağlayıcı protein; CD137: Farklılaşma kümesi 137; Dio2: İyodotironin dejodinaz tip II; Ebf2: Erken B-hücresi faktörü 2; Fabp4: Yağ asidi bağlayıcı protein 4; FGF10: Fibroblast büyüme faktörü 10; HoxC9: Homeobox C9; Lhx8: LIM homeobox proteini 8; Lpl: Lipoprotein lipaz; Myf5: Miyojenik faktör 5; NRIP1: Nükleer reseptör etkileşim proteini 1; PGC1a: Peroksizom proliferatörle aktive olan reseptör gama koaktivatörü 1-alfa; PPARγ: Peroksizom proliferatörle aktive olan reseptör gama; PRDM16: PR domain içeren 16; Rb1: Retinoblastoma proteini 1; Tcf21: Transkripsiyon faktörü 21; Tmem26: Transmembran protein 26; UCP1: Ayrıştırma proteini 1; Zic1: Beyincik çinko parmak proteini 1)

2.2.1. Beyaz adipoz doku (BAD)

Beyaz adipoz doku, fazla enerjiyi trigliseritler halinde depolayan ve ihtiyaç halinde serbest yağ asitleri ile gliserolün enerji kaynağı olarak kullanılmasını sağlayan bir dokudur. Bu özelliği organizmanın uzun süreli açlık dönemlerinde hayatta kalmasını sağlamaktadır.

Enerji rezervi işlevinin yanı sıra, mekanik destek ve yalıtım sağlayarak organları travma ve soğuğa karşı korumaktadır (Schirinzi ve diğerleri, 2023). Ayrıca, BAD bir endokrin organ olarak hormonlar, adipokinler ve diğer biyolojik moleküllerin salgılanmasından sorumludur (Çizelge 2.1). Bu salgılar, enerji dengesi, metabolizma, bağışıklık yanıtı ve kan basıncı homeostazının düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (Pilkington, Paz ve Wankhade, 2021).

Beyaz yağ hücreleri olan adipositler, yağ dokusunun temel bileşenini oluşturmakta ve hücre boşluğunun yaklaşık %90'ını kaplayan trigliseritlerden oluşan büyük bir lipit damlacığı içermektedir (Pilkington ve diğerleri, 2021). BAD adipositlerinin, insülin, glukokortikoidler ve cinsiyet steroidleri gibi çeşitli faktörlere yanıt vererek olgunlaşan mezenkimal kökenli öncü hücrelerden türediği gösterilmiştir (Noriega ve diğerleri, 2023).

Adipoz doku dağılımı

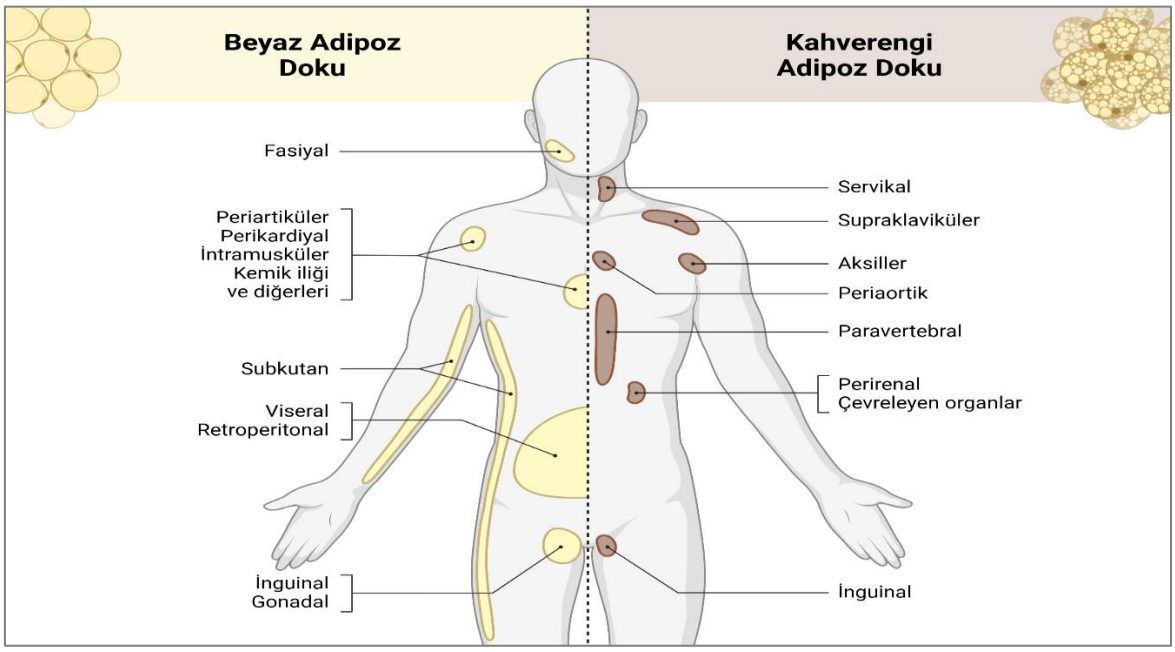
Beyaz adipoz doku, genel olarak subkutanöz (deri altı) ve viseral/omental (karın içi, iç organlara yakın) olmak üzere olmak üzere iki ana konuma ayrılmaktadır (Şekil 2.2). Sağlıklı ve zayıf bireylerde BAD, belirli bölgelerde sınırlı bir dağılım gösterirken, obezite veya lipodistrofi gibi durumlarda BAD kütlesinin ektopik olarak artışı görülebilmektedir. Ektopik BAD bölgeleri genellikle viseral boşlukta yer almaktadır. Viseral yağ, metabolik olarak oldukça aktiftir ve sürekli olarak serbest yağ asitlerini portal dolaşıma salar. Bu nedenle, viseral yağ miktarı, hiperinsülinemi, sistemik inflamasyon, dislipidemi ve ateroskleroz gibi metabolik sendrom gibi riskleri artırmaktadır. Buna karşılık, subkutan yağ dokusu, "kahverengileşme" sürecine en yatkın yağ dokusu olduğu belirtilmektedir (Schirinzi ve diğerleri, 2023).

Vücudun farklı bölgelerindeki yağ depoları, yapısal ve işlevsel özellikleri (örneğin; lipoliz, lipogenez, glukoz alımı, hormon ve sitokin üretimi ve salgılanması) açısından farklılık göstermekte ve diyet, egzersiz, ilaçlar gibi dış uyaranlara farklı tepkiler vermektedir. Obezite, hipertrofik yağ hücreleri, stromadaki değişmiş bağışıklık hücresi profili ve düzensiz sitokin ekspresyonu ile salgılanmasıyla karakterize edilen BAD disfonksiyonuna neden olmaktadır (da Cunha de Sá ve diğerleri, 2020). Kemirgenler, özellikle fareler, obezite çalışmalarında, insan araştırmalarına yönelik bulguların çevirisini sağlamak açısından önemli bir model sunmaktadır. Ancak bu tür çalışmaların başarılı olabilmesi için,

hayvanların farklı yağ dokularının yapısal ve işlevsel özellikleri, bu dokuların vücuttaki konumları ve çalışma için uygunluklarının dikkate alınması gereklidir (Mandarim-de-Lacerda, Del Sol, Vásquez ve Aguila, 2021b). Bu kapsamda vücudun farklı bölgelerinde bulunan subkutan ve viseral yağ dokularının özelliklerinin ve bu dokuların işlevsel farklılıklarının daha ayrıntılı incelenmesi önemlidir.

I. İnguinal yağ dokusu: Subkutan yağ dokusudur (kaburgaların alt kısmı ile orta uyluk arasında yer alır). Subkutan yağ dokusu uyarıldığında genellikle "kahverengileşme" sürecine girer.
II. İntra-abdominal veya viseral yağ dokusu, çeşitli bölümlerden oluşur:

a) Üst ve alt mezenterik arterlerin dalları çevresindeki yağ (mezenter yaprakları arasında bulunur). Bu bölgede sitokinler ve pro-inflamatuar belirteçlerin değerlendirilmesi uygundur.
b) Retroperitoneal yağ (böbreklere yakın, arka karın duvarına bağlıdır). Bu yağ, ağırlık kaybından sonra dahi varlığını koruyabilmektedir.
c) Genital (gonadal) yağ (karın alt kısmında, erkeklerde epididimise, dişilerde ise yumurtalıklar ve fallop tüplerine bağlıdır). Bu yağ dokusu da sitokinler ve pro-inflamatuar belirteçlerin değerlendirilmesi için uygundur (Mandarim-de-Lacerda ve diğerleri, 2021b).



Şekil 2.2. Beyaz ve kahverengi adipoz dokularının vücutta dağılımı (Gesta, Tseng ve Kahn, 2007)

Bej/Brite Adiposit

Soğuğa maruz kalma, β-adrenerjik stimülasyon, egzersiz ve diğer bazı uyaranlara yanıt olarak, BAD depolarında da ayrıştırma proteini 1 (UCP1) ekspresyonu yapan ve mitokondri açısından zengin adipositler gelişmekte ve bu adipositlere "bej" veya "brite" (beyaz içindeki kahverengi) adipositler adı verilmektedir (Pollard ve Carling, 2020). Kahverengi adipositler gibi, bej adipositler de enerjiyi ısıya dönüştürme kapasitesine sahiptir (Wang ve Seale, 2016). Bej adipositler ağırlıklı olarak subkutan BAD depolarında, farelerde anterior ve inguinal subkutan BAD bölgelerinde görülür (Ziqubu ve diğerleri, 2023). Bej adipositler, büyük bir lipid damlacığı ve termojenik gen ekspresyonunun yokluğu nedeniyle beyaz adipositlere benzer fenotipik özellikler sergiler. Ancak, belirli uyarılara maruz kaldıklarında kahverengi adiposit özelliklerini kazanarak çoklu lipid damlacıkları geliştirir ve UCP1, peroksizom proliferatör-aktive edici reseptör gama koaktivator 1-alfa (PGC-1α), peroksizom proliferatör-aktive edici reseptör alfa (PPAR-α), hücre ölümünü indükleyen DFFA benzeri efektör A (CIDEA) ve PR domain içeren çinko parmak proteini 16 (PRDM16) gibi termojenik genlerin ekspresyonunu artırır (Martins ve diğerleri, 2024).

Beyaz adipoz dokunun esmerleşmesi, peroksizom proliferatörle aktive olan reseptör-gamma (PPAR-γ) transkripsiyon faktörü ve CAAT/güçlendirici bağlayıcı protein (C/EBP) ailesi üyeleri tarafından düzenlenir. Kahverengi ve bej adipositlerin adipogenezi, PPAR-γ ve C/EBP ile etkileşime giren PRDM16 gibi transkripsiyonel düzenleyicilerin varlığına bağlıdır. PRDM16, mitokondri biyogenezi ve KAD'daki titremeyen termojenez için gerekli olan PGC-1α ile etkileşir ve bu etkileşim, PPAR-γ'yı koaktive ederek UCP-1 gibi KAD'a özgü genlerin ekspresyonunu desteklemektedir (Zapata ve diğerleri, 2022). Ayrıca bej adipositlerin, klasik kahverengi yağ hücrelerinde ifade edilmeyen T-box 1 (Tbx1), transmembran protein 26 (Tmem26) ve CD137 gibi bej yağ hücresine özgü birkaç geni ifade ettiği de tanımlanmıştır (Martínez-Fernández, Laiglesia, Huerta, Martínez ve Moreno-Aliaga, 2015).

2.2.2. Kahverengi adipoz doku (KAD)

Kahverengi adipoz doku ilk olarak, yalnızca kış uykusuna yatan ve küçük memelilere özgü bir doku olduğu düşünülse de KAD'nun yetişkin bireylerde de işlevsel ve uyarılabilir seviyelerde olduğu son yıllarda ortaya konmuştur (Noriega ve diğerleri, 2023).

Florodeoksiglukoz pozitron emisyon tomografisi (FDG PET) ve X-ışını bilgisayarlı tomografi ile birleştirilen yenilikçi teknikler sayesinde, yetişkin insanlarda metabolik olarak aktif KAD bölgeleri tanımlanmıştır. Bu bölgeler, toplam yağ deposunun %1-2'sini oluşturur ve başlıca servikal, supraklavikular, interskapular, aksiller, paravertebral, mediastinal ve üst abdominal bölgelerde bulunmaktadır (Şekil 2.2) (Schirinzi ve diğerleri, 2023). Yetişkinlerde, yaklaşık 45–135 g KAD bulunduğu ve bunun toplam vücut kütlesinin %0.6–0.8'ini oluşturduğu bildirilmiştir. KAD aktivitesi soğuğa maruz kalma ile uyarılır, yaşla birlikte azalır ve beden kütle indeksi (BKİ) ile ters orantılıdır. İnsanlarda KAD bebeklik döneminde bol miktarda bulunurken, yetişkinlik döneminde azalmaktadır (Noriega ve diğerleri, 2023).

Kahverengi adipoz doku tarafından salgılanan moleküller, "batokinler" olarak adlandırılır ve pankreas, BAD, karaciğer, kardiyovasküler sistem, merkezi sinir sistemi ve iskelet kası gibi birçok hedef organla etkileşime girerek bu organların işlevlerini düzenler (Martins ve diğerleri, 2024). Bu doku, fibroblast büyüme faktörleri, özellikle FGF21, neuregulin 4, vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ve interlökin 6 (IL-6) gibi sitokinler sentezleyip salgılar. (Çizelge 2.1). İnsanlarda KAD miktarının görece az olması nedeniyle batokinlerin endokrin etkileri hakkında bilgiler sınırlıdır. Bununla birlikte, KAD tarafından salgılanan faktörlerin parakrin ve otokrin işlevlere sahip olduğu gösterilmiştir. KAD'nin toplam kütlesi diğer adipoz dokulara kıyasla küçük olmasına rağmen, metabolik sağlık üzerindeki etkisinin daha büyük olabileceği düşünülmektedir (Jung, Sanchez-Gurmaches ve Guertin, 2019; Schirinzi ve diğerleri, 2023).

Çizelge 2.1. Adipoz doku salgıları

Beyaz Yağ Dokusu Salgıları	Metabolik Etkileri
Asilasyon uyarıcı protein	Beyaz adipoz dokuda triasilgliserol sentezini artırır.
Adiponektin	İnsülin duyarlılığını artırır, anti-inflamatuar etki gösterir ve ateroskleroz ilerlemesini azaltır.
Adipsin	Alternatif kompleman yolunu aktive eder.
Anjiyotensinojen	Kan basıncının düzenlenmesinde rol oynar.
Apelin	Vücut enerji depolarının kontrolüyle ilişkilidir.
Apolipoprotein-E ‡	Özellikle çok düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (VLDL) yapısında bulunan bir proteindir.
Kolesterol ester transfer proteini ‡	Lipoproteinler arasında kolesterol esterlerinin transferini sağlar.
Östrojenler †	Erkeklerde ve menopoz sonrası kadınlarda östrojenin birincil kaynağıdır.
Glukokortikoidler †	Beyaz adipoz dokuda kortizonu kortizole dönüştürür.
Hepatosit büyüme faktörü	Adipositlerin farklılaşmasını ve gelişimini uyarır.
İnsülin benzeri büyüme faktörü-1	Adipositlerin çoğalmasını ve farklılaşmasını destekler.
İnterlökin-6	Pro-inflamatuardır, lipolitik etki gösterir, insülin duyarlılığını azaltır.
Leptin	Merkezi sinir sistemine enerji depolarını bildiren sinyaller gönderir.
Lipoprotein lipaz ‡	Lipoproteinlerde bulunan triasilgliserollerin hidrolizini uyaran enzimdir.
Makrofaj göç inhibisyon faktörü	Beyaz adipoz dokuda parakrin etkiye sahip immünoregülatördür.
Monobutirin †	Vazodilatör etkiye sahiptir ve vasküler neoformasyonu uyarır.
Plazminojen aktivasyon inhibitörü 1	Fibrinolizi bloke ederek plazminojen aktivasyonunu engeller.
Prostaglandinler †	Çeşitli hücresel süreçleri düzenler, inflamasyon sırasında aktiftir.
Resistin	İnsülin direncini artırır.
Doku faktörü	Koagülasyon kaskadını başlatır.
Dönüştürücü büyüme faktörü-beta	Preadipositlerin çoğalması, adipositlerin farklılaşması, gelişimi ve apoptozunda rol oynar.
Tümör nekroz faktörü-alfa	Lipolitik etki gösterir, enerji alımını artırır ve insülin duyarlılığını azaltır.
Vasküler endotelyal büyüme faktörü	Beyaz adipoz dokuda vasküler proliferasyonu uyarır.
Visfatin	Başlıca visseral yağ tarafından üretilen insülin benzeri etki gösterir.
Kahverengi Yağ Dokusu Salgıları	**Etkileri**
Kemik morfogenetik protein 8b	Dönüştürtürücü büyüme faktörü (TGF)-beta süper ailesinin bir üyesidir.
Fibroblast büyüme faktörü 21	Hücre büyümesi, morfogenez, doku onarımı, tümör büyümesi ve invazyonunda rol oynar.
İnsülin benzeri büyüme faktörü-1	Yapı olarak insüline benzeyen molekül, anabolik etkiler gösterir.
İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 2	İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 için taşıyıcı proteindir.
İnterlökin-6	Pro-inflamatuar etki gösterir, lipolizi artırır ve insülin duyarlılığını azaltır.
Nöroregulin 4	Sitoplazmik tirozin fosforilasyon yoluyla hücre sinyalizasyonu sağlar.
Slit homolog-2 protein prekürsörü	Hücre göçünde rol oynar.

†: Protein olmayan molekül; ‡: Hormonel etkisi olmayan protein (Villarroya, Cereijo, Villarroya ve Giralt, 2017; Mandarim-de-Lacerda, Sol, Vásquez ve Aguila, 2021a)

Termojenez

Termogenez, adipoz ve kas dokusunda kimyasal enerjinin oksidatif veya katabolik süreçlerle ısıya dönüştürüldüğü bir metabolik süreçtir. Bu süreç, vücut sıcaklığını sabit tutarak dış ortam koşullarına uyum sağlanmasında ve termonötralitenin korunmasında önemli bir rol oynamaktadır (Lynes, Kodani ve Tseng, 2019; Chen ve diğerleri, 2020). Termogenez, genetik kökenli endojen faktörler ve eksojen faktörlere bağlı olarak bireyler arasında farklılık göstermektedir. Termogenezi etkileyen en önemli eksojen faktörlerden biri çevre sıcaklığıdır (Schirinzi ve diğerleri, 2023). Soğuk ortam koşullarında, vazokonstriksiyon, piloereksiyon, kambur duruş (yüzey alanını azaltma) ve birbirine sokulma gibi davranışsal ısı koruma mekanizmaları devreye girmektedir. Ancak bu mekanizmalar yetersiz kaldığında, memeliler istemsiz kas kasılmaları (titreme termojenezi) veya kahverengi yağ hücrelerinde ayrışmış solunum süreçleri (titremesiz termojenez, adaptif ya da fakültatif termojenez) yoluyla enerji harcayarak ısı üretmektedir (Bastías-Pérez ve diğerleri, 2020b). Termo-nötr koşullar altında, KAD aktivitesi düşük seviyededir ve BAD içerisinde çok az sayıda bej adiposit bulunur veya hiç bulunmaz. Sıcaklık azaldığında, soğuk ortam sempatik sinir sistemi tarafından geçici reseptör potansiyel vanilloid tip 1 (TRPV1) aracılığıyla algılanır ve kahverengi adipositlerin zarındaki β3-adrenerjik reseptörlere bağlanan katekolaminlerin (özellikle norepinefrin) salınımını tetikler (Zapata ve diğerleri, 2022). Bu reseptörler, adenilat siklazı aktive ederek ATP'nin siklik AMP'ye (cAMP) dönüşümünü katalize etmektedir. cAMP ise protein kinaz A'yı (PKA) aktive eder (Schirinzi ve diğerleri, 2023). cAMP-PKA sinyalleri, cAMP-tepki elementi bağlayıcı protein (CREB) fosforilasyonunu düzenler ve bu süreç, PGC1α, PRDM16, PPARγ ve UCP1 gibi mitokondriyal biyojenik ve termojenik genlerin transkripsiyonunu teşvik etmektedir (Ziqubu ve diğerleri, 2023).

Vücudun diğer bölgelerine göre, KAD termogenezi daha fazla uyarabilme kapasitesine sahiptir ve böylece toplam enerji harcamasını artırmaktadır (Saito ve Okamatsu-Ogura, 2023). Bu doku tarafından ısı üretimi, termogenin olarak da adlandırılan mitokondriyal UCP1 tarafından gerçekleştirilir (Jones, Ruprecht, Crichton ve Kunji, 2024). UCP1, aktivasyonu ile proton gradyan enerjisinin dağılmasını sağlayarak ısı üretimini katalize eder. Bu süreçte, UCP1 proton kaçağını kolaylaştırır ve oluşan enerji ATP olarak depolanmak yerine ısı şeklinde salınır. Serbest yağ asitleri, UCP1'in aktivasyonunu tetikleyen substratlar olarak işlev görür. Yağ asitlerinin bağlanmasıyla UCP1, protonların mitokondriyal matrikse taşınmasını sağlayarak termojenez sürecini destekler (Gong ve diğerleri, 2024). Termal stres

olmadığında, kahverengi adipositlerde UCP1'in pürin nükleotidleri tarafından inhibe edildiği düşünülmektedir (Jung ve diğerleri, 2019).

Kahverengi ve bej yağ dokuları, adaptif termojenez için temel bölgeler olup, bu dokuların aktiviteleri tüm vücudun enerji harcamasını önemli ölçüde artırabilir (Wang ve Seale, 2016). Kahverengi adipoz dokunun bazal metabolizma hızına kıyasla enerji harcamasını %10-20 oranında artırdığı ve tahmini olarak günlük 100 kkal'e katkı sağladığı bildirilmiştir (Pilkington ve diğerleri, 2021). Örneğin, 63 gram aktif KAD'a sahip bir bireyin, bir yıl boyunca yaklaşık 4,1 kg BAD'a eşdeğer enerji olan 38.500 kcal'i okside edebileceği bildirilmiştir (Martins ve diğerleri, 2024).

Yetişkin insanlarda aktif kahverengi yağın varlığının anlaşılması ve kahverengi adiposit farklılaşmasını kontrol eden yeni transkripsiyon faktörlerinin keşfi, KAD üzerine yapılan araştırmalara olan ilgiyi artırmış ve bu alandaki çalışmaların hızla artmasına katkı sağlamıştır (Noriega ve diğerleri, 2023).

Adipoz dokuda bulunan termojenik belirteçler

FGF21: Fibroblast büyüme faktörü 21 (FGF21), esas olarak karaciğer tarafından üretilmekle birlikte, iskelet kası, BAD, KAD, bağırsak, kalp, böbrekler ve pankreas gibi dokularda da salgılanan ve strese duyarlı bir hormon olarak tanımlanmaktadır (Tezze, Romanello ve Sandri, 2019; Mason ve diğerleri, 2022). FGF21'in normal fizyolojik koşullarda etkileri belirsiz olsa da, metabolik, oksidatif, besinsel, hormonal veya çevresel stresörler karşısında önemli ölçüde artar ve bu durum, metabolik homeostazın yeniden sağlanmasında kritik bir rol oynamaktadır. Besin ögesi eksikliği, aşırı beslenme, ketojenik ve yüksek karbonhidratlı diyetler, protein kısıtlaması, fiziksel aktivite ve obezite, Tip 2 diyabet veya alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı gibi diğer metabolik stres faktörlerinin FGF21 ekspresyonunu ve/veya sinyal iletimini indükleyebildiği bildirilmiştir (Martínez-Garza ve diğerleri, 2019; Mason ve diğerleri, 2022).

Kahverengi ve beyaz adipoz dokuda, FGF21, lokal olarak salgılanır ve otokrin ve parakrin etkiler gösterir. Kahverengi adipoz dokusa lokal olarak üretildiğinde, merkezi beta-adrenerjik sinyal yolunun bir sonucu olarak soğuğa maruziyete yanıtla termojenezi uyarır ve enerji metabolizmasını düzenler. Beyaz adipoz dokuda ise lipolizi baskılarken, aynı

zamanda adiponektin salgılanmasını teşvik edebilir (Szczepańska ve Gietka-Czernel, 2022). FGF21, etkilerini FGF reseptörü 1c (FGFR1c) ve zorunlu eş reseptör β-Klotho'dan oluşan heteromerik bir reseptöre bağlanarak göstermektedir. Obez farelere FGF21'in ekzojen uygulanmasının ağırlık kaybını sağladığı, hiperlipidemiyi düzelttiği, infilamasyonu azalttığı, kan glukozunu düşürdüğü, insülin direncini ve yağlı karaciğeri iyileştirdiği gösterilmiştir (Falamarzi ve diğerleri, 2022; Yang ve diğerleri, 2023). FGF21, iki yönlü bir mekanizma aracılığıyla WAT'ın esmerleşmesini artırmaktadır. İlk olarak, sempatik sinir sistemini aktive ederek merkezi bir rol oynar. İkinci olarak, doğrudan beyaz yağ hücrelerini hedef alarak termojenik gen ekspresyonunu indükler (Abu-Odeh ve diğerleri, 2021). Kronik enerji fazlalığı ve obezite KAD aktivasyonunu olumsuz etkileyerek FGF21'in endokrin sinyal iletimini azaltır. Karaciğerde, FGF21 de novo lipogenezi baskılar ve hepatositlerdeki enerji yükünü azaltarak yağ asidi oksidasyonunu artırır. Ayrıca, FGF21 lipogenik genlerin (örneğin FASN, SREBP1, SCD1) ekspresyonunu azaltırken, biyogenezle ilişkili (örneğin NRF1, TFAM) ve beta-mitokondriyal oksidasyonu aktive eden genlerin (örneğin CPT1-α, PPAR-α) ifadesini artırır (Martins ve diğerleri, 2024).

Cidea ve Ucp1: Cidea ve UCP1 kahverengi ve bej adipositlerde termojenez sürecinde önemli roller oynayan proteinlerdir. Cidea hem kahverengi hem de parlak/bej, termojenez yeteneğine sahip (UCP1 içeren) yağ hücrelerinde yüksek oranda ifade edilen bir gendir (Fischer ve diğerleri, 2017). Cidea, UCP1'in transkripsiyonel düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Cidea yokluğunda adipositlerin esmerleşme kapasitesinin kaybolduğu, ancak Cidea'nın yeniden ekspresyonuyla bu kapasitenin geri kazanıldığı belirlenmiştir. Ayrıca, bej adipositlerde en fazla ifade edilen gen olan UCP1'in, Cidea eksikliği durumunda insan adipositlerinde baskılandığı tespit edilmiştir (Jash, Banerjee, Lee, Farmer ve Puri, 2019). Kronik soğuk maruziyeti sonrasında farelerin BAD'ında her iki gen transkriptinin ekspresyonunda belirgin bir artış gözlenmiştir. UCP1 ve Cidea'nın birlikte artış göstermesi, Cidea'nın da bej ve kahverengi adipositlerin termojenik aktivitesinde önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Pilkington ve diğerleri, 2021).

UCP1, KAD'ın en belirgin biyolojik belirteçlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Bir çalışmada, adiposit farklılaşması öncesinde hem bej hem de beyaz yağ dokularından türetilen inguinal hücrelerde UCP1 transkriptinin düşük düzeyde ifade edildiği tespit edilmiştir. Ancak, farklılaşma sonrasında cAMP veya β-adrenerjik agonist uyarımı ile bej

adipositlerde UCP1 ekspresyonunun beyaz adipositlere kıyasla belirgin şekilde arttığı gözlemlenmiştir (Wu ve diğerleri, 2012).

Beslenmenin, KAD ve bej yağın düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı ve belirli beslenme faktörlerinin bu dokuların gelişimini ve aktivasyonunu teşvik edebileceği gösterilmiştir (Gong ve diğerleri, 2024). Özellikle çay, meyve, sebze ve çeşnilerde bulunan çeşitli besin bileşenlerinin, enerji harcamasını artırma, yağ birikimini azaltma ve UCP1'i aktive etme potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 2.2) (Gong ve diğerleri, 2024). Bunun yanı sıra, yüksek yağlı diyetle beslenme sonucunda kahverengi ve bej adipositlerde UCP1 ekspresyonunun arttığı, ancak BAD'da azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca, yaşlanmanın KAD miktarını ve dolayısıyla UCP1 ekspresyonunu azalttığı bilinen bir diğer önemli faktör olduğu belirtilmiştir (Pilkington ve diğerleri, 2021).

Çizelge 2.2. UCP1 aktivasyonundan sorumlu faktörler

UCP1 Aktivasyonu
Soğuğa maruziyet
Fiziksel aktivite
Açlık
Nutrasötikler (Çoklu doymamış yağ asitleri, kapsaisin ve kapsinoidler, kateşinler, kurkumin, resveratrol ve berberin, oleuropein, antosiyaninler, kuersetin, gingerol, shogaol, 6-paradol, tiakremonon, sinnamaldehit ve mentol)
Tirozin (Noradrenalin Prekürsörü) gibi amino asitler
Triiyodotironin, Tiroksin
Beta-adrenerjik reseptörleri uyarıcı moleküller ve noradrenalin geri alımını engelleyen ilaçlar

(Schirinzi ve diğerleri, 2023)

Pgc-1α: Pgc-1α termojenezin soğukla indüklenen bir transkripsiyonel koaktivatörü olarak tanımlanmış olup, KAD nükleer reseptör PPARγ ile etkileşimi yoluyla işlev görmektedir. Mitokondriyal içeriğin ve solunumun düzenlenmesinde kritik bir role sahip olan Pgc-1α, aynı zamanda mitokondriyal biyogenezin ana düzenleyicisi olarak kabul edilmektedir (Gill ve La Merrill, 2017). Pgc-1α, iki farklı düzeyde sıkı bir şekilde düzenlenir. İlk olarak, çeşitli transkripsiyon faktörleri ve insülin/glukagon seviyeleri, kalsiyum (Ca^{2+}), sıcaklık ve egzersiz gibi hücre dışı uyarıcılar aracılığıyla sinyal kaskadları üzerinden transkripsiyonel düzeyde kontrol edilir. İkinci olarak, Pgc-1α, asetilasyon, fosforilasyon, metilasyon ve ubikitinasyon gibi post-translasyonel modifikasyonlar yoluyla düzenlenir (Abu Shelbayeh, Arroum, Morris ve Busch, 2023).

Pgc-1α'nın kahverengi adipositlerde eksikliği, soğuğa yanıt olarak termojenezi oluşturan gen ekspresyon programının aktivasyonunda ciddi bir yetersizlikle ilişkilendirilmiştir. Bunun yanı sıra, BAD'da Pgc1a aktivasyonunun indüklenmesi durumunda, BAD'nun KAD özellikleri göstermeye başladığını, bu durumun bejleşme sürecini ve bej adipositlerin toplanmasını/trans-diferansiyasyonunu işaret ettiğini göstermiştir. Ayrıca Pgc-1α aktivitesinden yoksun farelerde, KAD, kalp ve iskelet kası dahil olmak üzere mitokondriyal yoğun dokularda mitokondriyal gen ekspresyonunun azaldığı ve bu farelerin soğuğa karşı daha hassas hale geldiği gözlenmiştir (Pilkington ve diğerleri, 2021).

PRDM16: PRDM16'nın, kahverengi ve bej adipositlerin gelişiminde kritik bir transkripsiyonel ortak düzenleyici olarak işlev gördüğü ve bu süreçlerin gerçekleşmesinde temel bir role sahip olduğu gösterilmiştir (Pilkington ve diğerleri, 2021). PRDM16, KAD'da yüksek seviyelerde ifade edilen bir transkripsiyon olup, PPARγ ile etkileşerek kahverengi adipogenezisi teşvik eder ve UCP1 gibi termojenik genlerin ekspresyonunu artırır. PRDM16 eksikliği, BAT'taki termojenik genlerin azalmasına, morfolojik bozukluklara ve kas özelliklerinin artmasına neden olmaktadır. Ayrıca, PRDM16'nın stabilitesini kontrol eden faktörlerin, beyaz yağ dokusunun esmerleşmesini etkileyerek enerji harcamasını artırdığı gösterilmiştir (Jiang, Yang, Han, Zhao ve Sun, 2022). PRDM16, miyoblastların kahverengi adipositlere dönüşümünde anahtar bir role sahiptir. Bu dönüşüm, PRDM16'nın C/EBP-β ile oluşturduğu transkripsiyon kompleksi tarafından düzenmektedir. PRDM16 eksikliğinde, kahverengi yağ özelliklerinin kaybolduğu ve bunun yerine kas farklılaşmasının arttığı gözlenmiştir (Ziqubu ve dieğrleri, 2023). Ancak, farelerde PRDM16 genetik kaybının kahverengi yağ gelişimi üzerindeki etkilerinin nispeten hafif olduğu, bunun PRDM3 gibi ilişkili proteinler tarafından sağlanan telafi edici mekanizmalardan kaynaklandığı rapor edilmiştir (Wang ve Seale, 2016). Bununla birlikte, PRDM16'nın aşırı ekspresyonu, kahverengi yağ hücrelerinin oluşumunu desteklerken kas özelliklerini baskılamaktadır. Ayrıca PRDM16 miyojenik ve adipogenik farklılaşma arasındaki dengeyi düzenleyerek adiposit ve kas dokusu dengesinin sağlanmasında önemli bir rol oynamaktadır (Kajimura ve diğerleri, 2009).

2.3. Omega 3 Yağ Asitleri

Omega-3 yağ asitleri, çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) ailesine ait olup, hidrokarbon (asil) zincirinin metil ucuna en yakın çift bağın, metil karbon bir numara olarak sayıldığında,

üçüncü karbonda yer almasıyla tanımlanır ve bu özelliğine göre adlandırılır (Innes ve Calder, 2020). Birçok farklı n-3 yağ asidi bulunmakla birlikte, bilimsel araştırmalar genellikle alfa-linolenik asit (ALA), eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosahekzaenoik asit (DHA) olmak üzere üç tanesi üzerinde yoğunlaşmaktadır (Swanson, Block ve Mousa, 2012; Shahidi ve Ambigaipalan, 2018; Troesch ve diğerleri, 2020). Bu yağ asitleri, karbon atomu sayısı ve çift bağ sayısına göre adlandırılır. Örneğin, 18 karbon ve 3 çift bağ içeren ALA, "C18:3n-3" olarak adlandırılırken, EPA "C20:5n-3" ve DHA ise "C22:6n-3" olarak adlandırılmaktadır (Calder, 2013). ALA, n-3 yağ asitlerinin öncüsü olup, desatüre olur ve n-3 yağ asitlerini oluşturmak üzere zincir uzatır. İnsan vücudu, cis çift bağlarını yerleştirmekten sorumlu enzimin (Δ15-desaturaz) sınırlılığı nedeniyle bu n-3 yağ asitlerinin tamamını sentezleyemez. İnsan vücudu, yağ asidinin metil ucundan dokuzuncu karbon sonrası karbon-karbon çift bağlarını sentezleyemez. Bu nedenle, ALA ve linoleik asit "esansiyel yağ asitleri" olarak kabul edilir ve diyetle alınmaları gerekir. ALA, EPA'ya ve ardından DHA'ya dönüştürülebilir, ancak bu dönüşüm (çoğunlukla karaciğerde gerçekleşir) oldukça sınırlıdır (National Institutes of Health, 2024). ALA'dan EPA ve DHA'ya dönüşüm oranı erkeklerde sırasıyla %0,2–0,8 ve <%4, kadınlarda ise %21 ve %9'dur (Qin, Kurt, LBassi, Sa ve Xie, 2023). Bu nedenle, EPA ve DHA'nın doğrudan besinlerden ve/veya diyet takviyelerinden alınması, bu yağ asitlerinin vücut seviyelerini artırmanın en pratik yoludur. ALA, keten tohumu, soya fasulyesi ve kanola yağları gibi bitkisel yağlarda bulunurken, DHA ve EPA balık, balık yağı ve krill yağı gibi kaynaklarda bulunur. Ancak bu yağ asitleri, balık tarafından değil, mikroalgler tarafından sentezlenir. Balık, mikroalg tüketen fitoplanktonları yediğinde, n-3 yağ asitlerini dokularında biriktirmektedir (National Institutes of Health, 2024).

2.3.1. Omega-3 yağ asitlerinin emilimi ve metabolik işlevleri

Diyetle alınan lipitler, ağızda çiğneme ve lingual lipazların etkisiyle parçalanmaya başlar, ardından midede gastrik lipazlarla daha ileri düzeyde hidrolize edilir. Midede ön sindirime uğrayan lipitler, duodenuma taşınır ve burada pankreatik lipaz tarafından hidrolize edilmeye devam edilir. Hidroliz sonucunda oluşan monogliseritler ve serbest yağ asitleri, safra tuzları ve fosfolipidler tarafından emülsifiye edilerek karışık miseller oluşturur ve büyük oranda pasif difüzyon yoluyla enterositlere emilir. Bağırsak hücrelerinde serbest yağ asitleri şilomikronlara dahil edilerek lenfatik sistem aracılığıyla dolaşıma katılır. Kan dolaşımına girdikten sonra, lipoprotein partikülleri vücutta dolaşarak lipitleri oksidasyon, metabolizma

veya yağ dokusunda depolama süreçleri için çeşitli organlara taşır (Duan, Song, Zhao ve Yan, 2023).

Omega-3 yağ asitleri, hücre zarlarının yapısını oluşturan fosfolipitlerin bir bileşeni olarak vücutta önemli roller oynar. Özellikle DHA, retina, beyin ve spermde yüksek miktarlarda bulunur (National Institutes of Health, 2024). Gözlemsel çalışmalar ve randomize kontrollü denemelerden elde edilen bulgular, n-3 yağ asitlerinin kan basıncını ve kalp atış hızını düşürme, tromboz riskini azaltma, plazma trigliserit seviyelerini düşürme, sistemik vasküler direnci azaltma, miyokardiyal fibrozisi önleme, inflamasyonu hafifletme ve normal nörolojik fonksiyonların korunmasını destekleme gibi faydalar sağlayabileceğini göstermektedir (Maki ve Dicklin, 2019; Zhang, Ritonja, Zhou, Chen ve Li, 2022; Huang ve diğerleri, 2023). n-3 yağ asitlerinin geniş kapsamlı potansiyel etkileri nedeniyle, bu yağ asitlerinin takviyesi kardiyovasküler hastalıklar, çocukluk çağı astımı ve alerjileri, depresyon, dikkat eksikliği/hiperaktivite bozukluğu, Alzheimer hastalığı, demans, bilişsel işlev bozukluğu, beyin travması, bebek sağlığı, kanser, yaşa bağlı makula dejenerasyonu, romatoid artrit, inflamatuar bağırsak hastalığı ve kistik fibroz gibi birçok hastalık ve sağlık durumu üzerinde araştırılmıştır (Maki ve Dicklin, 2019).

Omega-3 yağ asitlerinin özellikle kardiyoprotektif, anti-inflamatuar ve hipotrigliseridemik özellikler göstermesi metabolik sendromun bileşenlerini iyileştirerek, obezite komorbiditelerinin tedavisine ve önlenmesine yardımcı olabilir (Albracht-Schulte ve diğerleri, 2018). Ayrıca, bu yağ asitlerinin BAD'ın kahverengileşmesi ve KAD'da termojenez sürecindeki rolleri, obeziteyle mücadelede potansiyel bir mekanizma olarak değerlendirilmektedir (Yang ve diğerleri, 2021; Zapata ve diğerleri, 2022)

2.3.2. Omega-3 yağ asitlerinin alım önerileri

Yetişkin bireylerde n-3 yağ asitleri için yeterli alım düzeyi, erkekler için günlük 1,6 g, kadınlar için ise 1,1 g olarak belirlenmiştir (Trumbo ve arkadaşları, 2002). Gebelik ve emziklilik dönemlerinde ise n-3 yağ asitleri gereksinimi artış göstermektedir (Çizelge 2.3). FAO/WHO uzman grubunun önerisine göre yetişkinlerde eksiklik semptomlarını önlemek için diyetle alınan ALA miktarının, günlük enerji alımının en az %0,5'i olması gerekmektedir (Proceedings of the Joint FAO/WHO Expert Consultation, 2009).

Diyet Ürünleri, Beslenme ve Alerjiler Paneli (NDA), kan basıncı ve trigliserit seviyelerinin korunması için günlük 2-4 gram EPA ve DHA alımını önerirken, sağlıklı yetişkinler ve çocuklarda genel kardiyovasküler sağlığın korunması amacıyla günlük 250 mg alımın yeterli olduğu belirtilmiştir. Panel, besinlerden elde edilen n-3 uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri alımının, sağlıklı yetişkinlerde ve çocuklarda olumsuz etkilerle ilişkilendirilmediğini vurgulamıştır. Ayrıca, yetişkinlerde günlük 5 grama kadar EPA ve DHA alımının kanama, glukoz düzenleme veya bağışıklık fonksiyonlarında herhangi bir olumsuz etkiye neden olmadığı ifade edilmiştir (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2012). IOM (Tıp Enstitüsü) ise, 1 yaş ve üzeri çocuklar ile yetişkinler için n-3 yağ asitleri (ALA olarak) için enerji alımının %0,6 ila %1,2'sini kapsayan bir kabul edilebilir makro besin ögesi dağılım aralığı belirlemiştir. Ayrıca, bu aralığın yaklaşık %10'unun EPA ve/veya DHA olarak tüketilebileceğini ifade etmiştir. IOM, herhangi bir n-3 yağ asidi için üst alım limiti belirlememiştir, ancak yüksek dozlarda n-3 alımının bazı olumsuz etkiler oluşturabileceğini belirtmiştir. Örneğin, birkaç hafta boyunca günde 900 mg EPA ve 600 mg veya daha fazla DHA alımı, inflamatuar yanıtların baskılanması nedeniyle bağışıklık fonksiyonunu azaltabilir. Bunun yanı sıra, günde 2-15 g EPA ve/veya DHA alımı, trombosit agregasyonunu azaltarak kanama süresini uzatabilir (Trumbo ve arkadaşları, 2002).

Türkiye'de n-3 yağ asidi alım miktarları ise, Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması (2017)'na göre, tüm yaş gruplarında erkeklerde 1.3-1.6 g, kadınlarda ise 1.1-1.3 g arasında değiştiği bulunmuştur. Ayrıca, 65 yaş ve üzeri bireylerde, erkekler için alım miktarı 1.3 g, kadınlar için ise 1.0 g olarak belirlenmiştir. Enerjinin ALA'dan sağlanan oranı, erkeklerde %0.5, kadınlarda %0.5-0.6'dır. EPA+DHA alımı ise erkeklerde 0.2-0.3 g, kadınlarda 0.2 g olarak belirlenmiş olup, bu değerler günlük 0.250-2.0 g olarak önerilen EPA ve DHA alım miktarının altında kalmaktadır (Proceedings of the Joint FAO/WHO Expert Consultation, 2009).

Çizelge 2.3. Omega-3 yağ asitleri için yeterli alım düzeyleri

Yaş	Erkek	Kadın	Gebe	Emzikli
0-12 ay*	0,5 g	0,5 g		
1–3 yaş**	0,7 g	0,7 g		
4–8 yaş**	0,9 g	0,9 g		
9–13 yaş**	1,2 g	1,0 g		
14–18 yaş**	1,6 g	1,1 g		
19-50 yaş**	1,6 g	1,1 g	1,4 g	1,3 g
51+ yaş**	1,6 g	1,1 g		

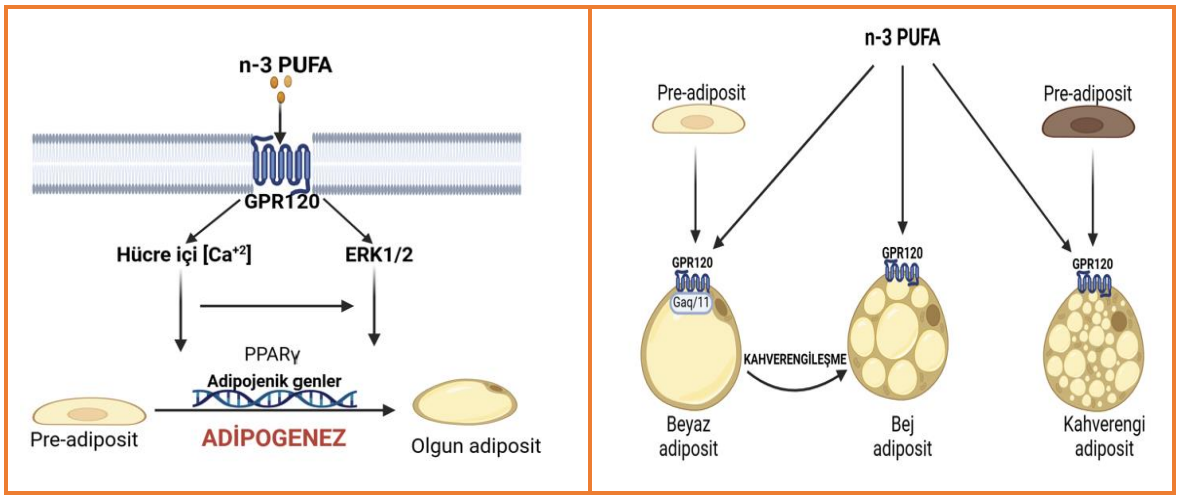
*Doğumdan 12 aya kadar olan miktar toplam n-3 yağ asitlerini ifade eder. **ALA (alfa-linolenik asit) için geçerlidir (Trumbo ve arkadaşları, 2002).

2.3.3. Omega 3 yağ asitlerinin ve farklı yağ türlerinin obezite yönetimi ve termojenez üzerindeki etkisi

Yağ asitlerinin türü, adipoz doku fonksiyonları ve enerji metabolizması üzerinde belirleyici rol oynamaktadır. Özellikle n-3 yağ asitlerinin, obezitenin yönetimi ve termojenez mekanizmalarının düzenlenmesinde önemli bir potansiyele sahiptir. Hem kemirgenlerde hem de insanlarda, n-3 yağ asitleri alımının insülin direncini, inflamasyonu, adipoziteyi ve serum lipidlerini azaltabileceği gösterilmiştir (Fan, Koehler ve Chung, 2019; Park ve diğerleri, 2022). Transgenik fare modelinde, n-3 yağ asitlerinin endojen artışının ve n-6 yağ asitlerinin azalmasının, yüksek yağlı diyetin neden olduğu obezite, diyabet, hiperkolesterolemi ve hepatik steatozu önemli ölçüde iyileştirdiğini ortaya koymuştur. Bu durum, dengeli bir n-6/n-3 yağ asitleri oranının, obezite ve ilgili bozuklukların tedavisi için önemli olduğunu göstermektedir (Hao, Nie, Chen, Li, Kaliannan ve Kang, 2022). Ayrıca, endojen n-3 yağ asitlerinin, yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde bozulmuş kahverengi yağ morfolojisini ve fonksiyonunu koruduğu bulunmuştur (Hao, Chen, Kang ve Nie, 2021). Bu etkilerinin yanı sıra, n-3 yağ asitlerinin termojenik aktivasyonu destekleyerek enerji harcamasını artırma ve KAD işlevini iyileştirme potansiyeli de bulunmaktadır (Yang ve diğerleri, 2021). n-3 yağ asitlerinin kahverengi ve bej adiposit farklılaşmasını ve termojenik fonksiyonu indükleyebileceği ve bu etkilerin G-protein bağlı reseptör 120 (GPR120) aracılığıyla gerçekleştiği bildirilmiştir (Oh ve diğerleri, 2010). GPR120, n-3 yağ asitlerinin işlevsel bir reseptörü/sensörü olarak görev yapmaktadır. Omega-3 yağ asitlerinin GPR120'ye bağlanması, heterodimerik Gαq alt biriminin aktivasyonunu tetikler ve bu süreç, hücre içi [Ca+2], cAMP ve diasilgliserol gibi ikinci haberciler aracılığıyla çeşitli hücresel tepkilerin indüklenmesine yol açmaktadır (Şekil 2.3) (Fan ve diğerleri, 2019).

Öte yandan, diğer yağ türleri, özellikle n-6 yağ asitleri ve doymuş yağ asitleri, adipoz doku ve metabolik sağlık üzerinde olumsuz etkiler gösterebilmektedir. Omega-6 yağ asitlerinin fazla alımı, pro-inflamatuar sinyalleme yollarını aktive ederek adipogenezisi ve insülin direncini artırabilir. Bu durum, n-6/n-3 oranı yüksek diyetlerin obezite ve metabolik disfonksiyon riskini artırabileceğini ortaya koymaktadır (Simopoulos, 2016). Benzer şekilde doymuş yağ asitleri de KAD'da mitokondriyal işlevi bozarak termogenez kapasitesini azaltmakta ve BAD'da inflamasyon ve makrofaj infiltrasyonunu teşvik etmektedir (Sears

and Perry, 2015; Wang, Min, Duan, Mai ve Liu, 2024). Dolayısıyla n-3 yağ asitleri, daha dengeli bir lipid profili sağlayarak obeziteyle ilişkili metabolik bozuklukların yönetiminde koruyucu ve düzenleyici bir rol üstlenmektedir.



Şekil 2.3. Yağ dokularında metabolik homeostazla ilişkili GPR120 aktivasyonunun rolü (n-3 yağ asitlerinin veya GPR120 sentetik agonistlerinin tedavisiyle, GPR120 hem beyaz hem de kahverengi preadipositlerde adipogenezi teşvik eder. BAD'da, GPR120 aktivasyonu beyaz yağ hücrelerinin kahverengileşmesini sağlar (Song, Yang, Zhou, Wei ve Peng, 2017)

Adipositlerde, preadipositlere kıyasla GPR120 ekspresyonu BAT≫iWAT~eWAT>mWAT sıralamasıyla daha yüksek düzeylerde görülmektedir (Fan ve diğerleri, 2019). Soğuk maruziyeti sırasında endojen n-3 yağ asitlerinin sentezi veya diyet yoluyla alınan n-3 yağ asitleri, GPR120 aktivasyonunu tetikleyerek kahverengi yağa özgü transkripsiyonel programlamayı artırmada temel bir rol oynamaktadır. Bu süreç, miRNA aracılı epigenetik mekanizmalar ve FGF21 sinyalizasyonu gibi yolları da içermektedir (Quesada-López ve diğerleri, 2016). Bu yolaklara ek olarak, kültüre edilmiş adipositlerde ve hayvan modellerinde, n-3 yağ asitlerinin KAD aktivitesini artırıcı etkilerinin UCP1, PRDM16, PPAR'lar, PGC1α gibi diğer termogenik genlerin uyarılması yoluyla gerçekleştiği gösterilmiştir (Kim ve diğerleri, 2016; Félix-Soriano ve diğerleri, 2021).

Yapılan çalışmalarda EPA ile zenginleştirilmiş yüksek yağlı bir diyetin farelere verilmesinin, vücut ağırlığını, yağ kütlesini ve glukoz intoleransını önemli ölçüde azalttığını; buna karşın insülin duyarlılığını ve inflamasyonu iyileştirdiğini göstermiştir (Bargut, Silva-e-Silva, Souza-Mello, Mandarim-de-Lacerda ve Aguila, 2016a; Kim ve diğerleri, 2016; Pahlavani ve diğerleri, 2017). Ek olarak, EPA'nın, hem EPA ile beslenen farelerin BAT'ında

hem de klonal kahverengi adipositlerde klasik termojenik biyobelirteçlerin gen ve protein seviyelerini artırdığı rapor edilmiştir (Pahlavani ve diğerleri, 2018). Ayrıca n-3 yağ asitlerinin alımı, obez farelerde indüklenen düşük dereceli inflamasyonu önleyebilir. Yüksek yağlı diyet (YYD) ile birlikte n-3 yağ asitleri ile beslenen farelerde, anti-inflamatuar sitokinlerin daha yüksek ekspresyonu gözlenmiştir; bu da UCP1 ve GPR120 gen ekspresyon seviyeleri ile ilişkilendirilmiştir (Worsch, Heikenwalder, Hauner ve Bader, 2018). Benzer şekilde, YYD ile birlikte 119 veya 238 g/kg diyet oranında balık yağı (FO) takviyesi yapılan farelerde, pro-inflamatuar belirteçlerin (IL-6 ve TNF-α) gen ekspresyonunda azalma ve BAT'ta β3-AR, PGC1α ve UCP1 ekspresyonunda artış rapor edilmiştir (Bargut ve diğerleri, 2016a).

Normal fizyolojik süreçlerin sürdürülebilmesi için n-6/n-3 yağ asitleri oranının dengelenmesi de kritik öneme sahiptir. Optimal oran yaklaşık 1-2:1 olarak önerilmektedir. ALA ve linoleik asit (LA), ortak enzimatik yollarla metabolize edilir; bu nedenle, yüksek LA alımı, n-3 yağ asitlerinden EPA ve DHA sentezini inhibe edebilir. Tipik Batı diyetinin n-6/n-3 oranı 10:1'e kadar yüksektir, bu da potansiyel sağlık riskleri nedeniyle kaygı uyandırmaktadır (Kris-Etherton, Harris ve Appel, 2002; Park ve diğerleri, 2022).

İnsanlarda n-3 yağ asitleri alımı ve vücut ağırlığı arasındaki ilişkiyi inceleyen randomize kontrollü çalışmalar, çalışma tasarımı, doz, uygulama süresi, diyetin n-6/n-3 yağ asitleri oranı, diğer takviyelerin kullanımı ve çalışmaya katılan popülasyonun demografik özellikleri gibi çeşitli faktörler nedeniyle çelişkili sonuçlar vermiştir (Simopoulos, 2008; Hao ve diğerleri, 2022). Tüm bu sonuçlar, n-3 yağ asitlerinin inflamatuar yanıtın düzenlenmesi, termojenik aktivite ve obezitede esmerleşme etkisi arasında bir ilişki olduğunu düşündürmektedir. Ancak, mekanizmaların çoğu hayvan çalışmalarına dayandığından, elde edilen verilerin analizi önemlidir (Zapata ve diğerleri, 2022). Soğuk maruziyeti, kahverengileşmeyi indükleyen ve BAT aktivitesini artıran en güçlü uyarıcılardan biri olarak tanımlansa da, günümüzde insanlar çoğunlukla termonötr ortamlarda yaşamaktadır. Bu nedenle, benzer termojenik etkiler oluşturabilecek vitaminler, polifenoller ve n-3 yağ asitleri gibi diyet bileşenlerinin belirlenmesi bilimsel olarak dikkat çekicidir (Zapata ve diğerleri, 2022). Bununla birlikte, bu etkilerin altında yatan mekanizmaların belirlenmesi ve BAT fonksiyonunu artırmak ve obezite ile ilişkili metabolik bozuklukların riskini azaltmak için ideal n-3 yağ asitlerinin takviye dozajı ve süresinin

belirlenmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (Noriega ve diğerleri, 2023; Yang ve diğerleri, 2021).

3. YÖNTEM

Anne sütünden kesildikten sonra (3 haftalık) yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde, diyetle birlikte verilen n-3 yağ asitlerinin vücut ağırlığı, biyokimyasal parametreler ile adipoz dokunun termojenik ve histolojik özellikleri üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla yürütülen bu çalışma, Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 24.02.2022 tarihinde G.Ü.ET-22.031 kayıt numaralı araştırma projesi olarak onaylanmıştır (EK 1). Çalışmanın tüm aşamalarında Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu esaslarına uygun çalışılmıştır. Araştırmanın bütçesi Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi'nden karşılanmıştır (Proje Kodu: TDK-2022-7794).

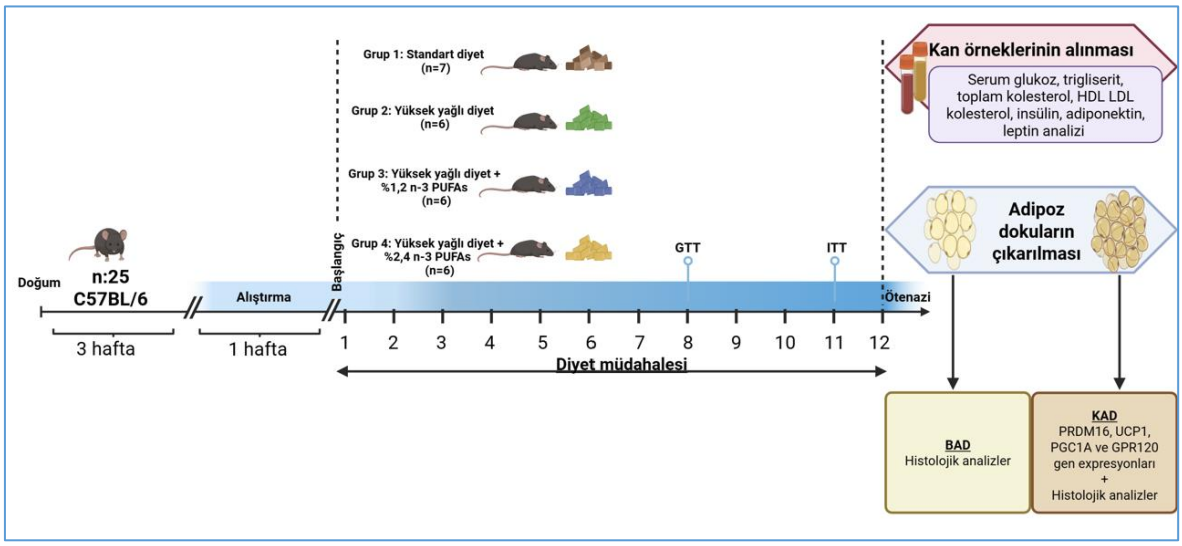
3.1. Araştırma Yeri ve Süresi

Bu çalışma Şubat 2023-Haziran 2023 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde (GÜDAM) C57BL/6 türü farelerle yürütülmüştür. Araştırmaya dahil edilen farelerin takip edildikleri 12 hafta boyunca bakımları ve bu dönemlerdeki diyet müdahaleleri ile ötenazi ve anestezi altında kan alma işlemleri GÜDAM'da gerçekleştirilmiştir. Farelerden alınan kan ve serum örnekleri özel bir laboratuvarda saklanmıştır. Farelere ait biyokimyasal ve gen ekspresyonu analizleri özel bir laboratuvarda, histolojik analizler ise Gazi Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.2. Çalışmanın Genel Planı

Çalışmaya GÜDAM'dan temin edilen 25 adet, anne sütünden yeni kesilmiş (3 haftalık) C57BL/6 cinsi erkek fare dahil edilmiştir. C57BL/6 fare türü, metabolik hastalıkların incelenmesi için en uygun modellerden biri olarak önerilmekte olup (Benedé-Ubieto, Estévez-Vázquez, Ramadori, Cubero ve Nevzorova, 2020), yüksek yağlı diyetle beslendiklerinde obeziteye daha yatkın olmaları ve diyetle indüklenen obezite çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaları nedeniyle bu çalışmada tercih edilmiştir (Wang ve Seale, 2016; Fan ve diğerleri, 2019; Mandarim-de-Lacerda ve diğerleri, 2021b). Güç analizi ile yapılan örneklem büyüklüğü sonucunda belirlenen hayvan sayısı, 3R ilkesinin "Reduce" ilkesine uygun olarak minimum düzeyde tutulmuş ve literatürdeki benzer çalışmalarla uyumlu olacak şekilde kesinleştirilmiştir. Literatürdeki bilgilere dayanarak

erkek kemirgenlerin, dişilere göre daha kısa sürede ve daha ileri derecede obez olma eğiliminde olması (Hong, Stubbins, Smith, Harvey ve Núñez, 2009), ayrıca, diyet müdahalesi ile metabolizma arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmaların büyük çoğunluğu, dişi kemirgenlerde görülen östrus döngüsünün metabolik parametreler üzerinde koruyucu etkiler oluşturabilmesi ve dişi hormonlarının metabolizma üzerindeki düzenleyici rolü nedeniyle erkek hayvanlarla yürütülmektedir. Bu gerekçeyle, mevcut çalışmaya yalnızca erkek fareler dahil edilmiştir (Riant ve diğerleri, 2009; Mauvais-Jarvis, 2015). Laktasyon dönemini tamamlayan fareler, bir haftalık uyum sürecinden sonra randomize olarak kontrol ve deney gruplarına ayrılmıştır. Kontrol grubu (STD) standart diyetle beslenirken, deney grubu yüksek yağlı diyet ile birlikte n-3 yağ asitleriyle zenginleştirilmiş veya zenginleştirilmemiş diyet almıştır. Farelere 8. haftada glukoz, 11. haftada insülin tolerans testleri uygulanmıştır. Fareler 12 hafta sonunda intrakardiyak kan alımı ile ötenazi edilmiş, BAD ve KAD çıkarılmıştır. Alınan kan örneklerinden serum glukoz, insülin, adiponektin, leptin, trigliserit, toplam kolesterol, HDL, LDL parametreleri çalışılmıştır. KAD'da termojenik aktivitenin değerlendirilmesi için UCP1, PGC1a, GPR120 ve PRDM16 gen ekspresyonları analiz edilmiş, ayrıca BAD ve KAD'da histolojik incelemeler yapılmıştır. Çalışma süresince izlenen yol Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Çalışmanın tasarımı (BAD: Beyaz adipoz doku, GTT: Glukoz tolerans testi, ITT: İnsülin tolerans testi. KAD: Kahverengi adipoz doku. ITT sırasında 2,4 YYD grubunda iki farenin kan şekeri 20 mg/dl altına düşmesi nedeniyle test 1 hafta sonra bu grupta tekrarlanmıştır.)

3.3. Deney Hayvanlarının, Bakımı ve Deney Planı

Deney süresince fareler GÜDAM'da oda sıcaklığı 24±2° C, bağıl nemi %35-40, kafes içi ışık şiddeti 400 dlx, ışık periyodu 12 saat aydınlık/12 saat karanlık, gürültü düzeyi 85 dB'in altında kalacak şekilde kontrollü ve hava değişimini 10-16 saat olacak şekilde sağlayabilen havalandırma sisteminin mevcut olduğu bir ortamda barındırılmıştır. Tüm fareler, ad libitum olarak yem ve su ile beslenmiştir. Farelerin yem tüketim miktarları gün aşırı kontrol edilerek tartılmış, vücut ağırlıkları ise haftalık olarak aynı gün ve saatte ölçülmüştür. Tartımlar, 0,1 gram hassasiyetindeki PRECISA BJ2100D marka terazi ile gerçekleştirilmiştir.

3.3.1. Yem bileşimi

Yüksek yağlı diyet (YYD) kaynaklı obezite modelleri, insan obezitesinde gözlemlenen metabolik değişiklikleri yakından taklit ettikleri ve metabolik işlev bozukluğunu şiddetlendirdikleri bilindiği için deneysel araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Perez ve diğerleri, 2021; de Jesus Simão, de Sousa Bispo, Plata, Armelin-Correa ve Alonso-Vale, 2024). Kemirgenlerde obeziteyi tetiklemek amacıyla toplam enerji alımının %30 ile %78'inin yağdan sağlandığı ticari yemler kullanılmaktadır. Obezite gelişimi %45 yağ içeren diyetlerle, %60 yağ içeren diyetlere kıyasla daha yavaş gerçekleşse de, bu yaklaşım insanlardaki obezite süreciyle daha yüksek düzeyde benzerlik göstermektedir (Bastías-Pérez, Serra ve Herrero, 2020a). Bu nedenle bu çalışmada %45 yağ içeren yem kullanılmıştır.

Çalışmaya dahil edilen farelere, diyet müdahalesi öncesinde bir hafta boyunca yüksek yağlı diyete uyum sağlamaları amacıyla, bu diyet standart yem ile karıştırılarak verilmiştir. Bir haftalık uyum sürecinin ardından fareler rastgele bir şekilde randomize edilerek dört gruba ayrılmıştır. STD grubundaki fareler (n=7) standart laboratuvar yemi ile beslenmiştir. Üç farklı deney gruplarındaki farelere ise diyet enerjisinin %1,2'si (n=6) (Research Diets, D22111102), ve %2,4'ü (n=6) (Research Diets, D22111103) n-3 yağ asitleri ile zenginleştirilmiş yüksek yağlı (%45 yağ) diyet ya da n-3 yağ asitlerini çok düşük düzeyde içeren yüksek yağlı (%45 yağ) diyet (n=6) (Research Diets, D19081203G) verilmiştir. n-3 yağ asitleri ile zenginleştirilmemiş YYD grubunda yağ kaynağı olarak, n-3 yağ asitlerinden sınırlı aspir yağı kullanılmıştır. n-3 yağ asitleri içeren gruplarda ise (1,2 ve 2,4 YYD), aspir yağına ek olarak n-3 bakımından zengin menhaden balık yağı ilave edilmiştir. Bu diyetlerin

n-6/n-3 yağ asidi oranları, YYD, 1.2 YYD ve 2.4 YYD gruplarında sırasıyla; 603.1/1, 10.0/1 ve 5.1/1 olarak belirlenmiştir. Ayrıca, kolesterol içerikleri de sırasıyla; 46.6 mg, 159.0 mg ve 275.5 mg olarak hesaplanmıştır. Menhaden yağının yağ asidi analiz raporuna göre kullanılan menhanden yağının yaklaşık %33'ü n-3 yağ asitlerinden oluşmaktadır. Örnek olarak; enerjinin %1,2'sinin n-3 yağ asitlerinden sağlandığını gösteren hesaplama aşağıda verilmiştir:

- Yemin 858,15 gramı toplamda 4057 kkal enerji içermektedir, bu da 1 gram yemin 4,7 kkal enerji sağladığını göstermektedir.
- Yemin 858,15 gramı 16,4 gramı menhaden balık yağı içermektedir.
- Buna göre, 4057 kkal enerjinin 148 kkal'i menhaden yağından sağlanmaktadır.
- Menhaden yağının %33'ü n-3 yağ asitlerinden oluştuğundan, bu orana göre n-3 yağ asitlerinden elde edilen enerji 48,84 kkal olarak hesaplanmıştır.
- Sonuç olarak, toplam 4057 kkal enerjinin %1,2'si (48,84/4057x100) n-3 yağ asitlerinden sağlanmaktadır.

n-3 yağ asitlerinden zenginleştirilmemiş YYD diyetinin n-3 yağ asitleri değeri enerjinin %0,06'sıdır.

Çalışmada kullanılan yemlerin enerji ve makro besin ögesi değerleri Çizelge 3.1. ve Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Yüksek yağlı yemlerin (YYD, 1,2YYD, 2,4 YYD) enerji ve makro besin ögesi bileşimleri

Enerji ve besin ögeleri	kkal (%)	g/100g
Protein	20	24
Yağ	45	24
Karbonhidrat	35	41
Enerji yoğunluğu		4,7 kkal/g

Çizelge 3.2. Standart yemin enerji ve makro besin ögesi bileşimleri

Enerji ve besin ögeleri	kkal %	g/100g
Protein	24,6	23,5
Yağ	7,7	3,3
Karbonhidrat	67,7	64,7
Enerji yoğunluğu		3,8 kkal/g

Yeme katılacak omega 3 yağ asitlerinin hesaplanması

Kemirgen diyetindeki makro besin ögelerinin, özellikle lipidlerin, insan diyetindeki enerji dağılımını taklit edecek şekilde düzenlenmesinin insan sonuçlarına yakın sonuçlar üretebileceği gösterilmiştir. Bu veriler, türler arası karşılaştırmalar için eşdeğer yağ asidi seviyelerinin enerji yüzdesine dayalı olarak belirlenebileceğini göstermektedir (Whelan ve Whelan, 2020).

Sağlıklı bireylerde Diyet Referans Alımları (DRI) verilerine göre, bir yaşından itibaren yetişkinlik dönemi de dahil olmak üzere, enerjinin %0,6-1,2'sinin n-3 asitleri (α-linolenik asit) şeklinde alınması önerilmektedir (Trumbo ve arkadaşları, 2002). Fare verileri ve insan verilerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, diyet enerjisinin %1,2'sinin ALA'dan sağlandığı durumlarda, sonuçların insanlardaki EPA değişimlerini daha iyi taklit ettiği gösterilmiştir (Whelan ve Whelan, 2020). Başka bir çalışmada kemirgenlerin diyetine yemin 100 gramı başına eklenen düşük doz (%1,2) ve yüksek doz (%2,4) balık yağının KAD'da kahverengi adiposit aktivasyonu ve BAD'da ise kahjverengileşme için etkili doz olduğu gösterilmiştir (Kim ve diğerleri, 2015). Tüm bu veriler ışığında çalışmada insan dozlarını taklit etmek amacıyla diyetin enerjisinin %1,2'sinin n-3 yağ asitlerinden sağlanması planlanmıştır. Ayrıca, %2,4 olarak belirlenen yüksek dozun etkileri de araştırılmıştır.

Yem etkinliği katsayısının hesaplanması

Farelerin besin tüketimi ile vücut ağırlık artışları arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için, günlük ortalama ağırlık artışının, günlük ortalama tüketilen yem miktarına oranını gösteren yem etkinliği katsayıları hesaplanmıştır (Zhang, Paalvast, Wang, Rensen ve Groen, 2021).

3.3.2. Farelerin kan örneklerin alınması ve değerlendirilmesi

Farelere 12 haftalık diyet müdahalesinin sonunda GÜDAM'da çalışan uzman veteriner ve yardımcı araştırmacı tarafından, derin anestezi altında intrakardiyak kan alınmasıyla ötenazi edilmiştir. Farelerden intrakardiyak kan alımı ile kuru vakumlu etilendiamin tetra asetik asit (EDTA) içeren tüplere alınan kan örnekleri, Selecta Centronic—BL model santrifüj kullanılarak 2500 rpm, +4◦C'de 15 dk süreyle santrifüj edilerek serum ve plazma ayrılmıştır. Elde edilen serum 1,5 mL eppendorf tüplerine aktarılmış ve daha ileri biyokimyasal analize kadar -80°C'de saklanmıştır. Alınan kan örneklerinden serum glukoz, trigliserit, toplam

kolesterol, HDL ve LDL kolesterol seviyeleri Mindray-BS400 biyokimya otoanalizörü kullanılarak belirlenmiştir. Serum insülin, adiponektin, leptin parametreleri sandviç enzim immunoassay ELISA kiti (Biossay Teknoloji Laboratuvarı, Şanghay, Çin) kullanılarak çalışılmıştır. Tüm biyokimyasal analizler uygun metodolojiler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.3.3. Farelerin gen ekspresyonu analizlerinin değerlendirilmesi

Farelerin PRDM16, UCP1, PGC1A ve GPR120 gen ekspresyon analizleri KAD'da gerçekleştirilmiştir. Alınan KAD örnekleri, eppendorf tüplerine yerleştirildikten sonra sıvı nitrojende dondurulmuş ve soğuk zincir koşulları altında taşınmıştır. mRNA gen ekspresyon analizi kapsamında, farelerden alınan KAD örneklerinden toplam RNA ekstraksiyonları gerçekleştirilmiş ve ardından hedeflenen genlerin gerçek zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) analizleri yapılmıştır. Beta-aktin, deneysel prosedürlerin normalizasyonu için housekeeping gen olarak kullanılmıştır (Livak ve Schmittgen, 2001).

Total RNA ekstraksiyonu ve nükleik asitlerin spefotometrik ölçümleri

KAD örneklerinden yüksek kaliteli total RNA ekstraksiyonu sağlamak için TRIzol Reagent kullanılmıştır. Bu yöntem, faz ayrımı ve çeşitli nükleik asit çöktürme işlemlerine dayanmaktadır. Total RNA ekstraksiyonu sonucunda elde edilen numunelerin nükleik asit yükleri (ng değerleri) ölçülmüş ve çalışmanın sonraki aşamalarında tutarlılık sağlamak amacıyla belirli bir ng değerine sabitlenmiştir. Bu işlem, özellikle qPCR aşamasında oluşabilecek tutarsız sonuçların önlenmesi açısından önemlidir (Rio, Ares, Hannon ve Nilsen, 2010)

Reverse transkriptaz (cDNA) işlemi

mRNA gen ekspresyonu için, pre-mRNA ve mature-mRNA yapılarının tespiti için Oligo (dT) ve Random Hexamer primerleri kullanılarak Reverse Transkriptaz işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu primerler, mRNA zincirini uzatarak stabil bir yapı oluşturmuştur. Reverse Transkriptaz enzimi, mRNA dizisinin karşı kopyasını sentezleyerek cDNA oluşturmuştur. Elde edilen cDNA, standart PCR için bir şablon olarak kullanılmıştır (Stangegaard, Høgh Dufva ve Dufva, 2006).

qPCR mRNA Gen Ekspresyon Analizleri

Son aşamada, mRNA dizilerinden sentezlenen cDNA zincirleri, relatif ekspresyon analizlerinde kullanılmıştır. Numunelerin her biri için ilgili mRNA ve referans genine ait diziler, real-time PCR cihazı kullanılarak çoğaltılmıştır. İşlem sonucunda elde edilen veriler, $2^{-}(\Delta\Delta Ct)$ metodu ile değerlendirilmiştir. Çalışmalar, 40 döngü üzerinden gerçekleştirilmiş olup, florasan sinyalinin eşik değerini (Threshold çizgisi) geçtiği noktadan alınan eşik değerleri (Ct, Cp, Cq) hesaplamalarda kullanılmıştır (Livak ve Schmittgen, 2001, Vermeulen ve diğerleri, 2011).

Gen ekspresyon primer tasarımı ve bağlanma sıcaklıkları (Tm)

Çalışma kapsamında, RT-qPCR yöntemi kullanılarak PRDM16, UCP1, PGC1A ve GPR120 genlerinin ekspresyon seviyeleri belirlenmiştir. RT-qPCR cihazları, her döngü sonunda floresan şiddetini ölçen bir fluorometre ve ısı döngülerini yöneten bir thermal cyclerdan oluşmaktadır. Bu çalışmada, gen ekspresyon seviyelerinin ölçümü için BrightGreen 2X qPCR MasterMix-No ROX (ABM, Canada) ve RT-qPCR analizleri için LightCycler 480 (Roche, Switzerland) cihazı kullanılmıştır. Her bir gen bölgesi için uygun Tm değerinde kurulumlar yapılmış, döngü eğrileri ve melting curve verileri incelenmiştir (Vermeulen ve diğerleri, 2011).

Cihaz kayıtları sonrasında elde edilen veriler, normalizasyon işlemi (Livak metodu) ile analiz edilmiştir. Ancak, aşırı düşük veya yüksek gen ekspresyon seviyeleri, istatistiksel analizlerde veri dağılımlarını etkileyebileceğinden, normalize edilmiş nispi gen ekspresyon seviyeleri logaritmik dönüşüme tabi tutulmuştur. Bu işlem, aşırı ve düşük ifadeli gen ekspresyon seviyelerine eşit ağırlık atfederek veri dağılımını daha simetrik hale getirmiştir. Böylelikle, aykırı değerlerin etkisi büyük ölçüde azaltılmış ve daha sade bir analiz elde edilmiştir (Livak ve Schmittgen, 2001).

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan primerler ve dizileri

Gen	Forward primer	Reverse primer
PRDM16	5'-GCTAAGAACCAGGCATAT-3'	5'-ATGTTCAACCAAGCATCC-3'
UCP1	5'-GGACCTACAATGCTTACA-3'	5'-CGTCATCTGCCAGTATT-3'
PGC1A	5'-CAGACCTAGATACCAACT-3'	5'-CTTCCTTCAGTAAACTATCA-3'
GPR120	5'-AAATCTCATGGGATGTGTTT-3'	5'-GATGCTTTCGTGATCTGTA-3'

3.3.4. Farelerin glukoz ve insülin toleransının değerlendirilmesi

Farelere metabolik tolerans testleri uygulanırken, elde edilen sonuçları etkileyebilecek olası çevresel stres faktörlerini en aza indirmeye özen gösterilmiştir. Bu kapsamda, fareler deney odasına alındıktan sonra ağırlık ölçümleri yapılarak haftalık rutinlerinin hatırlatılması ile farelerin deney ortamına uyum sağlamaları amaçlanmıştır. Ayrıca, deney ortamının sakin ve sessiz olmasına, rahatsız edici yoğun kokuların bulunmamasına ve farelerin alışık olmadığı kişilerin deney odasına girmemesine dikkat edilmiştir.

Dikkat edilen bir diğer konu ise farelerin bu testlerden önceki açlık süresidir. Doğru açlık süresi belirlemek, stabil temel ölçümler elde etmek ve tolerans testlerinden sonra plazma glukozunda tutarlı sapmalar elde etmek amacıyla önemlidir. Gece boyunca (10-12 saat) aç kalma standart bir prosedür olarak uygulanmaktadır. Ancak fareler gece aktif oldukları için günlük enerji alımlarının yaklaşık üçte ikisini karanlık döngü sırasında tüketirler (Kennard ve diğerleri, 2021). Bu nedenle, gece boyunca açlık farelerde katabolik duruma neden olacağından, karaciğer glikojen depolarının tükenmesine neden olabilmektedir. Gece boyu açlık hipoglisemi, hipotermi, ağırlık kaybı ve kardiyovasküler değişikliklerle ilişkilendirilmiştir, hepsi potansiyel stres faktörleri olarak etki etmektedir.

Zayıf farelerde, gece boyunca açlığın yağsız vücut kütlesini ~%15 azalttığı, ayrıca, kasın bir gecelik açlık sonrası insülin duyarlılığını artırdığı, ancak 5-6 saatlik süren daha kısa açlık sonrası bu durumun meydana gelmediği belirtilmektedir. Bu nedenle, standart ve yüksek yağlı diyetle beslenen hayvanlar arasındaki glukoz intoleransındaki farklılıklar, standart gecelik (12 saat) açlığın ardından, daha kısa aç kalma sürelerine kıyasla daha az belirgin bulunmuştur (Benedé-Ubieto ve diğerleri, 2020). Tüm bu bilgiler ışığında literatürdeki bu bilgilere dayanarak fareler, metabolik tolerans testler öncesi 6 saat (8:00-14:00 saatleri arasında) aç bırakılırken suya erişimleri sağlanmıştır. Ayrıca, sonuçların yanlış yorumlanmasını önlemek için test koşulları çalışma boyunca standardize edilmiştir.

<u>Glukoz tolerans testi</u>

Farelere 8. haftada intraperitoneal yolla glukoz (1,5 g/kg vücut ağırlığı) enjekte edilerek GTT yapılmıştır. Literatürde GTT için, farelere enjekte edilecek glukoz solüsyonu miktarında bir standart bulunmamakla birlikte, genelde 1-3 g/kg glukoz uygulandığı

belirtilmektedir (Kennard ve diğerleri, 2021). Yüksek yağlı diyet ile beslenen obez farelerde bozulmuş glukoz toleransı, 1.5-2g/kg gibi daha yüksek bir glukoz yüklemesine yanıt olarak ortaya çıkabilmektedir. Bu nedenle GTT için farelere 1,5 g/kg glukoz enjekte edilmiştir (Benedé-Ubieto ve diğerleri, 2020).

Glukoz çözeltisi Gazi Üniversitesi Beslenme Bilimleri Araştırma Laboratuvarı'nda, 2 g glukozun 10 mL steril serum fizyolojikte çözülmesiyle hazırlanmıştır. Homojen bir dağılım sağlanması açısından falcon tüpüne aktarılan çözelti vorteksle karıştırılmıştır. Deney öncesi fareler tartılmış ve ağırlıklarına göre glukoz çözeltisi hesaplanarak, her bir farenin numaralarının yazılı olduğu eppendorf tüplere pipetleme yöntemi ile aktarılmıştır. Glukoz enjeksiyonundan önce farelerin kuyruklarından bistüri ile küçük bir kesi açılarak kan glukoz düzeylerine glukometre (Lifechek compact) ile bakılmıştır. Daha sonra intraperitonel olarak glukoz uygulanmış ve uygulamadan sonra 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda farelerin kan glukoz düzeyleri ölçülmüştür (Benedé-Ubieto ve diğerleri, 2020). Ölçüm sonuçlarına göre zamana karşı glukoz konsantrasyonu eğrisi çizilmiş ve eğrinin altındaki alan hesaplanmıştır. Ayrıca zamana karşı glukoz konsantrasyonu çizilerek glukoz seviyesi düşürme oranı hesaplanmıştır. Farelerde kuyruk delme işlemi yalnızca bir defa yapılmış olup diğer ölçümler için kuyrukta sağım yapılarak 1 damla kan alınmıştır.

<u>İnsülin tolerans testi</u>

Farelere 11. haftada intraperitoneal olarak insülin (0,75 U/kg vücut ağırlığı) enjekte edilerek ITT yapılmıştır. Literatürde ITT için, farelere enjekte edilecek insülin dozunun 0.25-1 IU/kg arasında değiştiği görülmektedir. Ancak düşük hipoglisemi insidansı ile insüline duyarlı ve dirençli hayvanları ayırt etmek için 0,75 IU/kg dozun yeterli olduğu bildirilmektedir (Kennard ve diğerleri, 2021).

İnsülin stok solüsyonu, Gazi Üniversitesi Beslenme Bilimleri Araştırma Laboratuvarı'nda, 100 IU insan insülini (Humulin R) kullanılarak, 9,975 mL serum fizyolojik içerisine 25 µL 100 IU insülin seyreltilerek hazırlanmıştır. Daha sonra solüsyon vortekslenerek karıştırılmıştır. Test sırasında farelerin kan glukozunun 20 mg/dL'nin altına düşmesi veya hipoglisemi belirtilerinin (titreme, anksiyete, ilgisizlik, parestezi, bilinç kaybı, kasılmalar gibi), görülmesi ihtimali düşünülerek %10 glukoz solüsyonu (10 mL steril serum fizyolojik içine 1 g glukoz) da ayrıca hazırlanmıştır (Benedé-Ubieto ve diğerleri, 2020).

Deney öncesi fareler tartılmış ve ağırlıklarına göre insülin solüsyonu hesaplanarak, her bir farenin numaralarının yazılı olduğu eppendorf tüplere aktarılmıştır. Enjeksiyonundan önce farelerin kuyruklarından bistüri ile küçük bir kesi açılarak kan glukoz düzeylerine bakılmıştır. Daha sonra intraperitonel olarak insülin uygulanmış ve uygulamadan sonra 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda farelerin kan glukoz düzeyleri ölçülmüştür. Farelerde kuyruk delme işlemi yalnızca bir defa yapılmış olup diğer ölçümler için kuyrukta sağım yapılarak 1 damla kan alınmıştır.

Glukoz ve insülin tolerans testlerinde glukoz konsantrasyonu için eğri zamana göre çizilmiş ve eğrinin altında kalan alan her hayvan için ayrı ayrı hesaplanmıştır.

3.3.5. Farelerin obezite durumlarının ve adipozite indekslerinin değerlendirilmesi

Farelerin vücut ağırlıkları ötenazi işlemi öncesinde tartılmıştır. Ötenazi işleminin hemen ardından ise boy uzunluğu burun-anüs arasındaki mesafe esnemeyen mezurla ölçülmüştür (Bastías-Pérez ve diğerleri, 2020a). Farelerin obezite değerlendirilmesinde insanlarda kullanılan beden kütle indeksinin eşdeğeri olan Lee indeksi hesaplanmıştır (Wu ve diğerleri, 2022).

Lee indeksi = [(vücut ağırlığı$^{1/3}$ (g)/burun–anüs uzunluğu (mm)] x10

Adipozite indeksi, toplam yağ kütlesinin (epididimal, retroperitoneal ve inguinal) toplam vücut kütlesine oranı olarak belirlenmiş ve yüzde olarak ifade edilmiştir (Bastías-Pérez ve diğerleri, 2020a).

3.4. Kahverengi ve Beyaz Adipoz Dokuların Histolojik Değerlendirmesi

Adipoz dokunun histomorfometrik analizi için inguinal bölgeden alınan BAD ve interskapular bölgeden alınan KAD örnekleri ışık mikroskobik incelemesi için ilk olarak %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edilmiştir. Tespit işleminden sonra doku örnekleri kasetlere konularak akan su altında 24 saat süresince yıkanmıştır. Suyun uzaklaştırılması için dokular artan derecelerde alkol serilerinden (%70, %80, %90, %100) geçirilmiştir. Sonrasında dokular parlatılmaları amacıyla ksilolden geçirilmiş ve ardından erimiş parafine gömülmüştür. Hazırlanan parafin bloklardan elde edilen 4-5 mikron kalınlığındaki kesitlere tüm gruplar için Hematoksilen- Eozin ve Oil Red O histokimyasal boyamaları ile UCP-1

primer antikoru ile immünohistokimyasal boyama uygulanmıştır. Kesitler Leica DCM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, LAS programında değerlendirilmiş, resimleri çekilmiştir (Seymen, Çakır Gündoğdu, Bulut, Yılmaz Demirtaş ve Elmas, 2020).

Hematoksilen – Eozin Boyama yöntemi

Deney gruplarından alınan kesitler 60°C etüvde 30 dakika bekletildikten sonra, 3x5 dakika ksilole alınarak parafinden arındırılmaları sağlanmıştır. Daha sonra lamlar sırasıyla azalan alkol serilerinden geçirilip (%100, %96, %80, %70, %50) havada kurutulmuştur. 10 dakika akarsuda yıkandıktan sonra, Harris Hematoksilen'de 10-15 dakika boyanmış ve 10 dakika akarsuda yıkanmıştır. %70 alkol + 2–3 damla glasiyel asedik asit karışımına batırılıp tekrar 10 dakika akar suda yıkanmıştır. Lamlar 5-10 dakika Eozin de bekletilip 10 dakika daha akarsuda yıkandıktan sonra artan dereceli alkol serilerinden geçirilerek (%50, %70, %80, %96, %100), 2x15 dakika ksilole alınmış ve entellan ile kapatılmıştır.

Hematoksilen-Eozin boyama ile yapılan değerlendirmeler sonucunda Dejenerasyon Kriterleri tablosu oluşturulmuş ve bu tablo için "0=Hiç Yok, 1=Zayıf, 2=Orta Dereceli, 3=En Güçlü" sayısal veriler olarak kabul edilmiştir (Fischer, Jacobson, Rose ve Zeller, 2008).

İmmünohistokimyasal Boyama yöntemi

Tüm deney gruplarına ait kahverengi ve beyaz yağ pakelerinde (adipoz doku içerisinde birikmiş adipositlerin oluşturduğu kümeler); mitokondri iç membranında yerleşim göstererek ATP üretimine aracılık eden ve bu sayede özellikle kahverengi yağ dokusunun termogenez aktivitesini gerçekleştirmesini sağlayan UCP-1 primer antikoru ile immün boyamalar yapılmıştır.

Polilizinli lamlara alınan kesitler 37ºC'deki etüvde bir gece tutulduktan sonra deparafinizasyonu kolaylaştırmak amacıyla etüv ısısı 570C' ye çıkarılarak 1 saat daha bekletilmiştir. Camlar deparafinizasyonu tamamlamak için 3 kez 5'er dakika ksilolde bırakıldıktan sonra sırasıyla %100'lük, %96'lık ve %80'lik alkol serilerinden 5'er dakika geçirilerek sudan, 2 kez 5'er dakika distile sudan geçirilerek alkolden kurtarılmıştır. Doku içerisinde formaldehitin kapattığı reseptör bölgelerinin açığa çıkarılmasını sağlamak amacıyla mikrodalga fırında 1 M sitrat tamponuna (pH: 6. 0) 5Dkx3 etkin bırakılmış ve oda ısısında 20 dk soğutulduktan sonra Pap pen ile kesit üzerindeki dokuların etrafı çizilmiştir.

Camlar %3'lük hidrojen peroksite etkin bırakılarak dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesi bloke edilmiştir. Daha sonra, camlar PBS (Phosphate Buffer Saline) (pH: 7.4) ile yıkandıktan sonra özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi amacıyla Ultra V Block uygulanmıştır. Bloklama aşamasının ardından beyaz ve kahverengi yağ dokusu kesitleri yıkanmadan UCP-1 primer antikoruna etkin bırakılmıştır. Süre sonunda dokular PBS ile yıkandıktan sonra biyotinli sekonder antikor uygulanarak primer antikora bağlanması sağlanmıştır. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra dokular enzimin biyotine bağlanması amacıyla streptavidin peroksidaz enzim kompleksine etkin bırakmış, camlar tekrar PBS ile yıkandıktan sonra kromojen olan 3,3'-diaminobenzidin (DAB) uygulanarak gözle görülebilen immün reaksiyonun açığa çıkması sağlanmıştır. Zemin boyamasında Harris'in Hematoksileni kullanılarak, camlar entellan ile kapatılmıştır. Hazırlanan preparatlar Leica DCM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, mikroskop altında değerlendirilmiş ve sisteme bağlı Leica Uygulama Paketi (LAS) programında resimleri çekilmiştir (Ramos-Vara, 2005).

UCP-1 immünohistokimyasal tutulumları her grup için değerlendirilerek, gruplar arasında tutulum yoğunlukları arasında anlamlı bir farklılık olup olmadığının tespiti için H-Skor analizleri yapılmıştır. Uygulanan primer antikor için "0=Hiç Yok, 1=Zayıf Tutulum, 2=Azdan Ortaya Değişen Tutulum, 3=Orta Dereceli Tutulum, 4=Ortadan Yoğuna Değişen Tutulum, 5=Yoğun Tutulum" sayısal veriler olarak kabul edilmiştir. H-Skor değeri H-Skor=ΣPi (i + 1) formülü kullanılarak hesaplanırken, UCP-1 tutulum değerleri 0-5 arasında belirlenmiş ve Pi ise tutulum gösteren hücrelerin yüzde değeri olarak kabul edilmiştir. (Senturk ve diğerleri, 1999; Hashimoto ve diğerleri, 2016).

3.5. Verilerin Değerlendirilmesi

Araştırmadan elde edilen veriler, SPSS 23.0 (Statistical Package for Social Sciences, Inc., Chicago, IL, ABD) ve GraphPad Prism 10 (GraphPad Yazılımı, Inc., San Diego, CA, ABD) kullanılarak analiz edilmiş ve görselleştirilmiştir. Değişkenlerin normal dağılıma uygun olup olmadığı analitik yöntemlerle incelenmiştir. Tanımlayıcı istatistiklerin, ortalama, standart sapma, alt ve üst değerleri hesaplanmıştır. Normal dağılım gösteren bağımsız dört grubun nicel verilerinin değerlendirilmesi için tek yönlü ANOVA kullanılmıştır. Tek yönlü ANOVA testinde gruplar arasındaki anlamlılık için post hoc testler yapılmıştır. Post hoc testlerde "Levene testi" ile varyansların eşit olup olmadığına bakılarak, varyanslar eşit ise

“Tukey testi” ve varyanslar eşit değil ise “Tamhane’s T2 testi” yapılmıştır. Normal dağılım göstermeyen bağımsız dört grubun nicel verilerinin değerlendirilmesinde ise “Kruskal-Wallis testi” kullanılmıştır. Kruskal-Wallis testinde gruplar arası anlamlılığı belirlemek için ikişerli karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi kullanılmıştır ve Bonferroni düzeltmesi yapılarak değerlendirilmiştir. Tekrarlı ölçümlerin analizinde ise parametrik veriler için iki yönlü ANOVA testi, parametrik olmayan verilerde ise Friedman testi uygulanmıştır. Friedmandaki post hoc test olarak Wilcoxon testi Boferroni düzeltmesi ile kullanılmıştır. Değişkenler arasındaki ilişki normal dağılım gösterip göstermeme durumuna göre Pearson/Spearman korelasyon testleri kullanılarak analiz edilmiştir. Korelasyon analizlerinde istatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0,05$ ve $p<0,01$ olarak kabul edilmiştir. UCP-1 immünohistokimyasal boyamaya ait H-Skor verileri için, gruplar arasındaki farklılıklar ANOVA ve Tukey’s post hoc testleri ile belirlenmiştir. İstatistiksel anlamlılık düzeyi %95‘lik güven aralığı içerisinde $p<0,05$ düzeyinde kabul edilmiştir.

3.6. Çalışmada Karşılaşılan Zorluklar ve Araştırmanın Sınırlılıkları

Çalışmada kullanılan fare türlerinin üremelerinde yaşanan aksaklıklar ve sadece erkek farelerin çalışmaya dahil edilmesi nedeniyle, tüm gruplar ile aynı anda çalışmaya başlanamamıştır. Bu durum, verilerin toplanma sürecinde gecikmelere yol açmıştır.

İnsülin tolerans testi sırasında, 2,4 YYD grubunda iki farenin kan glukozunun 20 mg/dL altına düşmesi nedeniyle test sonlandırılmış ve farelere intraperitonel glukoz verilerek fareler kurtarılmıştır. Bu nedenle sadece bu grupta test 1 hafta sonra tekrarlanmıştır. Çalışma sonunda YYD grubunda ötenazi edilen ilk hayvandan kahverengi yağ doku yerine histolojik incelemeler sonucu kas doku çıkarıldığı belirlendiği için YYD grubundan bu farenin dokusu gen analizine dahil edilmemiştir. Ayrıca proje planlanma aşamasında, histolojik analiz kapsamında adipoz dokularda Oil-Red O histokimyasal boyama yapılması öngörülmüş ve bu amaçla parafin bloklar hazırlanarak parafin kesitler kullanılmıştır. Ancak, Oil-Red O histokimyasal boyamanın yalnızca frozen kesitler üzerinde gerçekleştirilebildiği ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda frozen kesit alınabilecek uygun ekipmanların bulunmaması nedeniyle, parafin kesitler üzerinde Oil-Red O boyama denemesi yapılmış, ancak bu yöntem frozen kesit kullanılmaması nedeniyle başarısız olmuş ve negatif sonuçlar elde edilmiştir. Bu durum sonucunda, çalışmaya ait Oil-Red O boyamasına ilişkin veri sağlanamamıştır.

4. BULGULAR

4.1. Grupların Yem Tüketimleri ile Günlük Enerji ve Besin Ögesi Alımlarının Değerlendirilmesi

Farelerin aldıkları diyetlere göre yem tüketimleri, yem etkinliği katsayıları ile enerji ve makro besin ögesi alımlarının karşılaştırılması Çizelge 4.1'de verilmiştir. STD grubunun günlük ortalama yem tüketimlerinin yüksek yağlı diyet alan gruplara göre (YYD, 1,2 YYD, 2,4 YYD) anlamlı derecede daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0,001$). Yüksek yağlı diyet alan gruplar arasında yem tüketimleri açısından istatistiksel olarak bir farklılık gözlemlenmemiştir ($p>0,05$). Yem etkinliği katsayıları STD grubunda, yüksek yağlı diyet alan gruplara göre daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Toplam yem tüketimlerine benzer şekilde yüksek yağlı gruplar arasında yem etkinliği katsayıları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0,05$). Günlük ortalama enerji alım miktarı STD grubunda, yüksek yağlı diyet alan gruplara göre istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). Yüksek yağlı diyet alan gruplarda günlük ortalama enerji alımı benzer bulunmuştur ($p>0,05$). Günlük ortalama yağ alım miktarı STD grubunda, yüksek yağlı diyet alan gruplara göre istatiksel olarak anlamlı derecede daha düşük tespit edilmiştir ($p<0,001$). Günlük ortalama protein ve karbonhidrat alım miktarları ise yüksek yağlı gruplarda benzer olup, STD grubunda ise istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksektir ($p<0,001$).

Çizelge 4.1. Farelerin günlük ortalama yem tüketimi, enerji ve makro besin ögeleri alımları

Değişkenler	STD (n=7)	YYD (n=6)	1,2 YYD (n=6)	2,4 YYD (n=6)	
	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	
Yem tüketimi (g/gün)	4,3±0,25[a]	2,4±0,34[b]	2,5±0,34[b]	2,5±0,34[b]	F=60,274 p=<0,001*
Yem etkinliği katsayısı (g VA/g yem/gün)	0,04±0,01[a]	0,09±0,01[b]	0,10±0,02[b]	0,09±0,02[b]	χ2=15,399 p=0,002*
Enerji (kkal/gün)	16,5±0,97[a]	11,3±1,58[b]	11,5±1,58[b]	11,6±1,59[b]	F=20,278 p =<0,001*
Yağ (g/gün)	0,1±0,01[a]	0,6±0,087[b]	0,6±0,08[b]	0,6±0,08[b]	F=70,890 p =<0,001*
Protein (g/gün)	1,0±0,06[a]	0,6±0,08[b]	0,6±0,08[b]	0,6±0,08[b]	F=58,874 p=<0,001*
Karbonhidrat (g/gün)	2,8±0,16[a]	1,0±0,14[b]	1,0±0,14[b]	1,0±0,14[b]	F=250,131 p =<0,001*

*p<0,05. Tek yönlü ANOVA testi (F-tablo değeri), Kruskal-Wallis testi (χ2-tablo değeri). Farklı harfler gruplar arası farkı ifade etmektedir. STD: Standart diyet, YYD: Yüksek yağlı diyet, VA: Vücut ağırlığı

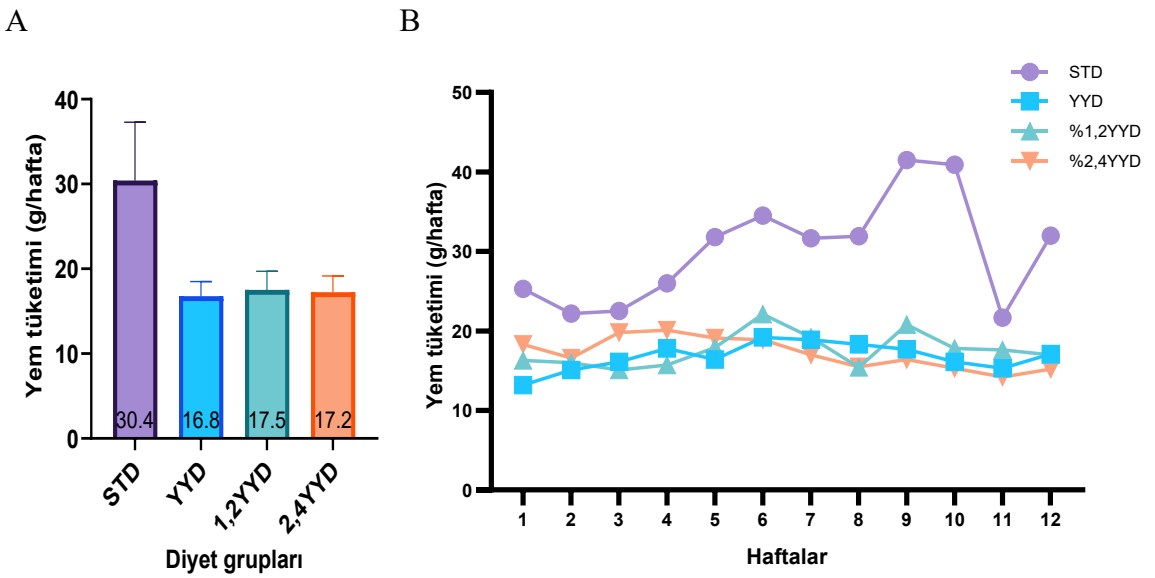
Farelerin haftalık yem tüketim miktarları Çizelge 4.2'de verilmiştir. Tekrarlı ölçümlerde yapılan çift yönlü varyans analizi sonucunda farelerin haftalık yem tüketimlerinin zamana bağlı değişimi (p<0,001) ve zaman*diyet etkisi (p<0,001) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Haftalara göre yem tüketim miktarı STD grubunda tüm haftalarda en yüksek tespit edilmiştir (p<0,001). Yüksek yağlı diyet alan gruplarda 1. hafta ve 11. hafta hariç olmak üzere ortalama yem tüketimleri benzerlik göstermiştir.

Çizelge 4.2. Farelerin haftalık ortalama yem tüketim durumları

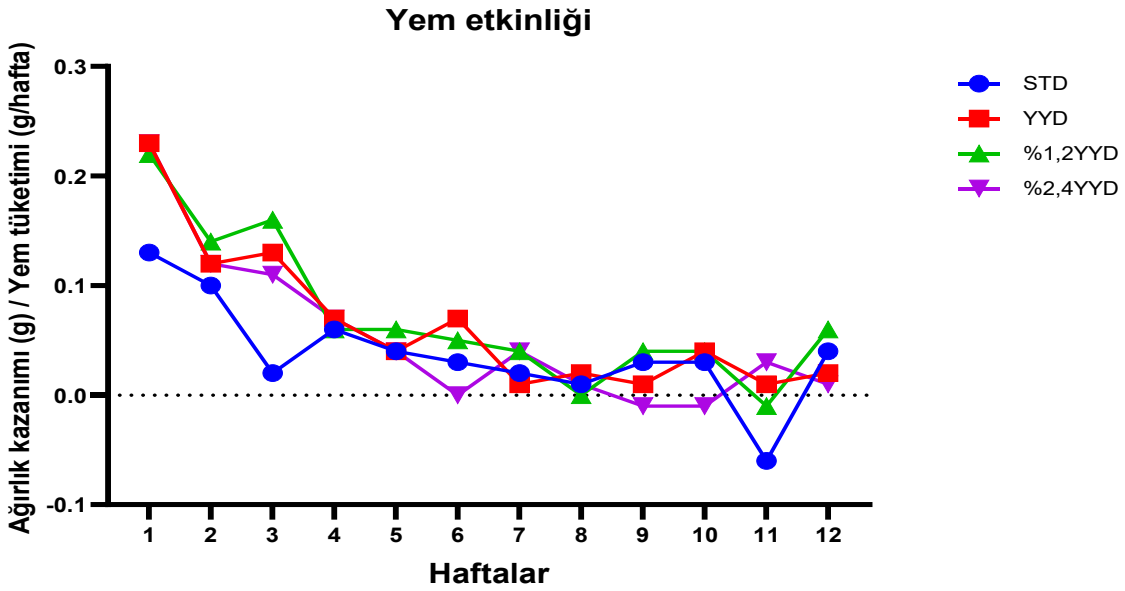
Haftalar	Yem Tüketimi (g/hafta)				p*
	STD (n=7)	YYD (n=6)	1,2 YYD (n=6)	2,4 YYD (n=6)	
	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	
1.hafta	25,3±2,16^{a}	13,2±2,37^{b}	13,7±2,37^{b}	18,3±2,37^{c}	<0,001***
2.hafta	22,2±2,16^{a}	15,0±2,37^{b}	16,3±2,37^{b}	16,6±2,37^{b}	<0,001***
3.hafta	22,5±2,16^{a}	16,1±2,37^{b}	16,0±2,37^{b}	19,8±2,37^{a}	<0,001***
4.hafta	26,0±2,16^{a}	17,8±2,37^{b,c}	15,1±2,37^{b}	20,1±2,37^{c}	<0,001***
5.hafta	31,8±2,16^{a}	16,4±2,37^{b}	15,7±2,37^{b}	19,1±2,37^{b}	<0,001***
6.hafta	34,5±2,16^{a}	19,2±2,37^{b}	17,9±2,37^{b}	18,9±2,37^{b}	<0,001***
7.hafta	34,5±3,44^{a}	18,9±2,37^{b,c}	22,1±2,37^{b}	17,0±2,37^{c}	<0,001***
8.hafta	31,9±2,16^{a}	18,3±2,37^{b,c}	19,2±2,37^{b}	15,5±2,37^{c}	<0,001***
9.hafta	41,5±2,16^{a}	17,7±2,37^{b}	15,4±2,37^{b}	16,4±2,37^{b}	<0,001***
10.hafta	40,9±2,16^{a}	16,1±2,37^{b}	20,5±2,37^{c}	15,3±2,37^{b}	<0,001***
11.hafta	21,8±2,4^{a}	15,3±2,37^{b}	17,0±1,86^{b}	14,7±1,87^{b}	<0,001***
12.hafta	32,0±2,16^{a}	17,1±2,37^{b}	17,0±2,37^{b}	15,2±2,37^{b}	<0,001***
p**	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	

*One-way ANOVA testi, **Tekrarlı ölçümlerde çift yönlü ANOVA testi, ***p<0,05. Farklı harfler gruplar arası farkı ifade etmektedir. STD: Standart diyet, YYD: Yüksek yağlı diyet

Farelerin 12 hafta boyunca tükettikleri haftalık ortalama yem miktarları (A) ile yem tüketimlerindeki değişim (B) Şekil 4.1'de, haftalık yem etkinliği katsayılarındaki değişim Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Çalışma süresince, standart diyet alan farelerin ortalama olarak 30,4±1,80 g/hafta yem tükettiği ve en fazla tüketimin 8-9. ve 9-10. haftalar arasında olduğu görülmüştür. Tüm grupların GTT yapılan 8. haftada ve ITT yapılan 11. haftada yem tüketimlerinin azaldığı bulunmuştur.



Şekil 4.1. Farelerin çalışma süresince haftalık ortalama yem tüketim miktarları (A) ile yem tüketim değişimleri (B) (STD: Standart diyet, YYD: Yüksek yağlı diyet)



Şekil 4.2. Farelerin haftalık yem etkinliği katsayısının değişimi (STD: Standart diyet, YYD: Yüksek yağlı diyet)

Çizelge 4.3'te farelerin haftalık ortalama enerji alımları gösterilmiştir. STD diyet alan grupta haftalık ortalama enerji alımı YYD gruplarına göre daha yüksek bulunmuştur. Yapılan post hoc analizlere göre en düşük enerji alımı 1. haftada YYD grubunda, 3. ve 4. haftalarda ise 1,2 YYD grubunda bulunmuştur ($p<0,001$). Gruplar arasında 2. ve 11. haftada istatistiksel olarak herhangi bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). Bunlar dışında kalan diğer haftalarda

YYD gruplarında enerji alımları benzer olup STD grubuna göre daha düşüktür (p>0,001). Tüm gruplarda yem tüketimlerinin azaldığı 8. ve 11. haftada enerji alımlarında da bir azalma saptanmıştır. Tekrarlı ölçümlerde yapılan çift yönlü varyans analizi sonucunda ise farelerin haftalık enerji alımlarının zamana bağlı değişimi (p<0,001) ve zaman*diyet etkisi (p<0,001) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Çizelge 4.3. Farelerin haftalık ortalama enerji alım durumları

Haftalar	Enerji Alımı (kkal/hafta)				p*
	STD (n=7)	YYD (n=6)	1,2 YYD (n=6)	2,4 YYD (n=6)	
	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	
1.hafta	96,2±8,21^{a}	62,0±11,12^{b}	64,4±11,12^{b}	85,9±11,12^{a}	<0,001***
2.hafta	84,4±8,21	70,4±11,12	76,7±11,12	77,9±11,12	0,153
3.hafta	85,4±8,21^{ab}	75,5±11,12^{a}	75,7±11,12^{a}	93,2±11,12^{b}	0,019***
4.hafta	98,8±8,21^{a}	83,8±11,12^{ab}	71,0±11,12^{b}	94,4±11,12^{a}	0,001***
5.hafta	120,7±8,21^{a}	77,2±11,12^{b}	73,9±11,12^{b}	89,5±11,12^{b}	<0,001***
6.hafta	131,3±8,21^{a}	90,7±11,12^{b}	83,9±11,12^{b}	88,7±11,12^{b}	<0,001***
7.hafta	131,2±8,21^{a}	88,7±11,12^{bc}	104,0±11,12^{c}	80,1±11,12^{b}	<0,001***
8.hafta	121,2±8,21^{a}	85,8±11,12^{bc}	88,5±11,12^{c}	72,9±11,12^{b}	<0,001***
9.hafta	157,5±8,21^{a}	83,2±11,12^{b}	72,4±11,12^{b}	77,2±11,12^{b}	<0,001***
10.hafta	155,3±8,21^{a}	75,8±11,12^{b}	97,7±11,12^{c}	71,8±11,12^{b}	<0,001***
11.hafta	83,0±8,21	71,7±11,12	79,9±11,12	69,2±11,12	0,088
12.hafta	121,6±8,21^{a}	80,5±11,12^{b}	79,7±11,12^{b}	71,4±11,12^{b}	<0,001***
p**	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	

*One-way ANOVA testi, **Tekrarlı ölçümlerde çift yönlü ANOVA testi, ***p<0,05. Farklı harfler gruplar arası farkı ifade etmektedir. STD: Standart diyet, YYD: Yüksek yağlı diyet

Farelerin haftalara göre ortalama karbonhidrat alımları Çizelge 4.4'te gösterilmiştir. STD diyet alan grupta karbonhidrat alımı, YYD gruplarına göre istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur (p<0,001). YYD gruplarında ise karbonhidrat alımı açısından bir farklılık bulunmamıştır. Tekrarlı ölçümlerde yapılan çift yönlü varyans analizi sonucunda ise farelerin haftalık karbonhidrat alımlarının zamana bağlı değişimi (p<0,001) ve zaman*diyet etkisi (p<0,001) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Çizelge 4.4. Farelerin haftalık ortalama karbonhidrat alımları

Haftalar	Karbonhidrat Alımı (g/hafta)				p*
	STD (n=7)	YYD (n=6)	1,2 YYD (n=6)	2,4 YYD (n=6)	
	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	
1.hafta	16,3±1,39^{a}	5,4±0,97^{b}	5,6±0,97^{b}	7,5±0,98^{c}	<0,001***
2.hafta	14,3±1,39^{a}	6,2±0,97^{b}	6,7±0,97^{b}	6,8±0,97^{b}	<0,001***
3.hafta	14,5±1,39^{a}	6,6±0,97^{b}	6,6±0,97^{b}	8,1±0,97^{b}	<0,001***
4.hafta	16,7±1,39^{a}	7,3±0,97^{bc}	6,2±0,97^{b}	8,3±0,98^{c}	<0,001***
5.hafta	20,5±1,39^{a}	6,7±0,97^{b}	6,5±0,97^{b}	7,9±0,98^{b}	<0,001***
6.hafta	22,2±1,39^{a}	7,9±0,98^{b}	7,4±0,97^{b}	7,8±0,97^{b}	<0,001***
7.hafta	22,2±1,39^{a}	7,8±0,97^{bc}	9,1±0,98^{c}	7,0±0,97^{b}	<0,001***
8.hafta	20,5±1,39^{a}	7,5±0,98^{b}	7,9±0,97^{b}	6,4±0,98^{b}	<0,001***
9.hafta	26,7±1,39^{a}	7,3±0,97^{b}	6,3±0,98^{b}	6,7±0,98^{b}	<0,001***
10.hafta	26,3±1,39^{a}	6,6±0,97^{bc}	8,4±0,97^{b}	6,3±0,97^{c}	<0,001***
11.hafta	14,0±1,39^{a}	6,3±0,97^{b}	7,0±0,97^{b}	6,0±0,98^{b}	<0,001***
12.hafta	20,6±1,39^{a}	7,0±0,97^{b}	7,0±0,97^{b}	6,3±0,97^{b}	<0,001***
p**	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	

*One-way ANOVA testi, **Tekrarlı ölçümlerde çift yönlü ANOVA testi, ***p<0,05. Farklı harfler gruplar arası farkı ifade etmektedir. STD: Standart diyet, YYD: Yüksek yağlı diyet

Çizelge 4.5'te tüm grupların haftalık protein alımları gösterilmiştir. STD diyet alan grubun 12 hafta boyunca protein alımı YYD gruplarına göre istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur (p<0,001). Tekrarlı ölçümlerde yapılan çift yönlü varyans analizi sonucunda ise farelerin haftalık protein alımlarının zamana bağlı değişimi (p<0,001) ve zaman*diyet etkisi (p<0,001) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Çizelge 4.5. Farelerin haftalık ortalama protein alımları

Haftalar	Protein Alımı (g/hafta)				p*
	STD (n=7)	YYD (n=6)	1,2 YYD (n=6)	2,4 YYD (n=6)	
	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	
1.hafta	5,9±0,50^{a}	3,1±0,56^{b}	3,2±0,56^{b}	4,3±0,56^{c}	<0,001***
2.hafta	5,2±0,50^{a}	3,5±0,56^{b}	3,8±0,56^{b}	3,9±0,56^{b}	<0,001***
3.hafta	5,3±0,50^{a}	3,8±0,56^{bc}	3,8±0,56^{b}	4,7±0,56^{ac}	<0,001***
4.hafta	6,1±0,50^{a}	4,2±0,56^{bc}	3,5±0,56^{b}	4,7±0,56^{c}	<0,001***
5.hafta	7,4±0,50^{a}	3,9±0,56^{b}	3,7±0,56^{b}	4,5±0,56^{b}	<0,001***
6.hafta	8,1±0,50^{a}	4,5±0,56^{b}	4,2±0,56^{b}	4,4±0,56^{b}	<0,001***
7.hafta	8,1±0,50^{a}	4,4±0,56^{bc}	5,2±0,56^{b}	4,0±0,56^{c}	<0,001***
8.hafta	7,5±0,50^{a}	4,3±0,56^{b}	4,5±0,56^{b}	3,6±0,56^{b}	<0,001***
9.hafta	9,7±0,50^{a}	4,2±0,56^{b}	3,6±0,56^{b}	3,9±0,56^{b}	<0,001***
10.hafta	9,6±0,50^{a}	3,8±0,56^{b}	4,8±0,56^{c}	3,6±0,56^{b}	<0,001***
11.hafta	5,1±0,50^{a}	3,6±0,56^{b}	4,0±0,56^{b}	3,5±0,56^{b}	<0,001***
12.hafta	7,5±0,50^{a}	4,0±0,56^{b}	4,0±0,56^{b}	3,6±0,56^{b}	<0,001***
p**	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	

*One-way ANOVA testi, **Tekrarlı ölçümlerde çift yönlü ANOVA testi, ***p<0,05. Farklı harfler gruplar arası farkı ifade etmektedir. STD: Standart diyet, YYD: Yüksek yağlı diyet

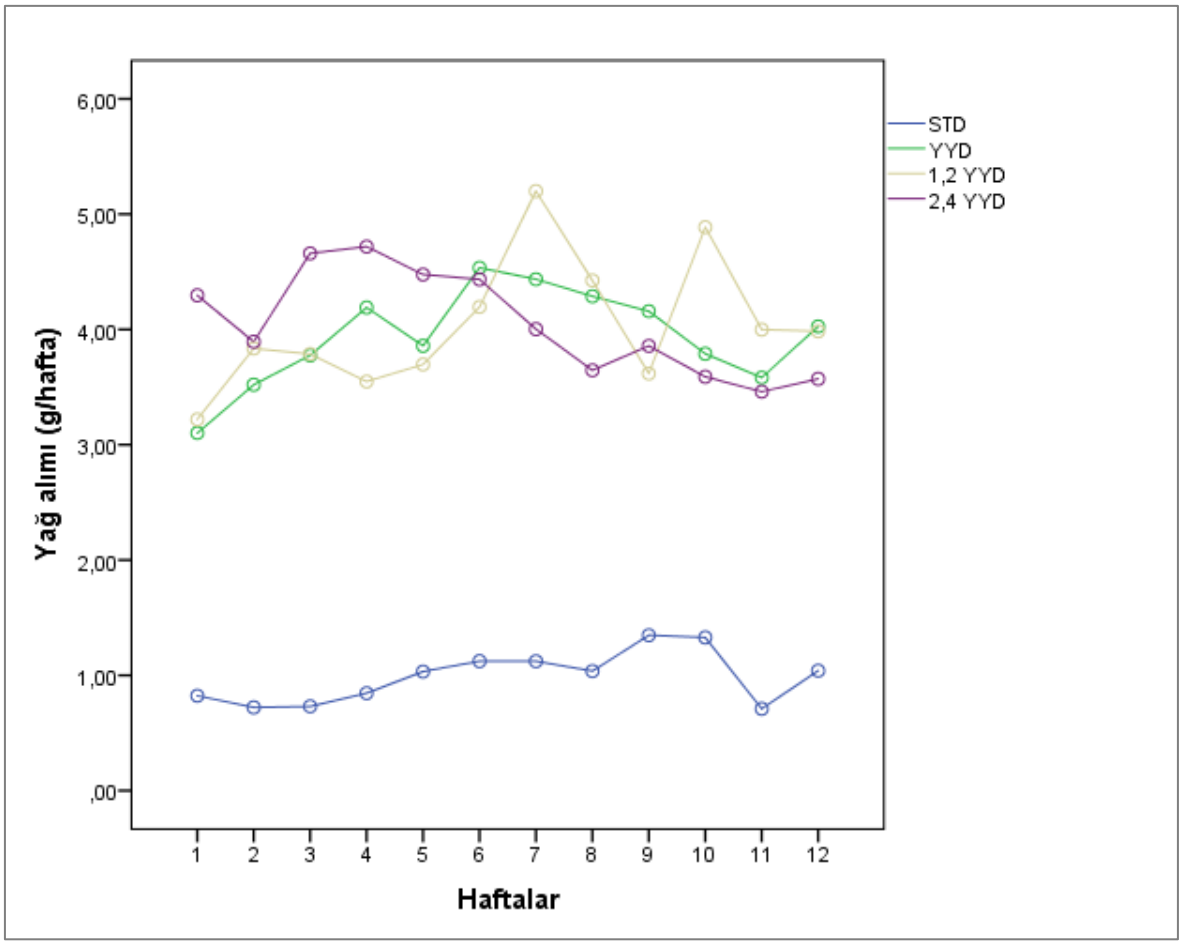
Farelerin haftalık ortalama yağ alımları Çizelge 4.6'te gösterilmiştir. STD diyet alan grupta haftalık ortalama yağ alımı YYD gruplarına göre en düşük bulunmuştur (p<0,001). Tekrarlı ölçümlerde yapılan çift yönlü varyans analizi sonucunda ise farelerin haftalık yağ alımlarının zamana bağlı değişimi (p<0,001) ve zaman*diyet etkisi (p<0,001) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Çizelge 4.6. Farelerin haftalık ortalama yağ alımları

Haftalar	Yağ Alımı (g/hafta)				p*
	STD (n=7)	YYD (n=6)	1,2 YYD (n=6)	2,4 YYD (n=6)	
	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	
1.hafta	0,8±0,07^{a}	3,1±0,56^{b}	3,2±0,56^{b}	4,3±0,56^{c}	<0,001***
2.hafta	0,7±0,07^{a}	3,5±0,56^{b}	3,8±0,56^{b}	3,9±0,56^{b}	<0,001***
3.hafta	0,7±0,07^{a}	3,8±0,56^{b}	3,8±0,56^{b}	4,7±0,56^{c}	<0,001***
4.hafta	0,8±0,07^{a}	4,2±0,56^{bc}	3,5±0,56^{b}	4,7±0,56^{c}	<0,001***
5.hafta	1,0±0,07^{a}	3,9±0,56^{bc}	3,7±0,56^{b}	4,5±0,56^{c}	<0,001***
6.hafta	1,1±0,07^{a}	4,5±0,56^{b}	4,2±0,56^{b}	4,4±0,56^{b}	<0,001***
7.hafta	1,1±0,07^{a}	4,4±0,56^{bc}	5,2±0,56^{b}	4,0±0,56^{c}	<0,001***
8.hafta	1,0±0,07^{a}	4,3±0,56^{bc}	4,5±0,56^{b}	3,6±0,56^{c}	<0,001***
9.hafta	1,3±0,07^{a}	4,2±0,56^{b}	3,6±0,56^{b}	3,9±0,56^{b}	<0,001***
10.hafta	1,3±0,07^{a}	3,8±0,56^{c}	4,8±0,56^{b}	3,6±0,56^{c}	<0,001***
11.hafta	0,7±0,07^{a}	3,6±0,56^{b}	4,0±0,56^{b}	3,5±0,56^{b}	<0,001***
12.hafta	1,0±0,07^{a}	4,0±0,56^{b}	4,0±0,56^{b}	3,6±0,56^{b}	<0,001***
p**	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	

*One-way ANOVA testi, **Tekrarlı ölçümlerde çift yönlü ANOVA testi, ***p<0,05. Farklı harfler gruplar arası farkı ifade etmektedir. STD: Standart diyet, YYD: Yüksek yağlı diyet

Farelerin deney süresi boyunca haftalık yağ alımlarındaki değişim Şekil 4.3'te gösterilmektedir YYD gruplarının yağ alımlarının, STD diyet alan gruba göre belirgin şekilde daha yüksektir (p<0,001). YYD grubunda, 6-11. haftalar arasında yağ alımında bir azalma görülmüştür. %2,4 YYD grubunda ise 3. haftadan itibaren yağ alımında bir düşüş eğilimi başlamıştır. %1,2 YYD grubunda 6. haftadan 8. haftaya kadar belirgin bir azalma gözlemlense de, 8. haftadan sonra yağ alımı tekrar artmış, ancak 9. haftadan itibaren tekrar düşme eğilimi göstermiştir.



Şekil 4.3. Farelerin haftalık yağ alımlarının değişimi (STD: Standart diyet, YYD: Yüksek yağlı diyet)

Farelerin haftalara göre ortalama n-3 yağ asitleri alımları Çizelge 4.7'de gösterilmiştir. Deney süresi boyunca haftalık n-3 yağ asitleri alımları en yüksek olarak 2,4 YYD grubunda olup ortalama alım 0,216±0,030 g/hafta bulunmuştur ($p<0,001$). Gruplar arasında en düşük n-3 yağ asitleri alımı ise YYD grubunda olup haftalık ortalama 0,005±0,001 g/hafta olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). Tekrarlı ölçümlerde yapılan çift yönlü varyans analizi sonucunda ise grupların haftalık n-3 yağ asidi alımlarının zamana bağlı değişimi ($p<0,001$) ve zaman*diyet etkisi ($p<0,001$) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Çizelge 4.7. Farelerin haftalık ortalama omega 3 yağ asitleri alımları

Haftalar	Omega-3 Yağ Asitleri Alımı (g/hafta)				P*
	STD (n=7)	YYD (n=6)	1,2 YYD (n=6)	2,4 YYD (n=6)	
	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	
1.hafta	0,033±0,003[a]	0,004±0,001[b]	0,086±0,015[c]	0,229±0,030[d]	<0,001*
2.hafta	0,029±0,003[a]	0,005±0,001[b]	0,102±0,015[c]	0,208±0,030[d]	<0,001*
3.hafta	0,029±0,003[a]	0,005±0,001[b]	0,100±0,015[c]	0,248±0,030[d]	<0,001*
4.hafta	0,034±0,003[a]	0,006±0,001[b]	0,095±0,015[c]	0,252±0,030[d]	<0,001*
5.hafta	0,042±0,003[a]	0,005±0,001[b]	0,098±0,015[c]	0,239±0,030[d]	<0,001*
6.hafta	0,045±0,003[a]	0,006±0,001[b]	0,112±0,015[c]	0,237±0,030[d]	<0,001*
7.hafta	0,045±0,003[a]	0,006±0,001[b]	0,139±0,015[c]	0,213±0,030[d]	<0,001*
8.hafta	0,042±0,003[a]	0,006±0,001[b]	0,120±0,015[c]	0,194±0,030[d]	<0,001*
9.hafta	0,054±0,003[a]	0,006±0,001[b]	0,097±0,015[c]	0,206±0,030[d]	<0,001*
10.hafta	0,054±0,003[a]	0,005±0,001[b]	0,128±0,015[c]	0,192±0,030[d]	<0,001*
11.hafta	0,029±0,003[a]	0,005±0,001[b]	0,107±0,015[c]	0,184±0,030[d]	<0,001*
12.hafta	0,042±0,003[a]	0,005±0,001[b]	0,107±0,015[c]	0,191±0,030[d]	<0,001*
p**	<0,001**	<0,001**	<0,001**	<0,001**	

*One-way ANOVA testi, **Tekrarlı ölçümlerde çift yönlü ANOVA testi, ***p<0,05. Farklı harfler gruplar arası farkı ifade etmektedir. STD: Standart diyet, Yüksek yağlı diyet

4.2. Farelerin Mürinometrik Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Farelerin deney süresince haftalık ortalama ağırlık ölçümleri ve haftalara göre ortalama ağırlık değişimleri sırasıyla Çizelge 4.8 ve Şekil 4.4'de gösterilmiştir. Tüm deney grubundaki fareler çalışmaya üç haftalıkken alınmış olup başlangıç ağırlıkları benzer bulunmuştur (p>0,05). Gruplar arasında 2. haftadan başlayıp 9. haftaya kadar olan zamanda, 2,4 YYD grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde en yüksek vücut ağırlığı gözlemlenmiştir (p<0,05). Bu haftalar arasında vücut ağırlıkları STD<YYD<1,2 YYD<2,4 YYD olarak sıralanmaktadır (p<0,05). Bundan sonraki haftalarda gruplar arasında vücut ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır (p>0,05). Tekrarlı ölçümlerde yapılan çift yönlü varyans analizi sonucunda, grupların haftalık vücut ağırlıklarındaki zamana bağlı değişimin istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p<0,001). Ancak, gruplar arasında zaman*diyet etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı değildir (p>0,05).

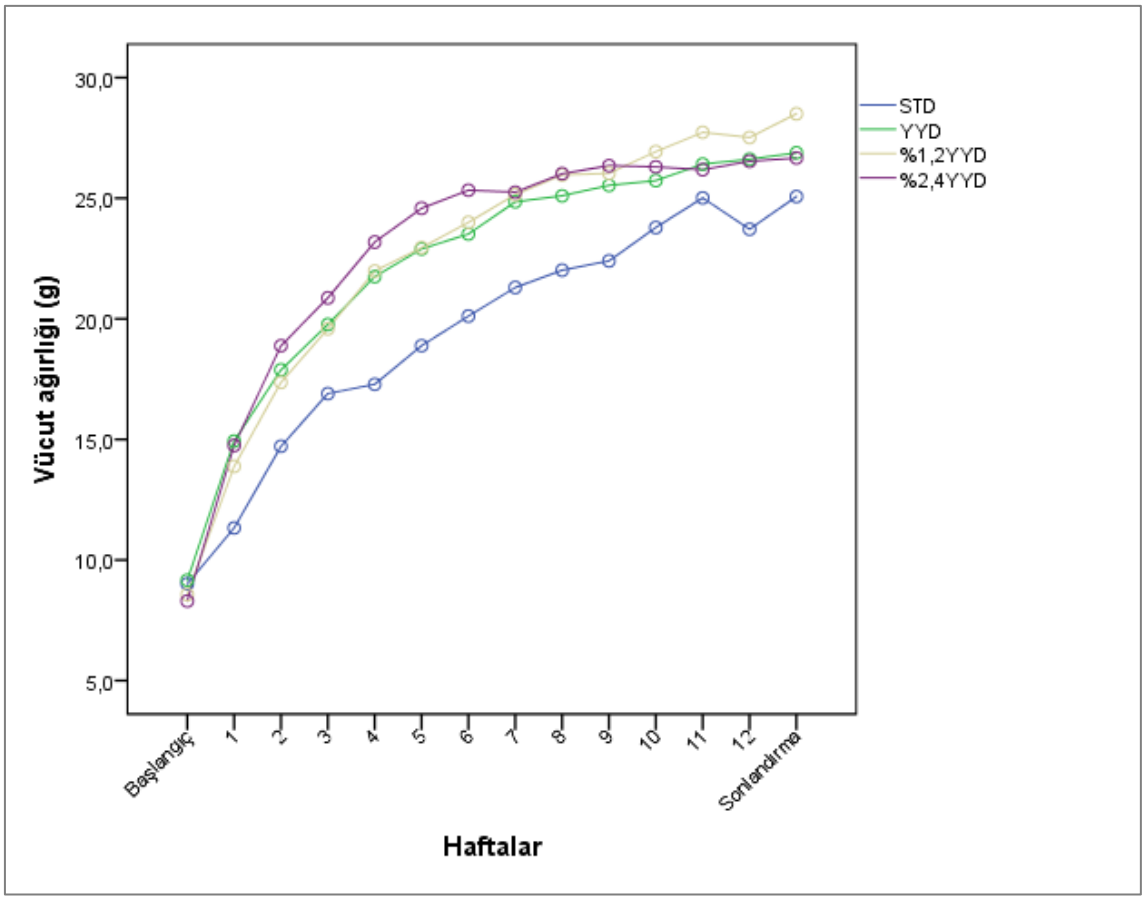
Farelerin haftalık ağırlık kazanım değişimleri Şekil 4.5'da gösterilmiştir. Grafikte, deney süresince her hafta alınan ağırlık artışları gruplar arasında karşılaştırıldığında, ilk hafta en fazla ağırlık kazanımı 2,4 YYD grubunda gözlemlenmiştir. Ancak ilerleyen haftalarda 2,4 YYD grubunda ağırlık kazanımında bir azalma görülmüştür. Benzer şekilde, 1,2 YYD grubu

da başlangıçta nispeten yüksek bir ağırlık kazanımı sergilemiş, ancak zamanla ağırlık artış hızı yavaşlamıştır. STD grubunda ise, ilk hafta en yüksek ağırlık kazanımı görülmüş, ancak deney boyunca bu grupta dalgalanmalar yaşanmış, 11. haftada negatif ağırlık kazanımı (ağırlık kaybı) gözlemlenmiş, ancak 12. haftada ise tekrar bir artış meydana gelmiştir. Grafik, gruplar arasındaki ağırlık kazanım farklarının zamanla azaldığını ve haftalar ilerledikçe gruplar arasında belirgin bir farklılık olmadığını göstermektedir. Onuncu haftadan itibaren gruplar arasında dikkat çekici bir fark gözlemlenmemiş ve her iki grupta da ağırlık kazanımı stabilize olmuştur.

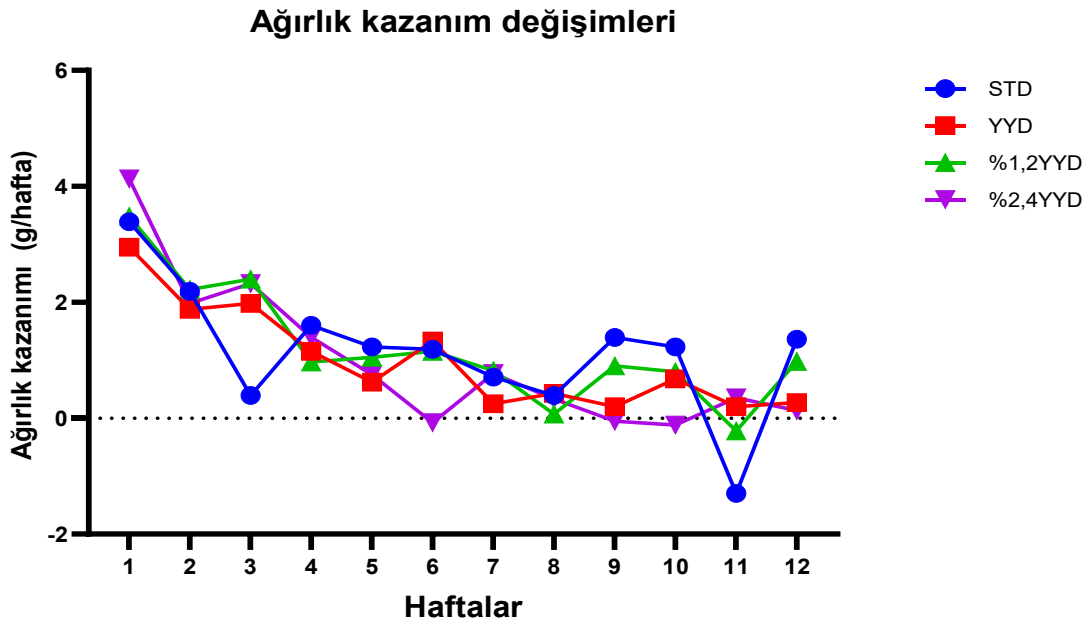
Çizelge 4.8. Farelerin haftalara göre ortalama ağırlık değişimleri

Ağırlık Değişimi (g)	STD (n=7)		YYD (n=6)		1,2 YYD (n=6)		2,4 YYD (n=6)		p*
	$\overline{X}$±SS	Alt-Üst	$\overline{X}$±SS	Alt-Üst	$\overline{X}$±SS	Alt-Üst	$\overline{X}$±SS	Alt-Üst	
Başlangıç	9,0±2,10	6,2-13,1	9,2±0,36	8,8-9,8	8,6±0,38	8,0-9,0	8,3±0,97	6,8-9,7	0,601
1.hafta	11,3±4,24	5,3-18,0	14,9±0,98	13,3-15,9	13,9±1,01	12,7-15,3	14,8±1,80	12,6-17,5	0,060
2.hafta	14,7±3,93	7,90-19,0	17,9±0,73	16,8-18,6	17,4±1,60	15,1-18,7	18,9±1,59	16,8-21,3	0,029*
3.hafta	16,9±3,57	10,1-20,9	19,8±0,98	17,9-20,8	19,6±1,59	17,6-21,0	20,9±0,89	19,6-22,0	0,021*
4.hafta	17,3±3,75	10,2-21,3	21,8±1,14	20,7-24,0	22,0±0,95	20,4-23,0	23,2±1,67	20,5-24,4	0,001*
5.hafta	18,9±3,50	12,2-22,3	22,9±1,13	22,0-25,1	23,0±1,00	21,2-23,9	24,6±1,96	21,5-26,4	0,001*
6.hafta	20,1±3,12	14,3-23,3	23,5±1,08	22,7-25,6	24,0±0,89	22,4-25,0	25,3±2,11	22,3-27,7	0,001*
7.hafta	21,3±2,68	16,1-24,6	24,9±1,26	23,9-27,2	25,2±1,07	23,4-26,6	25,3±2,20	22,3-27,3	0,003*
8.hafta	22,0±2,62	16,9-24,5	25,1±1,35	23,5-27,6	26,0±1,42	23,8-27,7	26,0±2,67	22,7-29,1	0,008*
9.hafta	22,4±2,62	17,7-25,1	25,5±1,52	24,1-28,5	26,0±1,66	23,7-28,5	26,4±3,49	21,6-30,3	0,029*
10.hafta	23,8±2,50	19,2-26,8	25,7±1,45	24,9-28,6	26,9±2,20	24,1-30,7	26,3±4,10	20,0-30,4	0,209
11.hafta	25,0±2,18	20,8-27,6	26,4±1,35	25,4-28,8	27,7±2,40	25,2-32,2	26,2±4,92	17,8-30,6	0,458
12.hafta	23,7±2,17	19,5-26,1	26,6±1,28	25,4-28,6	27,5±2,36	24,9-31,8	26,5±5,11	17,9-31,2	0,152
Sonlandırma	25,1±2,03	21,5-26,6	26,9±1,53	25,0-29,6	28,5±3,07	25,0-34,1	26,7±5,22	18,0-31,8	0,328
p**	<0,001***		<0,001***		<0,001***		<0,001***		

*One-way ANOVA testi, **Tekrarlı ölçümlerde çift yönlü ANOVA testi, ***p<0,05. STD: Standart diyet, YYD: Yüksek yağlı diyet.



Şekil 4.4. Farelerin haftalık ağırlık değişimi (STD: Standart diyet, YYD: Yüksek yağlı diyet)



Şekil 4.5. Farelerin haftalık ağırlık kazanım değişimleri (STD: Standart diyet, YYD: Yüksek yağlı diyet)

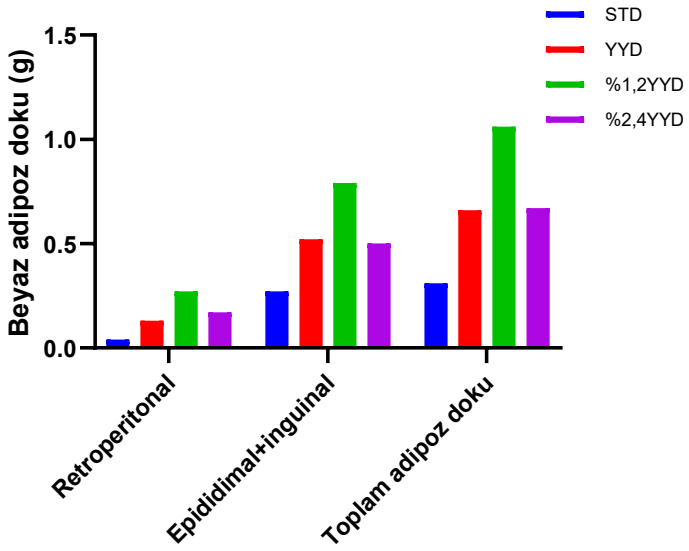
Farelerin ağırlık değişimleri, burun-anüs uzunlukları, adipoz doku ve diğer organ ağırlıkları ile Lee ve adipozite indeksi ortalamaları Çizelge 4.9'da gösterilmiştir. Ayrıca farelerin BAD ağırlıklarının değişimi (A) ile adipozite indeksi (B) Şekil 4.6'da verilmiştir. Tüm grupların çalışmaya başlangıç ve bitiş arasındaki ağırlık değişimlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). Burun-anüs uzunluk ortalamalarının tüm gruplar arasında anlamlı bir fark göstermediği belirlenmiştir ($p>0,05$). Farelerin deneyin sonunda ölçülen burun-anüs uzunluğu ve vücut ağırlığından hesaplanan Lee indeksi değerlendirildiğinde gruplar arasında bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). Karaciğer ve kalp ağırlık ortalamalarının da gruplar arasında benzer olduğu tespit edilmiştir ($p>0,05$). Gruplar arasında epididimal+inguinal ve retroperitonel yağ doku ağırlık ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bununla bağlantılı olarak, toplam adipoz doku ağırlığı sıralaması da 1,2 YYD>YYD=2,4 YYD>STD şeklinde saptanmıştır ($p<0,05$) (Şekil 4.6(A)). Gruplar arasında adipozite indeksi açısından en düşük değer STD grubunda, en yüksek değer ise 1,2 YYD grubunda tespit edilmiştir ($p<0,05$). Yapılan post hoc analizlere göre, adipozite indeksi sıralaması 1,2 YYD>YYD=2,4 YYD>STD şeklinde belirlenmiştir (Şekil 4.6(B)). Kahverengi yağ dokusu değerlendirmesinde ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.9. Farelerin mürinometrik özellikleri

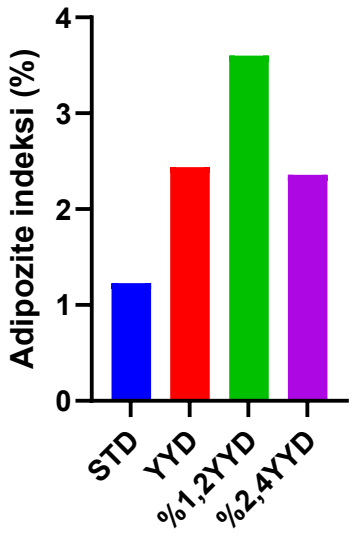
	STD (n=7)		YYD (n=6)		1,2 YYD (n=6)		2,4 YYD (n=6)			p
	$\overline{X}$±SS	Alt-Üst	$\overline{X}$±SS	Alt-Üst	$\overline{X}$±SS	Alt-Üst	$\overline{X}$±SS	Alt-Üst		
Ağırlık değişimleri (g)	16,1±2,03	13,3-18,3	17,7±1,26	15,9-19,8	19,9±2,78	16,8-25,1	18,4±5,53	9,5-23,9	F=0,586	0,228
Burun-anüs uzunluğu (cm)	9,5±0,25	9,0-9,8	10,2±0,57	9,7-11,3	10,0±0,45	9,5-10,5	9,8±0,46	9,0-10,2	$\chi2$=0,270	0,053
Lee İndeksi ($\sqrt[3]{g}$/cm)	308,0±5,60	299,0-314,0	295,0±11,52	274,0-308,0	305,5±17,48	278,0-324,0	303,3±10,52	291,0-317,0	F=1,008	0,264
Karaciğer ağırlığı (g)	1,43±0,62	0,14-1,96	1,13±0,08	1,01-1,24	1,04±0,18	0,90-1,37	0,94±0,18	0,72-1,15	F=2,377	0,099
Kalp ağırlığı (g)	0,30±0,38	0,13-1,16	0,14±0,02	0,10-0,16	0,15±0,01	0,14-0,15	0,15±0,03	0,11-0,17	$\chi2$=0,438	0,400
BAD (g)	0,31±0,14^{a}	0,22-0,62	0,66±0,14^{ab}	0,53-0,88	1,06±0,68^{b}	0,43-2,38	0,67±0,34^{ab}	0,09-1,08	$\chi2$=2,163	**0,013***
Epididimal+inguinal (g)	0,27±0,13^{a}	0,18-0,55	0,52±0,09^{ab}	0,45-0,65	0,79±0,49^{b}	0,32-1,73	0,50±0,24^{ab}	0,09-0,79	$\chi2$=1,766	**0,018***
Retroperitonal (g)	0,04±0,02^{a}	0,03-0,07	0,13±0,06^{ab}	0,07-0,23	0,27±0,19^{b}	0,11-0,65	0,17±0,10^{ab}	0,00-0,29	$\chi2$=3,018	**0,005***
Adipozite indeksi	1,23±0,51^{a}	0,83-2,33	2,44±0,46^{ab}	1,99-3,24	3,60±1,86^{b}	1,57-6,98	2,36±0,99^{ab}	0,50-6,98	$\chi2$=3,029	**0,009***
KAD (g)	0,12±0,05	0,75-0,23	0,11±0,03	0,09-0,16	0,17±0,06	0,10-0,28	0,13±0,04	0,06-0,28	F=2,464	0,201

*p<0,05.Tek yönlü ANOVA testi (F-tablo değeri), Kruskal-Wallis testi ($\chi2$-tablo değeri). Farklı harfler gruplar arası farkı ifade etmektedir. BAD: Beyaz adipoz doku, KAD: Kahverengi adipoz doku, STD: Standart diyet, YYD: Yüksek yağlı diyet.

A

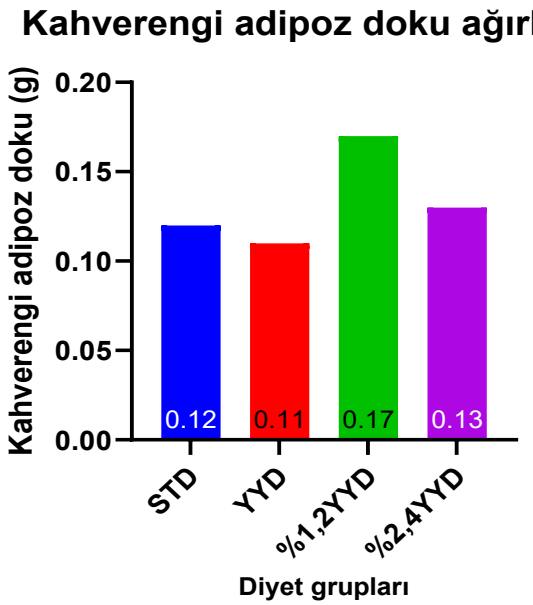


B



Şekil 4.6. Farelerin beyaz adipoz doku ağırlıkları (A) ile adipozite indeksi (B) (STD: Standart diyet, YYD: Yüksek yağlı diyet)

Farelerin KAD ağırlıklarındaki değişimi Şekil 4.7'de gösterilmiştir. KAD ağırlığı ortalaması en yüksek 1,2 YYD grubunda 0,17±0,06 g olarak belirlenirken, en düşük değer YYD grubunda 0,11±0,03 g olarak tespit edilmiştir. Gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p>0,05).



Şekil 4.7. Farelerin kahverengi adipoz doku ağırlıkları (STD: Standart diyet, YYD: Yüksek yağlı diyet)

4.3. Farelerin Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi

Farelerin aldıkları diyetlere göre biyokimyasal parametrelerin değerlendirilmesi Çizelge 4.10'da verilmiştir. STD grubunda yer alan farelerin açlık serum glukoz değeri, YYD ve 1,2 YYD grupları ile benzer olup, 2,4 YYD grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Serum kolesterol ve HDL düzeyi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($p<0,05$). Yapılan post hoc analizlere göre, YYD grubundaki farelerin serum kolesterol ve HDL düzeyleri tüm diğer gruplardan istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). n-3 yağ asitleri alan gruplar (1,2 ve 2,4 YYD) arasında bu parametreler açısından bir farklılık tespit edilmemiştir. Farelerin serum insülin, adiponektin, leptin, trigliserit ve LDL düzeyleri ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir ($p>0,05$).

Çizelge 4.10. Farelerin serum biyokimyasal parametre değerleri

Biyokimyasal parametreler	STD (n=7)	YYD (n=6)	1,2 YYD (n=6)	2,4 YYD (n=6)	p
	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	
Glukoz (mg/dL)	182,0±15,37^{a}	200,2±32,59^{ab}	194,8±9,62^{ab}	212,2±14,66^{b}	0,040*
İnsülin (mlU/mL)	202,5±43,37	230,2±51,32	242,5±61,12	344,4±153,72	0,058
Adiponektin (mg/L)	6,9±2,18	9,8±1,33	10,0±2,89	10,7±1,75	0,079
Leptin (ng/L)	264,5±50,87	342,2±60,09	310,8±103,21	353,8±79,56	0,090
Trigliserit (mg/dL)	36,7±31,44	23,2±2,78	19,0±7,21	21,2±7,68	0,480
Kolesterol (mg/dL)	85,6±10,47^{a}	117,3±10,29^{b}	98,0±13,56^{ab}	105,8±16,44^{ab}	0,010*
HDL (mg/dL)	67,7±10,10^{a}	93,1±11,20^{b}	81,8±7,75^{ab}	87,2±18,44^{ab}	0,021*
LDL (mg/dL)	5,4±0,79	5,7±0,82	4,5±1,38	5,0±1,79	0,308

*$p<0,05$. Kruskal-Wallis Testi. Farklı harfler gruplar arası farkı ifade etmektedir. STD: Standart diyet, YYD: Yüksek yağlı diyet, HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein

4.4. Farelerin İntraperitonel Glukoz ve İnsülin Tolerans Testlerinin Değerlendirilmesi

Farelerim GTT ve ITT sürecinde elde edilen glisemik yanıtları ve bunlara ilişkin toplam eğri alrında kalan alan (AUC) değerleri Çizelge 4.11.'de verilmiştir. Farelere 8. haftada uygulanan intraperitonel GTT öncesinde, altı saat açlık sonrası ölçülen glukoz konsantrasyonu (0. dk) gruplar arasında anlamlı düzeyde farklı olduğu ($p<0,05$) belirlenmiştir ($p<0,05$). Ancak 30., 60., 90. ve 120. dakikada ölçülen kan glukoz konsantrasyonlarının ise gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık göstermediği bulunmuştur ($p>0,05$). İntraperitonel GTT boyunca grupların kan glukoz değişimleri için yapılan Friedman testi sonucunda, STD, YYD ve 1,2 YYD gruplarında zaman etkisinin

istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (p<0,05). Ancak, 2,4 YYD grubunda zaman etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir (p>0,05). Grupların GTT sırasında glisemik yanıtlarına ilişkin toplam AUC değeri açısından gruplar arasında fark bulunmamıştır (p>0,05).

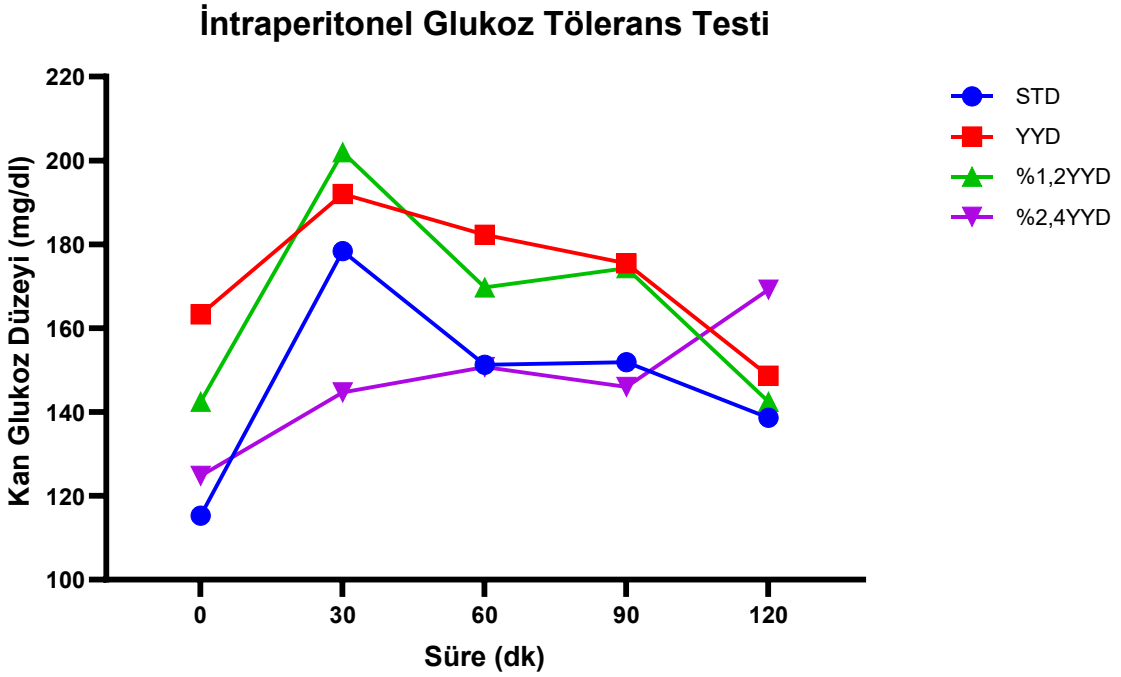
Çalışmanın 11. haftasında intraperitonel yolla uygulanan ITT öncesinde, altı saatlik açlık sonrası ölçülen glukoz konsantrasyonu (0. dk) gruplar arasında anlamlı düzeyde farklı bulunmuştur (p<0,05). Yapılan post hoc analizlerde ise, GTT testinin aksine, YYD grubunun kan glukoz düzeylerinin diğer gruplara göre anlamlı derecede düşük olduğu belirlenmiştir (p<0,05). ITT sırasında 30., 60. ve 120. dakikalarda gruplar arasında ölçülen kan glukozu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Ancak 90. dakikada ölçülen kan glukoz konsantrasyonu gruplar arasında istatistiksel olarak farklı bulunmuştur (p<0,05). İntraperitonel ITT boyunca grupların kan glukoz değişimleri için yapılan Friedman testi sonucunda, tüm gruplar zaman etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (p<0,05). Grupların ITT sırasında glisemik yanıtlarına ilişkin toplam AUC değeri açısından gruplar arasında fark bulunmamıştır (p>0,05).

Çizelge 4.11. Farelerin intraperitonel glukoz ve insülin tolerans testi değerleri

Kan glukozu (mg/dL)	STD (n=7)	YYD (n=6)	1,2 YYD (n=6)	2,4 YYD (n=6)	
GTT	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	p*
0. dk	115,3±23,90[a]	163,3±38,29[b]	142,5±35,27[ab]	124,8±7,08[a]	**0,007*** **
30. dk	178,4±41,14	192,0±46,11	202,0±38,23	144,7±27,66	0,067
60. dk	151,3±14,96	182,3±25,92	169,7±26,10	150,7±19,68	0,091
90. dk	151,9±31,18	175,5±23,80	174,3±41,23	146,0±26,50	0,264
120. dk	138,6±18,32	148,7±21,54	142,5±38,14	169,2±35,58	0,450
p**	**0,006*** **	**0,021*** **	**0,005*** **	0,063	
AUC_{GTT} (mg/dl.dk)	18255,0±2644,92	21175,0±3368,64	20655,0±3557,49	17650,0±2425,17	0,155
ITT	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	$\overline{X}$±SS	p*
0. dk	156,3±14,26[ab]	137,8±9,72[a]	164,8±5,08[b]	164,3±53,10[ab]	**0,023*** **
30. dk	100,4±27,27	102,7±13,60	125,0±79,41	69,8±21,36	0,068
60. dk	98,9±40,38	93,3±16,90	86,0±34,92	58,5±25,88	0,086
90. dk	95,9±23,61	100,7±27,20	104,0±41,00	62,3±20,50	**0,029*** **
120. dk	95,9±26,25	114,3±25,58	129,7±38,73	88,3±32,15	0,103
p**	**0,014*** **	**0,006*** **	**0,001*** **	**0,001*** **	
AUC_{ITT} (mg/dL.dk)	12636,43±2737,06	12682,5±1853,60	13867,5±5114,13	9510,0±3020,44	0,206

*Kruskal-Wallis Testi **Friedman testi***p<0,05. Farklı harfler gruplar arası farkı ifade etmektedir. GTT: Glukoz tolerans testi, ITT: İnsülin tolerans testi, YYD: Yüksek yağlı diyet.

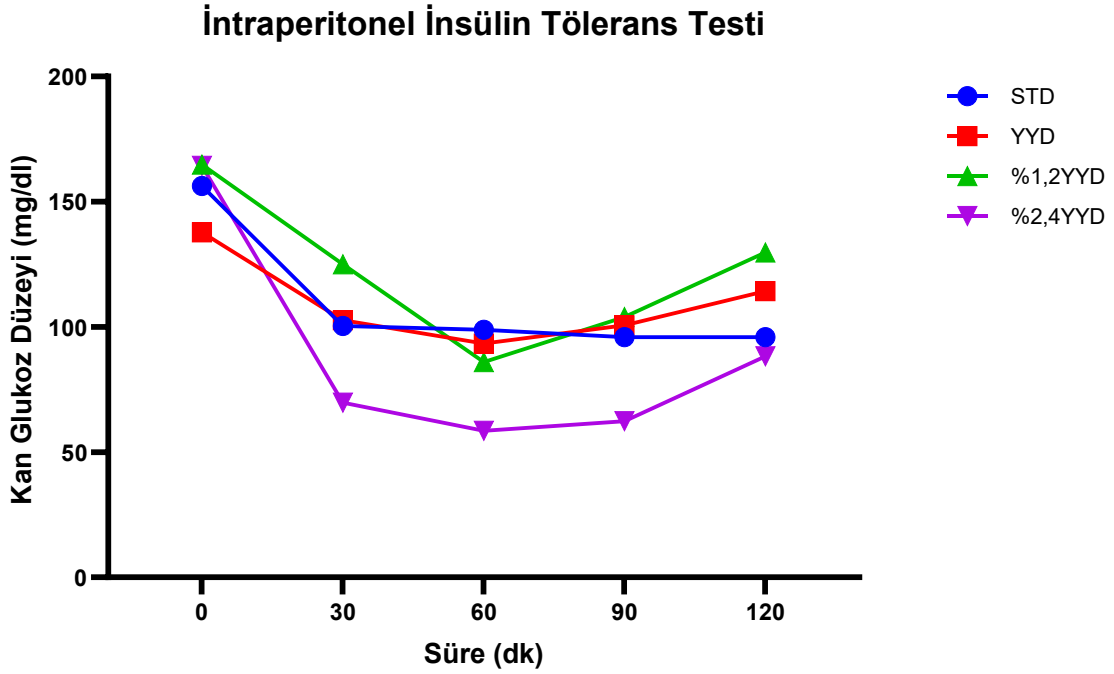
Farelerin GTT boyunca kan glukoz değerlerindeki değişim Şekil 4.18'de gösterilmiştir. STD, YYD ve 1,2 YYD gruplarında 30. dakikada kan glukoz değerlerinin pik yaptığı bulunmuştur. YYD grubunda 30. dakikadan sonra kan glukoz değerlerinin kademeli olarak azaldığı görülmektedir. STD ve 1,2 YYD gruplarında GTT sırasında benzer eğilimler gözlenmiştir. Bu iki grupta 30. ve 60. dakikalar arasında kan glukoz değerlerinde bir azalma gözlemlenmiş; ardından 60. ve 90. dakikalar arasında bir miktar artış gözlenmiş, sonrasında ise 120. dakikaya kadar kan glukoz değerlerinde tekrar bir düşüş eğilimi görülmüştür. 2,4 YYD grubunda, kan glukozunda 0. ve 60. dakikalar arasında yükselme gözlemlenmiş, 60. ve 90. dakikalar arasında bir miktar düşüş yaşanmış ve pik değerini 120. dakikada yaptığı bulunmuştur.



Şekil 4.8. Farelerin GTT sonucu kan glukoz değerlerinin değişimi (STD: Standart diyet, YYD: Yüksek yağlı diyet)

Farelerin ITT boyunca kan glukoz değerlerindeki değişim Şekil 4.9'da gösterilmiştir. Tüm gruplarda başlangıçta (0. dakika) ölçülen kan glukoz düzeyinin en yüksek değerde olduğu görülmüştür. STD diyet alan grupta, kan glukoz değerinde 0. dakikadan 30. dakikaya kadar bir düşüş gözlenmiş, ancak diğer zaman noktalarında eğride belirgin bir iniş veya yükseliş görülmemiştir. Diğer gruplarda, 60. dakikaya kadar kan glukoz değerlerinde bir azalma

gözlenmiş, ancak bu noktadan sonra 120. dakikaya kadar bir yükseliş eğilimi ortaya çıkmıştır.



Şekil 4.9. Farelerin ITT sonucu kan glukoz değerlerinin değişimi (STD: Standart diyet, YYD: Yüksek yağlı diyet)

4.5. Farelerin Kahverengi Adipoz Doku Üzerindeki Gen Ekspresyonuna Etkilerinin Değerlendirilmesi

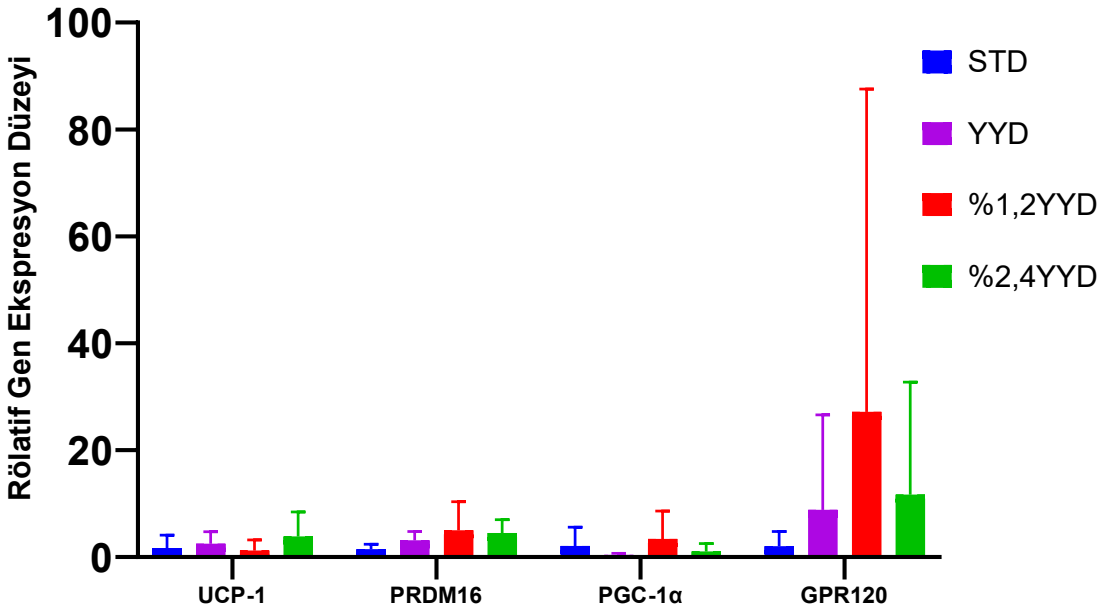
Farelerin kahverengi yağ dokuda termojenezle ilişkili UCP-1, PRDM16, PGC-1α ve GPR120 genlerinin expresyon düzeyleri (fold change) Çizelge 4.12'de verilmiştir. Farelerin KAD'larındaki rölatif gen ekspresyon düzeyleri grafik olarak Şekil 4.10 ve Şekil 4.11'de gösterilmiştir. UCP-1 geninin rölatif ekspresyon düzeyi 2,4 YYD>YYD>STD>1,2 YYD olarak gözlenmekle birlikte gruplar arasında anlamlı farklılık belirlenmemiştir ($p>0,05$). Gruplar arasında PRDM16 rölatif gen ekspresyon düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p<0,05$). En yüksek PRDM16 ekspresyonu düzeyi 1,2 YYD grubunda, en düşük ekspresyon düzeyi ise STD grubunda gözlemlenmiştir. Gruplar arasında PGC-1α geninin rölatif ekspresyon düzeyinde 1,2 YYD>STD>2,4 YYD>YYD şeklinde bir sıralama gözlenmiştir, ancak bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$). GPR120 geninin rölatif ekspresyon düzeyinin en yüksek 1,2 YYD

grubunda, en düşük ise STD grubunda olduğu gözlenmiştir. Ancak, bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0,05).

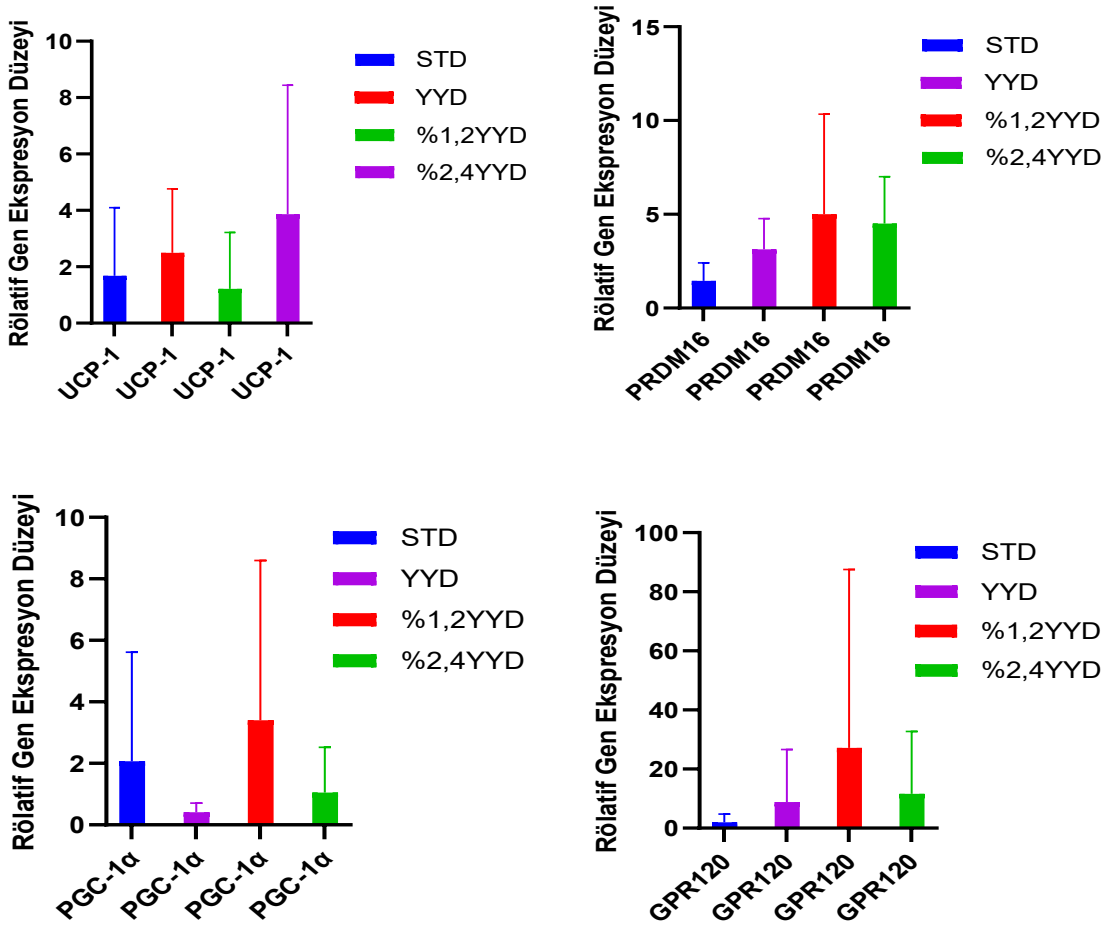
Çizelge 4.12. Farelerin gen ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması

Gen ekspresyon düzeyleri	STD (n=7)	YYD (n=5)	1,2 YYD (n=6)	2,4 YYD (n=6)	p
	$\bar{x}$ ± SD	$\bar{x}$ ± SD	$\bar{x}$ ± SD	$\bar{x}$ ± SD	
UCP-1	1,68±2,41	2,50±2,27	1,22±1,99	3,87±4,57	0,484
PRDM16	1,45±0,96[a]	3,14±1,64[b]	5,00±5,34[b]	4,50±2,50[b]	**0,028***
PGC-1α	2,07±3,54	0,41±0,29	3,40±5,20	1,05±1,46	0,269
GPR120	2,01±2,78	8,84±17,74	27,16±60,41	11,66±21,07	0,168

Kruskal-Wallis Testi, *p<0,05. Farklı harfler gruplar arası farkı ifade etmektedir. YYD: Yüksek yağlı diyet. UCP: Ayrıştırma proteini, PGC-1α: Peroksizom proliferatör ile aktive edilmiş reseptör gama ko-aktivatörü 1 alfa, GPR: G proteinine bağlı reseptör, PRDM16: PR bölgesi içeren protein 16



Şekil 4.10. Farelerin kahverengi yağ dokudaki gen ekspresyon düzeyleri (STD: Standard, YYD: Yüksek yağlı diyet, UCP: Ayrıştırma proteini, PGC-1α: Peroksizom proliferatör ile aktive edilmiş reseptör gama ko-aktivatörü 1 alfa, GPR: G proteinine bağlı reseptör, PRDM16: PR bölgesi içeren protein 16)



Şekil 4.11. Farelerin kahverengi yağ dokuda UCP-1, PRDM16, PGC1A ve GPR120 gen ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması (STD: Standard, YYD: Yüksek yağlı diyet, UCP: Ayrıştırma proteini, PGC-1α: Peroksizom proliferatör ile aktive edilmiş reseptör gama ko-aktivatörü 1 alfa, GPR: G proteinine bağlı reseptör, PRDM16: PR bölgesi içeren protein 16)

4.6. Farelerin Ölçümlerindeki Değişkenler Arası Korelasyonların Analizi

Farelerin organ ve vücut ağırlık ölçümleri, enerji ve n-3 yağ asitleri alımları ile metabolik ve gen ekspresyon parametreleri arasındaki korelasyon Çizelge 4.13., Çizelge 4.14., Çizelge 4.15. ve Çizelge 4.16.'de verilmiştir.

STD diyet alan grupta çalışmanın sonundaki ortalama vücut ağırlığı (g) ile serum parametrelerinden sadece HDL düzeyi (mg/dL) ile pozitif yönlü bir korelasyon bulunmuştur ($p<0,01$). Ayrıca çalışma sonundaki ortalama vücut ağırlığı (g) ile AUC_{GTT} arasında pozitif yönlü bir ilişi saptanmıştır ($p<0,05$). Ancak çalışma sonundaki ortalama vücut ağırlığı (g) ile KAD'daki genlerin rölatif ekspresyon düzeyleri arasında bir korelasyon bulunmamıştır

(p>0,05). Günlük enerji (kkal) ve n-3 yağ asitleri (g) alımları ile PGC-1α ekspresyonu arasında pozitif yönlü bir korelasyon saptanmıştır (p<0,01). İnguinal+epididimal adipoz doku ağırlığı (g) ile AUC_{ITT} arasında bir korelasyon bulunmazken (p>0,05), adipozite indeksi arasında pozitif yönlü korelasyon bulunmuştur (p<0,01). Retroperitonal adipoz doku ağırlığı (g) ve toplam BAD ağırlığı (g) ile AUC_{ITT} arasında negatif yönlü bir korelasyon saptanmıştır (sırasıyla p<0,01; p<0,05). KAD ağırlığı (g) ile de AUC_{ITT} arasında negatif yönlü bir korelasyon bulunmuştur (p<0,05). Karaciğer ağırlığı (g) ile serum kolesterol değeri (mg/dL) ve UCP-1 geninin rölatif ekspresyonu arasında pozitif yönlü (p<0,01) bir korelasyon saptanmıştır (Çizelge 4.13).

YYD alan grupta çalışmanın sonundaki ortalama vücut ağırlığı (g) ile serum parametreleri, gen ekspresyonları ve AUC'ler arasında bir korelasyon bulunmamıştır (p>0,05). Günlük enerji alımları ile serum insülin seviyeleri arasında negatif yönlü korelasyon saptanmıştır (p<0,05). İnguinal+epididimal adipoz doku ağırlığı (g) ile serum trigliserit düzeyi (mg/dL) arasında pozitif yönlü (p<0,01); KAD ağırlığı (g) ile serum HDL düzeyi (mg/dL) arasında pozitif yönlü (p<0,05) bir korelasyon bulunmuştur. Retroperitonel adipoz doku ve toplam BAD ile adipozite indeksi arasında pozitif yönde korelasyonlar saptanmıştır (p<0,01). Karaciğer ağırlığı (g) ile GPR120 rölatif gen ekspresyon düzeyi ile pozitif yönlü (p<0,05) bir korelasyon belirlenmiştir (Çizelge 4.14).

1,2 YYD grubunda çalışmanın başlangıcından bitişine kadar olan vücut ağırlık değişimi (g) ile serum glukoz değeri (mg/dL) arasında pozitif yönlü (p<0,05); AUC_{GTT} arasında pozitif yönlü (p<0,01) ve AUC_{ITT} arasında pozitif yönlü (p<0,05) bir korelasyon bulunmuştur. Lee indeksi ile AUC_{GTT} arasında ve yem etkinliği ile serum insülin düzeyleri arasında pozitif yönlü korelasyonlar saptanmıştır (p<0,01). Günlük ortalama enerji alımı (kkal) ile serum kolesterol (mg/dL) (p<0,05) ve serum LDL kolesterol (mg/dL) (p<0,05) arasında pozitif yönlü; UCP-1 (p<0,05) ve PGC-1α (p<0,01) genlerinin rölatif ekspresyon düzeyleri arasında negatif yönlü korelasyonlar belirlenmiştir. Günlük n-3 yağ asitleri alımı ile serum kolesterol (mg/dL) ve LDL kolesterol (mg/dL) arasında pozitif yönlü korelasyon bulunurken (p<0,05); UCP-1 ve PGC-1α genlerinin rölatif ekspresyon düzeyleri arasında negatif yönlü bir korelasyon bulunmuştur (sırasıyla p<,05; p<0,01). İnguinal+epididimal adipoz doku ağırlığı (g) ile serum trigliserit (mg/dL) (p<0,05), PRDM16 geninin rölatif ekspresyon düzeyi (p<0,05), AUC_{ITT} (p<0,05) ve adipozite indeksi arasında (p<0,01) pozitif yönlü korelasyonlar saptanmıştır Toplam BAD ağırlığı (g) ile serum trigliserit (mg/dL) (p<0,05)

ve adipozite indeksi ($p<0,01$) arasında pozitif yönlü bir korelasyon bulunmuştur. KAD ağırlığı (g) ile serum kolesterol (mg/dL) ve serum LDL kolesterol (mg/dL) düzeyleri arasında pozitif yönlü kolelasyonlar bulunurken (sırasıyla $p<0,01$; $p<0,05$); UCP-1 ve PGC-1α genlerinin rölatif ekspresyon düzeyleri arasında negatif yönlü korelasyonlar saptanmıştır (sırasıyla $p<0,05$; $p<0,01$). (Çizelge 4.15).

2,4 YYD grubunda çalışmanın sonunda ölçülen vücut ağırlığı (g) ve çalışmanın başlangıcından bitişine kadar olan vücut ağırlık değişimi (g) ile PRDM16 geninin rölatif ekspresyon düzeyi arasında negatif yönlü; AUC_{ITT} arasında pozitif yönlü ($p<0,05$), adipozite indeksi arasında pozitif yönlü ($p<0,01$) korelasyonlar bulunmuştur. Lee indeksi ile AUC_{ITT} arasında pozitif yönlü korelasyon bulunmuştur ($p<0,05$). Haftalık yem etkinliği ile serum kolesterol ($p<0,01$), adipozite indeksi ($p<0,05$) ve AUC_{ITT} ($p<0,01$) arasında pozitif yönlü korelasyonlar bulunmuştur. İnguinal+epididimal adipoz doku ağırlığı (g) ile PRDM16 geninin rölatif ekspresyon düzeyi arasında negatif yönlü korelasyon bulunurken; adipozite indeksi ($p<0,01$) ve AUC_{ITT} ($p<0,05$) arasında pozitif yönlü korelasyon bulunmuştur. Retroperitonal adipoz doku ağırlığı (g)) ile AUC_{ITT} ($p<0,01$) ve adipozite indeksi ($p<0,05$) arasında pozitif yönlü korelasyonlar saptanmıştır. Toplam BAD ağırlığı (g) ile PRDM16 geninin rölatif ekspresyon düzeyi arasında negatif yönlü korelasyon bulunurken; AUC_{ITT} ($p<0,05$) ve adipozite indeksi ($p<0,01$) arasında pozitif yönlü korelasyon bulunmuştur. Karaciğer ağırlığı (g) ile serum glukoz değeri (mg/dL) arasında pozitif yönlü ($p<0,05$) ve AUC_{ITT} arasında pozitif yönlü korelasyon bulunmuştur ($p<0,01$) (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.13. STD grubunun organ ve vücut ağırlık ölçümleri, enerji ve n-3 alımları ile metabolik ve gen ekspresyon parametreleri arasındaki korelasyon

	STD (n=7)										
	Son VA	VAD	Lee indeksi	Yem etkinliği	Enerji (kkal/gün)	n-3 (g/gün)	iBAD+eBAD	rBAD (g)	BAD(t)	KAD (g)	Karaciğer ağırlık (g)
Glukoz (mg/dL)	-,036	-,633	,498	-,649	-,676	-,669	-,559	-,449	-,500	-,469	0,000
İnsülin (mlU/mL)	-,321	-,233	,679	-,124	-,536	-,536	-,523	-,487	-,429	-,429	-,607
Adiponektin (mg/L)	,714	,031	,509	,043	-,125	-,157	,126	,393	,286	-,140	,143
Leptin (ng/L)	-,036	,273	,319	-,018	-,069	-,061	-,036	-,056	0,000	-,357	0,000
Trigliserit (mg/dL)	,107	-,476	,250	-,336	-,643	-,643	,144	-,019	,143	0,000	-,214
Kolesterol (mg/dL)	,607	,434	,358	,319	,195	,190	,613	,692	,714	,415	**,893****
HDL (mg/dL)	**,893****	,594	,379	,528	,402	,376	,252	,711	,464	,367	,643
LDL (mg/dL)	-,478	-,101	-,538	-,283	-,179	-,179	,362	-,250	,120	-,179	-,299
Adipozite indeksi	,000	,714	-,607	,411,	,464	,464	**,883****	,487	,750	,500	,571
UCP-1	,107	,374	-,107	,332	,286	,286	,541	,430	,571	,357	**,893****
PRDM16	,286	,479	,107	,409	,286	,286	,270	,281	,286	,107	-,179
GPR120	-,679	,388	-,321	,418	0,000	0,000	,180	-,206	,071	,143	0,000
PGC-1α	,429	,407	-,429	,398	**1,000****	**1,000****	,378	,636	,393	,607	,393
AUC_{GTT}	**,821***	,500	,393	,653	,250	,250	,126	,561	,286	,357	-,036
AUC_{ITT}	-,750	-,563	-,179	-,676	-,214	-,214	-,721	**-,879****	**-,857***	**-,786***	-,750

*p<0,05; **p<0,01. Değişkenler arasındaki korelasyonlar, normal dağılıma göre Pearson veya Spearman korelasyon katsayıları ile ifade edilmiştir. STD: Standart diyet, VA: Vücut ağırlığı, VAD: Vücut ağırlığı değişimi, iBAD: İnguinal beyaz adipoz doku, eBAD: Epididimal beyaz adipoz doku, rBAD: Retroperitonal beyaz adipoz doku, BAD(t): Beyaz adipoz doku toplamı, KAD: Kahverengi adipoz doku, HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein, UCP: Ayrıştırma proteini, PGC-1α: Peroksizom proliferatör ile aktive edilmiş reseptör gama ko-aktiva-törü 1 alfa, GPR: G proteinine bağlı reseptör, PRDM16: PR bölgesi içeren protein 16, AUC_{GTT}: Glukoz tolerans testi eğri altında kalan alan, AUC_{ITT}: İnsülin tolerans testi eğri altında kalan alan

Çizelge 4.14. YYD grubunun organ ve vücut ağırlık ölçümleri, enerji ve n-3 alımları ile metabolik ve gen ekspresyon parametreleri arasındaki korelasyon

Ölçümler	YYD (n=6)										
	Son VA	VAD	Lee indeksi	Yem etkinliği	Enerji (kkal/gün)	n-3 (g/gün)	iBAD+eBAD (g)	rBAD (g)	BAD(t) (g)	KAD (g)	Karaciğer ağırlık (g)
Glukoz (mg/dL)	,086	,257	,129	,668	-,327	-,336	,429	-,143	-,029	,187	,257
İnsülin (mlU/mL)	-,600	-,733	,429	,545	**-,886***	-,765	,143	-,429	-,200	-,143	,086
Adiponektin (mg/L)	,371	,540	-,009	,370	,009	-,005	,371	,086	,029	,542	,543
Leptin (ng/L)	-,600	-,690	,407	,424	-,610	-,530	,257	-,143	,029	,096	-,086
Trigliserit (mg/dL)	,609	,398	,029	,035	,116	,313	**,986****	,551	,696	,609	,348
Kolesterol (mg/dL)	,086	,141	,504	,371	-,167	-,241	,200	,086	-,029	,779	,600
HDL (mg/dL)	,600	,630	,103	,045	,258	,198	,486	,371	,257	**,873***	,771
LDL (mg/dL)	,393	,201	,131	,349	-,393	-,270	,655	-,131	,131	,131	,393
Adipozite indeksi	,429	,086	-,429	-,429	,600	,765	,771	**,943****	**1,000****	,257	,-257
UCP-1	-,086	-,111	,714	-,222	-,086	-,088	-,086	,200	,029	,543	,429
PRDM16	,429	,506	-,314	,074	,257	,118	-,257	-,314	-,371	-,143	,086
GPR120	,406	,051	,754	-,161	-,435	-,343	,522	-,029	,058	,638	**,841***
PGC-1α	-,086	-,194	,600	-,172	-,200	-,088	,314	,257	,200	,714	,429
AUC_{GTT}	,371	,807	-,200	-,160	-,086	,029	,600	-,029	,143	,257	,200
AUC_{ITT}	-,086	,421	-,086	,650	-,086	-,147	-,257	-,429	-,486	,086	,086

*p<0,05; **p<0,01. Değişkenler arasındaki korelasyonlar, normal dağılıma göre Pearson veya Spearman korelasyon katsayıları ile ifade edilmiştir. YYD: Yüksek yağlı diyet, VA: Vücut ağırlığı, VAD: Vücut ağırlığı değişimi, iBAD: İnguinal beyaz adipoz doku, eBAD: Epididimal beyaz adipoz doku, rBAD: Retroperitonal beyaz adipoz doku, BAD(t): Beyaz adipoz doku toplamı, KAD: Kahverengi adipoz doku, HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein, UCP: Ayrıştırma proteini, PGC-1α: Peroksizom proliferatör ile aktive edilmiş reseptör gama ko-aktiva-törü 1 alfa, GPR: G proteinine bağlı reseptör, PRDM16: PR bölgesi içeren protein 16, AUC_{GTT}: Glukoz tolerans testi eğri altında kalan alan, AUC_{ITT}: İnsülin tolerans testi eğri altında kalan alan

Çizelge 4.15. 1,2 YYD grubunun organ ve vücut ağırlık ölçümleri, enerji ve n-3 alımları ile metabolik ve gen ekspresyon parametreleri arasındaki korelasyon

Ölçümler	1,2 YYD (n=6)										
	Son VA	VAD	Lee indeksi	Yem etkinliği	Enerji (kkal/gün)	n-3 (g/gün)	iBAD+eBAD (g)	rBAD (g)	BAD(t) (g)	KAD (g)	Karaciğer ağırlık (g)
Glukoz (mg/dL)	,771	**,847***	,545	,436	,241	,246	-,029	,257	,143	,535	,371
İnsülin (mlU/mL)	,371	,320	,200	**,940****	-,714	-,714	-,714	-,486	-,543	-,714	-,029
Adiponektin (mg/L)	,143	,285	,772	,646	-,499	-,501	,029	,029	,086	-,284	,371
Leptin (ng/L)	-,029	-,195	-,005	,300	-,416	-,419	-,314	-,714	-,486	-,400	,200
Trigliserit (mg/dL)	,522	,644	,667	,034	,319	,319	**,812***	,667	**,812***	,319	,319
Kolesterol (mg/dL)	,087	,581	,094	-,296	**,845***	**,847***	,464	,551	,406	**,924****	,493
HDL (mg/dL)	-,200	-,067	-,178	-,609	,620	,621	-,029	,029	-,143	,553	,600
LDL (mg/dL)	-,088	,318	,294	-,662	**,883***	**,883***	,736	,765	,677	**,883***	,412
Adipozite indeksi	,371	,371	,257	,257	,714	,714	**1,000****	**,829***	**,943****	,714	,143
UCP-1	-,314	-,237	,086	,392	**-,829***	**-,829***	-,486	-,486	-,429	**-,829***	-,257
PRDM16	,486	,147	-,086	,393	,371	,371	**,829***	,543	,771	,371	-,257
GPR120	,086	-,184	,314	,470	-,600	-,600	-,086	-,371	-,143	-,600	,086
PGC-1α	-,143	-,166	-,029	,683	**-,943****	**-,943****	-,543	-,600	-,486	**-,943****	-,371
AUC_{GTT}	,600	**,926****	**,943****	,486	,029	,029	,086	,371	,257	,029	,600
AUC_{ITT}	,429	**,917***	,600	,180	,371	,371	**,829***	,600	,771	,371	,371

*p<0,05; **p<0,01. Değişkenler arasındaki korelasyonlar, normal dağılıma göre Pearson veya Spearman korelasyon katsayıları ile ifade edilmiştir. YYD: Yüksek yağlı diyet, VA: Vücut ağırlığı, VAD: Vücut ağırlığı değişimi, iBAD: İnguinal beyaz adipoz doku, eBAD: Epididimal beyaz adipoz doku, rBAD: Retroperitonal beyaz adipoz doku, BAD(t): Beyaz adipoz doku toplamı, KAD: Kahverengi adipoz doku, HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein, UCP: Ayrıştırma proteini, PGC-1α: Peroksizom proliferatör ile aktive edilmiş reseptör gama ko-aktiva-törü 1 alfa, GPR: G proteinine bağlı reseptör, PRDM16: PR bölgesi içeren protein 16, AUC_{GTT}: Glukoz tolerans testi eğri altında kalan alan, AUC_{ITT}: İnsülin tolerans testi eğri altında kalan alan.

Çizelge 4.16. 2,4 YYD grubunun organ ve vücut ağırlık ölçümleri, enerji ve n-3 alımları ile metabolik ve gen ekspresyon parametreleri arasındaki korelasyon

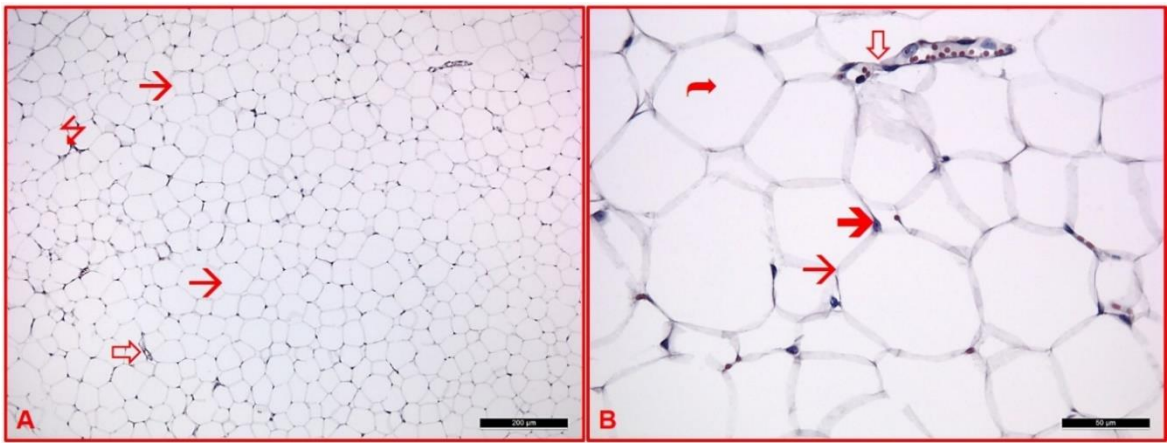
Ölçümler	2,4 YYD (n=6)										
	Son VA	VAD	Lee indeksi	Yem etkinliği	Enerji (kkal/gün)	n-3 (g/gün)	iBAD+eBAD (g)	rBAD (g)	BAD(t) (g)	KAD (g)	Karaciğer ağırlık (g)
Glukoz (mg/dL)	,371	,332	,134	,690	-,295	-,291	,371	,600	,371	,406	**,886***
İnsülin (mlU/mL)	-,714	-,181	-,657	,090	-,714	-,714	-,714	-,600	-,714	-,235	-,257
Adiponektin (mg/L)	-,029	,253	,180	,084	,680	,677	-,029	-,143	-,029	,066	-,143
Leptin (ng/L)	-,143	-,145	-,304	-,157	,252	,249	-,143	-,314	-,143	,132	-,371
Trigliserit (mg/dL)	,086	,386	,086	,508	,371	,371	,086	,029	,086	-,147	,086
Kolesterol (mg/dL)	,486	,800	,387	**,934****	,373	,375	,486	,429	,486	,537	,543
HDL (mg/dL)	,086	,546	,254	,795	,180	,182	,086	,257	,086	,555	,600
LDL (mg/dL)	-,667	-,514	-,319	-,386	-,319	-,319	-,667	-,522	-,667	-,090	-,290
Adipozite indeksi	**1,000****	**1,000****	**,886***	**,886***	,771	,771	**1,000****	**,943***	**1,000****	,618	,714
UCP-1	,600	,391	,600	,084	,771	,771	,600	,486	,600	,736	,200
PRDM16	**-,829***	**-,895***	-,486	-,765	-,600	-,600	**-,829***	-,657	**-,829***	-,088	-,429
GPR120	-,086	-,276	,143	-,367	,314	,314	-,086	-,143	-,086	,383	-,429
PGC-1α	-,257	-,297	-,257	-,411	,371	,371	-,257	-,486	-,257	-,147	-,771
AUC_{GTT}	,371	,489	,200	,581	,257	,257	,371	,314	,371	,412	,314
AUC_{ITT}	**,829***	**,933****	**,886***	**,952****	,486	,486	**,829***	**,943****	**,829***	,647	**,943****

*p<0,05; **p<0,01. Değişkenler arasındaki korelasyonlar, normal dağılıma göre Pearson veya Spearman korelasyon katsayıları ile ifade edilmiştir. YYD: Yüksek yağlı diyet, VA: Vücut ağırlığı, VAD: Vücut ağırlığı değişimi, iBAD: İnguinal beyaz adipoz doku, eBAD: Epididimal beyaz adipoz doku, rBAD: Retroperitonal beyaz adipoz doku, BAD(t): Beyaz adipoz doku toplamı, KAD: Kahverengi adipoz doku, HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein, UCP: Ayrıştırma proteini, PGC-1α: Peroksizom proliferatör ile aktive edilmiş reseptör gama ko-aktiva-törü 1 alfa, GPR: G proteinine bağlı reseptör, PRDM16: PR bölgesi içeren protein 16, AUC_{GTT}: Glukoz tolerans testi eğri altında kalan alan, AUC_{ITT}: İnsülin tolerans testi eğri altında kalan alan.

4.7. Farelerin Beyaz ve Kahverengi Adipoz Dokularına Ait Histolojik Bulgular

4.7.1. Beyaz adipoz dokulara ait hematoksilen-eozin boyama bulguları

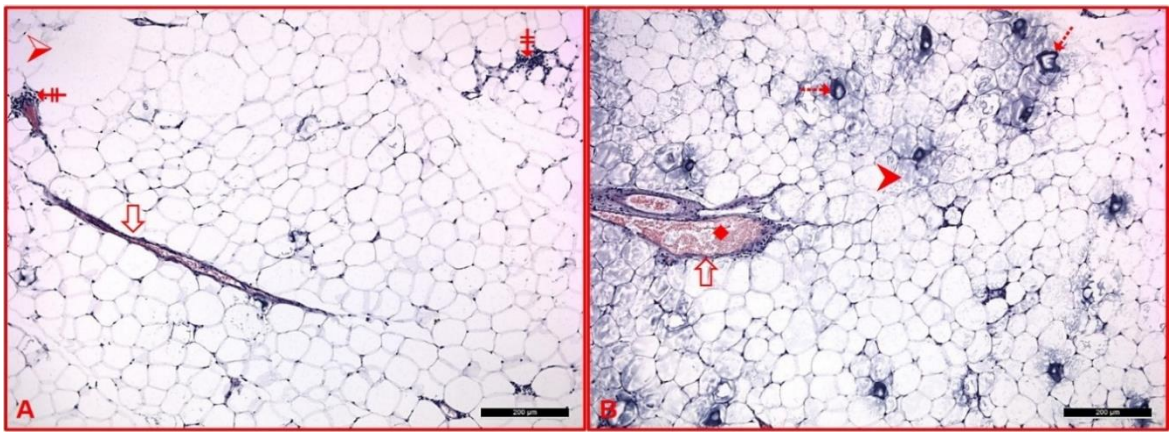
Standart diyet ile beslenen farelere ait BAD pakeleri ile yapılan Hematoksilen-Eozin boyamalar sonucundaki incelemeler Resim 4.1'de gösterilmiştir. Standart diyet uygulanan grubun inguinal bölgesinden elde edilen beyaz yağ pakelerine ait yapılan küçük ve büyük büyültmeli incelemelerde; adipositler düzgün kontürleri, eş boyutları, univakuolar özellik gösteren lipit komponentleri, hücre kenarında yerleşim gösteren yassı nükleusları ve adipositler arasında yerleşim gösteren ince, kan damarı içeren bağ doku elemanları ile normal histolojik görünümlerinde ayırt edilmiştir. Adipositlerin lipit komponentlerinde bozulma olaylanmadığı ve homojen görüntü sergiledikleri tespit edilmiştir (Resim 4.1).



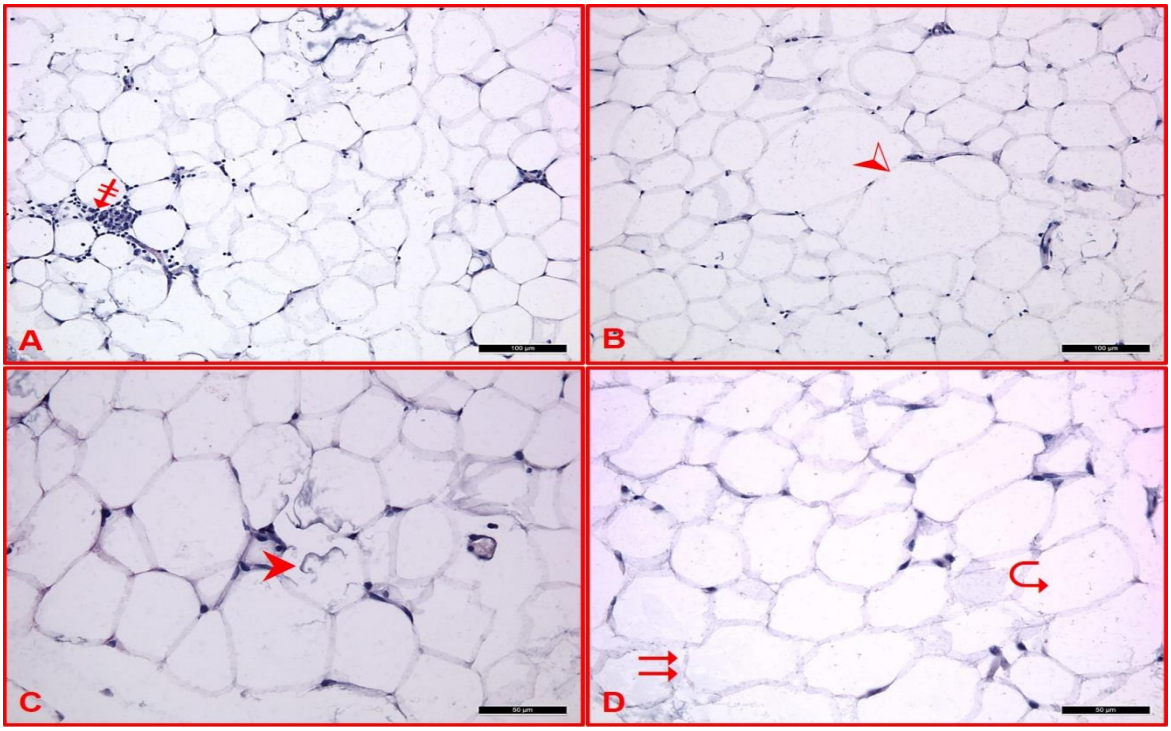
Resim 4.1. STD grubundaki farelere ait beyaz adipoz doku incelemeleri (Standart diyet uygulanan grup beyaz yağ dokusu kesitlerinde →: adipositler, ➔: nukleus, ⮫: lipit içeriği, ⇳: bağ doku ve ⇨: kan damarları izleniyor (Hematoksilen-Eozin A: x100, B: x400).)

Yüksek yağlı diyet uygulanan grupta yapılan küçük büyültmeli incelemelerde; adipositler arasındaki bağ dokuda yerleşim gösteren kan damarlarında dilatasyon ve konjesyon izlenmiştir. Bağ doku yoğunluğunda artış görülen bu alanda, infiltrasyon belirgin şekilde gözlenmiştir. Adipositlerin yer yer hacimlerini arttırdıkları ve füzyona uğradıkları, lipit içeriklerindeki bozulmaya bağlı olarak heterojen görünüm sergiledikleri ve miyelinizasyon gösterdikleri tespit edilmiştir. Dejenere yapıdaki adipositler ise belirgin olarak izlenmiştir (Resim 4.2). Bu grupta yapılan büyük büyültmeli incelemelerde; adipositler arasındaki infiltrasyon izlenmeye devam ettiği belirlenmiştir. Adipositlerin bazı alanlarda hacimce artış

göstererek füzyona uğradıkları, univakuolar lipit içeriklerinde bozulmaya bağlı olarak miyelinizasyon gösterdikleri, kontürlerinde bozulma olaylandığı ve bazı adipositlerin ondüle bir görünüm sergiledikleri izlenmiştir. Çoğu adipositte, nüklear silinme ayırt edilmiştir (Resim 4.3).

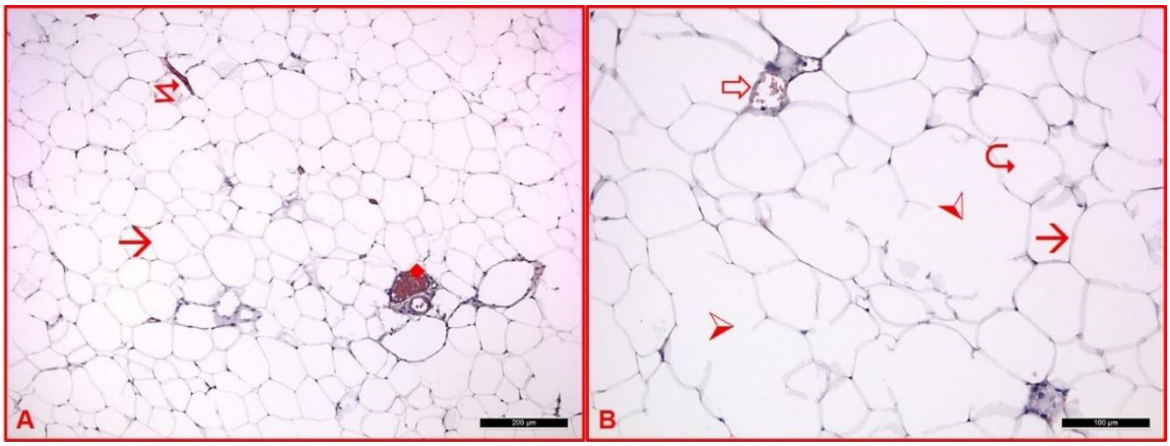


Resim 4.2. YYD grubundaki farelere ait beyaz adipoz doku incelemeleri (Yüksek yağlı diyet uygulanan grup beyaz yağ dokusu kesitlerinde ➢: füzyon, ➤: miyelinizasyon, ⇢: dejenere adipositler, ◆: kan damarlarında konjesyon, ǂ: infiltrasyon ve ⇨: dilate kan damarları izleniyor (Hematoksilen-Eozin A ve B: x100).)



Resim 4.3. 1,2 YYD grubundaki farelere ait beyaz adipoz doku incelemeleri (Yüksek yağlı diyet uygulanan grup beyaz yağ dokusu kesitlerinde ➢: füzyon, ➤: miyelinizasyon, ↳: nüklear silinme, ⇉: ondülasyon ve ǂ: infiltrasyon izleniyor (Hematoksilen-Eozin A-D: x400).)

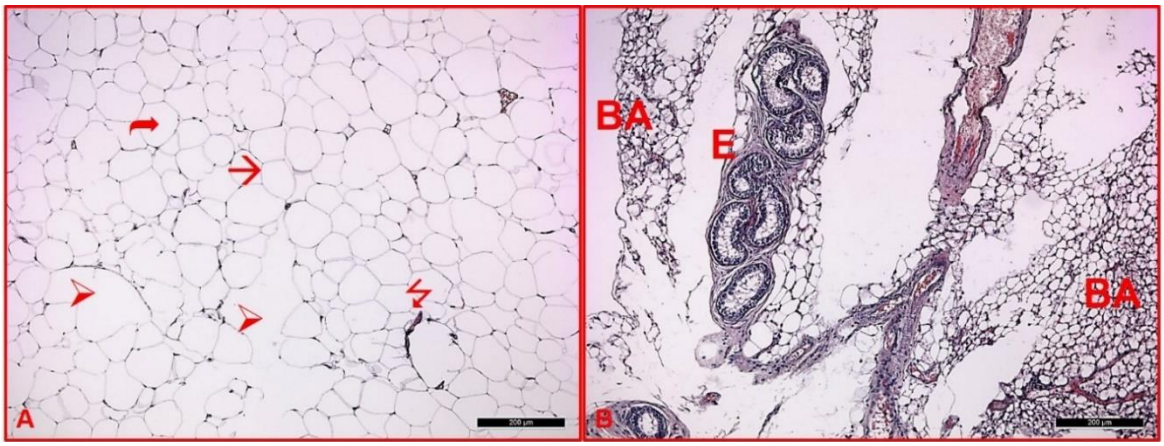
Yüksek yağlı diyet ile birlikte düşük doz n-3 yağ asitleri alan grupta yapılan küçük ve büyük büyültmeli incelemelerde; adipositler arası bağ doku yoğunluğunun normale döndüğü, dilatasyon ve konjesyon gösteren kan damarı sayısının görece azaldığı ayırt edilmiştir. Bu grubun en belirgin özelliği, miyelinizasyon gösteren ve heterojen görünüm sergileyen adipositlerin bulunmamasıdır. Buna karşılık, füzyona uğrayan adipositlerin hala görülmeye devam ettiği ve nüklear silinmenin yine bazı adipositlerde hala ayırt edildiği dikkati çekmiştir. Genel görünümün, yüksek yağlı diyet uygulanan gruba kıyasla daha normale yakın bir doku özelliği sergilediği tespit edilmiştir (Resim 4.4).



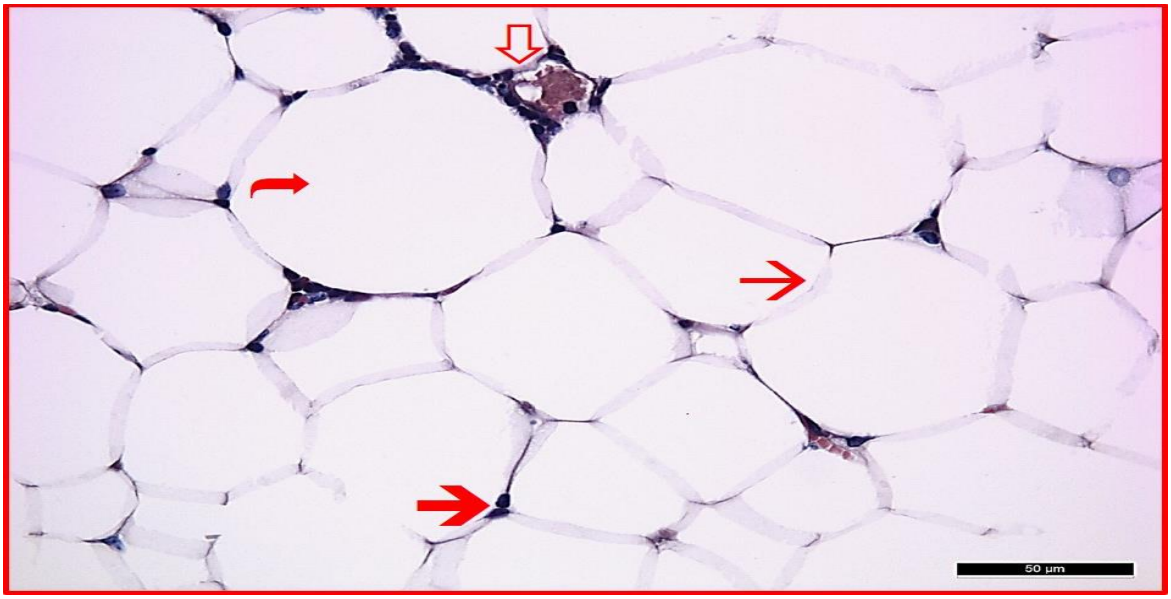
Resim 4.4. 2,4 YYD grubundaki farelere ait beyaz adipoz doku incelemeleri (Yüksek yağlı diyet ile birlikte düşük doz n-3 alan grup beyaz yağ dokusu kesitlerinde →: adipositler, ↯: bağ doku, ◆: kan damarlarında konjesyon, ⇨: kan damarları, ➢: füzyon ve ↳: nüklear silinme izleniyor (Hematoksilen-Eozin A: x100, B: x400).)

Yüksek yağlı diyet ile birlikte yüksek doz n-3 yağ asitleri alan grupta yapılan küçük büyültmeli incelemelerde; dilatasyon gösteren kan damarlarının ve nüklear silinme gösteren adipositlerin ortadan kalktığı, adipositler arası bağ dokunun normal inceliği ve seyrine döndüğü tespit edilmiştir. Miyelinizasyonun ve lipit içeriğinde bozulmaya bağlı olarak görülen heterojen yapının bu gruba ait adipositlerde olmadığı ayırt edilmiştir. Adipositler genel olarak düzgün kontürleri ve eş boyutları ile izlenmiştir. Yüksek yağlı diyet ile birlikte düşük doz n-3 yağ asitleri alan gruba kıyasla görece çok daha az sayıda olmakla birlikte bazı adipositlerde füzyonun devam ettiği görülmüştür (Resim 4.5 A). Bu gruba ait en dikkat çekici bulgu, epididimis çevresinden elde edilen inguinal beyaz yağ doku pakelerinde izlenen “Brite (Brown-in-White)” veya “Beige” adipositler olarak bilinen, beyaz yağ dokuya ait adipositlerin arasında ortaya çıkan kahverengi yağ dokuya ait adipositler olarak belirlenmiştir. Bu tip adipositlerin kan glukozunu düzenleyici ve obeziteden koruyucu

etkileri bilindiğinden, bu bulgu, yüksek n-3 yağ asitleri uygulamasının, yüksek yağlı diyet koşullarında "Beige/Brite" adiposit komponentinin artışını tetikleyerek dokuyu koruyucu etki gösterdiğini düşündürmüştür (Resim 4.5 B). Bu grupta yapılan büyük büyültmeli incelemelerde; adipositler düzgün kontürleri, homojen görünümdeki univakuolar lipit komponentleri ve ince bağ doku elemanları ile normal seyrinde ayırt edilmiştir (Resim 4.6).



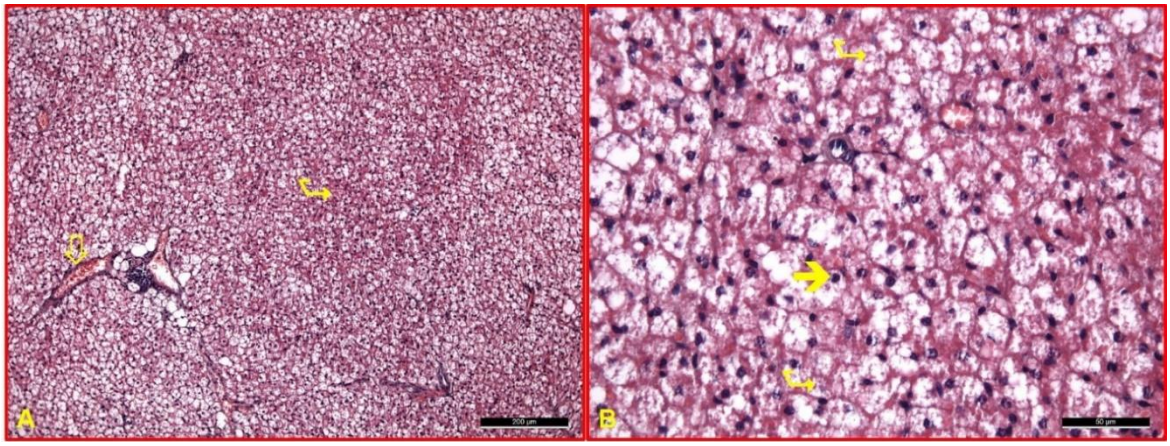
Resim 4.5. 2,4 YYD grubundaki farelere ait beyaz adipoz doku incelemeleri (Yüksek yağlı diyet ile birlikte yüksek doz n-3 yağ asitleri alan grup beyaz yağ dokusu kesitlerinde →: adipositler, ↯ : bağ doku, ➦: lipit içeriği, ➢: füzyon, E: epididimis ve BA: beige/bright adiposit izleniyor (Hematoksilen-Eozin A ve B: x100).)



Resim 4.6. 2,4 YYD grubundaki farelere ait beyaz adipoz doku incelemeleri (Yüksek yağlı diyet ile birlikte yüksek doz n-3 uygulanan grup beyaz yağ dokusu kesitlerinde →: adipositler, ➦: lipit içeriği, ➔: nukleus ve ⇨: kan damarları izleniyor (Hematoksilen-Eozin x400).)

4.7.2. Kahverengi adipoz dokulara ait hematoksilen-eozin boyama bulguları

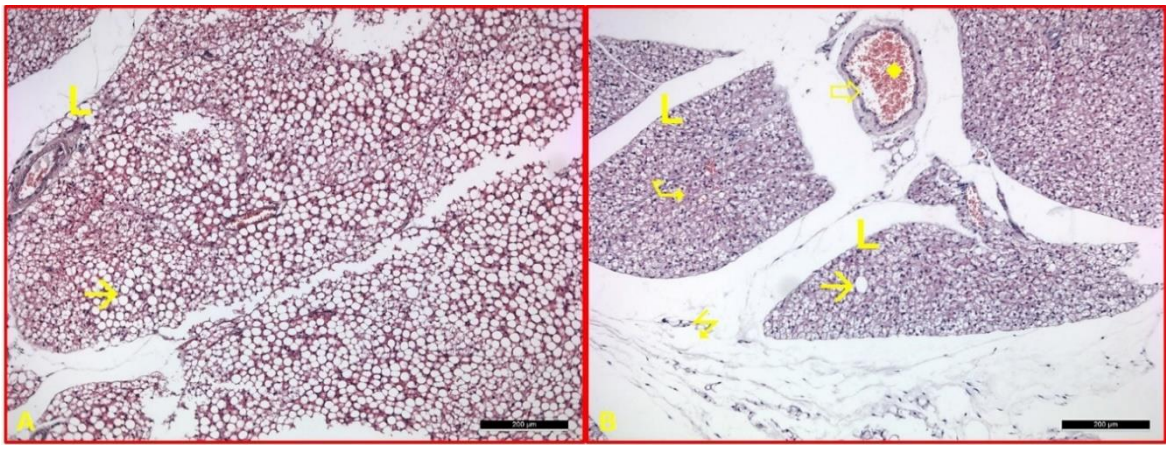
Standart diyet ile beslenen farelere ait KAD pakeleri ile yapılan Hematoksilen-Eozin boyamalar sonucundaki incelemeler Resim 4.7'de gösterilmiştir. Standart diyet alan grubun interskapular bölgesinden elde edilen kahverengi yağ pakelerine ait yapılan küçük ve büyük büyültmeli incelemelerde; adipositler arasında kan damarlarının seyrettiği ince bağ doku elemanları ayırt edilmiştir. Adipositler, multivakuolar yapıdaki lipit komponentleri, küresel yapıdaki ve nispeten merkezi yerleşimli nukleusları ile normal histolojik özelliklerinde izlenmiştir (Resim 4.7).



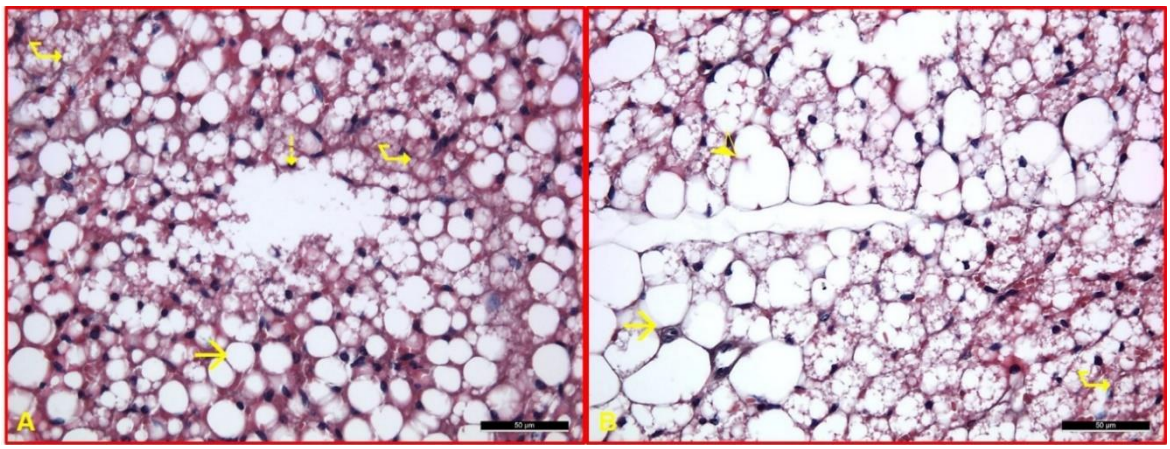
Resim 4.7. STD grubundaki farelere ait kahverengi adipoz doku incelemeleri (Standart yağlı diyet uygulanan grup kahverengi yağ dokusu kesitlerinde ➔: nukleus, ⮑ : multivakuolar adipositler ve ⇨: kan damarları izleniyor (Hematoksilen-Eozin A: x100 B: x400).)

Yüksek yağlı diyet uygulanan grupta yapılan küçük büyültmeli incelemelerde; yağ doku arasında yerleşim gösteren bağ doku elemanlarının artışına bağlı olarak yağ doku lobüllerinin birbirinden ayrıldığı, bu alandaki kan damarlarında dilatasyon ve konjesyon izlendiği ayırt edilmiştir. Dokuya bu büyültmede bakıldığında en temel bulgu, standart diyet uygulanan grubun küçük büyültmeli incelemelerinden farklı olarak, multivakuolar kahverengi yağ dokusu miktarında görece azalmaya koşut olarak ortaya çıkan univakuolar beyaz yağ dokusu artışı olarak belirlenmiştir (Resim 4.8). Bu grupta yapılan büyük büyültmeli incelemelerde, literatürde "Whitening Brown Adipose Tissue in High Fat Diet" olarak geçen ve küçük büyültmeli incelemelerde de ayırt edilen "beyazlaşan kahverengi yağ doku"nun geniş bir alanda yerleşim gösterdiği tespit edilmiştir. Uygulanan yüksek yağlı diyete bağlı olarak meydana gelen metabolik işlev bozukluğu paralelinde kahverengi yağ

doku aktivitesinin azaldığı, bu aktivitenin azaldığı bölgelerde ise genişlemiş lipit damlacıkları görüldüğü ve dokunun "beyazlaştığı" izlenmiştir. Bu tip "beyazlaşan" adipostilerde füzyon ve dejenerasyon belirgin olarak ayırt edilmiştir (Resim 4.9).



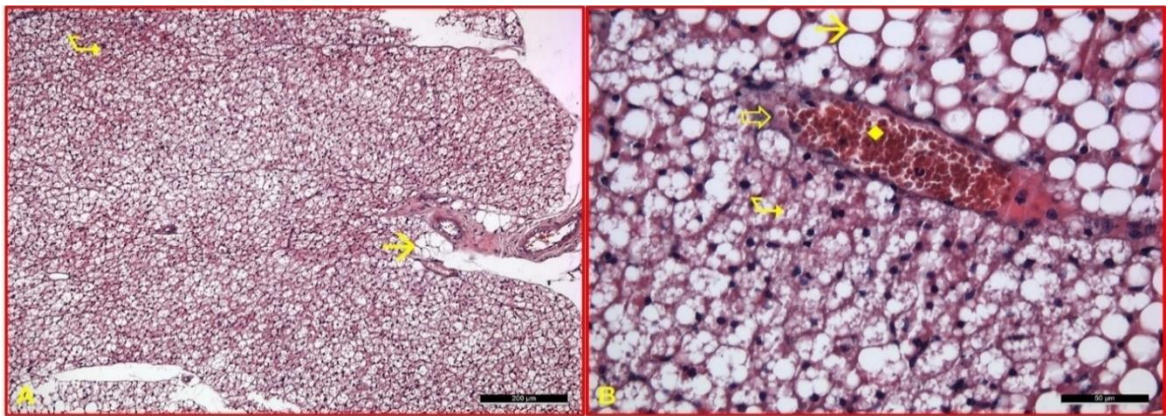
Resim 4.8. YYD grubundaki farelere ait kahverengi adipoz doku incelemeleri (Yüksek yağlı diyet uygulanan grup kahverengi yağ dokusu kesitlerinde ↯: bağ doku, ⇨: dilate kan damarları, ◆: kan damarlarında konjesyon, →: "beyazlaşan" adipositler, ⮑ : multivakuolar adipositler ve L: yağ doku lobülleri izleniyor (Hematoksilen-Eozin A ve B: x100).)



Resim 4.9. YYD grubundaki farelere ait kahverengi adipoz doku incelemeleri (Yüksek yağlı diyet uygulanan grup kahverengi yağ dokusu kesitlerinde →: "beyazlaşan" adipositler, ➢: füzyon, ⇢: dejenere adipositler ve ⮑ : multivakuolar adipositler izleniyor (Hematoksilen-Eozin A ve B: x400).)

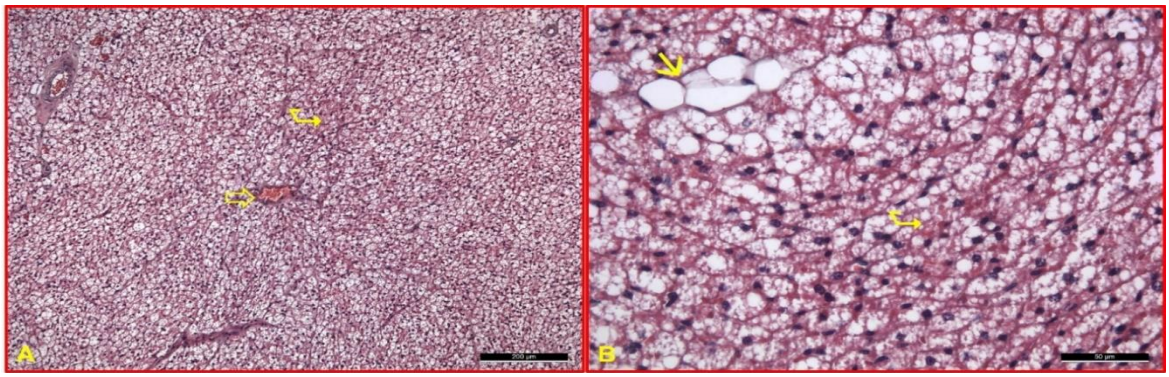
Yüksek yağlı diyet ile birlikte düşük doz n-3 yağ asitleri alan grupta yapılan küçük ve büyük büyültmeli incelemelerde; bağ doku yoğunluğunun normal seyrine dönmesine bağlı olarak birbirinden ayrı görünüm sergileyen lobüler yapının ortadan kalktığı görülmüştür. Ancak hala dilatasyon ve konjesyon gösteren kan damarları bu alanlarda mevcut olarak izlenmiştir.

Dokuda “beyazlaşan” adipositlerin yüksek yağlı diyet uygulanan gruba kıyasla görece azaldığı ve kahverengi adipositlerin daha baskın hale gelmeye başladığı, “beyazlaşan” adipositlerin görüldüğü alanlarda ise füzyonun ortadan kalktığı ayırt edilmiştir (Resim 4.10).



Resim 4.10. 1,2 YYD grubundaki farelere ait kahverengi adipoz doku incelemeleri (Yüksek yağlı diyet ile birlikte düşük doz n-3 uygulanan grup kahverengi yağ dokusu kesitlerinde ⇨: dilate kan damarları, ◆: kan damarlarında konjesyon, →: “beyazlaşan” adipositler ve ⮑ : multivakuolar adipositler izleniyor (Hematoksilen-Eozin A: x100, B: x400).)

Yüksek yağlı diyet ile birlikte yüksek doz n-3 yağ asitleri alan grupta yapılan küçük büyültmeli incelemelerde; dokunun genel görünümünün normale döndüğü, kahverengi adipositlerin baskın hal aldığı, dilate kan damarlarının hacimce azaldığı izlenmiştir (Resim 4.11. A). Bu grup büyük büyültmeli incelemelerde standart diyet uygulanan grup haricindeki diğer gruplara kıyasla “beyazlaşan” adipositlerin artık sayılabilecek derecede az oldukları ve bu adipositlerin dejenere bir görünüm sergilemedikleri ayırt edilmiştir (Resim 4.11. B).



Resim 4.11. 2,4 YYD grubundaki farelere ait kahverengi adipoz doku incelemeleri (Yüksek yağlı diyet ile birlikte yüksek doz n-3 yağ asitleri alan grup kahverengi yağ dokusu kesitlerinde ⇨: kan damarları, →: “beyazlaşan” adipositler ve ⮑ : multivakuolar adipositler izleniyor (Hematoksilen-Eozin A: x100, B: x400).)

Tüm histokimyasal veriler üzerinden dejenerasyon kriterleri tablosu oluşturularak, Çizelge 4.17'ye veriler eklenmiştir.

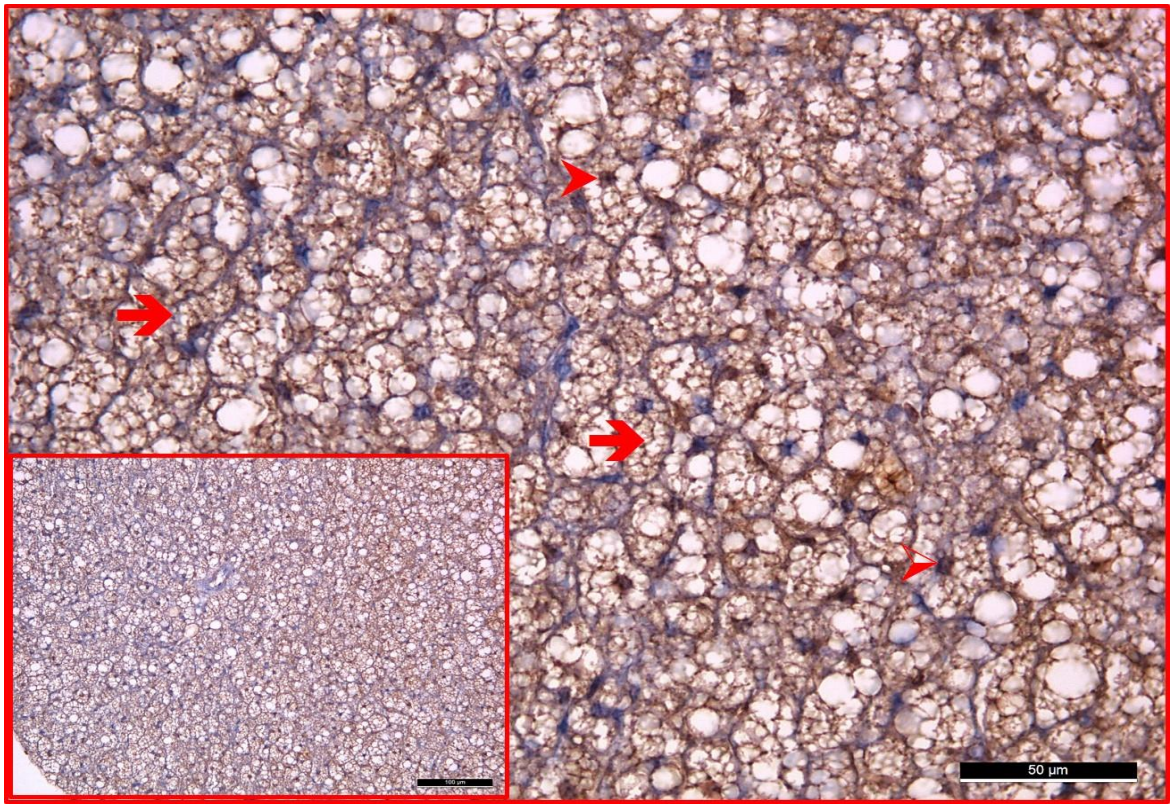
Çizelge 4.17. Farelerin gruplara göre adipoz dokularına ait dejenerasyon kriterleri

	BAD			KAD		
	YYD	1,2YYD	2,4YYD	YYD	1,2YYD	2,4YYD
Kan damarında dilatasyon	+++	++		+++	++	
Kan damarında konjesyon	+++	++		+++	++	+
Bağ dokuda artış	++	+		+++	+	
İnflamasyon	++					
Füzyon	++	+	+	++		
Miyelinizasyon	+++					
Dejeneratif adipositler	++	+		+		
Ondüle adipositler	++					
Nüklear silinme	++	+				
Beige/brite adiposit			++			
Beyazlaşan adiposit				+++	++	+
Kahverengi yağ doku yoğunluğunda azalma				+++	++	+

+++: Belirgin, ++: Orta, +: Hafif, Boş: Gözlenmedi. BAD: Beyaz adipoz doku, KAD: Kahverengi adipoz doku, YYD: Yüksek yağlı diyet

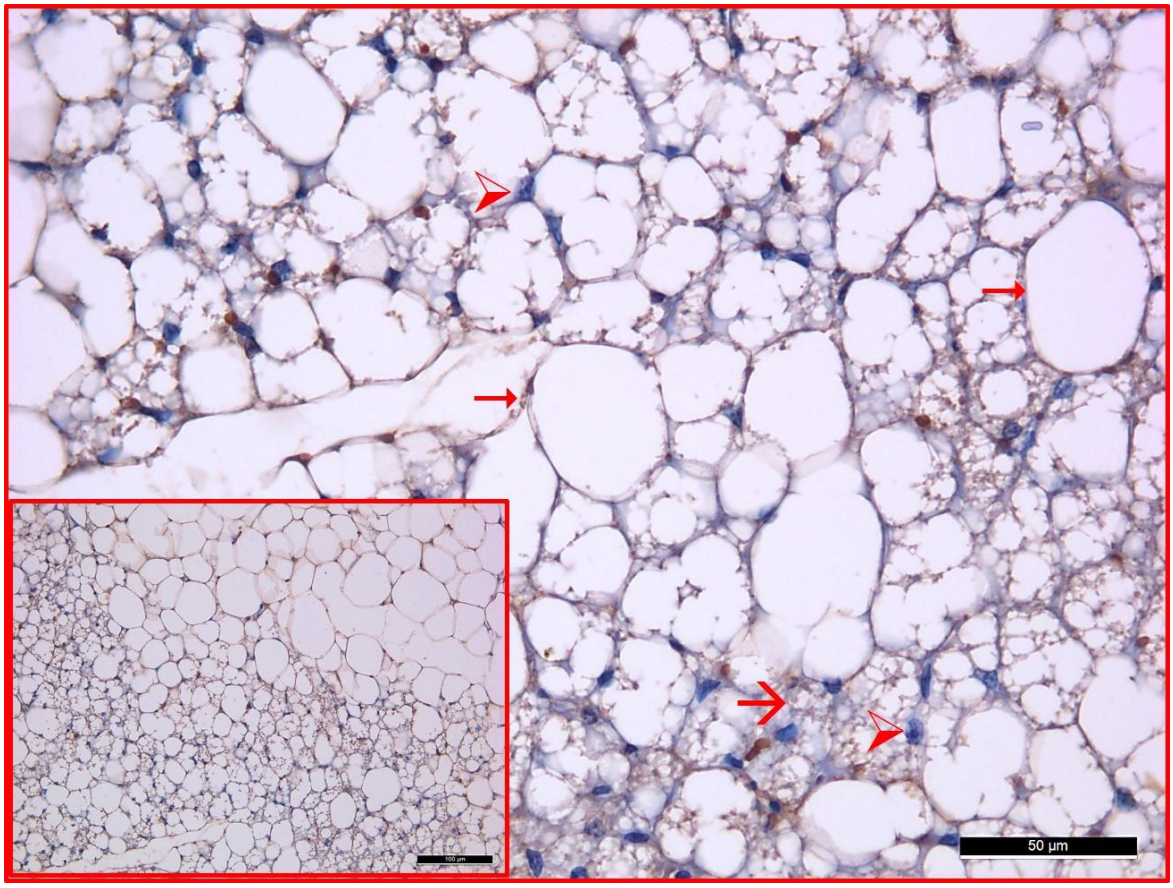
4.7.3. Farelerin kahverengi ve beyaz adipoz dokularına ait immünohistokimya boyama bulguları

Standart diyet uygulanan gruba ait multivakuolar kahverengi yağ pakelerindeki UCP-1 immün boyamalarında; tüm adipositlerde sitoplazmik düzeyde şiddetli immünreaktivite ayırt edilmiştir. Yer yer bazı adipositlerin nukleuslarında da immünreaktivitenin şiddetine koşut olarak pozitif immün boyanma görülmüştür (Resim 4.12. ve inset).



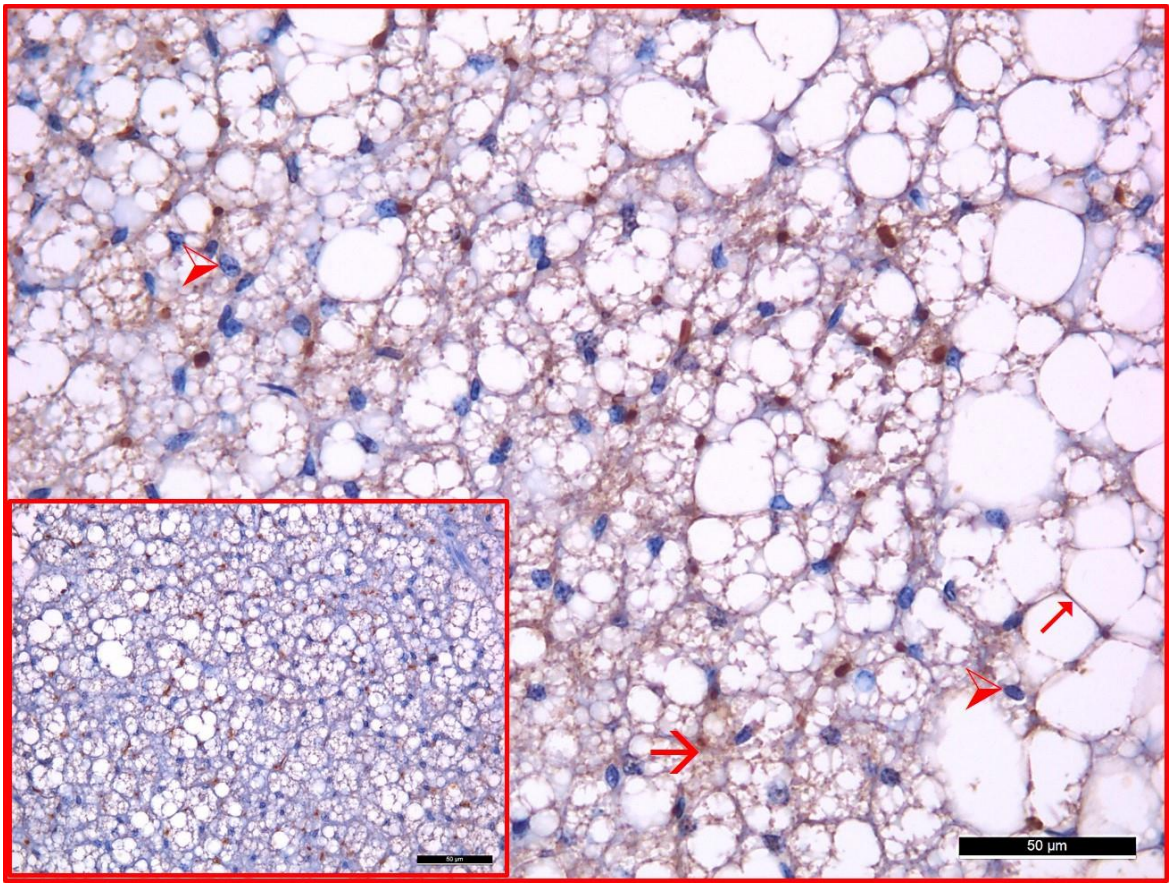
Resim 4.12. STD grubuna ait kahverengi yağ dokusunun UCP-1 primer antikoru ile immün boyama incelemeleri (Standart diyet uygulanan gruba ait kahverengi yağ dokusu UCP-1 primer antikoru immün boyamalarında ➔ : şiddetli immünreaktivite gösteren adipositler, ➤: immünreaktivite gösteren nükleuslar ve ➢ : immünreaktivite göstermeyen nükleuslar görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen x400 [inset: x200]).)

Yüksek yağlı diyet uygulanan gruba ait kahverengi yağ dokusunda, histokimyasal bulgular ile de örtüşen "beyazlaşan" adipositlerin artışına bağlı olarak, UCP-1 immün reaktivitesinin azaldığı ayırt edilmiştir. Tamamen sitoplazmik düzeyde görülen immünreaktivite, kahverengi adipositlerde zayıftan ortaya değişen şiddette, beyaz adipositlerde ise univakuolar özellikleri dolayısıyla nukleusların da konumlandığı az miktarda sitoplazma içeren membrana yakın bölgelerde zayıf olarak izlenmiştir (Resim 4.13 ve inset).



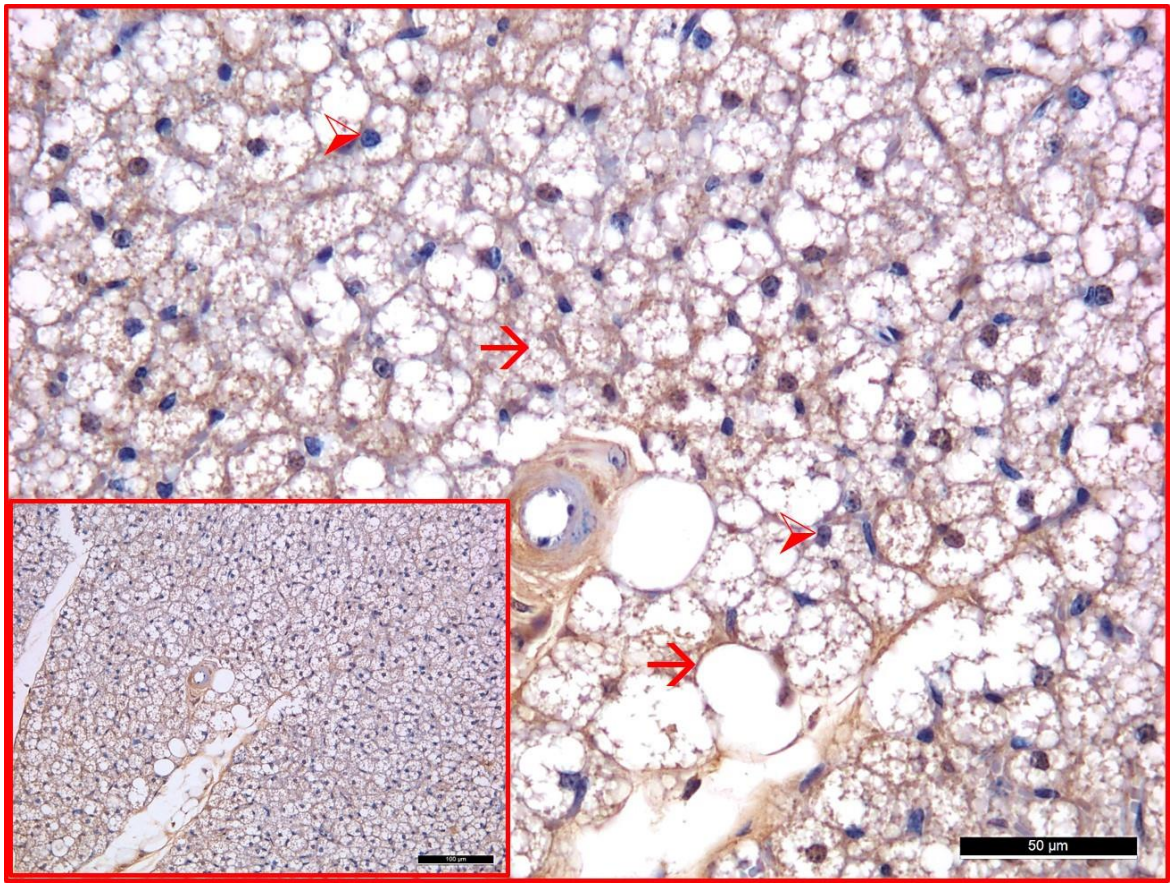
Resim 4.13. YYD grubuna ait kahverengi yağ dokusunun UCP-1 primer antikoru ile immün boyama incelemeleri (Yüksek yağlı diyet uygulanan gruba ait kahverengi yağ dokusu UCP-1 primer antikoru immün boyamalarında → : orta şiddetli immünreaktivite gösteren adipositler, ⟶ : zayıf immünreaktivite gösteren adipositler ve ➢ : immünreaktivite göstermeyen nükleuslar görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen x400 [inset: x200]).)

YYD ile birlikte düşük doz n-3 yağ asitleri alan gruba ait kahverengi yağ dokusunda yapılan UCP-1 immün boyama incelemelerinde; "beyazlaşan" adipositlerin görece azalması ile birlikte, YYD uygulanan gruba kıyasla daha fazla kahverengi adipositte sitoplazmik düzeyde orta şiddetli immünreaktivite ayırt edilmiştir. Bu grup "beyazlaşan" adipositlerde tutulum zayıftan ortaya değişen düzeyde izlenmiştir (Resim 4.14 ve inset).



Resim 4.14. 1,2 YYD grubuna ait kahverengi yağ dokusunun UCP-1 primer antikoru ile immün boyama incelemeleri (Yüksek yağlı diyet ile birlikte düşük doz n-3 yağ asitleri alan grup kahverengi yağ dokusu UCP-1 primer antikoru immün boyamalarında → : orta şiddetli immünreaktivite gösteren adipositler, → : zayıf immünreaktivite gösteren adipositler ve ➢ : immünreaktivite göstermeyen nükleuslar görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen x400 [inset: x200]).)

Yüksek yağlı diyet ile birlikte yüksek doz n-3 yağ asitleri alan gruba ait kahverengi yağ dokusunda yapılan UCP-1 immün boyama incelemelerinde; hem dokunun tamamına yakınını oluşturan kahverengi adipositlerde ve hem de görece çok az sayıdaki "beyazlaşan" adipositlerde orta ve ortadan şiddetliye değişen düzeyde sitoplazmik immünreaktivite ayırt edilmiştir (Resim 4.15 ve inset).

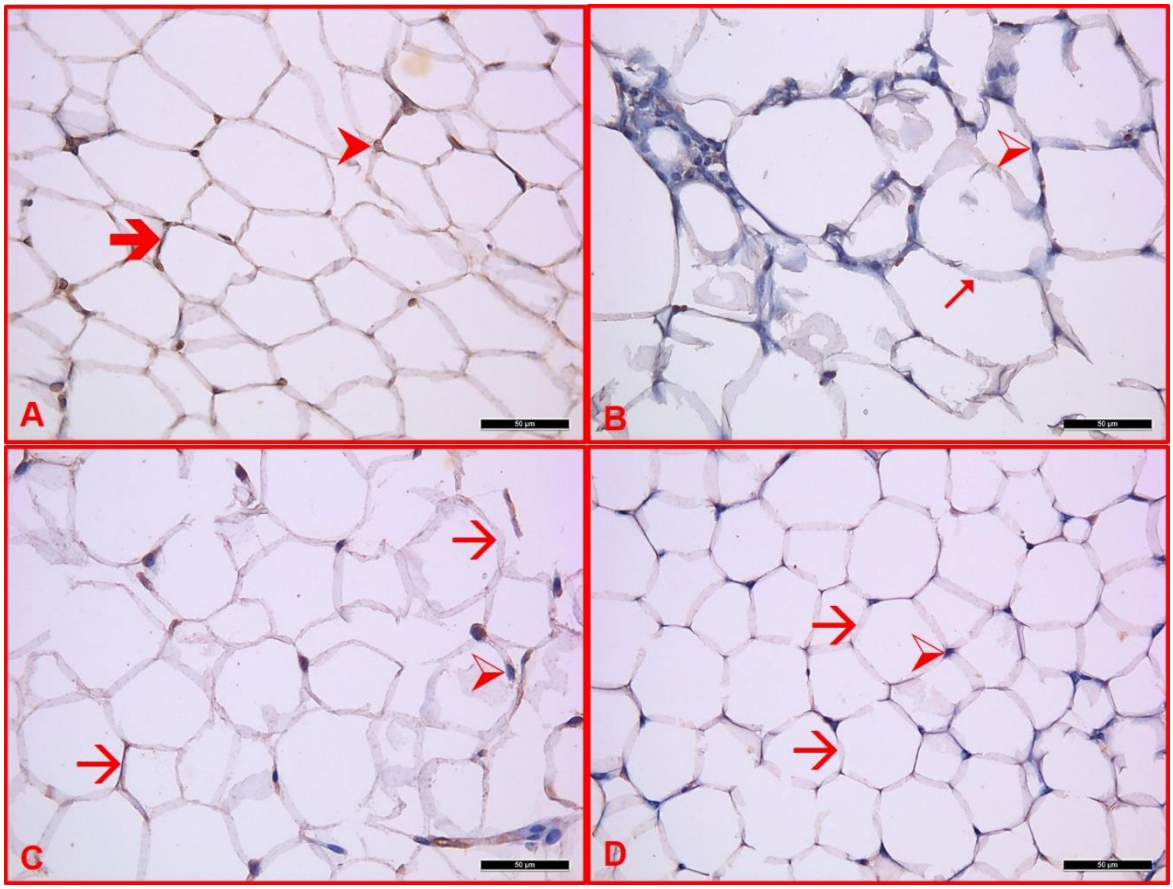


Resim 4.15. 2,4 YYD grubuna ait kahverengi yağ dokusunun UCP-1 primer antikoru ile immün boyama incelemeleri (Yüksek yağlı diyet ile birlikte yüksek doz n-3 uygulanan grup kahverengi yağ dokusu UCP-1 primer antikoru immün boyamalarında → : orta şiddetli immünreaktivite gösteren adipositler ve ➢ : immünreaktivite göstermeyen nükleuslar görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen x400 [inset: x200]).)

H-Skor verileri doğrultusunda yapılan istatistiksel analizler sonucunda; standart diyet uygulanan gruba ait UCP-1 immünreaktivitesinin kahverengi yağ dokusunda diğer gruplara kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu, yüksek yağlı diyet uygulanan grupta ise tutulumun standart diyet uygulanan gruba karşın anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). Yüksek yağlı diyet ile birlikte yüksek doz n-3 yağ asitleri alan gruba ait UCP-1 immünreaktivitesinin, yüksek yağlı diyet uygulanan gruba karşın anlamlı derecede arttığı ($p<0,05$); ancak yüksek yağlı diyet ile birlikte düşük doz n-3 yağ asitleri alan gruptaki immünreaktivite artışının, yüksek yağlı diyet uygulanan gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$) (Şekil 4.12).

Beyaz yağ pakelerine ait UCP-1 immün boyaması sonucu yapılan incelemelerde; beyaz adipositlerin univakuolar özelliklerine bağlı olarak tutulumların membrana yakın olarak

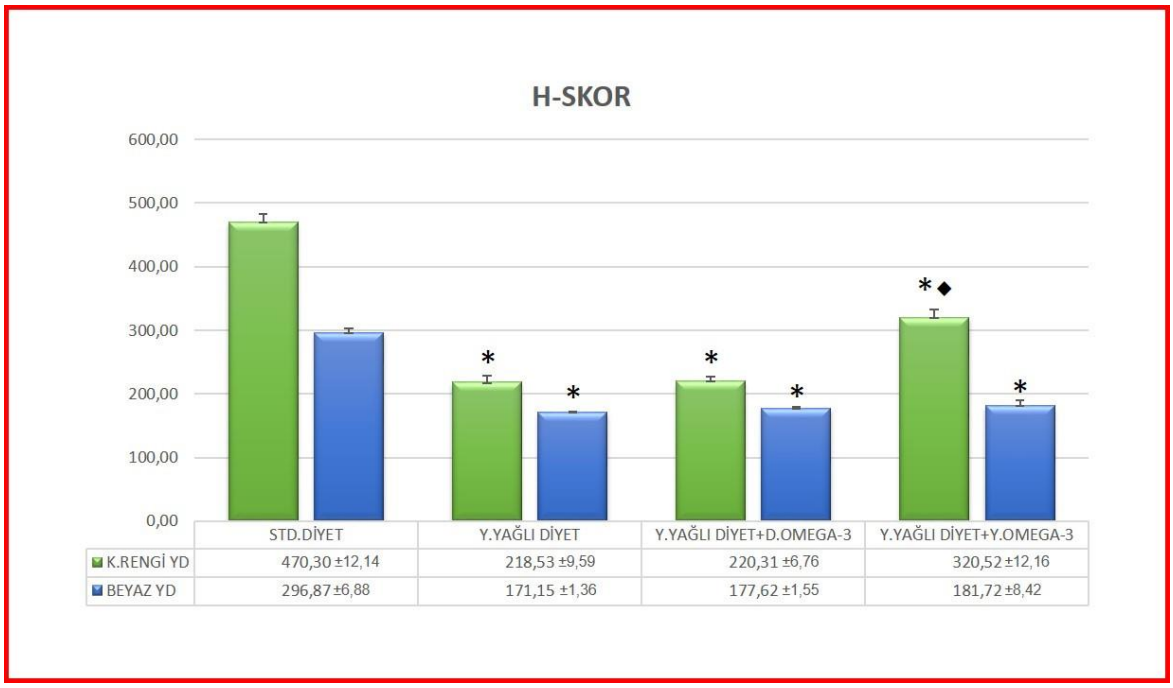
konumlanan oldukça ince yapıdaki sitoplazmalarında olduğu tespit edilmiştir. Tutulumun, standart diyet uygulanan grupta şiddetli ve sitoplazmik, ancak immünreaktivitenin şiddetine bağlı olarak yer yer nüklear olduğu izlenmiştir (Resim 4.16. A). UCP-1 immünreaktivitesinin yüksek yağlı diyet uygulanan grupta zayıf ve sitoplazmik (Resim 4.16 B), yüksek yağlı diyet ile birlikte düşük doz n-3 yağ asitleri alan grup ile yüksek yağlı diyet ile birlikte yüksek doz n-3 yağ asitleri alan grupta ise zayıftan-ortaya değişen şiddette olduğu izlenmiştir (Resim 4.16).



Resim 4.16. Farelerin beyaz yağ dokularının UCP-1 primer antikoru ile immün boyama incelemeleri (Tüm gruplara ait beyaz yağ dokusu UCP-1 primer antikoru immün boyamalarında ➔ : şiddetli immünreaktivite gösteren adipositler, ➤: immünreaktivite gösteren nükleuslar, → : orta şiddetli immünreaktivite gösteren adipositler, ⟶ : zayıf immünreaktivite gösteren adipositler ve ➢ : immünreaktivite göstermeyen nükleuslar görülüyor (A: standart diyet, B: yüksek yağlı diyet, C: yüksek yağlı diyet + düşük n-3, D: yüksek yağlı diyet + yüksek n-3) (İmmünperoksidaz-Hematoksilen A-D: x400).)

H-Skor verileri doğrultusunda yapılan istatistiksel analizler sonucunda; standart diyet uygulanan gruba ait UCP-1 immünreaktivitesinin beyaz yağ dokusunda diğer gruplara

kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu, yüksek yağlı diyet uygulanan grupta ise tutulumun standart diyet uygulanan gruba karşın anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). Yüksek yağlı diyet ile birlikte düşük doz n-3 yağ asitleri ve yüksek yağlı diyet ile birlikte yüksek doz n-3 yağ asitleri alan gruplara ait UCP-1 immünreaktivitelerindeki artışın ise, yüksek yağlı diyet uygulanan gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$) (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. UCP-1 immün boyamasına ait H-Skor analizlerini içeren karşılaştırmalı istatistiksel grafik ((*) Standart diyet uygulanan gruba karşın istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar, (◆) Yüksek yağlı diyet uygulanan gruba karşın istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar.)

5. TARTIŞMA

Obezite, küresel sağlık açısından giderek artan bir sorun olup, karmaşık ve çok faktörlü etiyolojilerle ilişkilendirilmektedir (Zapata ve diğerleri, 2022). İnsan ve hayvan çalışmaları, fetal dönem, bebeklik ve ergenlik gibi kritik gelişim evrelerinde beslenme ortamının, fizyolojik, fonksiyonel ve yapısal değişikliklere neden olarak metabolik yolları yeniden düzenleyebileceğini ve bu durumun yaşamın ilerleyen dönemlerinde obezite riskini artırabileceğini göstermektedir (Roseboom, 2019; Soch, Sominsky, De Luca ve Spencer, 2019; Zalewski ve diğerleri, 2017). Özellikle, emzirme ve sütten kesim dönemlerinde aşırı beslenmenin, yetişkinlikte kalıcı vücut ağırlık artışı, anormal glukoz ve lipid metabolizması, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı gelişimi ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (Ojha ve diğerleri; Yang ve diğerleri, 2023). Ayrıca, erken bebeklikteki büyüme hızı ile obezite gelişimi arasındaki ilişkiyi inceleyen bir meta analiz çalışması, 1 yaşa kadar bebek ağırlığındaki standart sapma (SD) skorunda her 1 birim artışın, çocukluk çağı obezitesi riskini iki katına çıkardığı ve yetişkin obezitesi riskinde %23'lük bir artışa neden olduğunu ortaya koymuştur (Druet ve diğerleri, 2012). Bu bulgular, çocukluk çağı obezitesinin önlenmesi için erken müdahalenin kritik bir rol oynadığını ortaya koymaktadır.

Çocukluk çağı obezitesindeki önleyici ve tedavi edici müdahaleler, eşlik eden sağlık sorunlarının yükünü azaltmada da çok önemlidir (Balasundaram ve Krishna, 2023). Son yıllarda, n-3 yağ asitleri, anti-inflamatuar ve lipid düşürücü etkileri nedeniyle obezitede potansiyel bir tedavi seçeneği olarak ön plana çıkmaktadır (Shahidi ve Ambigaipalan, 2018; Innes ve Calder, 2020). Çalışmalar, n-3 yağ asitlerinin termojenik belirteçleri düzenleyerek, enerji harcamasını artırarak ve metabolik esnekliği iyileştirerek BAD'da esmerleşmeyi teşvik ettiğini göstermektedir. Ayrıca KAD'da termojenez ve mitokondriyal biyogenez süreçlerini destekleyerek enerji homeostazını düzenlemeye katkı sağladığı bildirilmektedir (Machado ve diğerleri, 2022; Magro ve Dias, 2024). BAD ve KAD üzerindeki bu etkiler, n-3 yağ asitlerinin obezitenin temel bileşenlerinden biri olan yağ dokusu disfonksiyonunu hedef alan önemli bir rolünü açıklamaktadır. Yapılan çalışmalar, n-3 yağ asitlerinin vücut kompozisyonu, glukoz metabolizması, lipid profilleri ve inflamasyon üzerinde olumlu etkiler sağlarken, yağ dokusu işlevselliğiyle ilişkili gen ekspresyonunu da düzenlediğini ortaya koymuştur (Albracht-Schulte ve diğerleri, 2018; Bargut ve diğerleri, 2016a; Pahlavani ve diğerleri, 2017; Tishinsky, Ma ve Robinson, 2011). Bu bulgular, n-3 yağ

asitlerinin obezite ile ilişkili metabolik bozukluklarda potansiyel bir terapötik ajan olarak değerlendirilmesini desteklemektedir.

Bu çalışmada deneysel araştırmalarda yaygın olarak kullanılan ve insan obezitesinde gözlemlenen metabolik değişiklikleri yakından taklit eden YYD kaynaklı obezite modeli kullanılmıştır (Perez ve diğerleri, 2021; de Jesus Simão ve diğerleri, 2024). Bu tür diyet müdahalelerinin termojenik aktivasyon da dahil olmak üzere yağ dokusu yeniden şekillenmesini nasıl etkilediğini anlamak, obezite gelişimi ve ilerlemesindeki rollerini açıklığa kavuşturmak için çok önemlidir (da Cunha de Sá ve diğerleri, 2021). Bu nedenle, bu çalışma YYD kaynaklı obezitenin beyaz ve kahverengi yağ dokusu işlevi üzerindeki etkilerini, özellikle metabolik adaptasyonlar ve termojenezle ilişkili olarak incelemeye odaklanmıştır.

5.1. Farelerin Yem Tüketimleri, Enerji ve Besin Ögesi Alımları ile Vücut Ağırlıklarının Değerlendirilmesi

Deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalarda, YYD ile beslenen grupların diyetlerine n-3 yağ asitleri eklenmesinin, yem tüketimi üzerinde anlamlı bir farklılık oluşturmadığı belirlenmiştir (da Cunha de Sá ve diğerleri, 2020; Félix-Soriano ve diğerleri, 2023; Dias ve diğerleri, 2022; Miller ve diğerleri, 2019). Ancak bazı çalışmalarda YYD ile beslenen belirli alt grupların diyetlerine n-3 yağ asitleri eklenmesi ile besin alımında artma veya azalma olduğu gösterilmiştir. Örneğin; sekiz hafta boyunca enerjinin %12,9'unun n-3 yağ asitlerinden sağlandığı bir diyetle beslenen dişi farelerde, YYD tüketimi n-3 alımıyla değişmezken; erkek transgenik farelerde aynı orandaki n-3 takviyesinin yem alımını azalttığı; Bob-Cat cinsi farelerde ise n-3 yağ asitleriyle beslenen grupta yem tüketiminin arttığı bildirilmiştir (Amos, Cook, ve Santanam, 2019). Ayrıca, YYD'nin hem %1 EPA (Yang ve diğerleri, 2024) hem de %4 EPA (Wei ve diğerleri, 2021) ile zenginleştirilmesiyle 12 hafta sonunda yem tüketiminde azalmalar olduğu gözlenmiştir.

Yapılan bu çalışmada, STD grubunun günlük ortalama yem tüketiminin YYD uygulanan gruplara kıyasla anlamlı derecede daha yüksek olduğu ($p<0,001$), ancak YYD grupları arasında yem tüketimi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$). Yem tüketimi ile birlikte enerji alımı da STD grubunda fazla bulunmuştur (Çizelge 4.1). Bu çalışmayla uyumlu olarak, sekiz hafta boyunca toplam enerjinin %12,9'unun n-3 yağ asitleri ile zenginleştirildiği YYD (%45) uygulanan gruplarda,

yem tüketiminin azaldığı, ancak enerji alımının standart diyetle beslenen gruplara kıyasla daha düşük kalmaya devam ettiği gösterilmiştir (Amos ve diğerleri, 2019). Yapılan çalışmalarda, YYD ile beslenen hayvanların, normal kemirgen diyetine kıyasla daha az miktarda yem tükettiği bildirilmiştir (da Cunha de Sá ve diğerleri, 2020; Wei ve diğerleri, 2021). Bu azalma, YYD'nin daha yüksek enerji yoğunluğuna sahip olması ve daha fazla tokluk hissi yaratmasıyla ilişkilendirilmiştir (Pendergast ve diğerleri, 2013). Ayrıca bu çalışmada tüketilen kJ başına, vücut ağırlığı kazanımını gösteren yem etkinliği katsayıları da değerlendirilmiş ve STD grubunda, YYD gruplarına göre bu katsayılar daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$). YYD grupları arasında ise yem etkinliği katsayıları benzerlik göstermiştir ($p>0,05$) (Çizelge 4.1). Literatürde bazı çalışmalar YYD ile indüklenen obeziteyi, bu diyetlerin yüksek besin verimliliğine/yem etkinliğine bağlamaktadır (Díaz-Urbina, Escartín-Pérez, López-Alonso ve Mancilla-Díaz, 2018; Hariri ve Thibault, 2010). Yağlar diğer makro besin ögelerine kıyasla daha yüksek enerji yoğunluğuna sahip olduklarından vücut ağırlığı artışında da daha büyük bir etkiye sahiptir (Bastías-Pérez ve diğerleri, 2020a). Besinlerin sindirimi, emilimi ve depolanması sırasında harcanan enerji, besin ögesine göre değişmektedir. Proteinlerin enerji harcaması %25–30 iken, bu oran karbonhidratlar için %6–8 ve yağlar için %2–3 olarak bildirilmektedir. Dolayısıyla, makro besin ögelerinin metabolik kullanım verimlilikleri de birbirinden farklıdır; bu oran yağlar için %97–98, karbonhidratlar için %92–94 ve proteinler için %70–75 düzeyindedir. (Bastías-Pérez ve diğerleri, 2020a; Hariri ve Thibault, 2010). YYD'lerin yüksek enerji yoğunluğu, onların daha yüksek besin verimliliğine katkıda bulunur. Farelerin de, YYD'nin enerji yoğunluğuna bağlı olarak yem tüketimlerini dengelemeye çalıştıkları ve bu nedenle yem tüketimlerinde bir azalma gözlendiği belirlenmiştir. (Bastías-Pérez ve diğerleri, 2020a). Bu bulgular, yem tüketiminin yalnızca miktar değil, aynı zamanda diyetteki makro besin ögelerinin dağılımı ve enerji yoğunluğu gibi faktörlerden de etkilendiğini; bu nedenle YYD ile obezite gelişimi arasındaki ilişkinin, enerji alımı ve metabolik verimlilik gibi çoklu parametrelerle değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir.

Kemirgenler üzerinde yürütülen çalışmalar, n-3 yağ asitlerinin vücut ağırlığı ve adipoz doku üzerindeki etkilerine ilişkin farklı sonuçlar ortaya koymaktadır. Bazı çalışmalar, n-3 yağ asitlerinin lipid oksidasyonunun artması, enerji harcamasının artması ve termogenezisin uyarılması gibi mekanizmalar aracılığıyla vücut ağırlığını azaltabileceğini; bu etkilerin farklı vücut bölgelerindeki yağ dokusu birikimlerinde, adiposit boyutlarında ve toplam BAD ağırlığında gözlenen tutarlı azalmalarla desteklendiğini bildirmektedir (Whelan ve Whelan,

2020; Soni ve diğerleri, 2019; Amos ve diğerleri, 2019; Miller ve diğerleri, 2019; Oliveira ve diğerleri, 2019; Pahlavani ve diğerleri, 2019). Diğer yandan, bazı çalışmalar ise n-3 yağ asitleri alımının vücut ağırlığı üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığını bildirmiştir (Félix-Soriano ve diğerleri, 2023; Dias ve diğerleri, 2022; Saitoh ve diğerleri, 2020; Yamazaki, Li ve Ikaga, 2021). Ayrıca, EPA+DHA'dan gelen toplam enerjinin %9,3'ünü içeren 10 günlük kısa süreli müdahalede (Yamazaki ve diğerleri, 2021) ve n-3 yağ asitlerinden gelen toplam enerjinin %4,9'unu içeren 48 haftalık uzun süreli müdahalelerde (Félix-Soriano ve diğerleri, 2021; Félix-Soriano ve diğerleri, 2023), vücut ağırlığında bir değişiklik gözlenmemesine rağmen, toplam BAD kütlesinde ve epididimal ile mezenterik bölgelerdeki BAD birikimlerinde azalma rapor edilmiştir. Bu bulgularla uyumlu olarak, vücut ağırlığında anlamlı bir değişiklik olmasa bile vücut kompozisyonuna ilişkin vücut yağ oranı, toplam yağ kütlesi ve yağ depolarında azalma gibi olumlu etkiler bildirilmiştir (Dias ve diğerleri, 2022; Félix-Soriano ve diğerleri, 2021; Yamazaki ve diğerleri, 2021). Öte yandan yapılan bir başka çalışmada, balık yağının obezite üzerindeki yalnızca önleyici değil, aynı zamanda tedavi edici etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada, obezite indüklenmeden önce başlanan balık yağı takviyesinin ağırlık artışını engellediği gösterilmiştir. Ancak balık yağı, obezite indüklendikten sonra uygulandığında, ağırlık kaybı üzerinde sınırlı bir etki göstermiştir. Bu bulgu, n-3 yağ asitlerinin koruyucu etkilerinin daha baskın olduğunu, yerleşik obeziteyi geriletme konusunda ise yeterince güçlü bir etki göstermeyebileceğini düşündürmektedir (Okue, Ishikawa ve Nakahara, 2021).

Bu çalışmada deney sonunda ölçülen vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.8). Deney sonunda çıkarılan BAD ağırlıkları karşılaştırıldığında ise, 1,2 YYD grubunun diğer gruplar arasında en yüksek BAD ağırlığına sahip olduğu ve bu değerin STD grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında ise BAD ağırlıkları açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Ayrıca, epididimal+inguinal ve retroperitoneal adipoz doku ağırlıkları da toplam BAD ağırlıkları ile benzer bir dağılım göstermiştir (Çizelge 4.8). Bu bulgu, n-3 yağ asitlerinin yağ dokusu birikimi üzerindeki etkilerinin doza ve deney süresine bağlı olarak farklılık gösterebileceğini düşündürmektedir. Yapılan bir çalışmada, Wistar cinsi ratlara 8 hafta boyunca %60 yağ içeren yüksek yağlı diyete ek olarak toplam enerjinin %3,4'ü EPA ve DHA'dan sağlanan bir diyetle beslenmesi sonucunda vücut ağırlığında artış gözlenmiştir (Chacińska ve diğerleri, 2019). Yapılan diğer çalışmalarda, C57BL/6J cinsi farelerin 48 hafta boyunca %45 yağ

içeren yüksek yağlı diyete ek olarak, toplam enerjinin %4,9'unun EPA+DHA'dan sağlandığı bir diyetle beslenmeleri sonucunda, n-3 yağ asidi almayan gruplarla karşılaştırıldığında vücut ağırlığı açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır (Félix-Soriano ve diğerleri, 2021; Félix-Soriano ve diğerleri, 2023). Bu çalışmalar, mevcut çalışmamızı destekler nitelikte olup, nispeten düşük oranda n-3 yağ asidi alımının vücut yağlanmasını artırabileceğini, ancak daha yüksek dozlarda bu etkinin baskılanabileceğini göstermektedir. Ayrıca, 1,2 YYD grubunda gözlenen artmış BAD ağırlığına rağmen 2,4 YYD grubunda bu artışın sınırlı kalması, n-3 yağ asitlerinin adipoz doku metabolizması üzerindeki kompleks düzenleyici etkilerini destekler niteliktedir. Bu sonuçlar, n-3 yağ asitlerinin obezite ile ilişkili adipoz doku birikimini yalnızca miktar değil, aynı zamanda dokuda füdejeneratif değişimler üzerinden de etkileyebileceğine işaret etmektedir.

Bu çalışmada, YYD ile beslenmenin STD diyetlere kıyasla yem tüketimi, enerji alımı ve vücut ağırlığı üzerindeki etkisi belirlenmiş; ancak YYD grupları arasında n-3 yağ asitlerinin bu parametreler üzerindeki etkisi belirsiz kalmış ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Çeşitli çalışmalar, yağ türünün obezite gelişiminde önemli bir rol oynayabileceğini göstermekte; asıl belirleyici unsurun, diyetteki yağların enerji içeriğinden çok, yağ asidi profili olduğu vurgulanmaktadır (Moussavi, Gavino ve Receveur, 2008; Wang, Storlien ve Huang, 2002; Kien, Bunn ve Ugrasbul, 2005). Diyetle indüklenen obezite çalışmalarında yaygın olarak kullanılan YYD'ler, genellikle yüksek oranda doymuş ve/veya trans yağ içermekte olup, bu tür yağlar obezite ve metabolik hastalıklara yatkın hayvan modellerinde söz konusu durumları indüklemede oldukça etkilidir (Bruce-Keller ve diğerleri, 2010; Trevaskis ve diğerleri, 2012). Öte yandan, n-3 yağ asitleri gibi tekli doymamış yağ asitlerinden zengin yağlar, sağlık açısından faydaları ve YYD ile ilişkili obeziteyi önleyici etkileriyle tanımlanmıştır (Pal, Metherel, Fiabane, Buddenbaum ve Shaikh, 2020; Wei ve diğerleri, 2021). Bu etkilerin; lipid metabolizması ve adipokinlerin düzenlenmesi, yağ dokusu kütlesi ve inflamasyonunun azaltılması, adipogenezisin teşviki ve epigenetik mekanizmaların modülasyonu gibi çeşitli biyolojik yollarla gerçekleştiği öne sürülmektedir (Wang ve diğerleri, 2015; Miller ve diğerleri, 2019; Yang ve diğerleri, 2021).

Dikkate alınması gereken bir diğer önemli unsur ise, diyetle alınan n-6 ve n-3 yağ asitleri oranıdır. Bu orandaki artışın, özellikle obezite, diyabet ve kanser gibi kronik hastalıkların görülme sıklığındaki artışla ilişkili olduğu bildirilmektedir (Simopoulos, 2016; Hao, Chen,

Nie, Kaliannan ve Kang, 2023; Lepretti, Martucciello, Burgos Aceves, Putti ve Lionetti, 2018). Yapılan çeşitli çalışmalarda, diyette n-3 yağ asidi alımının artırılması ve n-3/n-6 oranının yükseltilmesinin, hem kemirgenlerde (Hou ve diğerleri, 2012; Dai ve diğerleri, 2016), hem de insanlarda (Su, Lee, Cheng ve Huang, 2015; Zeng ve diğerleri, 2014; Zhang ve diğerleri, 2012) adipoziteyi azaltabileceği ve glukoz ile lipid metabolizmasını iyileştirebileceği, inflamasyonu azaltabileceği gösterilmiştir. Ayrıca, insan çalışmalarında n-3 yağ asitlerinin serum trigliserit düzeylerini ve vücut ağırlığını azaltarak, zamanla ortaya çıkabilecek kan basıncı artışını engelleyebileceği ve böylece hipertansiyon gelişimini yavaşlatabileceği bildirilmiştir (Zeng et al., 2014). Bununla birlikte, n-3/n-6 oranının artırılmasıyla kardiyovasküler risk belirteçlerinde anlamlı düzeyde azalma sağlandığı gösterilmiştir (Zhang et al., 2012). YYD ile birlikte kullanılan ve aynı enerji yoğunluğuna sahip diyetlerin, içerdiği n-6/n-3 yağ asidi oranları bakımından farklılık gösterebilmektedir (Hao ve diğerleri, 2023). Bu çalışmada kullanılan diyetler incelendiğinde, 1,2 YYD grubunun n-6/n-3 oranı 10,0 iken, 2,4 YYD grubunun oranı 5,1 olarak belirlenmiştir (EK-3). Vücut ağırlığı ve bölgesel BAD ağırlıkları dikkate alındığında, 1,2 YYD grubunda gözlenen artışın, yüksek n-6/n-3 yağ asidi oranına da bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada diyetle alınan n-3 yağ asitleri etkilerini yalnızca yem tüketimi, makro besin ögesi alımı ve vücut ağırlığı açısından değil, obezite yönetiminde bütüncül bir yaklaşımla ele alınması gerekliliği önemlidir. Çalışmalarda gösterilen tutarsızlıkların farklı hayvan modelleri (tür, cinsiyet ve yaş), n-3 yağ asitlerinin dozu veya müdahalenin uygulanma yolu ve süresi gibi deneysel koşullardaki değişikliklere bağlı olabileceği düşünülmektedir. Ek olarak, n-3 yağ asitleri, enerji alımdan bağımsız olarak enerji harcamasını etkileyebilen lipid oksidasyonu ve termojenez gibi metabolik yolları düzenlediği de göz önünde bulundurulduğunda, n-3 yağ asitlerinin obezite ile ilişkili metabolik riski azaltma potansiyeli dikkat çekmektedir (Fan ve diğerleri, 2019; Albracht-Schulte ve diğerleri, 2018). Ancak vücut ağırlığı ve besin tüketimi ile ilgili tutarlı sonuçlar için verilen dozaj, bileşim ve müdahale süresinin dikkatli bir şekilde değerlendirilmesi gerekmektedir.

5.2. Farelerin Biyokimyasal Parametrelerinin Değerlendirilmesi

BAD, enerjinin trigliserit formunda depolandığı temel yapı olmasının yanı sıra, leptin ve adiponektin gibi çeşitli adipokinleri salgılayan önemli bir endokrin organ olarak da görev yapmaktadır. Bu özelliği sayesinde, başta lipid ve glukoz metabolizması olmak üzere birçok

fizyolojik sürecin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Martínez-Fernández ve diğerleri, 2015). n-3 yağ asitlerinin metabolik etkileri de bu mekanizmaları desteklemekte, lipid ve glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde modülatör olarak işlev gördükleri bildirilmektedir. Lipid profillerini değerlendiren çeşitli deney hayvanı çalışmalarında, n-3 yağ asitlerinin farklı doz ve sürelerde diyete eklenmesinin, total kolesterol, trigliserit ve LDL kolesterol düzeyleri gibi parametrelerde iyileşmeler sağladığı bildirilmiştir (da Cunha de Sá ve diğerleri, 2020; Wei ve diğerleri, 2021; Dias ve diğerleri, 2022; Nishitani ve diğerleri, 2020; Okue ve diğerleri, 2021).

Yapılan çalışmalarda, C57BL/6J cinsi farelere, yüksek yağlı diyete EPA ve DHA'yı 5:1 veya 1:5 oranlarında içeren balık yağı, 2 g/kg dozunda oral gavaj yoluyla uygulandığında, EPA/DHA oranındaki farklılıklardan bağımsız olarak, total kolesterol ve trigliserit düzeylerinde azalma (da Cunha de Sá ve diğerleri, 2020; 2021) ve HDL düzeylerinde artış (da Cunha de Sá ve diğerleri, 2020) bildirilmiştir. Toplam EPA+DHA etkisinin değerlendirildiği bir başka çalışmada ise, enerjinin %4,9'unun EPA+DHA'dan sağlandığı 48 haftalık bir müdahale sonucunda total kolesterol, trigliserit ve LDL kolesterol düzeylerinde azalma rapor edilmiştir (Félix-Soriano ve diğerleri, 2021). Yüksek yağlı diyetin n-3 yağ asitleri ile zenginleştirilmesiyle, enerjinin %12,9'unun n-3 yağ asitlerinden sağlandığı 8 haftalık müdahale sonunda total kolesterol düzeylerinde azalma ve HDL düzeylerinde artış rapor edilmiştir (Amos ve diğerleri, 2019). EPA ve DHA'nın etkilerinin ayrı ayrı değerlendirildiği bir çalışmada, %3 oranında EPA içeren diyete 8 hafta boyunca devam edilmesiyle total kolesterol düzeylerinde düşüş bildirilmiştir (Nishitani ve diğerleri, 2020). Ayrıca, 12 haftalık uygulama süresince farklı EPA/DHA dozlarının karşılaştırılması sonucunda %1 EPA, %4 EPA ve %4 DHA gruplarında total kolesterol düzeylerinde azalma; %4 DHA grubunda LDL kolesterol düzeylerinde düşüş ve %2 EPA ve %2 DHA grubunda ise HDL düzeylerinde artış rapor edilmiştir (Wei ve diğerleri, 2021). Omega-3 yağ asitlerinin serum lipidlerini düşürmedeki olası mekanizmaları arasında, karaciğerde lipid oksidasyonunun artırılması ve yağ asidi sentezine ilişkin genlerin baskılanması yer almaktadır. Ayrıca buna ek olarak, yağ asidi oksidasyonunda görev alan Cpt I, Mcad ve Aco gibi oksidasyon enzimlerinin ekspresyonunun artması, özellikle hız sınırlayıcı enzim olan Cpt I'in aktivitesinin yükselmesi, balık yağının serum lipid düzeylerini azaltmadaki rolünü açıklamaktadır (Yamazaki ve diğerleri, 2021).

Bu çalışmada elde edilen bulgular, serum lipid profilleri açısından değerlendirildiğinde, serum trigliserit ve LDL kolesterol düzeyleri arasında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Ancak, YYD grubunun trigliserit ve LDL kolesterol düzeyleri, 1,2 YYD ve 2,4 YYD gruplarına kıyasla daha yüksek düzeyde seyretmiştir. Total kolesterol düzeyleri açısından, YYD gruplarında standart diyet grubuna göre anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,05$). YYD grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte, en düşük total kolesterol düzeyleri 1,2 YYD ve 2,4 YYD gruplarında saptanmıştır. HDL kolesterol düzeyleri açısından, STD ve YYD grupları arasında anlamlı bir fark belirlenmiş ($p<0,05$), YYD gruplarının HDL düzeyleri kendi aralarında benzerlik göstermiştir. Bununla birlikte, 1,2 YYD ve 2,4 YYD gruplarının HDL düzeyleri, standart diyet grubuna kıyasla daha yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.10). Bu bulgular, n-3 yağ asitlerinin serum lipid profili üzerindeki düzenleyici etkilerinin, farklı doz ve oranlarda uygulanmasına rağmen tutarlı ve olumlu etkiler oluşturabildiğini göstermektedir. Özellikle total kolesterol ve HDL düzeylerinde gözlenen eğilim, n-3 yağ asitlerinin kardiyometabolik risk faktörleri üzerinde potansiyel olarak iyileştirici etkileri olduğunu desteklemektedir (Liu ve diğerleri, 2023). Effects of omega-3 fatty acids supplementation on serum lipid profile and blood pressure in patients with metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Foods, 12*(4), 725. Ayrıca kullanılan diyetlerin içerdiği kolesterol miktarları da gruplar arasında farklılık göstermektedir. Yüksek yağlı diyet grubunun tükettiği yemde 46,6 mg kolesterol/kg yem içeriğine sahipken, enerjinin %1,2'si oranında n-3 yağ asidi içeren diyette bu miktar 159 mg/kg; %2,4 n-3 yağ asidi içeren diyette ise 275,5 mg/kg olarak belirlenmiştir (EK-3). Buna rağmen, diyetle alınan kolesterol miktarının daha yüksek olduğu 1,2 YYD ve 2,4 YYD gruplarında serum kolesterol düzeylerinin YYD grubuna kıyasla daha düşük seyretmesi, n-3 yağ asitlerinin kolesterol düşürücü etkisini doğrulamaktadır. Bununla birlikte, trigliserit ve LDL kolesterol düzeylerinde anlamlı fark oluşmaması, bu etkilerin doza, uygulama süresine ve n-6/n-3 oranına duyarlı olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde bildirilen benzer sonuçlar ile birlikte değerlendirildiğinde, bu çalışma n-3 yağ asitlerinin lipid profili üzerindeki etkilerini destekler niteliktedir.

Metabolik bütünlüğün sağlanmasında, lipid profili kadar glukoz regülasyonu da önemli bir rol oynamaktadır. Adipoz doku, insüline bağımlı glukoz alımının başlıca gerçekleştiği doku olmamakla birlikte, sistemik insülin direncinin gelişiminde merkezi bir rol oynamaktadır (Chacińska ve diğerlei, 2019). Glukoz metabolizmasına ilişkin yürütülen çalışmalarda, YYD

ile birlikte uygulanan n-3 yağ asitlerinin açlık serum glukozu ve insülin düzeylerinde iyileşme sağladığı bildirilmiştir (Nishitani ve diğerleri, 2020; Oliveira ve diğerleri, 2019; Lin ve diğerleri, 2023; Simao, Bispo, Plata ve Armelin-Correa, 2024). Bu etkilerin, obeziteyle bozulan insülin sinyal yolunda yer alan IRS-1, PI3K ve Akt gibi temel sinyal moleküllerinin modülasyonu aracılığıyla, glukoz taşıyıcısı GLUT4'ün sitozolden hücre zarına taşınmasını teşvik ederek hücre içi glukoz alımını artırmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir (Sinha, Haque, Lugova ve Kumar, 2023). Bu durumu destekleyen bir çalışmada, sıçanlara uygulanan %6 oranındaki balık yağı takviyesinin, yüksek yağlı/yüksek sakkarozlu diyetle indüklenen karaciğer, iskelet kası ve beyaz yağ dokusundaki Akt fosforilasyonunu iyileştirdiği; buna bağlı olarak insülin direnci ve glukoz intoleransının önlendiği bildirilmiştir (Samane ve diğerleri, 2009). Benzer şekilde, DHA tedavisi, obez farelerin karaciğer ve epididimal yağ dokularında insülin sinyal yolaklarından Akt proteininin fosforilasyonunu artırarak, insülin sinyal iletiminin güçlendiğini ve insülin direncinin azaldığını göstermiştir (Lin ve diğerleri, 2023). Bu bulgular, n-3 yağ asitlerinin insülin sinyal iletim yolunu modüle ederek, insülin direncinin önlenmesine katkı sağlayabileceğini ortaya koymaktadır ve bu mekanizmaları destekleyen çalışmalarda, n-3 yağ asitlerinin açlık serum glukozu ve insülin düzeyleri üzerindeki etkilerine dikkat çekilmiştir. EPA ile zenginleştirilmiş yüksek yağlı diyetlerin, enerji alımını etkilemeksizin diyet kaynaklı obezite ve insülin direncini azalttığı gösterilmiştir (Oliveira ve diğerleri, 2019). Ayrıca, enerjinin %3,4'ünün EPA+DHA'dan (Chacińska ve diğerleri, 2019) ve %12,9'unun n-3 yağ asitlerinden (Amos ve diğerleri, 2019) sağlandığı 8 haftalık müdahalelerde, glukoz ve insülin düzeylerinde anlamlı azalma gözlenmiştir. Bu değişiklikler, çalışmalarda GTT ve ITT sonuçlarında da anlamlı iyileşmelerle desteklenmiştir (Oliveira ve diğerleri, 2019; Saitoh ve diğerleri, 2020; Wei ve diğerleri, 2021; Miller ve diğerleri, 2019). Bununla birlikte, bazı çalışmalar n-3 yağ asitlerinin serum glukoz veya insülin düzeyleri üzerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir etki göstermediğini bildirmektedir. Örneğin, C57BL/6J farelerine 10 gün boyunca %30 yağ içeren diyetle birlikte, toplam enerjinin %9,3'ünün EPA+DHA'dan sağlandığı bir beslenme modeli uygulandığında, serum glukoz düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır (Yamazaki ve diğerleri, 2021). Benzer şekilde, 48 hafta süresince %45 yağ içeren yüksek yağlı diyetle birlikte enerjinin %4,9'unun EPA+DHA'dan sağlandığı bir çalışmada da serum glukoz ve insülin düzeylerinde istatiksel açıdan anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (Félix-Soriano ve diğerleri, 2021). Ancak bu çalışmalarda, n-3 yağ asitlerinin kısa ve uzun dönem etkilerinin yanı sıra, yüksek yağlı diyetlerin yağ asidi profili

ve kullanılan hayvanların yaşları gibi faktörlerin de göz önünde bulundurularak dikkatle yorumlanması gerekmektedir.

Bu çalışmada serum glukoz düzeyleri değerlendirildiğinde, STD grubunda açlık glukoz değerleri 2,4 YYD grubuna kıyasla anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$); ancak insülin düzeyleri gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). n-3 yağ asitleri alan gruplarda insülin düzeylerinin daha yüksek olması, n-3 yağ asitlerinin insülin sekresyonunu artırabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca glukoz metabolizmasının n-3 yağ asitleri müdahalesi ile değiştirilip değiştirilmediğini anlamak için yapılan GTT ve ITT sonuçlarına göre hesaplanan AUC değerleri açısından gruplar arasında fark bulunmamakla birlikte ($p>0,05$) (Çizelge 4.11), n-3 yağ asidi takviyesi yapılan gruplarda glukoz toleransında iyileşme ve 2,4 YYD grubunda insülin duyarlılığında artış eğilimi gözlenmiştir.

Genel olarak değerlendirildiğinde, n-3 yağ asitlerinin glukoz metabolizması üzerinde olumlu etkiler gösterebileceği, özellikle 2,4 YYD grubunda bu etkinin daha belirgin olabileceği görülmektedir. Bununla birlikte, serum insülin düzeylerinde gözlenen yükselmenin istatistiksel olarak anlamlı olmaması, glisemik yanıtların yalnızca insülin salınımı ile değil, aynı zamanda insülin duyarlılığı, periferik glukoz kullanımı ve hedef dokuların tepkisi gibi birden fazla faktörle ilişkili olduğunu göstermektedir. YYD ile birlikte n-3 yağ asitleri alımının glukoz metabolizmasına etkisinin daha net ortaya konabilmesi için, yapılacak müdahalelerde doz, süre ve diyet bileşiminin dikkatle standardize edilmesi gerekmektedir.

Serum düzeyleri değerlendirilen önemli bir adipokin olan adiponektin, insülin duyarlılığını artıran ve anti-inflamatuar özellikleriyle bilinen, bu yönüyle metabolik sağlık üzerinde koruyucu etkiler gösteren bir moleküldür (Félix-Soriano ve diğerleri, 2023; da Cunha de Sá ve diğerleri, 2021). Literatürde, adiponektin eksikliğinin insülin direncine yol açtığı ve bu durumun artan vücut kütlesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Ziemke ve Mantzoros, 2010; de Luis, Primo, Izaola ve Gomez, 2024; Kadowaki ve diğerleri, 2006) Kemirgenlerde yapılan çalışmalarda, n-3 yağ asitleri alımını takiben çeşitli BAD depolarında (örn. eBAD, scBAD, mBAD) adiponektini kodlayan genin mRNA düzeylerinde artış gözlenmiş, bu durum, adipoz doku fonksiyonunun iyileştiğini ve sistemik metabolik sağlığın olumlu yönde etkilendiğini göstermektedir (Wei ve diğerleri, 2021; Chacińska ve diğerleri, 2019; Amos ve diğerleri, 2019; Simao ve diğerleri, 2024). Bununla birlikte, yalnızca hayvan modellerinde değil, obez bireylerde yürütülen bir klinik çalışmada da üç ay boyunca günde

1,8 g EPA uygulamasıyla plazma adiponektin düzeylerinde anlamlı bir artış bildirilmiştir (Itoh ve diğerleri, 2007). Bu çalışmada ise serum adiponektin düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Ancak, istatistiksel olarak bir fark olmamasına rağmen, 1,2 YYD ve 2,4 YYD gruplarının serum adiponektin düzeylerinin hem YYD grubuna hem de standart diyet grubuna kıyasla daha yüksek seyretmiş olması dikkat çekicidir (Çizelge 4.10). Bu bulgu, n-3 yağ asitlerinin adiponektin düzeyleri üzerinde olumlu etkiler oluşturabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca bu eğilim, n-3 yağ asitlerinin insülin duyarlılığını artırıcı özellikleri ile uyumlu bir şekilde literatürle de örtüşmektedir (Li, Wang, Xu, Yu, ve Li, 2025).

Adipositler tarafından salgılanan ve enerji dengesi ile iştahın düzenlenmesinde önemli rol oynayan bir diğer adipokin olan leptin, obezite ve metabolik sağlıkla yakından ilişkilidir (Bastías-Pérez, 2020a). İnsan ve kemirgen çalışmaları, obezitenin daha yüksek plazma leptin konsantrasyonlarıyla ilişkili olduğunu göstermiştir (Obradovic ve diğerleri, 2021; Picó, Palou, Pomar, Rodríguez ve Palou, 2022). YYD uygulamasının başlangıç aşamasında kemirgenler, leptinin iştah baskılayıcı etkilerine duyarlıdır. Ancak zamanla, plazma leptin düzeylerindeki artışa rağmen, artan yem verimliliği ve gelişen leptin direnci sonucunda vücut ağırlığında artış gözlemlenmektedir (Fam ve diğerleri, 2007). Ayrıca, yüksek yağlı diyetin içeriğinde yer alan yağ asitlerinin türü de leptin hormonunun dolaşımdaki seviyesini etkileyebilmektedir (Izadi, Saraf-Bank ve Azadbakht, 2014). Farklı yağ depoları (visseral, subkutan vs.), leptin hormonunu farklı düzeylerde salgılayabilir; bu da diyetle alınan yağ asidi profilinin dolaşımdaki leptin düzeyini dolaylı yoldan etkileyebileceğini göstermektedir (Bastías-Pérez, 2020a).

Literatürde, n-3 yağ asitlerinin leptin gen ekspresyonu ve serum leptin konsantrasyonu üzerindeki etkilerine ilişkin çeşitli bulgular yer almaktadır. Yapılan bir çalışmada, YYD ile birlikte %3,4 oranında EPA+DHA içeren 8 haftalık takviye (Chacińska ve diğerleri, 2019) ve %2 oranında EPA içeren 12 haftalık müdahale (Wei ve diğerleri, 2019) sonrasında hem VAT hem de scWAT dokularında leptin ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir. Benzer şekilde yüksek enerjili ve yüksek yağlı diyet ile beslenen ratlarda, n-3 yağ asitleri takviyesinin leptin seviyelerinde daha fazla artışa yol açtığı gösterilmiştir (Pérez-Matute, Pérez-Echarri, Martínez, Marti ve Moreno-Aliaga, 2007). Buna ek olarak, yapılan bir in vitro çalışmada EPA'nın 3T3-L1 adipositlerinde leptin mRNA ekspresyonunu artırdığı rapor edilmiştir (Murata ve arkadaşları, 2000). Bu artışlar, n-3 yağ asitlerinin adipoz doku

fonksiyonu üzerindeki düzenleyici etkilerini veya farklı adipoz dokularına özgü spesifik yanıtlarını yansıtabilir. Ancak obezitede yüksek leptin ekspresyonu genellikle leptin direnciyle ilişkilidir; bu durum, dolaşımdaki yüksek leptin düzeylerinin iştahın baskılanması ve enerji homeostazının sağlanmasında etkili sinyal iletimini gerçekleştirememesi ile karakterizedir (Wei ve diğerleri, 2021; Yang ve diğerleri, 2024). Bazı çalışmalar, n-3 yağ asitlerinin özellikle obeziteye bağlı leptin direncini iyileştirebileceğini öne sürerken (Wei ve diğerleri, 2021); uzun süreli (%4,9 EPA+DHA, 48 hafta) uygulamalarda leptin ekspresyonunun azaldığı ve bunun inflamasyonun azalması ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir (Félix-Soriano ve diğerleri, 2023). Bu çalışmada ise serum leptin düzeyleri değerlendirildiğinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.10). Bununla birlikte, YYD grupları incelendiğinde, en düşük serum leptin düzeyinin 1,2 YYD grubunda, en yüksek düzeyin ise 2,4 YYD grubunda gözlenmesi dikkat çekicidir. Bu durum, n-3 yağ asitlerinin leptin düzeyleri üzerindeki etkisinin doza bağlı olarak farklılık gösterebileceğini düşündürmektedir. Her ne kadar bu çalışmada inflamatuar belirteçler değerlendirilmemiş olsa da hem adiponektinin hem de leptinin aynı zamanda inflamatuar süreçlerdeki rolleri dikkate alındığında, bu adipokinlerin düzeylerindeki değişimlerin yalnızca enerji dengesiyle değil, inflamasyonla ilişkili mekanizmalarla da bağlantılı olabileceği düşünülmektedir.

5.3. Farelerin Gen Ekspresyonlarının Değerlendirilmesi

Bu çalışmada, KAD'da enerji harcamasıyla ilişkili bazı önemli genlerin ekspresyon düzeyleri değerlendirilmiştir. UCP-1, PGC-1α, PRDM16 ve GPR120 gibi genler, özellikle termogenez, mitokondriyal biyogenez, adiposit farklılaşması ve inflamasyonun düzenlenmesi gibi birçok metabolik süreçte yer almaktadır. (Soni ve diğerleri, 2019; Dias ve diğerleri, 2022; Simao ve diğerleri, 2024; Yamazaki ve diğerleri, 2019). Enerji harcamasını artırma potansiyeli nedeniyle KAD, obezite ile mücadelede önemli bir hedef olarak kabul edilmektedir (Pahlavani ve diğerleri, 2017). Bu dokunun termojenik kapasitesi mitokondriyal iç zar üzerinde bulunan ve titremesiz termojenezi sağlayan UCP-1 proteininin ekspresyon düzeyiyle doğrudan ilişkilidir (Oliveira ve diğerleri, 2019; Félix-Soriano ve diğerleri, 2021; Okue ve diğerleri, 2021). Literatürde, n-3 yağ asitlerinin KAD'da UCP-1 ekspresyonunu artırarak metabolik aktivitenin artışına katkı sağladığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Pahlavani ve diğerleri, 2019; Félix-Soriano ve diğerleri, 2021). Bu etkilerden biri, mide ve bağırsaklardaki duyusal sinirlerde bulunan geçici reseptör

potansiyeli katyon kanalı alt ailesi V üyesi 1'in (TRPV1) aktivasyonu yoluyla gerçekleşebilir. n-3 yağ asitleri tarafından aktive edilen TRPV1, noradrenalin salınımını artırarak β3-adrenerjik reseptörler aracılığıyla UCP-1 ekspresyonunu indükleyebilir; böylece kahverengi ve bej adipositlerde termojenez uyarılarak anti-obezite etkiler ortaya çıkabilir (Yamazaki ve diğerleri, 2021). Yapılan bir çalışmada, 11 hafta boyunca EPA ile zenginleştirilmiş (diyet enerjisinin yaklaşık %6,75'i) yüksek yağlı bir diyetle (yağdan gelen kcal'nin %45'i) beslenen farelerin interskapular KAD'larında UCP-1 protein düzeylerinin, sadece yüksek yağlı veya düşük yağlı diyetle beslenen farelere kıyasla anlamlı derecede arttığı bildirilmiştir (Pahlavani ve diğerleri, 2017). Kısa ve uzun süreli müdahaleleri değerlendiren çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Yüksek yağlı diyet ile birlikte 10 gün boyunca enerjinin %9,3'ünün (Yamazaki ve diğerleri, 2021) ve 48 hafta boyunca enerjinin %4,9'unun EPA+DHA'dan sağlandığı (Félix-Soriano ve diğerleri, 2021) diyetlerin uygulanması sonucunda farelerin KAD'larında UCP-1 gen ekspresyonunun anlamlı şekilde arttığı bulunmuştur. Balık yağının etkilerinin incelendiği bir çalışmada ise toplam enerjinin %39,4'ünün balık yağından geldiği yüksek yağlı bir diyetle (%45) beslenen farelerde dört hafta sonunda KAD'da UCP-1 geninin ekspresyon düzeyinin arttığı bulunmuştur (Okue ve diğerleri, 2021). Bu çalışmada ise kahverengi yağ dokusunda değerlendirilen UCP-1 gen ekspresyon düzeyleri gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir ($p>0,05$) (Çizelge 4.12). Bununla birlikte, UCP-1 geninin ekspresyonu, 2,4 YYD grubunda en yüksek düzeyde, 1,2 YYD grubunda ise en düşük düzeyde saptanmıştır. Bu bulgular literatürde yer alan çalışmalarla birlikte değerlendirildiğinde, farklı süre ve dozlarda uygulanan n-3 yağ asitlerinin, UCP-1'in ekspresyonunu artırarak kahverengi yağ dokusunun termojenik aktivitesini desteklediği ve böylece potansiyel bir anti-obezite etkisi oluşturabileceği düşünülmektedir.

UCP-1'e ek olarak, PGC-1α da KAD'ın termojenik kapasitesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. PGC-1α, mitokondriyal biyogenezin yanı sıra enerji metabolizmasında görev alan birçok termojenik genin transkripsiyonel aktivasyonunda ko-aktivatör olarak işlev görmektedir (Miller ve diğerleri; 2021; Simao ve diğerleri, 2024). Literatürde, n-3 yağ asitleri takviyesinin KAD'da PGC-1α ekspresyonunu artırarak termojenik yanıtları güçlendirdiği bildirilmiştir (Worsch ve diğerleri, 2018; Bargut ve diğerleri, 2016a). Özellikle EPA'nın etkilerini araştıran çalışmalarda, 14 hafta boyunca enerjinin %6,9'unun EPA'dan sağlandığı yüksek yağlı diyetin, farelerin KAD'ında PGC-1α gen ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir (Miller ve diğerleri, 2021; Pahlavani ve diğerleri, 2019). Benzer şekilde, balık

yağı takviyesinin (2 g/kg) PGC-1α geninin ekspresyonunu artırdığı ve bunun artan oksidatif metabolizma kapasitesini yansıttığı rapor edilmiştir (Simao ve diğerleri, 2024). Bu çalışmada ise PGC-1α gen ekspresyonu açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamış olmakla birlikte (Çizelge 4.12), n-3 yağ asidi alan gruplarda (1,2 YYD, 2,4 YYD) rölatif ekspresyon düzeylerinin YYD grubuna kıyasla daha yüksek olması, bu genin n-3 yağ asitlerine duyarlı olabileceğini göstermektedir. Çalışmalarda kullanılan doz ile çalışma süresinin bu yanıtları etkileyebileceği düşünülmektedir. Bulgular n-3 yağ asitlerinin KAD aktivitesinin artırılması yoluyla metabolik sağlığı destekleyebileceğini göstermektedir.

PRDM16 ise kahverengi adipositlerin farklılaşmasında görev alan başlıca transkripsiyonel düzenleyicilerden biridir. Özellikle PGC-1α ile etkileşimi yoluyla mitokondriyal biyogenezi ve termojenik gen ekspresyonunu tetiklediği bilinmektedir (Seale ve diğerleri, 2008). Literatürde, PRDM16'nın kahverengi adipositlere özgü gen programını aktive ettiği ve miyojenik gen ekspresyonunu baskıladığı gösterilmiştir (Obregon, 2014; Ziqubu ve diğerleri, 2023; Martins ve diğerleri, 2024). Bu durum, PRDM16'nın yağ dokusu ve iskelet kası hücreleri arasında hücresel farklılaşma yönünün belirlenmesinde etkili olduğunu göstermektedir.

Literatürde, n-3 yağ asitlerinin KAD'da PRDM16 gen ekspresyonu üzerindeki etkilerine ilişkin farklı bulgulara rastlanmaktadır. Bazı hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda, n-3 yağ asitlerinin farklı doz ve müdahale sürelerinde YYD ile birlikte uygulanmasının, PRDM16 gen ekspresyonunu anlamlı şekilde artırdığı gösterilmiştir (Soni ve diğerleri, 2019; Félix-Soriano, 2021). Bununla birlikte, bazı araştırmalar, n-3 yağ asitlerinin PRDM16 ekspresyonu üzerinde anlamlı bir değişikliğe yol açmadığını ortaya koymuştur (Pahlavani ve diğerleri, 2019; Yamazaki ve diğerleri, 2021). Bu çalışmada ise PRDM16 gen ekspresyonu açısından gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmıştır ($p<0,05$). Özellikle n-3 yağ asidi takviyesi yapılan gruplarda ekspresyon düzeylerinin tek başına YYD grubuna kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür. En yüksek ekspresyon düzeyi 1,2 YYD grubunda gözlenmiştir (Çizelge 4.12; Şekil 4.10). Çalışmalarda bulunan sonuçların farklılık göstermesi, kullanılan n-3 yağ asidi türü, uygulama dozu, müdahale süresi, deneysel hayvanın yaş ve cinsiyeti, genetik yapısı ve çevresel faktörler (örneğin; ortam sıcaklığı) gibi değişkenlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Özellikle kısa süreli müdahalelerde PRDM16 gibi doğrudan ya da dolaylı olarak birçok hedef genin ifadesini kontrol eden, hücre

farklılaşması ve metabolik işlevlerin koordinasyonunda görev yapan genlerde belirgin ekspresyon değişikliklerinin saptanması zor olabilir. Ayrıca, PRDM16'nın aktivitesi yalnızca ekspresyon düzeyleriyle değil, aynı zamanda PGC-1α gibi ko-regülatörlerle olan etkileşimiyle de şekillendiğinden, n-3 yağ asitlerinin etkilerinin yalnızca transkripsiyon düzeyinde değil, aynı zamanda protein düzeyinde (örneğin translasyon sonrası düzenleme) de değerlendirilmesi önemlidir.

PRDM16 genine ilişkin bulgular, KAD'ın metabolik yeniden programlanmasında n-3 yağ asitlerinin potansiyel etkilerini desteklemektedir. Bununla birlikte, KAD'ın fonksiyonel aktivitesini etkileyen bir diğer önemli unsur da hücresel düzeyde sinyal iletiminde rol oynayan reseptör proteinleridir. GPR120, yağ dokusunda yüksek oranda ifade edilen ve n-3 yağ asitleri tarafından aktive edilen uzun zincirli bir yağ asidi reseptörüdür. GPR120'nin anti-inflamatuar sinyal yollarının düzenlenmesi, glukoz homeostazı ve insülin duyarlılığı gibi metabolik süreçlerde önemli roller üstlendiği gösterilmiştir (Wei ve diğerleri, 2021; Dias ve diğerleri, 2022; Amos ve diğerleri, 2019). Ayrıca, GPR120 kahverengi adipositlerin enerji metabolizması üzerinde etkili olabilir. Bu reseptörün, n-3 yağ asitleri veya sentetik agonistleri aracılığıyla aktivasyonu, FGF21 salınımını artırarak KAD'ın aktivitesini ve BAD'ın kahverengileşmesini teşvik etmektedir (Song ve diğerleri, 2017). EPA veya ALA uygulamasının BAT ve inguinal beyaz adipositlerde, UCP1, PGC-1α ve FGF21 ekspresyonunu artırdığını bildirmiştir (Quesada-L´opez ve diğerleri, 2016). GPR120'nin adipoz dokunun kahverengileşmesindeki rolünü destekleyen bir diğer bulgu, GPR120 eksikliği olan inguinal beyaz yağ doku prekürsör hücrelerinin, eksiklik bulunmayan farelerden elde edilen hücrelere kıyasla termojenik ve adipogenik belirteçleri daha geç kazandığını göstermektedir (Quesada-L´opez ve diğerleri, 2016). Buna ek olarak, EPA veya GPR120 agonisti ile yapılan tedavinin, kahverengi preadipositlerde mitokondriyal fonksiyonu ve BAT'a özgü genlerin (UCP1, CIDEA, PRDM16, PPAR-γ) ekspresyonunu artırdığı bildirilmiştir (Kim ve diğerleri, 2016). Bununla birlikte, bazı çalışmalar n-3 yağ asitlerinin kahverengi yağ hücresi adipogenezini yalnızca GPR120 aracılığıyla değil, aynı zamanda GPR120'den bağımsız alternatif sinyal yolları üzerinden de indükleyebileceğini ortaya koymuştur (Bargut, Martins, Santos, Aguila ve Mandarim-de-Lacerda, 2019; Wei ve diğerleri, 2021). Örneğin; %4 DHA içeren bir diyetin PPARγ'yı aktive ederek esmerleşmeyi desteklediği, ancak GPR120 ekspresyonunu etkilemediği gösterilmiştir. Ayrıca, %4 EPA'nın hem PPARγ hem de GPR120 sinyal yollarından bağımsız olarak termojenik yağ hücrelerini artırabildiği rapor edilmiştir (Wei ve diğerleri, 2021). Bu doğrultuda, bazı

araştırmalar, n-3 yağ asitleri alımından sonra GPR120 gen ekspresyonunda önemli bir değişiklik olmadığını (Saitoh ve diğerleri, 2020), hatta ekspresyon düzeylerinde bir azalma olduğunu bildirse de (Yang ve diğerleri, 2024; Félix-Soriano ve diğerleri; 2023), bu çalışmalarda görülen metabolik ve inflamatuar belirteçlerdeki eş zamanlı iyileştirmeler, n-3 yağ asitlerinin etkilerini alternatif düzenleyici mekanizmalar aracılığıyla uyguladığını ve GPR120'nin işlevsel aktivasyonunun transkripsiyonel ekspresyonundan bağımsız olarak gerçekleşebileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmada GPR120 gen ekspresyon düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.12). Bununla birlikte, n-3 yağ asidi alan gruplarda GPR120 geninin rölatif ekspresyon düzeylerinin YYD grubuna kıyasla daha yüksek bulunması, bu reseptörün n-3 yağ asitlerinin varlığına yanıt olarak daha fazla aktive olabileceğini ve bu yolla etkisini artırabileceğini düşündürmektedir. Aynı zamanda GPR120'nin aktivasyonu, insülin sinyal yolunda görevli PI3K, AKT ve GLUT4 gibi molekülleri uyararak yağ hücrelerindeki insülin duyarlılığını düzenlediği bildirilmektedir (Jia ve Liu, 2022). Yapılan bir çalışmada DHA'nın hem in vivo hem de in vitro deneylerle desteklenen GPR120 ekspresyonunu artırarak yağ hücrelerindeki insülin duyarlılığını doğrudan iyileştirdiğini göstermiştir (Yang ve diğerleri, 2024). Bu açıdan değerlendirildiğinde, bu çalışmada n-3 yağ asitleri alan gruplarda gözlenen (istatistiksel olarak anlamlı olmasa da) insülin duyarlılığındaki artışın, YYD grubuna kıyasla GPR120 ekspresyonunun daha yüksek olmasıyla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu sonuçlar, GPR120'nin yalnızca bir ekspresyon düzeyi göstergesi değil, aynı zamanda insülin direnci ve enerji metabolizmasındaki düzenleyici rolünün daha kapsamlı mekanizmalar aracılığıyla ortaya çıkabileceğini doğrulamaktadır.

Sonuç olarak, bu çalışmada değerlendirilen UCP1, PGC-1α, PRDM16 ve GPR120 gen ekspresyonları, n-3 yağ asitlerinin kahverengi yağ dokusu metabolizması ve termojenik kapasite üzerindeki potansiyel düzenleyici etkilerini desteklemektedir. Ancak bu etkilerin doz, uygulama süresi, doku tipi ve genetik özellikler gibi birçok faktöre bağlı olarak farklılık gösterebileceği unutulmamalıdır. Gelecekte yapılacak çalışmalarla, bu genlerin etkileşimleri ve n-3 yağ asitlerinin moleküler etkileri daha detaylı olarak ortaya konulabilir.

5.4. Farelerin Adipoz Dokularının Değerlendirilmesi

Metabolizmadaki değişikliklere yanıt olarak, adipoz dokular adipositlerin sayısında ve/veya boyutundaki değişikliklerle hızla ve dinamik olarak yeniden şekillenebilir. Adipoz dokunun

yeniden şekillenme süreci de novo lipogenez, adipogenez, apoptoz ve termogenez süreçlerini kapsamaktadır. Obezitenin patofizyolojisinde özellikle de novo lipogenez (yağ asidi sentezini teşvik eder ve yağ hücrelerinin boyutunu artırır; hipertrofi) ve adipogenez (yeni hücreler oluşturarak yağ hücrelerinin sayısını artırır; hiperplazi) süreçlerinin aktive olmasıyla birlikte, adipoz dokunun genişlemesi ve vücutta anormal yağ birikimi gözlemlenmektedir (Wei ve diğerleri, 2021). Yağ dokusunun genişleme kapasitesi, hiperplazi ve hipertrofi arasındaki dengeye bağlıdır. Toplam yağ hücresi sayısı genellikle erken çocukluk döneminde belirlenmekte ve hiperplazinin derecesi, ileri yaşlarda gelişebilecek obezite için güçlü bir öngörücü olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle, yaşamın erken dönemlerinde maruz kalınan çevresel ve beslenmeye bağlı faktörlerin, yağ ve kas hücrelerinin proliferasyon ve farklılaşma kapasitesini şekillendirerek obeziteye yatkınlık üzerinde programlayıcı etkiler gösterebileceği öne sürülmektedir (Ojha, Saroha, Symonds ve Budge, 2013).

Literatürde, n-3 yağ asitlerinin adiposit hipertrofisini azaltarak toplam yağ kütlesinin artmasını sınırlayabileceği öne sürülmektedir (Kopecky et al., 2009; LeMieux, Kalupahana, Scoggin ve Moustaid-Moussa, 2015). Yapılan bir çalışmada, YYD ile obezite indüklenen farelerde, subkutan ve viseral bölgedeki BAD kütlesinde anlamlı bir artış olduğu ve kontrol grubuna kıyasla bu bölgelerdeki adipositlerin belirgin şekilde hipertrofiye uğradığı bildirilmiştir. EPA açısından zengin balık yağının (EPA:DHA oranı 5:1), obeziteye bağlı gelişen hipertrofik adiposit yapısının tersine çevrilmesinde etkili sonuçlar elde edildiği rapor edilmiştir. Bu bulgular, n-3 yağ asitlerinin yalnızca yağ birikimini değil, aynı zamanda adiposit morfolojisini de olumlu yönde etkileyebileceğini göstermektedir (da Cunha de Sá ve diğerleri, 2020). Bu çalışmada inguinal BAD ve interskapular KAD'ın morfolojik yapılarını değerlendirmek için hematoksilen-eozin boyamaları uygulanmış ve elde edilen histolojik bulgular karşılaştırılmıştır. İnguinal BAD'da, YYD grubunda damar yapılarında belirgin dilatasyon ve konjesyonun yanı sıra bağ dokuda artış ve adiposit füzyonları gözlenmiştir (Resim 4.2). Bu bulgular, n-3 yağ asidi takviyesi yapılan gruplara kıyasla daha yaygın ve şiddetli olarak izlenmiştir. YYD grubunda ayrıca miyelinizasyon benzeri görünüm sergileyen ve heterojen yapıda olan adipositler izlenmiştir. Buna karşılık, bu tür anormal morfolojik özelliklere 1,2 YYD ve 2,4 YYD gruplarında rastlanmamıştır (Resim 4.3; Resim 4.4). n-3 yağ asitleri alan gruplarda adipositlerin daha düzenli konturlara sahip, homojen büyüklükte ve simetrik yerleşimli olduğu gözlemlenmiş; bu yapısal görünüm, STD grubundakine benzerlik göstermiştir. KAD'da yapılan histolojik incelemelerde ise, YYD

grubunda konjesyon, dilatasyon ve bağ dokuda artış gözlenmiş; ayrıca bu grupta dejeneratif adipositler saptanmıştır. n-3 yağ asitleri verilen gruplarda bu bozulmaların daha az olduğu, özellikle 2,4 YYD grubunda bu etkilerin minimum düzeyde kaldığı görülmüştür (Çizelge 4.18). Bu durum, yüksek doz n-3 yağ asitleri alımının yüksek yağlı diyete bağlı gelişen metabolik işlev bozukluğunu düzenleyerek KAD'ın aktivitesini yeniden regüle ettiğini ve dolayısı ile doku üzerinde koruyucu etki gösterdiğini düşündürmüştür.

Bozulmuş metabolik işlevlerin yanı sıra, obezitede artan yağ dokusu birikimi düşük dereceli kronik inflamasyonla birlikte seyretmektedir. Bu süreç, hipertrofiye uğramış adipositlerden pro-inflamatuar sitokinlerin salınımının artması ve anti-inflamatuar adipokinlerin azalmasıyla karakterizedir (da Cunha de Sá ve diğerleri, 2020). Başlangıçta yağ dokusuna özgü olan inflamasyon süreçleri zamanla kronik sistemik inflamasyona dönüşerek karaciğer ve iskelet kası gibi dokuları etkileyebilmektedir. Bu nedenle, yağ dokusundan salınan pro-inflamatuar/anti-inflamatuar moleküllerin düzenlenmesi obezite ile ilişkili komorbiditelerin gelişimini azaltmak için önemli bir hedef haline gelmektedir. İnsanlar ve kemirgenler üzerinde yapılan çalışmalar, n-3 yağ asitlerinin, obezite ve metabolik sendrom da dahil olmak üzere çeşitli kronik inflamatuar hastalıklar üzerinde koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir (Martínez-Fernández ve diğerleri, 2015; Calder, 2015). Yapılan bu çalışmada, serum düzeyinde inflamatuar belirteçler analiz edilmemiş olsa da doku analizinde YYD grubunda inflamasyon bulgularına rastlanmış; buna karşın n-3 yağ asidi takviyesi yapılan gruplarda (1,2 YYD, 2,4 YYD) inflamatuar hücre infiltrasyonu saptanmamıştır (Çizelge 4.18).

Kahverengi veya bej yağ hücrelerinin aktivasyonu obeziteyle mücadelede umut vadeden bir yaklaşım olarak önerilmektedir. Bunun temel nedeni, özellikle kemirgen modellerinde bu hücrelerin termojenezi ve enerji harcamasını artırma potansiyellerinin gösterilmesidir (Pahlavani ve diğerleri, 2019). Ancak yüksek yağlı diyetle beslenen hayvan modellerinde kahverengi yağ dokusunun beyazlaşması, mitokondri kaybı ve fonksiyon bozukluğu gibi süreçler, metabolik disfonksiyonun habercisi olarak rapor edilmiştir (Della Guardia L ve Shin, 2022; Pellegrinelli ve diğerleri, 2023). Buna karşılık, n-3 yağ asitlerinin anti-inflamatuar özellikleri sayesinde adipoz dokuda bağ doku birikimini azalttığı, vasküler yapının korunmasına katkı sağladığı ve kahverengileşmeyi destekleyerek metabolik sağlığı iyileştirdiği bildirilmektedir (da Cunha de Sá ve diğerleri, 2020). Yapılan bir çalışmada hematoksilen boyama sonuçlarına göre diyetlerine n-3 yağ asitleri eklenen farelerin scWAT

depolarında daha fazla kahverengileşme (veya indüklenebilir ve multiloküler bej/brite yağ hücrelerinin gelişimi) ve daha küçük hücre boyutu gösterilmiştir (Miller ve diğerleri, 2019). Yapılan bu çalışmada YYD grubunda kahverengi adipositlerde belirgin beyazlaşma olduğu görülmüştür. Bu bulgu n-3 yağ asitleri ile birlikte azalmış ve 2,4 YYD grubunda minimal düzeye inmiştir. Önemli bir başka gözlem ise 2,4 YYD grubunda bej/brite adipositlerin varlığıdır. Bu morfolojik değişiklik, beyaz yağ dokusunun kahverengileşme sürecine girdiğini ve bu süreçte n-3 yağ asitlerinin katkısının olabileceğini göstermektedir (Çizelge 4.18).

Genel olarak değerlendirildiğinde, n-3 yağ asitlerinin KAD ve BAD'da histolojik düzeyde dokunun bütünlüğünü koruyarak inflamasyonu azalttığı, vasküler ve stromal yapıyı dengelediği, ayrıca kahverengileşmeyi destekleyerek potansiyel anti-obezite etkiler sunduğu söylenebilir. Bu bulgular, adipoz dokuya özgü morfolojik değişimlerin yalnızca genetik ve biyokimyasal düzeyde değil, histolojik düzeyde de anlamlı bir şekilde düzenlenebileceğini göstermektedir.

Kemirgenlerde yapılan çalışmalar, UCP-1 eksikliğinin termonötral koşullarda yüksek yağlı diyetin olumsuz etkilerini artırdığını ve bu hayvanların, yağ kütlesindeki artışa paralel olarak vücut ağırlığında daha belirgin bir artış göstermeye yatkın olduklarını ortaya koymuştur (Cui ve diğerleri, 2016; Pahlavani ve diğerleri, 2019). UCP-1, kahverengi yağ dokusunun termojenik kapasitesini belirleyen anahtar bir mitokondriyal proteindir ve genellikle kahverengi ile bej yağ dokularının metabolik aktivitesini değerlendirmede kullanılan özgül bir biyomarkerdir. Literatürde, n-3 yağ asitlerinin kahverengi yağ dokusunda UCP-1 düzeylerini artırarak termojenez mekanizmasını desteklediği ve bu yolla obeziteye karşı koruyucu etki oluşturduğu bildirilmiştir (Félix-Soriano ve diğerleri, 2021; Okue ve diğerleri, 2021; Pahlavani ve diğerleri, 2017). Bu etkinin, özellikle EPA ve DHA gibi uzun zincirli n-3 yağ asitleri tarafından uyarılan GPR120/PGC-1α/PRDM16 ekseninden geçtiği, termojenik gen ekspresyonunu ve mitokondriyal aktiviteyi artırdığı bildirilmektedir (Quesada-López ve diğerleri, 2016; Kim ve diğerleri, 2016). Bu çalışmada hem inguinal BAD'da hem de interskapular KAD'da UCP-1 immunohistokimyasal boyamaları gerçekleştirilmiş ve H-Skor verileriyle desteklenen istatistiksel analizler yapılmıştır. BAD'da elde edilen bulgulara göre, STD grubuna ait UCP-1 immünreaktivitesinin diğer gruplara kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu, YYD grubunda ise belirgin bir azalma görüldüğü saptanmıştır ($p<0,05$). n-3 yağ asitleri verilen 1,2 YYD ve 2,4 YYD gruplarında UCP-1 immünreaktivitesinde YYD

grubuna kıyasla bir artış görülse de bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$) (Şekil 4.12). KAD'da elde edilen immunohistokimyasal veriler, n-3 yağ asitlerinin termojenik aktiviteyi düzenleme potansiyelini daha net ortaya koymaktadır. KAD'da STD grubunda UCP-1 immünreaktivitesinin diğer gruplara kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu, YYD grubunda ise tutulumun STD grubuna karşın anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). 2,4 YYD grubunda ise UCP-1 immünreaktivitesinin, YYD grubuna kıyasla anlamlı şekilde arttığı belirlenmiş olup ($p<0,05$), bu durum yüksek doz n-3 yağ asidi uygulamasının kahverengi yağ dokusundaki termojenik yanıtı tekrar aktive edebildiğini düşündürmektedir. Buna karşılık, 1,2 YYD grubunda gözlenen immünreaktivite artışı istatistiksel anlam taşımamıştır ($p>0,05$), bu da n-3 yağ asitlerinin doza bağlı etkisini desteklemektedir. Bu bulgular doğrultusunda; yüksek yağlı diyetin yol açtığı obeziteye bağlı metabolik işlev bozukluğunun kahverengi yağ dokuda tetiklediği azalmış termogenez aktivitesini, yüksek doz n-3 yağ asitleri uygulamasının regüle ettiği kanısına varılmıştır.

UCP-1 immünreaktivitesinin KAD'da artması, yüksek yağlı diyetin neden olduğu metabolik disfonksiyonun n-3 yağ asitleriyle düzeltilebileceğine işaret etmektedir. Bu bulgu, literatürde bildirilen, n-3 yağ asitlerinin enerji harcamasını artırıcı etkileriyle örtüşmektedir (Simao ve diğerleri, 2024; Yamazaki ve diğerleri, 2021). Ayrıca, kahverengi yağ dokusunda tespit edilen bu artışın beyaz yağ dokusuna kıyasla daha anlamlı olması, n-3 yağ asitlerinin etkilerinin öncelikli olarak BAT üzerinden yürütüldüğünü ve termojenik yanıtı bu doku aracılığıyla modüle ettiğini göstermektedir.

Sonuç olarak, UCP-1 immunohistokimyasal bulgular, n-3 yağ asitlerinin özellikle yüksek doz uygulandığında, kahverengi yağ dokusunun termojenik kapasitesini artırarak obeziteyle ilişkili enerji dengesizliklerini düzeltme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Bu bulgular, n-3 yağ asitlerinin kahverengi yağ doku fonksiyonu üzerindeki düzenleyici etkilerini ortaya koyarken, dozun bu etkilerde belirleyici olduğunu da vurgulamaktadır.

n-3 yağ asitlerinden EPA ve DHA'nın adipositler üzerindeki etkileri, mitokondriyal biyogenez belirteçlerinde artış ve lipid metabolizmasının düzenlenmesiyle ilişkilendirilmiştir. Termojenezden sorumlu organeller olan mitokondrilerin biyogenezi, mitokondriyal oksidasyon kapasitesini artırarak bu sürece katkıda bulunmaktadır (Bargut ve diğerleri, 2019). Termojenezle ilişkili çalışmalarda, n-3 yağ asitleri arasında en fazla araştırılan bileşik EPA'dır; DHA'ya ilişkin bulgular ise görece sınırlıdır. Literatürde,

EPA'nın kahverengi ve bej adipositlerin adipogenezini hızlandırdığı, temel termojenik genlerin ekspresyonunu artırdığı ve bu sayede beyaz yağ dokusunun kahverengileşme sürecini daha etkin şekilde indüklediği birçok çalışmayla gösterilmiştir (Song ve diğerleri, 2017; Yang ve diğerleri, 2021; Pahlavani ve diğerleri, 2017; Laiglesia ve diğerleri, 2016; Quesada-López ve diğerleri, 2016) EPA'nın DHA'ya kıyasla daha belirgin termojenik etkilere sahip olması, EPA'dan türetilen lipid medyatörlerinin termojenik aktiviteyle DHA'dan türetilenlerden daha ilişkili olmasıdır (Bargut ve diğerleri, 2019). Bununla birlikte, bazı çalışmalar EPA ve DHA'nın birlikte kullanıldığında sinerjistik etkiler oluşturabileceğini öne sürse de (Bargut ve diğerleri, 2016a;2016b), bu konuda tutarlı bir görüş birliği bulunmamaktadır. Nitekim bazı bulgular, EPA+DHA kombinasyonunun tek başına EPA veya DHA'ya kıyasla daha yüksek bir termojenik yanıt oluşturmadığını da göstermektedir (Bargut ve diğerleri, 2019).

Bu çalışma, mevcut literatür bulguları göz önünde bulundurularak diyetin EPA ve DHA oranı EPA lehine olacak şekilde planlanmıştır. Uygulanan protokole göre, 1,2 YYD içeren diyette toplam enerjinin %0,52'si, 2,4 YYD içeren diyette ise %1,05'i EPA'dan sağlanmıştır (EK-3). Bununla birlikte, DHA'nın sinir sistemi gelişimi, hücre zarının yapısal bütünlüğü ve anti-inflamatuar etkileri gibi çeşitli faydaları göz önünde bulundurularak, her iki n-3 yağ asidinin birlikte kullanımı biyolojik etkiyi optimize etmek adına uygun bir strateji olarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak EPA ve DHA'nın kombinasyonu hem termojenik aktiviteyi desteklemek hem de genel metabolik sağlığı iyileştirmek açısından güncel diyet önerileriyle uyumlu, sinerjik faydalar sunabilecek potansiyel bir yaklaşımdır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

- YYD grubundaki farelerin (YYD, 1,2 YYD, 2,4 YYD) günlük ortalama yem tüketimleri benzer olup ($p>0,05$), STD grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,001$).
- Günlük ortalama yem tüketimlerine benzer şekilde YYD grupları arasında yem etkinliği katsayıları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmayıp ($p>0,05$), STD grubuna göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).
- Günlük ortalama enerji, karbonhidrat ve protein alımları STD grubunda, YYD grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Buna karşın, yağ alımı YYD gruplarında STD grubuna göre anlamlı düzeyde daha yüksek saptanmıştır ($p<0,05$).
- Yem etkinliği katsayısı YYD diyetlerinde benzer olup ($p>0,05$), STD diyetine göre istatistiksel olarak daha yüksektir ($p<0,05$).
- Tüm gruplarda bulunan farelerin haftalık yem tüketim miktarları ile enerji, karbonhidrat, protein ve yağ alımlarının zamana bağlı değişimi ve zaman*diyet etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$).
- Omega 3 yağ asitleri alımı sırasıyla YYD<STD<1,2YYD<2,4YYD olup, grupların haftalık n-3 yağ asidi alımlarının zamana bağlı değişimi ve zaman*diyet etkisi istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$).
- Çalışmaya alınan tüm gruptaki farelerin başlangıç ağırlıkları benzer olup ($p>0,05$), 2. haftadan ve 9. haftaya kadar olan zaman diliminde vücut ağırlıkları sıralaması 2,4 YYD>1,2 YYD>YYD>STD olarak belirlenmiştir ($p<0,05$).
- Çalışmanın 10, 11 ve 12. haftalarında tüm gruplarda vücut ağırlıkları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).
- Farelerin haftalık vücut ağırlıklarındaki zamana bağlı değişimin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,001$), ancak, gruplar arasında zaman*diyet etkileşiminin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).
- Tüm grupların çalışmaya başlangıç ve bitiş arasındaki ağırlık değişimlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).

- Deney sonunda ölçülen burun-anüs uzunluk ortalamalarının gruplar arasında anlamlı bir fark göstermediği belirlenmiştir ($p>0,05$).
- Lee indeksi tüm gruplar arasında benzer bulunmuştur ($p>0,05$).
- Gruplar arasında karaciğer ve kalp ağırlık ortalamalarının benzer olduğu tespit edilmiştir ($p>0,05$).
- Epididimal+inguinal ve retroperitoneal yağ doku ağırlıkları gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık göstermiştir ($p<0,05$). Post hoc analizlere göre en yüksek değerler 1,2 YYD grubunda belirlenmiş olup, toplam adipoz doku ağırlığı ve adipozite indeksi sıralaması 1,2 YYD>YYD=2,4 YYD>STD şeklinde saptanmıştır ($p<0,05$).
- Gruplar arasında kahverengi yağ doku ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).
- STD grubunda yer alan farelerin açlık serum glukoz değeri, YYD ve 1,2 YYD grupları ile benzer olup, 2,4 YYD grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$).
- Serum kolesterol ve HDL düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($p<0,05$). Post hoc analizlere göre, STD grubunda bu değerler tüm diğer gruplara göre en düşük, YYD grubunda ise en yüksek seviyede bulunmuştur ($p<0,05$). Ayrıca 1,2 ve 2,4 YYD grupları arasında bu parametreler açısından anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir.
- Tüm gruplar arasında serum insülin, adiponektin, leptin, trigliserit ve LDL kolesterol düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).
- Grupların intraperitoneal GTT öncesi (0. dk) ölçülen kan glukoz düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($p<0,05$). Post hoc analizlere göre, YYD grubunun kan glukoz düzeyi diğer gruplara kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Ancak, 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda ölçülen kan glukoz konsantrasyonları gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir ($p>0,05$).
- Grupların GTT sırasında glisemik yanıtlarına ilişkin toplam AUC değeri açısından gruplar arasında fark bulunmamıştır ($p>0,05$).
- Grupların ITT sırasında glisemik yanıtlarına ilişkin toplam AUC değeri açısından gruplar arasında fark bulunmamıştır ($p>0,05$).
- UCP-1 geninin rölatif ekspresyon düzeyi gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir ($p>0,05$).
- Gruplar arasında PRDM16 geninin rölatif ekspresyon düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p<0,05$). En yüksek PRDM16 ekspresyonu

düzeyi 1,2 YYD grubunda, en düşük ekspresyon düzeyi ise STD grubunda gözlemlenmiştir.

- Gruplar arasında PGC-1α geninin rölatif ekspresyon düzeyinde 1,2 YYD>STD>2,4 YYD>YYD şeklinde bir sıralama gözlenmiştir, ancak bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$).
- GPR120 geninin rölatif ekspresyon düzeyinin en yüksek 1,2 YYD grubunda, en düşük ise STD grubunda olduğu gözlenmiştir. Ancak, bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).
- STD grubunda, son vücut ağırlığı ile hem serum HDL düzeyi (mg/dL) ($p<0,01$) hem de AUC_{GTT} değeri arasında ($p<0,05$) pozitif yönlü korelasyonlar belirlenmiştir.
- STD grubunda günlük enerji ve n-3 yağ asitleri alımları ile PGC-1α ekspresyonu arasında pozitif yönlü bir korelasyon saptanmıştır ($p<0,01$).
- STD grubunda retroperitonal adipoz doku ağırlığı ($p<0,01$) ve toplam BAD ağırlığı ($p<0,05$) ile AUC_{ITT} arasında negatif yönlü korelasyonlar saptanmıştır. Ayrıca, KAD ağırlığı ile AUC_{ITT} arasında da negatif yönlü anlamlı bir korelasyon belirlenmiştir ($p<0,05$).
- STD grubunda karaciğer ağırlığı ile serum kolesterol düzeyi ve UCP-1 gen ekspresyonu arasında pozitif yönlü anlamlı korelasyonlar saptanmıştır ($p<0,01$).
- YYD grubunda günlük enerji alımları ile serum insülin seviyeleri arasında negatif yönlü korelasyon gözlenmiştir ($p<0,05$).
- YYD grubunda inguinal+epididimal adipoz doku ağırlığı ile serum trigliserit düzeyi ($p<0,01$) ve KAD ağırlığı ile serum HDL düzeyi arasında ($p<0,05$) pozitif yönlü anlamlı korelasyonlar belirlenmiştir.
- YYD grubunda retroperitonel adipoz doku ve toplam BAD ile adipozite indeksi arasında pozitif yönde korelasyonlar saptanmıştır ($p<0,01$). Ayrıca karaciğer ağırlığı ile GPR120 gen ekspresyonu arasında pozitif yönlü korelasyon bulunmuştur ($p<0,05$).
- 1,2 YYD grubunda, vücut ağırlık değişimi ile serum glukoz ($p<0,05$), AUC_{GTT} ($p<0,01$) ve AUC_{ITT} ($p<0,05$) arasında pozitif yönlü korelasyonlar saptanmıştır. Ayrıca Lee indeksi ile AUC_{GTT} arasında ve yem etkinliği ile serum insülin düzeyleri arasında anlamlı pozitif korelasyonlar belirlenmiştir ($p<0,01$).
- 1,2 YYD grubunda günlük ortalama enerji alımı ile serum kolesterol ve LDL kolesterol düzeyleri ($p<0,05$) arasında pozitif yönlü; UCP-1 ($p<0,05$) ve PGC-1α ($p<0,01$) gen ekspresyon düzeyleri arasında negatif yönlü korelasyonlar bulunmuştur.

- 1,2 YYD grubunda günlük n-3 yağ asitleri alımı, serum kolesterol ve LDL kolesterol üzeyleri arasında pozitif ($p<0,05$); UCP-1 ($p<0,05$) ve PGC-1α ($p<0,01$) gen ekspresyon düzeyleri ile negatif yönde ilişkilidir.
- 1,2 YYD grubunda inguinal+epididimal adipoz doku ağırlığı ile serum trigliserit, PRDM16 gen ekspresyonu ve AUC_{ITT} ile pozitif ilişkili bulunmuştur ($p<0,05$). Benzer şekilde, toplam BAD ağırlığı ile serum trigliserit düzeyi ($p<0,05$) ve adipozite indeksi ($p<0,01$) arasında da pozitif korelasyonlar saptanmıştır.
- 1,2 YYD grubunda KAD ağırlığı ile serum kolesterol ($p<0,01$) ve LDL kolesterol ($p<0,05$) düzeyleri pozitif yönlü; UCP-1 ve PGC-1α gen ekspresyonuyla negatif yönlü korelasyonlar bulunmuştur (sırasıyla $p<0,05$; $p<0,01$).
- 2,4 YYD grubunda son vücut ağırlığı ve ağırlık değişimi, PRDM16 ekspresyonu ile negatif; AUC_{ITT} ile pozitif yönde ilişkili bulunmuştur ($p<0,05$). Lee indeksi de AUC_{ITT} ile pozitif ilişkilidir ($p<0,05$).
- 2,4 YYD grubunda haftalık yem etkinliği ile serum kolesterol ($p<0,01$), adipozite indeksi ($p<0,05$) ve AUC_{ITT} arasında pozitif ($p<0,01$).
- 2,4 YYD grubunda inguinal+epididimal ve toplam BAD ağırlıkları ile PRDM16 ekspresyonu arasında negatif ($p<0,05$; AUC_{ITT} ($p<0,05$) ve adipozite indeksi ($p<0,01$) ile pozitif korelasyon göstermektedir Karaciğer ağırlığı ile serum glukoz ($p<0,05$) ve AUC_{ITT} ($p<0,01$) ile pozitif ilişkilidir.
- BAD'lara ait hematoksilen-eozin boyama bulgularına göre YYD grubunda damar yapılarında belirgin dilatasyon ve konjesyonun yanı sıra bağ dokuda artış ve adiposit füzyonları gözlenmiştir. Bu bulgular, n-3 yağ asidi takviyesi yapılan gruplara kıyasla daha yaygın ve şiddetli olarak izlenmiştir. YYD grubunda ayrıca miyelinizasyon benzeri görünüm sergileyen ve heterojen yapıda olan adipositler izlenmiştir. Buna karşın, bu tür anormal morfolojik özelliklere 1,2 YYD ve 2,4 YYD gruplarında rastlanmamıştır. n-3 yağ asitleri alan gruplarda adipositlerin daha düzenli konturlara sahip, homojen büyüklükte ve simetrik yerleşimli olduğu gözlemlenmiş; bu yapısal görünüm, STD grubundakine benzerlik göstermiştir. Ayrıca YYD grubunda inflamasyon bulgularına rastlanmış olup, n-3 yağ asidi takviyesi yapılan gruplarda (1,2 YYD, 2,4 YYD) inflamatuar hücre infiltrasyonu saptanmamıştır.
- KAD'da hematoksilen-eozin boyama sonuçlarına göre, YYD grubunda konjesyon, dilatasyon ve bağ dokuda artış gözlenmiş; ayrıca bu grupta dejeneratif adipositler

saptanmıştır. N-3 yağ asitleri verilen gruplarda bu bozulmaların daha az olduğu, özellikle 2,4 YYD grubunda bu etkilerin minimum düzeyde kaldığı görülmüştür.

- Hematoksilen-eozin boyamada YYD grubunda kahverengi adipositlerde belirgin beyazlaşma izlenmiş, bu bulgu n-3 yağ asitleri ile birlikte azalmış ve 2,4 YYD grubunda minimal düzeye inmiştir. BAD'da ise 2,4 YYD grubunda bej/brite adipositlerin varlığı gözlenmiştir.
- BAD'da yapılan UCP-1 immunohistokimyasal boyama sonuçlarına göre STD grubuna ait UCP-1 immünreaktivitesinin diğer gruplara kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu, YYD grubunda ise belirgin bir azalma görüldüğü saptanmıştır ($p<0,05$). n-3 yağ asitleri verilen 1,2 YYD ve 2,4 YYD gruplarında UCP-1 immünreaktivitesinde YYD grubuna kıyasla bir artış görülse de bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).
- KAD'dan elde edilen immunohistokimyasal verilere göre STD grubunda UCP-1 immünreaktivitesinin diğer gruplara kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu, YYD grubunda ise tutulumun STD grubuna karşın anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). 2,4 YYD grubunda ise UCP-1 immünreaktivitesinin, YYD grubuna kıyasla anlamlı şekilde arttığı belirlenmiştir ($p<0,05$). Buna karşılık, 1,2 YYD grubunda gözlenen immünreaktivite artışı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Obezite, günümüz toplumlarının karşılaştığı en önemli sağlık sorunlarından biridir ve bu hastalığın patofizyolojisine yönelik mekanizmaların aydınlatılması, etkili tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Erken yaşam döneminde BAT gelişiminin desteklenmesi, ilerleyen yaşlarda metabolik hastalık risklerini azaltabilecek potansiyel bir strateji olarak değerlendirilmektedir. Bu çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde, sütten kesim sonrası YYD'ye maruz bırakılan farelerin diyetlerine n-3 yağ asitlerinin eş zamanlı ilave edilmesi ile yem tüketimi, enerji ve besin ögesi alımında anlamlı bir farklılık oluşturmadan, serum lipid profili ve glukoz duyarlılığında olumlu etkiler gözlenmiştir. Ayrıca KAD ve BAD'da yapılan histolojik incelemeler n-3 yağ asitlerinin dokusal bütünlüğü koruyarak inflamasyonu azalttığını, vasküler ve stromal yapıyı dengelediğini, BAD'da kahverengileşmeyi desteklediğini, KAD'da ise beyazlaşmayı engellediğini göstermektedir. Bu bulgular, adipoz dokuya özgü morfolojik değişimlerin yalnızca genetik ve biyokimyasal değil, aynı zamanda histolojik düzeyde de düzenleyerek n-3 yağ asitlerinin çok yönlü etkilerini ortaya koymaktadır. Bu çalışmanın bulguları, n-3 yağ asitlerinin özellikle erken dönem müdahale ile birlikte kullanıldığında obezite ve ilişkili metabolik bozukluklara karşı koruyucu bir strateji olabileceğini desteklemekte, kahverengi

yağ dokusu üzerinden geliştirilecek yeni tedavi hedeflerine ışık tutmaktadır. Ayrıca n-3 yağ asitlerinin adipogenez, termojenez ve inflamasyon üzerindeki çok yönlü etkilerinin araştırılması büyük önem taşımaktadır. Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması (TBSA, 2017) verilerine göre, ülkemizde EPA+DHA alım düzeyleri önerilen alım miktarlarının altında kalmaktadır. Çalışmada kullanılan n-3 yağ asitleri dozları, insan tüketimi ile kıyaslanabilir düzeyde olup translasyonel geçerliliği artırmaktadır. Yapılan deney hayvanı çalışmalarında kullanılan dozların insan gereksinimlerinden çok üzerinde olduğu dikkate alındığında bu çalışma önerilen dozlarda bile obezite ve ilişkili metabolik hastalıklarla mücadelede etkili olabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak, çalışmadan elde edilen bulguların daha güçlü ve genellenebilir şekilde desteklenebilmesi için gelecekte yapılacak çalışmalarda bazı noktalara odaklanılması önem taşımaktadır. Öncelikle, bu çalışmada yapılan analizler yalnızca gen ekspresyon düzeyiyle sınırlı kalmış; protein düzeyinde doğrulayıcı analizler yapılamamıştır. Ayrıca, yalnızca erkek hayvan modeli kullanılması nedeniyle elde edilen verilerin cinsiyete özgü farklılıkları yansıtma potansiyeli sınırlıdır. Bulguların insanlara genellenebilirliğinin artırılması için farklı cinsiyet gruplarını kapsayan deneysel ve klinik araştırmalara ihtiyaç vardır. Farklı EPA/DHA oranlarını karşılaştıran müdahaleleri içeren deneysel çalışmalarla n-3 yağ asitlerinin anti-obezite etkileri için optimum etki dozu ve süresi belirlenmelidir. İnsan çalışmalarında EPA/DHA oranı, biyoyararlanım ve dozajın standardize edilmesi, deneysel bulguların translasyonel değeri açısından önemlidir. Organ/doku düzeyinde gözlemlenen metabolik iyileştirmelerin tüm vücudun enerji harcamasını etkileyip etkilemediğini belirlemek için, termojenik genlerin artışı metabolik hız ölçümleriyle desteklenmeli, oksijen tüketimi gibi verilerle doğrulayıcı analizler yapılmalıdır. Bu aynı zamanda çalışmamızın bir başka sınırlılığıdır; teknik cihazların eksikliği nedeniyle bu ölçümler yapılamamıştır.

Sonuç olarak, obezite ve ilgili hastalıkların yönetimi için n-3 yağ asitleri ile ilgili herhangi bir beslenme rehberi veya sağlık politikası geliştirilirken, kullanılan yağ asidi türü (EPA, DHA) ve dozajının açıkça tanımlanmasının büyük önem taşıdığı kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

Abu Shelbayeh, O., Arroum, T., Morris, S., and Busch, K.B. (2023). PGC-1α ıs a master regulator of mitochondrial lifecycle and ROS stress response. *Antioxidants (Basel)*, 12(5), 1075.

Abu-Odeh, M., Zhang, Y., Reilly, S.M., Ebadat, N., Keinan, O., Valentine, J.M., Hafezi-Bakhtiari, M., Ashayer, H., Mamoun, L., Zhou, X., Zhang, J., Yu, R. T., Dai, Y., Liddle, C., Downes, M., Evans, R. M., Kliewer, S. A., Mangelsdorf, D. J., and Saltiel, A. R. (2021). FGF21 promotes thermogenic gene expression as an autocrine factor in adipocytes. *Cell Reports, 35*(13), 109331.

Albracht-Schulte, K., Kalupahana, N.S., Ramalingam, L., Wang, S., Rahman, S.M., Robert-McComb, J. and Moustaid-Moussa, N. (2018). Omega-3 fatty acids in obesity and metabolic syndrome: A mechanistic update. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 58, 1-16.

Amos, D., Cook, C., and Santanam, N. (2019). Omega 3 rich diet modulates energy metabolism via GPR120-Nrf2 crosstalk in a novel antioxidant mouse model. *Biochimica et Biophysica Acta. Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1864(4), 466-488.

Balasundaram, P., and Krishna, S. (2023). *Obesity effects on child health*. In= StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.

Bargut, T.C., Silva-e-Silva, A.C., Souza-Mello, V., Mandarim-de-Lacerda, C.A., and Aguila, M.B. (2016a). Mice fed fish oil diet and upregulation of brown adipose tissue thermogenic markers. *European Journal of Nutrition*, 55(1), 159-169.

Bargut, T.C., Souza-Mello, V., Mandarim-de-Lacerda, C.A., and Aguila, M.B. (2016b). Fish oil diet modulates epididymal and inguinal adipocyte metabolism in mice. *Food & Function*, 7(3), 1468-1476.

Bargut, T.C.L., Martins, F.F., Santos, L.P., Aguila, M.B., and Mandarim-de-Lacerda, C.A. (2019). Administration of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids may improve the remodeling and browning in subcutaneous white adipose tissue and thermogenic markers in brown adipose tissue in mice. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 482, 18–27.

Bastías-Pérez, M., Serra, D., and Herrero, L. (2020a). Dietary options for rodents in the study of obesity. *Nutrients,* 12(11), 3234.

Bastías-Pérez, M., Zagmutt, S., Soler-Vázquez, M.C., Serra, D., Mera, P., and Herrero, L. (2020b). Impact of adaptive thermogenesis in mice on the treatment of obesity. *Cells*, 9(2), 316.

Benedé-Ubieto, R., Estévez-Vázquez, O., Ramadori, P., Cubero, F.J., and Nevzorova, Y.A. (2020). Guidelines and considerations for metabolic tolerance tests in mice. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy,* 13, 439-450.

Bruce-Keller, A.J., White, C.L., Gupta, S., Knight, A.G., Pistell, P.J., Ingram, D.K., Morrison, C.D., and Keller, J.N. (2010). NOX activity in brain aging: Exacerbation by high fat diet. *Free Radical Biology and Medicine*, 49(1), 22–30

Calder, P.C. (2013). Omega-3 polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: Nutrition or pharmacology? *British Journal of Clinical Pharmacology*, 75(3), 645-662.

Calder, P.C. (2015). Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1851(4), 469–484.

Chacińska, M., Zabielski, P., Książek, M., Szałaj, P., Jarząbek, K., Kojta, I., Chabowski, A., and Błachnio-Zabielska, A.U. (2019). The impact of OMEGA-3 fatty acids supplementation on insulin resistance and content of adipocytokines and biologically active lipids in adipose tissue of high-fat diet fed rats. *Nutrients,* 11(4), 835.

Chait, A., and den Hartigh, L.J. (2020). Adipose tissue distribution, ınflammation and ıts metabolic consequences, ıncluding diabetes and cardiovascular disease. *Frontiers in Cardiovascular Medicine, 7*, 22.

Chen Ran, C.R., Zhang Lin, Z.L., Yang Fan, Y.F., Dai YanYan, D.Y., Zhou Nan, Z.N., and Li XiaoNan, L.X. (2017). Effects of early overfeeding and high fat diet on energy metabolism in rats. *Acta Nutrimenta Sinica*, 39(3), 254-260.

Chen, K.Y., Brychta, R.J., Abdul Sater, Z., Cassimatis, T.M., Cero, C., Fletcher, L.A., Israni, N.S., Johnson, J.W., Lea, H.J., Linderman, J.D., O'Mara, A.E., Zhu, K.Y., and Cypess, A.M. (2020). Opportunities and challenges in the therapeutic activation of human energy expenditure and thermogenesis to manage obesity. *Journal of Biological Chemistry*, 295(7), 1926-1942.

Cheng, L., Wang, J., Dai, H., Duan, Y., An, Y., Shi, L., Lv, Y., Li, H., Wang, C., Ma, Q., Li, Y., Li, P., Du, H., and Zhao, B. (2021). Brown and beige adipose tissue: a novel therapeutic strategy for obesity and type 2 diabetes mellitus. *Adipocyte*, 10(1), 48-65.

Cui, X., Nguyen, N. L., Zarebidaki, E., Cao, Q., Li, F., Zha, L., Bartness, T., Shi, H., and Xue, B. (2016). Thermoneutrality decreases thermogenic program and promotes adiposity in high-fat diet-fed mice. *Physiological Reports*, 4(10), e12799.

da Cunha de Sá, R.D.C., Cruz, M.M., de Farias, T.M., da Silva, V.S., de Jesus Simão, J., Telles, M.M., and Alonso-Vale, M.I.C. (2020). Fish oil reverses metabolic syndrome, adipocyte dysfunction, and altered adipokines secretion triggered by high-fat diet-induced obesity. *Physiological reports*, 8(4), e14380.

da Cunha de Sá, R.D.C., Simão, J.D.J., Silva, V.S.D., Farias, T.M.D., Cruz, M.M., Antraco, V.J., Armelin-Correa, L., and Alonso-Vale, M.I. (2021). Fish oil enriched in EPA, but not in DHA, reverses the metabolic syndrome and adipocyte dysfunction induced by a high-fat diet. *Nutrients*, *13*(3), 754.

Dai, Y., Yang, F., Zhou, N., Sha, L., Zhou, S., Wang, J., and Li, X. (2016). A post-weaning fish oil dietary intervention reverses adverse metabolic outcomes and 11β-

hydroxysteroid dehydrogenase type 1 expression in postnatal overfed rats. *British Journal of Nutrition*, 116(9), 1519-1529.

D'Angelo, S., Motti, M.L., and Meccariello, R. (2020). ω-3 and ω-6 Polyunsaturated fatty acids, obesity and cancer. *Nutrients*, 12(9), 2751.

de Jesus Simão, J., de Sousa Bispo, A.F., Plata, V.T.G., Armelin-Correa, L.M., and Alonso-Vale, M.I.C. (2024). Fish oil supplementation mitigates high-fat diet-ınduced obesity: Exploring epigenetic modulation and genes associated with adipose tissue dysfunction in mice. *Pharmaceuticals (Basel)*, 17(7), 861.

de Luis, D., Primo, D., Izaola, O., and Gomez, J.J.L. (2024). Relationship between adiponectin and muscle mass in patients with metabolic syndrome and obesity. *Journal of Diabetes Complications*, 38(4), 108706.

Della Guardia, L., and Shin, A.C. (2022). Correction to: White and brown adipose tissue functionality is impaired by fine particulate matter (PM2.5) exposure. *Journal of Molecular Medicine (Berlin)*, 100(5), 677.

Dias, B.V., Gomes, S.V., Castro, M.L.D., Carvalho, L.C.F., Breguez, G.S., de Souza, D.M.S., Ramos, C.O., Sant'Ana, M.R., Nakandakari, S.C.B.R., Araujo, C.M., Grabe-Guimarães, A., Talvani, A., Carneiro, C.M., Cintra, D.E.C., and Costa, D.C. (2022). EPA/DHA and linseed oil have different effects on liver and adipose tissue in rats fed with a high-fat diet. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 159, 106622.

Díaz-Urbina, D., Escartín-Pérez, R.E., López-Alonso, V.E., and Mancilla-Díaz, J.M. (2018). Effects of a high-fat diet on behavioral eating patterns. *Acta Colombiana de Psicología*, 21(1), 95–115.

Dominguez, L.J., Veronese, N., Di Bella, G., Cusumano, C., Parisi, A., Tagliaferri, F., Ciriminna, S., and Barbagallo, M. (2023). Mediterranean diet in the management and prevention of obesity. *Experimental Gerontology*, 174, 112121.

Druet, C., Stettler, N., Sharp, S., Simmons, R.K., Cooper, C., Smith, G.D., Ekelund, U., Lévy-Marchal, C., Jarvelin, M.R., Kuh, D., and Ong, K.K. (2012). Prediction of childhood obesity by infancy weight gain= an individual-level meta-analysis. *Paediatric and Perinatal Epidemiology*, 26(1), 19-26.

Duan, H., Song, W., Zhao, J., and Yan, W. (2023). Polyunsaturated fatty acids (PUFAs): Sources, digestion, absorption, application and their potential adjunctive effects on visual fatigue. *Nutrients*, 15(11), 2633.

EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). (2012). Scientific opinion on the tolerable upper intake level of eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA) and docosapentaenoic acid (DPA). *EFSA Journal*, 10(7), 2815

Ejigu, B.A., and Tiruneh, F.N. (2023). The link between overweight/obesity and noncommunicable diseases in Ethiopia: Evidences from nationwide WHO STEPS survey 2015. *International Journal of Hypertension*, 2023, 2199853.

Falamarzi, K., Malekpour, M., Tafti, M.F., Azarpira, N., Behboodi, M., and Zarei, M. (2022). The role of FGF21 and its analogs on liver associated diseases. *Frontiers in Medicine (Lausanne)*, 9, 967375.

Fam, B.C., Morris, M.J., Hansen, M.J., Kebede, M., Andrikopoulos, S., Proietto, J., and Thorburn, A.W. (2007). Modulation of central leptin sensitivity and energy balance in a rat model of diet-induced obesity. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 9(6), 840–852.

Fan, R., Koehler, K., and Chung, S. (2019). Adaptive thermogenesis by dietary n-3 polyunsaturated fatty acids: Emerging evidence and mechanisms. *Biochimica et Biophysica Acta. Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1864(1), 59-70.

Félix-Soriano, E., Sáinz, N., Fernández-Galilea, M., Gil-Iturbe, E., Celay, J., Martínez-Climent, J.A., and Moreno-Aliaga, M. (2023). Chronic docosahexaenoic acid supplementation improves metabolic plasticity in subcutaneous adipose tissue of aged obese female mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 111, 109153.

Félix-Soriano, E., Sáinz, N., Gil-Iturbe, E., Collantes, M., Fernández-Galilea, M., Castilla-Madrigal, R., Ly, L., Dalli, J., and Moreno-Aliaga, M.J. (2021). Changes in brown adipose tissue lipid mediator signatures with aging, obesity, and DHA supplementation in female mice. *FASEB Journal*, 35(6), e21592.

Fernández-Galilea, M., Félix-Soriano, E., Colón-Mesa, I., Escoté, X., and Moreno-Aliaga, M.J. (2020). Omega-3 fatty acids as regulators of brown/beige adipose tissue: from mechanisms to therapeutic potential. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 76(2), 251-267.

Fischer, A. H., Jacobson, K. A., Rose, J., & Zeller, R. (2008). Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections. *Cold spring harbor protocols*, *2008*(5), pdb-prot4986.

Fischer, A.W., Shabalina, I.G., Mattsson, C.L., Abreu-Vieira, G., Cannon, B., Nedergaard, J., and Petrovic, N. (2017). UCP1 inhibition in Cidea-overexpressing mice is physiologically counteracted by brown adipose tissue hyperrecruitment. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 312(1), E72-e87.

Gesta, S., Tseng, Y.H., and Kahn, C.R. (2007). Oct 19. Developmental origin of fat: tracking obesity to its source. *Cell*, 131(2), 242-256.

Ghandour, R.A., Colson, C., Giroud, M., Maurer, S., Rekima, S., Ailhaud, G., Klingenspor, M., Amri, E.Z., and Pisani, D.F. (2018). Impact of dietary ω3 polyunsaturated fatty acid supplementation on brown and brite adipocyte function. *Journal of Lipid Research*, 59(3), 452-461.

Gill, J.A., and La Merrill, M.A. (2017). An emerging role for epigenetic regulation of Pgc-1α expression in environmentally stimulated brown adipose thermogenesis. *Environmental Epigenetics*, 3(2), dvx009.

Gong, D., Lei, J., He, X., Hao, J., Zhang, F., Huang, X., Gu, W., Yang, X., and Yu, J. (2024). Keys to the switch of fat burning: stimuli that trigger the uncoupling protein 1 (UCP1) activation in adipose tissue. *Lipids in Health and Disease*, 23(1), 322.

Hall, K.D., Heymsfield, S.B., Kemnitz, J.W., Klein, S., Schoeller, D.A., and Speakman, J.R. (2012). Energy balance and its components: implications for body weight regulation. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 95(4), 989–994.

Hao, L., Chen, C.-Y., Kang, J., and Nie, Y. (2021). Endogenous omega-3 polyunsaturated fatty acids preserved morphology and function of brown fat impaired by high-fat diet feeding in mice. *Current Developments in Nutrition*, 5, 1214.

Hao, L., Chen, C.Y., Nie, Y.H., Kaliannan, K., and Kang, J.X. (2023). Differential interventional effects of omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids on high fat diet-induced obesity and hepatic pathology. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(24), 17261.

Hao, L., Nie, Y.H., Chen, C.Y., Li, X.Y., Kaliannan, K., and Kang, J.X. (2022). Omega-3 polyunsaturated fatty acids protect against high-fat diet-ınduced morphological and functional ımpairments of brown fat in transgenic fat-1 mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19), 11903.

Hariri, N., and Thibault, L. (2010). High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutrition Research Reviews*, 23(2), 270–299.

Hashimoto, O., Noda, T., Morita, A., Morita, M., Ohtsuki, H., Sugiyama, M., and Funaba, M. (2016). Castration induced browning in subcutaneous white adipose tissue in male mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 478(4), 1746-1750.

Hong, J., Stubbins, R.E., Smith, R.R., Harvey, A.E., and Núñez, N.P. (2009). Differential susceptibility to obesity between male, female and ovariectomized female mice. *Nutrition Journal*, 8, 11.

Hou, M., Ji, C., Wang, J., Liu, Y., Sun, B., Guo, M., Burén, J., and Li, X. (2012). The effects of dietary fatty acid composition in the post-sucking period on metabolic alterations in adulthood: Can ω3 polyunsaturated fatty acids prevent adverse programming outcomes? *Journal of Endocrinology*, 215(1), 119–127.

Huang, L., Zhang, F., Xu, P., Zhou, Y., Liu, Y., Zhang, H., Tan, X., Ge, X., Xu, Y., Guo, M., and Long, Y. (2023). Effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids on cardiovascular outcomes in patients with diabetes: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Advances in Nutrition*, 14(4), 629-636.

Hwalla, N., and Jaafar, Z. (2020). Dietary management of obesity: A review of the evidence. *Diagnostics (Basel)*, 11(1), 24.

Illesca, P., Valenzuela, R., Espinosa, A., Echeverría, F., Soto-Alarcón, S., Ortiz, M., Campos, C., Vargas, R., Videla, L.A., and Videla, L.A. (2020). The metabolic dysfunction of white adipose tissue induced in mice by a high-fat diet is abrogated by co-administration of docosahexaenoic acid and hydroxytyrosol. *Food & Function*, 11(10), 9086–9102.

Innes, J.K., and Calder, P.C. (2020). Marine omega-3 (n-3) fatty acids for cardiovascular health: An update for 2020. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4), 1362.

Itoh, M., Suganami, T., Satoh, N., Tanimoto-Koyama, K., Yuan, X., Tanaka, M., Kawano, H., Yano, T., Aoe, S., Takeya, M., Shimatsu, A., Kuzuya, H., Kamei, Y., and Ogawa, Y. (2007). Increased adiponectin secretion by highly purified eicosapentaenoic acid in rodent models of obesity and human obese subjects. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 27(9), 1918–1925.

Izadi, V., Saraf-Bank, S., and Azadbakht, L. (2014). Dietary intakes and leptin concentrations. *ARYA Atherosclerosis,* 10(5), 266–272.

İnternet: National Institutes of Health. (2024). Omega-3 Fatty Acids. Fact Sheet for Health Professionals Web: https://ods.od.nih.gov/factsheets/Omega3FattyAcids-HealthProfessional/ adresinden 13 Aralık 2024 tarihinde alınmıştır.

İnternet: Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması (TBSA). (2019). Web: https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/saglikli-beslenme-ve-hareketli-hayat-db/Dokumanlar/Kitaplar/Turkiye_Beslenme_ve_Saglik_Arastirmasi_TBSA_2017.pdf adresinden 7 Aralık 2024 tarihinde alınmıştır.

İnternet: Who European Regional Obesity Report. (2022). Web: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/353747/9789289057738-eng.pdf?sequence=1 adresinden 11 Aralık 2024 tarihinde alınmıştır.

İnternet: World Health Organization. (2024). Obesity and overweight. Web: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight adresinden 7 Aralık 2024 tarihinde alınmıştır.

İnternet: World Obesity Atlas. (2023). Web: https://www.worldobesity.org/resources/resource-library/world-obesity-atlas-2023 adresinden 7Aralık 2024 tarihinde alınmıştır.

Jash, S., Banerjee, S., Lee, M.J., Farmer, S.R., and Puri, V. (2019). CIDEA transcriptionally regulates ucp1 for britening and thermogenesis in human fat cells. *iScience*, 20, 73-89.

Ji, C., Dai, Y., Jiang, W., Liu, J., Hou, M., Wang, J., Burén, J., and Li, X. (2014). Postnatal overfeeding promotes early onset and exaggeration of high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease through disordered hepatic lipid metabolism in rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 25(11), 1108-1116.

Jia, M., Xu, T., Xu, Y.J., and Liu, Y. (2023). Dietary fatty acids activate or deactivate brown and beige fat. *Life Sciences*, 330, 121978.

Jia, X., and Liu, W. (2022). Vaccarin improves insulin sensitivity and glucose uptake in diet-induced obese mice via activation of GPR120-PI3K/AKT/GLUT4 pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 634, 189–195.

Jiang, N., Yang, M., Han, Y., Zhao, H., and Sun, L. (2022). PRDM16 regulating adipocyte transformation and thermogenesis: A promising therapeutic target for obesity and diabetes. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 870250.

Jin, X., Qiu, T., Li, L., Yu, R., Chen, X., and Li, C. (2023). Pathophysiology of obesity and its associated diseases. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 13(6), 2403-2424.

Jones, S.A., Ruprecht, J.J., Crichton, P.G., and Kunji, E.R.S. (2024). Structural mechanisms of mitochondrial uncoupling protein 1 regulation in thermogenesis. *Trends in Biochemical Sciences*, 49(6), 506-519.

Jung, S.M., Sanchez-Gurmaches, J., and Guertin, D.A. (2019). Brown adipose tissue development and metabolism. *Handbook Of Experimental Pharmacology*, 251, 3-36.

Kadowaki, T., Yamauchi, T., Kubota, N., Hara, K., Ueki, K., and Tobe, K. (2006). Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *Journal of Clinical Investigation*, 116(7), 1784–1792.

Kajimura, S., Seale, P., Kubota, K., Lunsford, E., Frangioni, J.V., Gygi, S.P., and Spiegelman, B.M. (2009). Initiation of myoblast to brown fat switch by a PRDM16-C/EBP-beta transcriptional complex. *Nature*, 460(7259), 1154-1158.

Kennard, M.R., Daniels Gatward, L.F., Roberts, A.G., White, E.R., Nandi, M., and King, A.J. (2021). The use of mice in diabetes research: The impact of experimental protocols. *Diabetic Medicine*, 38(12), e14705.

Kien, C. L., Bunn, J. Y., and Ugrasbul, F. (2005). Increasing dietary palmitic acid decreases fat oxidation and daily energy expenditure. *American Journal of Clinical Nutrition*, 82(2), 320–326.

Kim, J., Okla, M., Erickson, A., Carr, T., Natarajan, S.K., and Chung, S. (2016). Eicosapentaenoic acid potentiates brown thermogenesis through FFAR4-dependent up-regulation of miR-30b and miR-378. *The Journal of Biological Chemistry*, 291(39), 20551-20562.

Kim, M., Goto, T., Yu, R., Uchida, K., Tominaga, M., Kano, Y., Takahashi, N., and Kawada, T. (2015). Fish oil intake induces UCP1 upregulation in brown and white adipose tissue via the sympathetic nervous system. *Scientific Reports*, 5, 18013.

Koliaki, C., Dalamaga, M., and Liatis, S. (2023). Update on the obesity epidemic: after the sudden rise, ıs the upward trajectory beginning to flatten? *Current obesity reports*, 12(4), 514-527.

Kopecky, J., Rossmeisl, M., Flachs, P., Kuda, O., Brauner, P., Jilkova, Z., Stankova, B., Tvrzicka, E., Bryhn, M., and Bryhn, M. (2009). n-3 PUFA: Bioavailability and modulation of adipose tissue function. *Proceedings of the Nutrition Society*, 68(4), 361–369.

Kris-Etherton, P.M., Harris, W.S., and Appel, L.J. (2002). Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation*, 106(21), 2747-2757.

Laiglesia, L.M., Lorente-Cebrián, S., Prieto-Hontoria, P.L., Fernández-Galilea, M., Ribeiro, S.M., Sáinz, N., Martínez, J.A., and Moreno-Aliaga, M.J. (2016). Eicosapentaenoic acid promotes mitochondrial biogenesis and beige-like features in subcutaneous adipocytes from overweight subjects. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 37, 76-82.

LeMieux, M.J., Kalupahana, N.S., Scoggin, S., and Moustaid-Moussa, N. (2015). Eicosapentaenoic acid reduces adipocyte hypertrophy and inflammation in diet-

induced obese mice in an adiposity-independent manner. *The Journal of Nutrition*, 145(3), 411–417.

Lepretti, M., Martucciello, S., Burgos Aceves, M.A., Putti, R., and Lionetti, L. (2018). Omega-3 fatty acids and insulin resistance: Focus on the regulation of mitochondria and endoplasmic reticulum stress. *Nutrients*, 10(3), 350.

Li, R., Wang, Y., Xu, J., Yu, J., and Li, B. (2025). Effects of n-3 Polyunsaturated Fatty Acid Supplementation on Cardiovascular Indices in Type 2 Diabetes: A Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Reviews in Cardiovascular Medicine*, *26*(2), 25882.

Lin, S.Y., Wang, Y.Y., Pan, P.H., Wang, J.D., Yang, C.P., Chen, W.Y., Kuan, Y.H., Liao, S.L., Lo, Y.L., Chang, Y.H., and Chen, C.J. (2023). DHA alleviated hepatic and adipose inflammation with increased adipocyte browning in high-fat diet-induced obese mice. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 122, 109457.

Liu, Y.X., Yu, J.H., Sun, J.H., Ma, W.Q., Wang, J.J., and Sun, G.J. (2023). Effects of omega-3 fatty acids supplementation on serum lipid profile and blood pressure in patients with metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Foods, 12*(4), 725.

Livak, K. J., and Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2− ΔΔCT method. *Methods*, 25(4), 402-408.

Lynes, M.D., Kodani, S.D., and Tseng, Y.H. (2019). Lipokines and thermogenesis. *Endocrinology*, 160(10), 2314-2325.

Machado, S.A., Pasquarelli-do-Nascimento, G., da Silva, D.S., Farias, G.R., de Oliveira Santos, I., Baptista, L.B., and Magalhães, K.G. (2022). Browning of the white adipose tissue regulation= new insights into nutritional and metabolic relevance in health and diseases. *Nutrition and Metabolism*, 19(1), 61.

Magro, B.S., and Dias, D.P.M. (2024). Brown and beige adipose tissue: New therapeutic targets for metabolic disorders. *Health Sciences Review*, *10*, 100148.

Maki, K.C., and Dicklin, M.R. (2019). Strategies to improve bioavailability of omega-3 fatty acids from ethyl ester concentrates. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 22(2), 116-123.

Mandarim-de-Lacerda, C., Sol, M., Vásquez, B., and Aguila, M. (2021a). Mice as an animal model for the study of adipose tissue and obesity. *International Journal of Morphology*, 39, 1521-1528.

Mandarim-de-Lacerda, C.A., Del Sol, M., Vásquez, B., and Aguila, M.B. (2021b). Mice as an animal model for the study of adipose tissue and obesity. *International Journal of Morphology*, 39(6), 1521-1528.

Martínez-Fernández, L., Laiglesia, L.M., Huerta, A.E., Martínez, J.A., and Moreno-Aliaga, M.J. (2015). Omega-3 fatty acids and adipose tissue function in obesity and metabolic syndrome. *Prostaglandins and Other Lipid Mediators*, 121(Pt A), 24-41.

Martínez-Garza, Ú., Torres-Oteros, D., Yarritu-Gallego, A., Marrero, P.F., Haro, D., and Relat, J. (2019). Fibroblast growth factor 21 and the adaptive response to nutritional challenges. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(19), 4692.

Martins, F.F., Martins, B.C., Teixeira, A.V.S., Ajackson, M., Souza-Mello, V., and Daleprane, J.B. (2024). Brown adipose tissue, batokines, and bioactive compounds in foods: An update. *Molecular Nutrition and Food Research*, 68(6), e2300634.

Mason, B.L., Minhajuddin, A., Czysz, A.H., Jha, M.K., Gadad, B.S., Mayes, T.L., and Trivedi, M.H. (2022). Fibroblast growth factor 21 (FGF21) is increased in MDD and interacts with body mass index (BMI) to affect depression trajectory. *Translational Psychiatry*, 12(1), 16.

Mauvais-Jarvis, F. (2015). Sex differences in metabolic homeostasis, diabetes, and obesity. *Biology of sex differences*, *6*, 1-9.

Miller, J.L., Blaszkiewicz, M., Beaton, C., Johnson, C.P., Waible, S. 2nd, Dubois, A.L., Klemmer, A., Kiebish, M., and Townsend, K.L. (2019). A peroxidized omega-3-enriched polyunsaturated diet leads to adipose and metabolic dysfunction. *Journal of Nutritional Biochemistry,* 64, 50–60.

Moussavi, N., Gavino, V., Receveur, O. (2008). Could the quality of dietary fat, and not just its quantity, be related to risk of obesity? *Obesity*, 16, 7–15.

Murata, M., Kaji, H., Takahashi, Y., Iida, K., Mizuno, I., Okimura, Y., Abe, H., and Chihara, K. (2000). Stimulation by eicosapentaenoic acids of leptin mRNA expression and its secretion in mouse 3T3-L1 adipocytes in vitro. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 270, 343–348.

Negroiu, C.E., Tudorașcu, I., Bezna, C.M., Godeanu, S., Diaconu, M., and Danoiu, R. (2024). Beyond the cold: Activating brown adipose tissue as an approach to combat obesity. *Journal of Clinical Medicine*, 13(7), 1973.

Nishitani, S., Fukuhara, A., Jinno, Y., Itoh, M., Muranaka, K., Sakamoto, T., and Imagawa, K. (2020). Metabolomic analysis of diet-induced obese mice supplemented with eicosapentaenoic acid. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 128, 548–555.

Noriega, L., Yang, C.Y., and Wang, C.H. (2023). Brown fat and nutrition= Implications for nutritional ınterventions. *Nutrients*, 15(18), 4072.

Obradovic, M., Sudar-Milovanovic, E., Soskic, S., Essack, M., Arya, S., Stewart, A.J., Gojobori, T., and Isenovic, E.R. (2021). Leptin and obesity: Role and clinical implication. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 585887.

Obregon, M.J. (2014). Adipose tissues and thyroid hormones. *Frontiers in Physiology*, 5, 479.

Oh, D.Y., Talukdar, S., Bae, E.J., Imamura, T., Morinaga, H., Fan, W., Li, P., Lu, W.J., Watkins, S.M., and Olefsky, J.M. (2010). GPR120 is an omega-3 fatty acid receptor mediating potent anti-inflammatory and insulin-sensitizing effects. *Cell*, 142(5), 687-698.

Ojha, S., Saroha, V., Symonds, M.E., and Budge, H. (2013). Excess nutrient supply in early life and its later metabolic consequences. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 40(11), 817-823.

Okue, S., Ishikawa, E., and Nakahara, R. (2021). Fish oil suppresses obesity more potently in lean mice than in diet-induced obese mice but ameliorates steatosis in such obese mice. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 85(4), 421–429.

Oliveira, T.E., Castro, É., Belchior, T., Andrade, M.L., Chaves-Filho, A.B., Peixoto, A.S., Moreno, M.F., Ortiz-Silva, M., Moreira, R.J., Inague, A., Yoshinaga, M.Y., Miyamoto, S., Moustaid-Moussa, N., and Festuccia, W.T (2019). Fish oil protects wild type and uncoupling protein 1-deficient mice from obesity and glucose intolerance by increasing energy expenditure. Molecular Nutrition & Food Research, 63(6), e1800813.

Pahlavani, M., Ramalingam, L., Miller, E.K., Scoggin, S., Menikdiwela, K.R., Kalupahana, N.S., Festuccia, W.T., and Moustaid-Moussa, N. (2019). Eicosapentaenoic acid reduces adiposity, glucose intolerance and increases oxygen consumption independently of uncoupling protein 1. *Molecular Nutrition & Food Research*, 63:e1800821.

Pahlavani, M., Razafimanjato, F., Ramalingam, L., Kalupahana, N.S., Moussa, H., Scoggin, S., and Moustaid-Moussa, N. (2017). Eicosapentaenoic acid regulates brown adipose tissue metabolism in high-fat-fed mice and in clonal brown adipocytes. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 39, 101-109.

Pahlavani, M., Wijayatunga, N.N., Kalupahana, N.S., Ramalingam, L., Gunaratne, P.H., Coarfa, C., Rajapakshe, K., Kottapalli, P., and Moustaid-Moussa, N. (2018). Transcriptomic and microRNA analyses of gene networks regulated by eicosapentaenoic acid in brown adipose tissue of diet-induced obese mice. *Biochimica et Biophysica Acta. Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1863(12), 1523-1531.

Pal, A., Metherel, A.H., Fiabane, L., Buddenbaum, N., and Shaikh, S.R. (2020). Do eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid have the potential to compete against each other? *Nutrients*, 12(12), 3718.

Park, S., Lee, J.J., Lee, J., Lee, J.K., Byun, J., Kim, I., and Ha, J.H. (2022). Lowering n-6/n-3 ratio as an ımportant dietary ıntervention to prevent LPS-ınducible dyslipidemia and hepatic abnormalities in ob/ob mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(12), 6384.

Patel, M.S., and Srinivasan. M. (2011). Metabolic programming in the immediate postnatal life. *Annals of Nutrition and Metabolism*, Suppl 2(Suppl 2), 18-28.

Pellegrinelli, V., Figueroa-Juárez, E., Samuelson, I., U-Din, M., Rodriguez-Fdez, S., Virtue, S., Leggat, J., Çubuk, C., Peirce, V.J., Niemi, T., Campbell, M., Rodriguez-Cuenca, S., Blázquez, J.D., Carobbio, S., Virtanen, K.A., and Vidal-Puig, A. (2023). Defective extracellular matrix remodeling in brown adipose tissue is associated with fibro-inflammation and reduced diet-induced thermogenesis. Cell Reports, 42(6), 112640.

Pendergast, J.S., Branecky, K.L., Yang, W., Ellacott, K.L., Niswender, K.D., and Yamazaki, S. (2013). High-fat diet acutely affects circadian organisation and eating behavior. *European Journal of Neuroscience*, 37(8), 1350–1356.

Perez, G.S., Cordeiro, G.D.S., Santos, L.S., Espírito-Santo, D.D.A., Boaventura, G.T., and Barreto-Medeiros, J.M. (2021). Does a high-fat diet-induced obesity model brown adipose tissue thermogenesis? A systematic review. *Archives of Medical Science: AMS*, 17(3), 596-602.

Pérez-Matute, P., Pérez-Echarri, N., Martínez, J.A., Marti, A., and Moreno-Aliaga, M.J. (2007). Eicosapentaenoic acid actions on adiposity and insulin resistance in control and high-fat-fed rats: role of apoptosis, adiponectin and tumour necrosis factor-alpha. *British Journal of Nutrition*, 97, 389–398.

Picó, C., Palou, M., Pomar, C.A., Rodríguez, A.M., and Palou, A. (2022). Leptin as a key regulator of the adipose organ. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 23(1), 13–30.

Pilkington, A.C., Paz, H.A., and Wankhade, U.D. (2021). Beige adipose tissue ıdentification and marker specificity-overview. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 599134.

Pollard, A.E., and Carling, D. (2020). Thermogenic adipocytes: lineage, function and therapeutic potential. *The Biochemical Journal*, 477(11), 2071-2093.

Proceedings of the Joint FAO/WHO Expert Consultation. (2009). Fats and fatty acids in human nutrition. *Annals of Nutrition & Metabolism*, 55(1-3), 5-300.

Qin, J., Kurt, E., LBassi, T., Sa, L., and Xie, D. (2023). Biotechnological production of omega-3 fatty acids: current status and future perspectives. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1280296.

Quesada-López, T., Cereijo, R., Turatsinze, J.V., Planavila, A., Cairó, M., Gavaldà-Navarro, A., Peyrou, M., Moure, R., Iglesias, R., Giralt, M., Eizirik, D.L., and Villarroya, F. (2016). The lipid sensor GPR120 promotes brown fat activation and FGF21 release from adipocytes. *Nature Communications*, 7, 13479.

Ramos-Vara, J. A. (2005). Technical aspects of immunohistochemistry. *Veterinary pathology*, *42*(4), 405-426.

Riant, E., Waget, A., Cogo, H., Arnal, J.F., Burcelin, R., and Gourdy, P. (2009). Estrogens protect against high-fat diet-induced insulin resistance and glucose intolerance in mice. *Endocrinology*, 150(5), 2109-2117.

Richard, A.J., White, U., Elks, C.M., and Stephens, J.M. (2000). *Adipose tissue: Physiology to metabolic dysfunction*. In Feingold, K. R., Anawalt, B., Blackman, M. R., Boyce, A., Chrousos, G., Corpas, E., de Herder, W. W., Dhatariya, K., Dungan, K., Hofland, J., Kalra, S., Kaltsas, G., Kapoor, N., Koch, C., Kopp, P., Korbonits, M., Kovacs, C. S., Kuohung, W., Laferrère, B., Levy, M., McGee, E. A., McLachlan, R., New, M., Purnell, J., Sahay, R., Shah, A. S., Singer, F., Sperling, M. A., Stratakis, C. A., Trence, D. L., & Wilson, D. P. (Eds.). Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.

Rio, D.C., Ares, M., Hannon, G.J., and Nilsen, T.W. (2010). Purification of RNA using TRIzol (TRI reagent). *Cold Spring Harbor Protocols*, *2010*(6), pdb-prot5439.

Roseboom, T.J. (2019). Epidemiological evidence for the developmental origins of health and disease: effects of prenatal undernutrition in humans. *The Journal of Endocrinology,* 242(1), T135-T144.

Saito, M., and Okamatsu-Ogura, Y. (2023). Thermogenic brown fat in humans: ımplications in energy homeostasis, obesity and metabolic disorders. *The World Journal of Men's Health,* 41(3), 489-507.

Saitoh, K., Yoshimura, T., Sun, L., Yang, M., Wang, Y., Taniyama, S., Hara, K., Murayama, F., Nikawa, T., Tachibana, K., and Hirasaka, K. (2020). Effect of dietary fish oil on enhanced inflammation and disturbed lipophagy in white adipose tissue caused by a high fat diet. *Fisheries Science*, 86, 187–196.

Samane S, Christon R, Dombrowski L, Turcotte S, Charrouf Z, Lavigne C, Levy E, Bachelard H, Amarouch H, Marette A, Haddad PS. Fish oil and argan oil intake differently modulate insulin resistance and glucose intolerance in a rat model of dietary-induced obesity. Metabolism. 2009 Jul;58(7):909-19.

Schirinzi, V., Poli, C., Berteotti, C., and Leone, A. (2023). Browning of adipocytes: A potential therapeutic approach to obesity. *Nutrients*, 15(9), 2229.

Seale, P., Bjork, B., Yang, W., Kajimura, S., Chin, S., Kuang, S., Scimè, A., Devarakonda, S., Conroe, H. M., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., Rudnicki, M. A., Beier, D. R., and Spiegelman, B. M. (2008). PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. *Nature,* 454(7207), 961–967.

Sears, B., and Perry, M. (2015). The role of fatty acids in insulin resistance. *Lipids in Health and Disease, 14*, 121.

Senturk, L.M., Seli, E., Gutierrez, L.S., Mor, G., Zeyneloglu, H.B., and Arici, A. (1999). Monocyte chemotactic protein-1 expression in human corpus luteum. *Molecular Human Reproduction*, 5(8), 697-702.

Seymen, C.M., Çakır Gündoğdu, A., Bulut, D.İ., Yılmaz Demirtaş, C., and Elmas, C. (2020). Royal jelly increased MAP-2 expression in hippocampal neurons of hypothyroid rats: An immunohistochemical study. *Biotechnic & Histochemistry, 95*(1), 46–54.

Shahidi, F., and Ambigaipalan, P. (2018). Omega-3 polyunsaturated fatty acids and their health benefits. *Annual Review of Food Science and Technology*, 9, 345-381.

Shaw, A., Tóth, B.B., Arianti, R., Csomós, I., Póliska, S., Vámos, A., Bacso, Z., Győry, F., Fésüs, L., and Kristóf, E. (2021). BMP7 increases UCP1-dependent and ındependent thermogenesis with a unique gene expression program in human neck area derived adipocytes. *Pharmaceuticals (Basel)*, 14(11), 1078.

Simao, J.D., Bispo, A.F.D., Plata, V.T.G., Armelin-Correa, L.M., and Alonso-Vale, M.I.C. (2024). Fish oil supplementation mitigates high-fat diet-induced obesity: Exploring epigenetic modulation and genes associated with adipose tissue dysfunction in mice. *Pharmaceuticals*, 17, 861.

Simopoulos, A.P. (2008). The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Experimental Biology and Medicine*, 233(6), 674-688.

Simopoulos, A.P. (2016). An increase in the omega-6/omega-3 fatty acid ratio increases the risk for obesity. *Nutrients*, 8(3), 128.

Sinha, S., Haque, M., Lugova, H., and Kumar, S. (2023). The effect of omega-3 fatty acids on insulin resistance. *Life (Basel)*, 13(6), 1322.

Soch, A., Sominsky, L., De Luca, S.N., and Spencer, S.J. (2019). Obesity after neonatal overfeeding is independent of hypothalamic microgliosis. *Journal of Neuroendocrinology*, 31(8), e12757.

Song, T., Yang, Y., Zhou, Y., Wei, H., and Peng, J. (2017). GPR120: A critical role in adipogenesis, inflammation, and energy metabolism in adipose tissue. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 74(15), 2723-2733.

Soni, N., Ross, A.B., Scheers, N., Nookaew, I., Gabrielsson, B.G., and Sandberg, A.S. (2019). The omega-3 fatty acids EPA and DHA, as a part of a murine high-fat diet, reduced lipid accumulation in brown and white adipose tissues. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 5895.

Stangegaard, M., Høgh Dufva, I., and Dufva, M. (2006). Reverse transcription using random pentadecamer primers increases yield and quality of resulting cDNA. *Biotechniques*, *40*(5), 649-657.

Su, H.Y., Lee, H.C., Cheng, W.Y., and Huang, S.Y. (2015). A calorie-restriction diet supplemented with fish oil and high-protein powder is associated with reduced severity of metabolic syndrome in obese women. *European Journal of Clinical Nutrition*, 69(3), 322–328.

Swanson, D., Block, R., and Mousa, S.A. (2012). Omega-3 fatty acids EPA and DHA: Health benefits throughout life. *Advances in Nutrition*, 3(1), 1-7.

Szczepańska, E., and Gietka-Czernel, M. (2022). FGF21: A novel regulator of glucose and lipid metabolism and whole-body energy balance. *Hormone and Metabolic Research*, 54(4), 203-211.

Tezze, C., Romanello, V., and Sandri, M. (2019). FGF21 as modulator of metabolism in health and disease. *Frontiers in Physiology*, 10, 419.

Thompson, A.L. (2020). Evaluating the pathways linking complementary feeding practices to obesity in early life. *Nutrition Reviews*, 78(Suppl 2), 13-24.

Tishinsky, J.M., Ma, D.W., and Robinson, L.E. (2011). Eicosapentaenoic acid and rosiglitazone increase adiponectin in an additive and PPARγ-dependent manner in human adipocytes. *Obesity*, *19*(2), 262-268.

Trevaskis, J.L., Griffin, P.S., Wittmer, C., Neuschwander-Tetri, B.A., Brunt, E.M., Dolman, C.S., Erickson, M.R., Napora, J., Parkes, D.G., and Roth, J.D. (2012). Glucagon-like peptide-1 receptor agonism improves metabolic, biochemical, and histopathological

indices of nonalcoholic steatohepatitis in mice. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 302(7), G762–G77.

Troesch, B., Eggersdorfer, M., Laviano, A., Rolland, Y., Smith, A.D., Warnke, I., Weimann, A., and Calder, P.C. (2020). Expert opinion on benefits of long-chain omega-3 fatty acids (DHA and EPA) in aging and clinical nutrition. *Nutrients*, 12(9), 2555.

Trumbo, P., Schlicker, S., Yates, A.A., Poos, M., and Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine, The National Academies. (2002). Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids. *Journal of the American Dietetic Association*, 102(11):1621-30.

Vermeulen, J., De Preter, K., Lefever, S., Nuytens, J., De Vloed, F., Derveaux, S., Hellemans, J., Speleman, F., and Vandesompele, J. (2011). Measurable impact of RNA quality on gene expression results from quantitative PCR. *Nucleic Acids Research, 39*(9), e63.

Villarroya, F., Cereijo, R., Villarroya, J., and Giralt, M. (2017). Brown adipose tissue as a secretory organ. *Nature Reviews Endocrinology*, 13(1), 26-35.

Wang, H., Storlien, L.H., and Huang, X.-F. (2002). Effects of dietary fat types on body fatness, leptin, and ARC leptin receptor, NPY, and AgRP mRNA expression. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 282(6), E1352–E1359.

Wang, M., Min, M., Duan, H., Mai, J., and Liu, X. (2024). The role of macrophage and adipocyte mitochondrial dysfunction in the pathogenesis of obesity. *Frontiers in Immunology*, *15*, 1481312.

Wang, W., and Seale, P. (2016). Control of brown and beige fat development. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 17(11), 691-702.

Wang, Y., and Huang, F. (2015). N-3 polyunsaturated fatty acids and inflammation in obesity: local effect and systemic benefit. *BioMed Research International*, 2015, 581469.

Wei, W. T., Hu, M. J., Huang, J., Yu, S., Li, X., Li, Y., and Mao, L. (2021). Anti-obesity effects of DHA and EPA in high fat-induced insulin resistant mice. *Food & Function*, 12, 1614–1625.

Whelan, J., and Whelan, J. (2020). Conversion of dietary polyunsaturated fats between humans and rodents: A review of allometric scaling models. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, 158, 102094.

Worsch, S., Heikenwalder, M., Hauner, H., and Bader, B.L. (2018). Dietary n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids upregulate energy dissipating metabolic pathways conveying anti-obesogenic effects in mice. *Nutrition and Metabolism,* 15, 65.

Wu, B., Ding, J., Chen, A., Song, Y., Xu, C., Tian, F., and Zhao, J. (2022). Aerobic exercise improves adipogenesis in diet-induced obese mice via the lncSRA/p38/JNK/PPARγ pathway. *Nutrition Research*, 105, 20-32.

Wu, J., Boström, P., Sparks, L.M., Ye, L., Choi, J.H., Giang, A.H., Khandekar, M., Virtanen, K.A., Nuutila, P., Schaart, G., Huang, K., Tu, H., van Marken Lichtenbelt, W.D., Hoeks, J., Enerbäck, S., Schrauwen, P., and Spiegelman, B.M. (2012). Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. *Cell*, 150(2), 366-376.

Yamazaki, T., Li, D., and Ikaga, R. (2021). Fish oil increases diet-induced thermogenesis in mice. *Marine Drugs*, 19, 278.

Yang, F., Zhou, N., Zhu, X., Min, C., Zhou, W., and Li, X. (2021). n-3 PUFAs protect against adiposity and fatty liver by promoting browning in postnatally overfed male rats: a role for NRG4. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 93, 108628.

Yang, M., Liu, C., Jiang, N., Liu, Y., Luo, S., Li, C., Zhao, H., Han, Y., Chen, W., Li, L., Xiao, L., and Sun, L. (2023). Fibroblast growth factor 21 in metabolic syndrome. *Frontiers in Endocrinology*, 14, 1220426.

Yang, X., Li, X., Hu, M., Huang, J., Yu, S., Zeng, H., and Mao, L. (2024). EPA and DHA differentially improve insulin resistance by reducing adipose tissue inflammation-targeting GPR120/PPARγ pathway. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 130, 109648.

Zalewski, B.M., Patro, B., Veldhorst, M., Kouwenhoven, S., Crespo Escobar, P., Calvo Lerma, J., Koletzko, B., van Goudoever, J.B., and Szajewska, H. (2017). Nutrition of infants and young children (one to three years) and its effect on later health: A systematic review of current recommendations (EarlyNutrition project). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(3), 489-500.

Zapata, J., Gallardo, A., Romero, C., Valenzuela, R., Garcia-Diaz, D.F., Duarte, L., Bustamante, A., Gasaly, N., Gotteland, M., and Echeverria, F. (2022). n-3 polyunsaturated fatty acids in the regulation of adipose tissue browning and thermogenesis in obesity: Potential relationship with gut microbiota. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, 177, 102388.

Zeng, F.F., Sun, L.L., Liu, Y.H., Xu, Y., Guan, K., Ling, W.H., and Chen, Y.M. (2014). Higher erythrocyte n-3 PUFAs are associated with decreased blood pressure in middle-aged and elderly Chinese adults. *The Journal of Nutrition*, 144(8), 1240–1246.

Zhang, J., Wang, C., Li, L., Man, Q., Meng, L., Song, P., Frøyland, L., and Du, Z.Y. (2012). Dietary inclusion of salmon, herring and pompano as oily fish reduces CVD risk markers in dyslipidaemic middle-aged and elderly Chinese women. *British Journal of Nutrition*, 108(8), 1455–1465.

Zhang, X., Paalvast, Y., Wang, Y., Rensen, P.C.N., and Groen, A.K. (2021). A hierarchical dynamic model used for investigating feed efficiency and its relationship with hepatic gene expression in APOE*3-Leiden.CETP mice. *Physiological Reports*, 9(8), e14832.

Zhang, X., Ritonja, J.A., Zhou, N., Chen, B.E., and Li, X. (2022). Omega-3 polyunsaturated fatty acids ıntake and blood pressure: A dose-response meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of The American Heart Association*, 11(11), e025071.

Ziemke, F., and Mantzoros, C.S. (2010). Adiponectin in insulin resistance: lessons from translational research. *American Journal of Clinical Nutrition*, 91(1), 258S–261S.

Ziqubu, K., Dludla, P.V., Mthembu, S.X.H., Nkambule, B.B., Mabhida, S.E., Jack, B.U., Nyambuya, T.M., and Mazibuko-Mbeje, S.E. (2023). An insight into brown/beige adipose tissue whitening, a metabolic complication of obesity with the multifactorial origin. *Frontiers in Endocrinology*, 14, 1114767.

Zivkovic, A.M., Telis, N., German, J.B., and Hammock, B.D. (2011). Dietary omega-3 fatty acids aid in the modulation of inflammation and metabolic health. *California Agriculture*, 65(3), 106-111.

EKLER

EK-1. Etik Kurul İzni

Evrak Tarih ve Sayısı: 24.02.2022-E.299104

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

Sayı : E-66332047-604.01.02-299104 24.02.2022
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Hilal YILDIRAN
Beslenme ve Diyetetik Bölüm Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Hilal YILDIRAN ve Meryem SABAN GÜLER'den oluşan, G.Ü.ET-22.031 kod numaralı ve ***"Obez Farelerde Omega 3 Yağ Asidinin Adipoz Dokuda Metabolik Parametreler ve Termojeneze Etkisi"*** başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-22.031 and entitled ***"Effect of Omega 3 Fatty Acid on Metabolic Parameters of Thermogenesis on Adipose Tissue in Obese Mice"*** is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Commitee regulations.

With my best regards.

Hayvan Türü : Fare C57BL/6
Hayvan Sayısı : 24

Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Ek:1 Liste

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
Belge Doğrulama Kodu :BSM0DPUJ72 Belge Takip Adresi : https://www.turkiye.gov.tr/gazi-universitesi-ebys

Emniyet Mahallesi Bandırma Caddesi No :6/1 06560 Yenimahalle/ANKARA Bilgi için :Nursel Güner
Tel:0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks:0 (312) 202 38 76 Genel Evrak Sorumlusu
e-Posta :hadyek@gazi.edu.tr İnternet Adresi :http://hadyek.gazi.edu.tr/ Telefon No:202 20 57
Kep Adresi: gaziuniversitesi@hs01.kep.tr

Bu belge,güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

EK-1. (devam) Etik Kurul İzni

Evrak Tarih ve Sayısı: 24.02.2022-E.292104

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 18/02/2022	TOPLANTI SAYISI : 02
ADI-SOYADI	
Prof.Dr.Abdulkadir BEDİRLİ (Başkan)	
Doç.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)	
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU	
Prof.Dr.Tuncay PEKER	
Prof.Dr.Fatma AKAR	
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK	
Prof.Dr.Mecit Orhan ULUDAĞ	
Prof.Dr.İpek SÜNTAR	
Prof.Dr.Neşet Volkan ASAR	
Doç.Dr.Emre BARIŞ	
Öğr.Gör.Dr.Şeyda DİKER	
Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM	
Vet.Hek.Burcu AVCI	
Osman İÇ	

Bu belge,güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

EK-2. Başlık Değiştirme Formu

Evrak Tarih ve Sayısı: 01.02.2025-E.1159087

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

Sayı : E-66332047-604.01-1159087 01.02.2025
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Hilal YILDIRAN
Beslenme ve Diyetetik Bölüm Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Daha önce 24.02.2022 tarih ve E.299104 sayılı yazımız ile onay alan G.Ü.ET-22.031 kod numaralı ***"Obez Farelerde Omega 3 Yağ Asidinin Adipoz Dokuda Metabolik Parametreler ve Termojeneze Etkisi"*** başlıklı çalışmanız ile ilgili vermiş olduğunuz 25.12.2024 tarihli dilekçeniz **24.01.2025** tarih ve **01** sayılı Kurul toplantısında incelenmiş olup,

Dilekçede; tez içeriği ve yönteminde hiçbir değişiklik yapılmadan tez başlığının ***"Yüksek Yağlı Diyetle Beslenen Farelerde Omega 3 Yağ Asitlerinin Adipoz Dokuda Termojeneze ve Metabolik Parametrelere Etkisi"*** olarak değiştirilmesi ile ilgili talebinizin uygun bulunduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Mustafa ARSLAN
Kurul Başkanı

Ek:1 Liste

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
Belge Doğrulama Kodu :BSMME3APC3 Belge Takip Adresi : https://www.turkiye.gov.tr/gazi-universitesi-ebys

Emniyet Mahallesi Bandırma Caddesi No :6/1 06560 Yenimahalle/ANKARA
Tel:0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks:0 (312) 202 38 76
e-Posta :hadyek@gazi.edu.tr İnternet Adresi :http://hadyek.gazi.edu.tr/
Kep Adresi: gaziuniversitesi@hs01.kep.tr
Bilgi için :Nursel Güner
Genel Evrak Sorumlusu
Telefon No:202 20 57

Bu belge,güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

EK-2. (devam) Başlık Değiştirme Formu

Evrak Tarih ve Sayısı: 01.02.2025-E.1159087

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 24/01/2025	TOPLANTI SAYISI : 01
ADI-SOYADI	**İMZA**
Prof.Dr.Mustafa ARSLAN (Başkan)	
Prof.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)	
Prof.Dr.Mustafa KAVUTÇU	
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK	
Prof.Dr.İpek SÜNTAR	
Prof.Dr.Serkan YAVUZ	
Prof.Dr.Şule COŞKUN CEVHER	
Prof.Dr.Fatma Gökçe APAYDIN	
Prof.Dr.Elvan ANADOL	
Doç.Dr.Yeliz KILINÇ	
Doç.Dr.Zeliha Aycan ÖZDEMİRKAN	
Doç.Dr. Duygu AĞAGÜNDÜZ	
Doç.Dr. Abdullah ÖZER	
Doç.Dr. Sühan GÜRBÜZ	
Dr.Öğr.Üyesi Şevki Mustafa DEMİRÖZ	
Dr.Öğr.Üyesi Zeynep YIĞMAN	
Dr.Öğr.Üyesi Nur Banu BAL	
Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM	
Öğr.Gör.Dr. Beyza AYDOĞAN	
Vet.Hek.Burcu AVCI	
Osman İÇ	

Bu belge,güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

EK-3. Yemlerin İçerikleri

D12451, D19081203G and D22111102-03

Rodent Diets with 45 kcal% Fat With Various n-3 and EPA Levels

Formulated by: Sara Sturgess
Research Diets, Inc.
12/7/2022

Product #	D12451		D19081203G		D22111102		D22111103	
	45 kcal% Fat (Lard)		45 kcal% Fat (All Safflower)		45 kcal% Fat 1.2 kcal% n-3; 0.5 kcal% EPA; n6/n3 = 10		45 kcal% Fat; 2.4 kcal% n-3; 1 kcal% EPA; n6/n3 = 5	
%	gm	kcal	gm	kcal	gm	kcal	gm	kcal
Protein	24	**20**	24	**20**	24	**20**	24	**20**
Carbohydrate	41	**35**	41	**35**	41	**35**	41	**35**
Fat	24	**45**	24	**45**	24	**45**	24	**45**
n-3 PUFA	0.58	1.28	0.03	0.06	0.54	1.20	1.08	2.40
Total		100		100		100		100
kcal/gm	4.7		4.7		4.7		4.7	
Ingredient	**gm**	**kcal**	**gm**	**kcal**	**gm**	**kcal**	**gm**	**kcal**
Casein	200	800	200	800	200	800	200	800
L-Cystine	3	12	3	12	3	12	3	12
Corn Starch	72.8	291	72.8	291	72.8	291	72.8	291
Maltodextrin 10	100	400	100	400	100	400	100	400
Sucrose	172.8	691	172.8	691	172.8	691	172.8	691
Cellulose	50	0	50	0	50	0	50	0
Lard	177.5	1598	0	0		0	0	0
Menhaden Oil	0	0	0	0	16.4	148	33.4	301
Safflower Oil	0	0	202.5	1823	42	378	47	423
Safflower Oil, High Oleic	0	0	0	0	144.1	1297	122.1	1099
Soybean Oil	25	225	0	0	0	0	0	0
Mineral Mix S10026	10	0	10	0	10	0	10	0
DiCalcium Phosphate	13	0	13	0	13	0	13	0
Calcium Carbonate	5.5	0	5.5	0	5.5	0	5.5	0
Potassium Citrate, 1 H2O	16.5	0	16.5	0	16.5	0	16.5	0
Vitamin Mix V10001	10	40	10	40	10	40	10	40
Choline Bitartrate	2	0	2	0	2	0	2	0
FD&C Yellow Dye #5	0	0	0.025	0	0	0	0.05	0
FD&C Red Dye #40	0.05	0	0	0	0	0	0	0
FD&C Blue Dye #1	0	0	0.025	0	0.05	0	0	0
Total	**858.15**	**4057**	**858.15**	**4057**	**858.15**	**4057**	**858.15**	**4057**
	gm in Diet	kcal % Diet	gm in Diet	kcal % Diet	gm in Diet	kcal % Diet	gm in Diet	kcal % Diet
n-6	57.0	12.64	158.8	35.22	54.1	12.01	55.7	12.36
n-3	5.8	**1.28**	0.3	0.06	5.4	**1.2**	10.8	**2.4**
EPA	0.0	0.00	0.0	0.00	2.3	**0.52**	4.7	**1.05**
DHA	0.0	0.00	0.0	0.00	1.7	0.37	3.4	0.76
n-6/n-3	**9.8**		**603.1**		**10.0**		**5.1**	
Linoleic acid (g/kg)	65.5		185.0		62.6		63.9	
Cholesterol (mg/kg diet)	195.1		46.6		159.0		275.5	

The levels of fatty acids are calculated from the specifications provided by the manufacturers.
If you need to know the exact values, please have the diets assayed prior to starting your study.

Research Diets, Inc.
20 Jules Lane
New Brunswick, NJ 08901 USA
info@researchdiets.com

TomanZ01.for

RESEARCH DIETS INC.
www.ResearchDiets.com

EK-4. Menhaden Yağı Yağ Asidi Analiz Raporu

Final Fatty Acid Profile

Medallion Labs

www.medallionlabs.com
1-800-245-5615 info@medlabs.com

Laura DeNicola
Research Diets, Inc
Email: _

Completion Date: January 15, 2017
Date Submitted: January 06, 2017
Medallion Company ID: RESEARCHDIETS01
Company Code: 16329
Library: 2017-MED-0209
PO Number: R16122901
Fax:

Sample ID: 2017-MED-0209-07 Indentifier: Menhaden (Fish) Oil Date Reviewed: 01/15/2017
Description: Fat Samples
Analysis: Triglycerides Date Run: 01/13/2017

			% (w/w) Fatty Acids in Product			
Component Name	Normalized by Weight	% (w/w) as Triglyceride in Product	Saturated Fatty Acids	Monounsaturated Fatty Acids	cis-cis Polyunsaturated Fatty Acids	trans Unsaturated Fatty Acids
4:0 Butyric						
6:0 Caproic						
8:0 Caprylic						
10:0 Capric						
12:0 Lauric	0.140%	0.130	0.122			
13:0 Tridecanoic						
14:0 Myristic	9.435%	8.764	8.303			
14:1 t-Tetradecanoic	0.080%	0.074				0.070
14:1 Myristoleic	0.058%	0.054		0.051		
15:0 Pentadecanoic	0.578%	0.537	0.510			
15:1 Pentadecenoic						
16:0 Palmitic	16.800%	15.605	14.870			
16:1 t-Hexadecenoic	0.422%	0.392				0.373
16:1 Palmitoleic	13.067%	12.137		11.560		
17:0 Margaric	0.394%	0.366	0.350			
17:1 Margaroleic	0.194%	0.180		0.172		
18:0 Stearic	2.808%	2.608	2.497			
18:1 trans-Elaidic	0.087%	0.081				0.078
18:1 Oleic	11.055%	10.268		9.826		
18:2 t-Octadecadienoic	0.320%	0.297				0.284
18:2 Linoleic	3.186%	2.959			2.831	
20:0 Arachidic	0.149%	0.138	0.133			
18:3 g-Linolenic	0.343%	0.319			0.305	
18:3 t-Linolenic	0.186%	0.173				0.165
20:1 Gadoleic	1.205%	1.119		1.075		
18:3 Linolenic	1.316%	1.222			1.169	
21:0 Heneicosanoic						
18:2 conjugated-Linoleic						
18:4 Octadecatetraenoic	2.977%	2.765			2.644	
20:2 Eicosadienoic						
22:0 Behenic	0.080%	0.074	0.071			
20:3 g-Eicosatrienoic	0.163%	0.151			0.145	
22:1 Erucic	0.116%	0.108		0.104		
20:3 Eicosatrienoic	0.126%	0.117			0.112	
20:4 Arachiodonic	0.990%	0.920			0.883	
23:0 Tricosanoic						
22:2 Docasadienoic	1.391%	1.292			1.245	
24:0 Lignoceric						
20:5 Eicosapentaenoic	18.538%	17.219			16.527	
24:1 Nervonic	0.305%	0.283		0.274		
22:3 Docosatrienoic						
22:4 Docosatetraenoic	0.164%	0.152			0.146	
22:5 Docosapentaenoic	2.857%	2.654			2.556	
22:6 Docosahexaenoic	10.472%	9.727			9.365	
Totals:	**100.00%**	**92.89**	**26.86**	**23.06**	**37.93**	**0.97**
Percent of Fatty Acid Components based on Total Fat:			**30.38%**	**26.00%**	**42.52%**	**1.09%**
Omega-3 Fatty Acids, Eicosapentaenoic Acid (EPA) and Docosahexaenoic Acid (DHA):					**25.89%**	

Sample ID: 2017-MED-0209-08 Indentifier: Butter (Anhydrous Milk Fat) Date Reviewed: 01/15/2017
Description: Fat Samples

Medallion's services, including this report, are provided subject to all provisions of Medallion's Standard Terms and Conditions, a copy of which appears at www.medlabs.com.
Limits of Detection, Method References and Measurement Variability are available upon request.

EK-5. Farelerin Haftalık Vücut Ağırlıkları Ölçüm Çizelgesi

	STD							YYD						1,2 YYD						2,4 YYD					
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Haftalar																									
Başlangıç																									
1																									
2																									
3																									
4																									
5																									
6																									
7																									
8																									
9																									
10																									
11																									
12																									
Son																									

EK-6. Farelerin Yem Tüketim Miktarları Ölçüm Çizelgesi

	STD							YYD						1,2 YYD						2,4 YYD					
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Tarih																									

EK-7. GTT/ITT için Kayıt Formu Örneği

FARE	1	2	3	4
Vücut Ağırlığı				
Enjeksiyon Hacmi				
0’	ENJEKSİYON			
3’		ENJEKSİYON		
6’			ENJEKSİYON	
9’				ENJEKSİYON
15’	KAN			
18’		KAN		
21’			KAN	
24’				KAN
30’	KAN			
33’		KAN		
36’			KAN	
39’				KAN
60’	KAN			
63’		KAN		
66’			KAN	
69’				KAN
90’	KAN			
93’		KAN		
96’			KAN	
99’				KAN
120’	KAN			
123’		KAN		
126’			KAN	
129’				KAN

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : SABAN GÜLER, Meryem

Uyruğu : T.C.

Eğitim

Derece	**Eğitim Birimi**	**Mezuniyet Tarihi**
Doktora	Gazi Üniversitesi / Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı	Devam Ediyor
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi / Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı	2019
Lisans	Hacettepe Üniversitesi / Beslenme ve Diyetetik Bölümü	2012
Lise	Batıkent Lisesi	2007

İş Deneyimi

Yıl	**Yer**	**Görev**
2016-devam ediyor	Gazi Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Fakültesi	Araştırma Gör.
2015-2016	Batman Üniversitesi	Araştırma Gör.
2013-2015	Düzce Üniversitesi / Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi	Diyetisyen
2013	Ankara Üniversitesi / Tıp Fakültesi Cebeci Hastanesi	Diyetisyen

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

1. Saban Güler, M., and Yıldıran, H. (2025). Obesity Management: Adipose Tissue Characteristics and the Effects of Omega-3 Fatty Acids on Thermogenesis. *Bitlis Eren Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 8, 10-18.

2. Saban Güler, M., Arslan, S., Ağagündüz, D., Cerqua, I., Pagano, E., Berni Canani, R., and Capasso, R. (2025). Butyrate: A potential mediator of obesity and microbiome via different mechanisms of actions. *Food Research International*, 199, 115420.

3. Güler, M. S., and Yıldıran, H. (2024). Comprehensive Review of Nobiletin, a Citrus Flavonoid: Metabolism and Anti-tumor Properties. *Clinical and Experimental Health Sciences*, *14*(2), 561-571.

4. Arslan, S., Saban Güler, M., Seymen, C. M., Arık Erol, G. N., ve Ağagündüz, D. (2024). Obez ratlarda L-theanin ve kafeinin serum lipidleri ve aterojenik indeksler üzerindeki etkisi. XI. Uluslararası Beslenme ve Diyetetik Kongresi. (Özet Bildiri/Sözlü Sunum).

5. Saban Güler, M., ve Arslan, S. (2024). Süt benzeri bitkisel bazlı içecekler hayvan sütlerine alternatif olabilir mi? Enerji/besin ögesi değerleri karşılaştırması. PUADER 4. Sağlıklı Büyüyen Çocuk Kongresi. (Özet Bildiri/Sözlü Sunum).

6. Arslan, S., ve Saban Güler, M. (2024). Sağlıklı bir içecek alternatifi olarak kombucha: Güçlü bir antioksidan mı? PUADER 4. Sağlıklı Büyüyen Çocuk Kongresi. (Özet Bildiri/Sözlü Sunum).

7. Saban Güler, M., ve Ayyıldız, F. (2024). Sağlık için probiyotikler el kitabı. Bölüm Adı: Diyabet ve probiyotikler, Yayın yeri: Nobel Medicus, Editör: M. Altındiş, Basım sayısı:1, pp. 189-208. ISBN= 978-625-371-771-1.

8. Saban Güler, M. (2023). Sağlık bilimlerinde yenilikçi çalışmalar. Bölüm Adı: Besin etiketleri: Tüketici bilgilendirmesi ve etik kurallar. Yayın yeri: Duvar Yayınları, Editör: S. Demirel, Basım sayısı:1, pp. 693-716. ISBN= 978-625-6507-22-7.

9. Karabudak, E., Saban Güler, M., Karabulut, Ö. F., Bayrak Ersin, M., Aydoğan, İ., Aköz, E., Demirel, G., ve Çiçek, B. (2020). Toplu beslenme sistemleri (toplu tüketim yerleri) için ulusal menü planlama ve uygulama rehberi. Bölüm Adı: İşçilerde menü planlama Yayın yeri: T.C. Sağlık Bakanlığı. Editörler: Y. Beyhan, S. Bilici & M. Kızıl. Yayın No: 1184. pp. 131-179. ISBN= 978-975-590-776-5.

10. Çetin, İ., Nalbantcilar, M. T., İnci, R., Saban Güler, M., Tosun, K., and Nazik, A. (2017). Correlation of drinking water nutritional element levels with body composition of women aged 55-70 years living in Batman province. *Dicle Tıp Dergisi*, 44(1), 99-108.

11. Şanlıer, N., Saban Güler, M. (2018). The benefits of brassica vegetables on human health. *Journal of Human Health Research*, 1(1), 1-13.

12. Saban Güler, M., and Bilici, S. (2018). *Use of nutritional screening tools in cancer-associated malnutrition.* ICFHN 2018: 20th International Conference on Food and Human Nutrition, 12(8) (Özet Bildiri/Poster).

13. Çetin, İ., Nalbantçılar, M. T., İnci, R., Saban Güler, M., Tosun, K., and Nazik, A. (2016). *Correlation of drinking water trace element levels with body composition of women between 55 70 years of age.* International Engineering, Science and Education Conference (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum).

14. Çetin, İ., Nalbantçılar, M.T., Yılmaz, B., Saban Güler, M., Tosun, K., and Akın, S. (2016). *Relationship between micro element levels of public drinkingwaters and body compositions of people living in Turkey.* The 11th Nordıc Nutrıtıon Conference (Tam Metin Bildiri/Poster).

15. Saban Güler, M., ve Bilici, S. (2017). Besinin içeriği, işleme ve pişirme yöntemlerinin glisemik indeks üzerine etkisi. *Gazi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2(3).



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR...