

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KRİLL VEYA BALIK YAĞI VERİLEN SIÇANLARDA OBEZİTEYE
VE LİPİT GEN EKSPRESYONUNA İLİŞKİN BAZI
PARAMETRELERİN İNCELENMESİ**

Uzm. Dyt. Mevra AYDIN ÇİL

**Beslenme ve Diyetetik Programı
DOKTORA TEZİ**

**ANKARA
2018**

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KRİLL VEYA BALIK YAĞI VERİLEN SIÇANLARDA OBEZİTEYE
VE LİPİT GEN EKSPRESYONUNA İLİŞKİN BAZI
PARAMETRELERİN İNCELENMESİ**

Uzm. Dyt. Mevra AYDIN ÇİL

**Beslenme ve Diyetetik Programı
DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç.Dr. Zehra BÜYÜKTUNCER DEMİREL**

**ANKARA
2018**

ONAY SAYFASI

KRİLL VEYA BALIK YAĞI VERİLEN SIÇANLARDA OBEZİTEYE VE LİPİT GEN EKSPRESYONUNA İLİŞKİN BAZI PARAMETRELERİN İNCELENMESİ

Uzm. Dyt. Mevra AYDIN ÇİL

Bu tez çalışması 29.01.2018 tarihinde jürimiz tarafından "Beslenme ve Diyetetik Programı" nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:

Doç. Dr. Mendane SAKA



(Başkent Üniversitesi)

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Zehra BÜYÜKTUNCER DEMİREL



(Hacettepe Üniversitesi)

Üye:

Doç. Dr. Makbule GEZMEN KARADAĞ



(Gazi Üniversitesi)

Üye:

Doç. Dr. Aslı AKYOL MUTLU



(Hacettepe Üniversitesi)

Üye:

Doç. Dr. Derya DİKMEN



(Hacettepe Üniversitesi)

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

16 Şubat 2018



Prof. Dr. Diclehan ORHAN

Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

- **Tezimin/Raporumun 04. 10. 2020 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç Kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.**

(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir)



29/01/2018

Uzm. Dyt. Mevra AYDIN ÇİL

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu Doç.Dr. Zehra BÜYÜKTUNCER DEMİREL danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığımı beyan ederim.


Uzm. Dyt. Mevra AYDIN İL



TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yürütülmesinde her türlü desteğini esirmeyen ve her aşamasında bana yol gösteren çok değerli danışmanım Sayın Doç. Dr. Zehra BÜYÜKTUNCER DEMİREL'e,

Tez izleme komitesinde yer alan değerli katkı ve desteklerini esirgemeyen hocalarım Sayın Doç.Dr. Aslı AKYOL MUTLU ve Sayın Doç.Dr. Makbule GEZMEN KARADAĞ'a,

Doktora ders döneminde ve bu çalışmanın planlamasında bilimsel katkılarını ve manevi desteğini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Tanju BESLER'e,

Biyokimyasal analizlerinin yapılmasında gerekli ortamı sağlayan ve rehberlik yapan Sayın Doç.Dr. Yasin BAYIR'a,

Gaz kromatografi yöntemi için destek olan ve yön gösteren Sayın Prof. Dr. Murat ARSLAN'a,

Genetik analizlerimin yapılmasında yardımcı olan Dr. Atena GHOSİ GHAREAGHAJİ ve Arş. Gör. Emine TORAMAN'a,

Doktora eğitimimin her aşamasında heyecanıma ortak olan, doktoranın hayatıma kazandırdığı çok değerli arkadaşlarım Arş. Gör. Aslıhan ÖZDEMİR'e ve Yrd. Doç. Dr. Zeynep CAFEROĞLU'na

Hem akademik hem de manevi desteği ile her zaman yanımda olan canım arkadaşım Yrd. Doç.Dr. Yağmur GÜR'e

Maddi ve manevi destekleri ile hayatımı ve akademik yaşantımı kolaylaştıran canım kardeşim Özlem Dilara ERGÜNEY ve eşi Burakcan ERGÜNEY'e

Bana sundukları olanaklar ve karşılıksız sevgileri ile bugünlere gelmemi sağlayan, hayatımın her aşamasında en büyük destekçilerim olan babam Mustafa AYDIN ve annem Vahide AYDIN'a,

Her zaman yanımda olan, maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirmeyen sabır, sevgi ve anlayışla bu süreci tamamlamamı sağlayan sevgili eşim Cüneyt ÇİL'e,

Doktora tez döneminin bütün zorluklarını benimle birlikte yaşayan ve varlığı ile bütün zorlukları unutturan canım oğlum Cemil Kerem ÇİL'e,

Doktora eğitim süresince 2211-Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı kapsamında verdiği maddi destek için TÜBİTAK'a,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Aydın-Çil, M., Krill veya Balık Yağı Verilen Sıçanlarda Obeziteye ve Lipit Gen Ekspresyonuna İlişkin Bazı Parametrelerin İncelenmesi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme ve Diyetetik Programı Doktora Tezi, Ankara, 2018. Bu çalışmanın amacı, sıçanlarda obezite ve obezite ile ilişkili hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde n-3 uzun zincirli çoklu doymamış yağ asidi (n-3 LCPUFA) desteğinin etkinliğini çeşitli biyokimyasal ve genetik mekanizmalar aracılığı ile incelemek ve n-3 LCPUFA kaynaklarının etkinliğini karşılaştırmaktır. Çalışmada 33 adet erkek Wistar sıçan dört gruba ayrılarak, sekiz hafta süre ile standart diyet, yüksek yağlı diyet (YYD), YYD+%2,5 balık yağı (BY-YYD) içeren diyet veya YYD+%2,5 krill yağı (KY-YYD) içeren diyet ile beslenmiştir. Sekiz haftanın sonunda sakrifiye edilen sıçanların kan ve doku örnekleri alınmıştır. Sıçanların yem tüketimleri, ağırlık kazanımları, serum glukoz, insülin, ghrelin, leptin düzeyleri ile lipit profilleri, karaciğer lipit kompozisyonları ile yağ asidi desaturaz 1 ve 2 (FADS1 ve FADS2) mRNA gen ekspresyonları karşılaştırılmıştır. Grupların yem tüketimleri arasındaki farkın önemli olduğu bulunmuş; en az yem tüketen grubun BY-YYD olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Tüm deney gruplarının ağırlık kazanımlarının kontrol grubundan fazla olduğu ($p<0,05$); ancak n-3 LCPUFA'nın vücut ağırlığını etkilemediği gösterilmiştir ($p>0,05$). Serum glukoz, trigliserit (TG), total kolesterol (TK) ve düşük yoğunluklu kolesterol (LDL-K) düzeylerinin YYD gruplarında kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Glukoz toleransını n-3 LCPUFA desteğinin etkilemediği ($p>0,05$); ancak lipit profilinde olumlu etkilerinin olduğu gösterilmiştir. KY-YYD grubunun YYD'ye göre TG ve TK; BY-YYD'ye göre ise TK düzeyleri daha düşük bulunmuştur (her biri için $p<0,05$). Serum ghrelin düzeyleri açısından gruplar arasında fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Serum leptin düzeylerinin ise YYD grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Karaciğer n-6/n-3 yağ asitleri oranını n-3 LCPUFA'nın etkilemediği gösterilmiştir ($p>0,05$). Karaciğer n-3 yağ asidi desaturaz aktivitesi KY-YYD grubunda BY-YYD'ye göre daha yüksek, toplam lipit oranı daha düşük bulunmuştur ($p>0,05$). FADS1 gen ekspresyonunun YYD grubunda daha yüksek olduğu ($p<0,05$); KY-YYD ve BY-YYD gruplarında FADS1 gen ekspresyonunun azaldığı saptanmıştır ($p<0,05$). Diğer gruplarla karşılaştırıldığında, FADS2 gen ekspresyon düzeyi BY-YYD grubunda daha yüksek bulunurken ($p<0,05$); krill yağının FADS2 gen ekspresyon düzeyini etkilemediği tespit edilmiştir ($p>0,05$). Sonuç olarak, n-3 LCPUFA kaynaklarının lipit metabolizmasını ve desaturaz genlerinin ekspresyonlarını sıçanlarda farklı düzeyde etkilediği gösterilmiştir. Bu prelinik çalışmanın sonuçları ışığında, n-3 LCPUFA'nın ve farklı kaynaklarının obezite ve obezite ile ilişkili hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde insan metabolizmasındaki etkinliğinin belirlenebilmesi için randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: krill yağı, n-3 LCPUFA, iştah, yağ asidi desaturaz.

ABSTRACT

Aydin-Cil, M., Investigation of Some Parameters Relating to Obesity and Lipid Gene Expression in Rats Fed with Krill or Fish Oil, Hacettepe University Institute of Health Sciences, Nutrition and Dietetic Program, Doctor of Philosophy Thesis, Ankara, 2018. The aim of this project was to determine the effect of n-3 LCPUFA supplementation the prevention and treatment of obesity and obesity related diseases, and to compare the effectiveness of different n-3 LCPUFA sources via biochemical and genetic mechanisms in rats. Thirty three male Wistar rats were classified into four study groups and fed for eight weeks with a standart diet, a High Fat Diet (HFD), a a High Fat Diet+%2.5 fish oil (FO-HFD) or a High Fat Diet+%2.5 krill oil (KO-HFD). At the end of eight weeks, rats were sacrificed, and blood and liver tissue samples were taken. The amount of pellet food consumed, weight gain, serum glucose, insulin, ghrelin and leptin concentrations, lipid profile, liver fatty acid composition and fatty acid desaturase 1 and 2 (FADS1 and FADS2) mRNA gene expression levels of rats were measured. The amount of pellet feed consumed by each group was significantly differed with a minimum consumption in FO-HFD group ($p<0.05$). Weight gain in each study group was significantly higher than control group ($p<0.05$); however, n-3 LCPUFA did not change weight gain of rats significantly ($p>0.05$). Serum glucose, total cholesterol (TC), triglycerides (TG) and low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) were higher in all HFD groups compared to control group ($p<0.05$). On lipid profile n-3 LCPUFA supplementation provided favourable effects; however, did not change glucose tolerance ($p>0.05$). Serum TC level of KO-HFD group was significantly lower than both HFD and BO-HFD groups ($p<0.05$); also, serum TG level of the KO-HFD group was significantly lower than only HFD group ($p<0.05$). There was no difference between serum ghrelin levels of groups ($p>0.05$), but serum leptin levels was higher in HFD vs control ($p<0.05$). n-3 LCPUFA supplementation did not change the liver n-6/n-63 fatty acid ratio ($p>0.05$). Liver n-3 fatty acid desaturation activity was higher, and liver total lipid content was lower in KO-HFD compared to BO-HFD ($p>0.05$). FADS1 gene expression was higher in the HFD ($p<0.05$); FADS1 gene expression decreased in BO-HFD and KO-HFD groups ($p<0.05$). When compared to other groups FADS2 gene expression level was higher in the BO-HFD group ($p<0.05$); krill oil did not affect the FADS2 gene expression level ($p>0.05$). As a result, it was showed that n-3 LCPUFA supplementation from different resources regulate lipid metabolism and expression of desaturase genes differently in rats. In light of the results of this preclinical study, randomized controlled trials are needed to determine the efficacy and different types of n-3 LCPUFA in the treatment and prevention of diseases associated with obesity and obesity in human metabolism.

Key words: krill oil, n-3 LCPUFA, appetite, fatty acid desaturase.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xii
ŞEKİLLER	xv
TABLolar	xvi
1. GİRİŞ	1
1.1. Kuramsal Yaklaşımlar	1
1.2. Amaç ve Hipotezler	3
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Obezite Tanımı ve Epidemiyolojisi	5
2.2. Obeziteye Eşlik Eden Hastalıklar	6
2.2.1. Obezite-T2DM	7
2.2.2. Obezite-KVH	7
2.2.3. Obezite-NAYKH	7
2.3. Obezitenin Etiyolojisi	8
2.3.1. İştah Metabolizması ve Obezite	9
2.4. Obezitenin Tedavisi	14
2.4.1. Diyet Tedavisi	15
2.4.2. Egzersiz Tedavisi	16
2.4.3. İlaç Tedavisi	16
2.4.4. Cerrahi Tedavi	17
2.4.5. Davranışsal/Bilişsel Tedavi	17
2.5. Obezite ve n-3 LCPUFA	18
2.6. α - Linolenik Asit ve n-3 Uzun Zincirli Çoklu Doymamış Yağ Asitleri	20
2.6.1. n-3 LCPUFA Kaynakları	21
2.6.2. n-3 LCPUFA Sindirim ve Emilimi	23

2.6.3. n-3 LCPUFA'nın Biyoyararlılığı	28
2.6.4. n-3 LCPUFA Metabolizması ve Fonksiyonları	29
Yağ Asidi Desaturaz 1 ve Yağ Asidi Desaturaz 2	30
2.6.5. n-3 LCPUFA ve Diğer Hastalıklarla İlişkisi	31
2.6.6. n-3 LCPUFA Gereksinimi	34
3. GEREÇ ve YÖNTEM	35
3.1. Çalışma Dizaynı ve Deney Hayvanları	35
3.2. Sıçanlara Verilen Yem Özellikleri ve Grupların Oluşturulması	35
3.3. Kan ve Doku Örneklerinin Hazırlanması	36
3.4. Yem Tüketimlerinin ve Vücut Ağırlığı Değerlendirilmesi	37
3.5. Serum Örneklerinde Biyokimyasal Analizlerin Yapılması	37
3.5.1. Serum Glukoz ve Kan Lipitleri	37
3.5.2. Serum İnsülin, Leptin, Ghrelin Düzeyleri	37
3.6. Karaciğer Yağ asidi Kompozisyon Analizi	38
3.6.1. Karaciğer Örneklerinden Toplam Yağın Ekstrakte Edilmesi	38
3.6.2. Karaciğer Örneklerinde Yağ Asidi Metil Esterlerinin Tayini	39
3.6.3. Karaciğer Örneklerinde Yağ Asidi Oranlarının Belirlenmesi	39
3.7. Karaciğer FADS1 ve FADS2 Gen Ekspresyonlarının Belirlenmesi	40
3.7.1. RNA İzolasyonu	40
3.7.2. cDNA Sentezi	42
3.7.3. RT-PCR	42
3.8. İstatistiksel Analiz	43
4. BULGULAR	44
4.1. Deney Gruplarına Göre Sıçanların Besin Alımları ve Vücut Ağırlıklarına İlişkin Bulgular	44
4.2. Deney Gruplarına Göre Sıçanların Bazı Biyokimyasal Bulguları	50
4.3. Deney Gruplarına Göre Sıçanların Karaciğer Yağ Asidi Kompozisyonuna İlişkin Bulgular	57
4.4. Deney Gruplarına Göre Sıçan Karaciğer Yağ Asidi Desaturaz 1 ve Yağ Asidi Desaturaz 2 mRNA Gen Ekspresyonu Bulguları	60
5. TARTIŞMA	62

5.1. n-3 LCPUFA'nın Besin Alımı ve Vücut Ağırlığı Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi	62
5.2. n-3 LCPUFA'nın Bazı Biyokimyasal Bulgular Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi	64
5.3. n-3 LCPUFA'nın Karaciğer Yağ Asidi Kompozisyonu Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi	68
5.4. n-3 LCPUFA'nın Karaciğer Yağ Asidi Desaturaz 1 ve Yağ Asidi Desaturaz 2 Gen Ekspresyonları Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi	70
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	74
6.1. Sonuçlar	74
6.2. Öneriler	79
7. KAYNAKLAR	81
8. EKLER	
EK 1: Etik Kurul İzini	
EK 2: Krill Yağı Analiz Raporu	
9. ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER ve KISALTMALAR

AA	Araşidonik Asit
AgRP	Agouti-Related Peptit
AHA	Amerikan Kalp Derneği/Amerikan Heart Association
ALA	Alfa Linolenik Asit
AND	Beslenme ve Diyetetik Akademisi / Academy of Nutrition and Dietetics
ARC	Arkuat Nükleus
BKİ	Beden Kütle İndeksi
BY	Balık Yağı
BY-YYD	Balık Yağlı Yüksek Yağlı Diyet
CART	Kokain Amfetamin Düzenleyici Transkript/Cocaine-Amphetamine-Regulated Transcript
D5D	Delta-5-Desaturaz
D6D	Delta-6-Desaturaz
DAG	Diaçilgliserol
DAYTAM	Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi
DGLA	Dihomo-Gama-Linoleik Asit
DHA	Dokosaheksaenoik Asit
dl	Desilitre
DMN	Dorsomedial Nükleus
DPA	Dokosapentaenoik Asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EE	Etil Ester
EPA	Eikosapentaenoik Asit
ETA	Eikosatetraenoik Asit
FADS	Yağ Asidi Desaturaz/Fatty Acid Desaturase
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi/American Food and Drug Administration
g	Gram
GLA	Gama Linoleik Asit

GOAT	Ghrelin O-Açıl Transferaz
HDL-K	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein-Kolesterol/High Density Lipoprotein
HOMA-IR	Homeostasis Model Assesment of İnsulin İndex
kcal	Kilokalori
kg	Kilogram
KVH	Kardiyovasküler Hastalık
KY	Krill Yağı
KY-YYD	Krill Yağlı Yüksek Yağlı Diyet
l	Litre
LA	Linoleik Asit
LCPUFA	Uzun Zincirli Çoklu Doymamış Yağ Asidi/Long Chain Polyunsaturated Fatty Acid
LDL-K	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein-Kolesterol
LHA	Lateral Nükleus
m²	Metrekare
MAG	Monoaçilgliserol
mg	Miligram
mIU	Miliinternasyonel Unite
mRNA	Mesajcı Ribonükleik Asit
NAYKH	Non Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı
ng	Nanogram
NPY	Nöropeptit Y
pg	Pikogram
POMC	Pro-Opiomelanokortin
RNA	Ribonükleik Asit
RT-PCR	Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu/ Real Time-Polymerase Chain Reaction
SA	Stearidonik Asit
SYA	Serbest Yağ Asidi
T2DM	Tip 2 Diyabetes Mellitus
TBSA	Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması-2010
TG	Trigliserit

TK	Total Kolesterol
TNF-α	Tümör Nekrozis Factor- α
TÖBER	Türkiye'ye Özgü Beslenme Rehberi
VLDL-K	Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein-Kolesterol/ Very Low Density Lipoprotein-Cholesterol
VMN	Ventromedial Nukleus
YYD	Yüksek Yağlı Diyet



ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa	
2.1.	Obezitenin multifaktoriyel etiyolojisi.	9
2.2.	n-3 LCPUFA'ların kimyasal formülü.	21
2.3.	ALA ve LA metabolizması.	30
3.1.	RNA izolasyon protokolü.	41
3.2.	RNA'dan cDNA sentez protokolü.	42
3.3.	RT-PCR protokolü.	43
4.1.	Sıçanların haftalara göre günlük enerji alımlarının eğrileri (kkal/gün).	48
4.2.	Sıçanların haftalık vücut ağırlığı değişimleri (g).	49
4.3.	Sıçanların deney gruplarına göre deney sonu ortalama ağırlıkları.	49
4.4.	Deney gruplarına göre sıçanların ortalama glukoz düzeyleri.	52
4.5.	Deney gruplarına göre sıçanların ortalama insülin düzeyleri.	53
4.6.	Deney gruplarına göre sıçanların ortalama HOMA-IR düzeyleri.	53
4.7.	Deney gruplarına göre sıçanların ortalama TG düzeyleri.	54
4.8.	Deney gruplarına göre sıçanların ortalama TK düzeyleri.	54
4.9.	Deney gruplarına göre sıçanların ortalama HDL-K düzeyleri.	55
4.10.	Deney gruplarına göre sıçanların ortalama LDL-K düzeyleri.	55
4.11.	Deney gruplarına göre sıçanların ortalama ghrelin düzeyleri.	56
4.12.	Deney gruplarına göre sıçanların ortalama leptin düzeyleri.	56
4.13.	Sıçanların deney gruplarına göre ortalama karaciğer yağ oranları.	57
4.14.	Deney gruplarına göre sıçanların karaciğer FADS1 gen ekspresyonları.	60
4.15.	Deney gruplarına göre sıçanların karaciğer FADS2 gen ekspresyonları.	61

TABLolar

Tablo		Sayfa
2.1.	Yetişkinlerde BKİ'ye göre vücut ağırlığının değerlendirilmesi.	6
2.2.	Krill yağı ve balık yağının makro besin ögesi kompozisyonu.	22
2.3.	Krill yağı ile yapılmış çeşitli hayvan çalışmalarının zeti.	24
2.4.	Çeşitli otoriterin n-3 LCPUFA nerileri.	34
3.1.	Gruplara göre sıçanlara verilen diyetlerin enerji ve makro besin ögesi kompozisyonu.	36
3.2.	Gaz kromotografi koşulları.	40
4.1.	Sıçanların haftalara göre günlük yem tüketim miktarları (g/gün).	45
4.2.	Sıçanların haftalara göre günlük enerji alımları (kkal/gün).	47
4.3.	Gruplara göre sıçanların vücut ağırlıklarına ilişkin veriler.	48
4.4.	Deney gruplarına göre sıçanların biyokimyasal bulguları.	51
4.5.	Deney gruplarına göre sıçanların karaciğer yağ asidi kompozisyonlar.	59

1. GİRİŞ

1.1. Kuramsal Yaklaşımlar

Günümüzde global epidemik halk sağlığı problemi haline gelen obezite, birçok sistemi etkileyen inflamatuvar kompleks bir hastalıktır (1, 2). Obezitenin etiolojisinde yer alan mekanizmalar karmaşıktır ve henüz tam olarak aydınlatılamamıştır (3). Obezitede görülen metaflamasyon, tip 2 diyabet (T2DM), kardiyovasküler hastalıklar (KVH) ve non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH) gibi bulaşıcı olmayan kronik hastalıklar için önemli bir risk faktörüdür (2, 4-6). Ülkemiz de dahil olmak üzere birçok ülkede sağlık otoriteleri hem hastalık yüklerini hem de sağlık harcamalarını azaltabilmek için obezite ile mücadele planları geliştirmektedir. Bu planlarda sağlıklı beslenmenin ve fiziksel aktivitenin önemine yer verilmektedir (6-8).

Diyet ve/veya fiziksel aktivite yerine daha kolay bir yöntem olarak düşünülen besin desteği kullanımı dünyada popüler hale gelmiştir (9, 10). Ancak obezitenin önlenmesinde veya tedavisinde kullanılan birçok besin desteğine ait bilimsel kanıtlar oldukça yetersizdir (11). Metaflamasyon hipotezinden yola çıkarak anti-inflamatuvar olması nedeniyle insanlar için elzem yağ asidi olan n-3 uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri (Long Chain Unsaturated Fatty Acids-LCPUFA) obeziteye karşı sıklıkla kullanılan besin desteklerinden biridir (12, 13). Anti-inflamatuvar özelliğinin yanı sıra, n-3 LCPUFA'lar, iştah hormonlarını düzenleyerek iştah ve besin tüketimi üzerinde etki gösterebilmektedir (14-16). Bu etkiyi leptin, ghrelin gibi iştah hormonlarının düzeylerini değiştirip, arkuat nükleus oreksijenik/anoreksijenik dengeyi anoreksijenik yöne çevirerek ve anoreksijenik etki yaratan ventromedial hipotalamik nükleus/paraventriküler hipotalamik nükleus aktivitesini artırarak gösterdiği bildirilmiştir (17-20).

İştah kontrolünden bağımsız olarak n-3 LCPUFA daha az ağırlık kazanımı ve adiposit oluşumunu sağlayabilmektedir. Antiobezojenik etkisini preadipozit apoptozunu uyararak, adiposit farklılaşmasını engelleyerek, lipogenezi baskılayarak, adipositlerde beta oksidasyonu uyararak lipit metabolizması üzerinden de gösterebilmektedir (21-24). Aynı zamanda n-3 LCPUFA'lar karaciğer, kalp gibi çeşitli dokularda yağ asidi oksidasyonunda yer alan genlerin ekspresyonunu

artırırken, adipoz dokuda ve karaciğerde lipogenik genlerin ekspresyonunu azaltmaktadır (21, 25).

Desaturaz enzimleri n-3 LCPUFA'ların metabolizmada kullanımında önemli rol oynamaktadır. Bu enzimler (delta-5 desaturaz ve delta-6 desaturaz) sırasıyla yağ asidi desaturaz 1 (Fatty Acid Desaturase 1-FADS1) ve yağ asidi desaturaz 2 (Fatty Acid Desaturase 2-FADS2) genleri tarafından kodlanmaktadır (26). Bu genlerin ekspresyonundaki değişiklik, enzim aktivitelerini değiştirmektedir. Gen ekspresyonundaki değişikliğin n-3 LCPUFA alımı ile kontrol edilebildiği hücre kültürlerinde, babunlarda, farelerde ve insanlarda gösterilmiştir (27-29). Sjögren ve ark. (30), FADS1 ve FADS2 gen ekspresyonlarındaki ve desaturaz enzim aktivitelerindeki değişikliklerin insülin direnci, dislipidemi ve obezite ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir.

Dünyada ve ülkemizde sağlıklı yaşam için haftada 2-3 kez balık tüketimi (350-400 g) önerilmektedir. Eğer balık tüketimi sağlanamıyorsa en az 250 mg/gün n-3 LCPUFA alınması gerektiği belirtilmektedir (31, 32). Biyoyararlılığını etkilediği için kullanılan n-3 LCPUFA desteğinin kimyasal yapısı, emülsiyon işlemi ve mikrokapsülasyon türü önemlidir (33).

Piyasadaki n-3 LCPUFA desteklerinin majör kaynakları balık yağı ve krill yağıdır. *Euphausia superba*'dan ekstrakte edilen krill yağı, bilim dünyası için yeni tanınan ve ülkemizde nadir kullanılan n-3 LCPUFA desteğidir. Her ikisi de omega 3 yağ asidi kaynağı olmalarına karşın, farklı özelliklere ve metabolik etkilere sahiptirler. Birincisi, krill yağı daha az eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosaheksaenoik asit (DHA) içermektedir. İkincisi, krill yağında n-3 LCPUFA fosfolipit formunda, balık yağında ise trigliserit formundadır ve bu sayede emiliminin daha iyi olabileceği bildirilmiştir. Son olarak, krill yağı astaksantin içermektedir. Antioksidan olan astaksantin oksidasyona karşı n-3 LCPUFA'ları koruyucu etkisi olduğu belirtilmiştir(34, 35).

Krill yağı ile balık yağının obezite üzerindeki olası farklı etkilerini inceleyen çalışmalar genellikle besin alımı ve enerji harcamasını düzenleyen ve vücut kompozisyonunda etkili olan endokannabinoid sistem üzerine yoğunlaşmıştır (36, 37). Krill yağının balık yağına göre endokannabinoid sistemin baskılanmasında daha etkin olduğu tespit edilmiştir (38). Balık yağı, aynı miktarda n-3 LCPUFA içeren

krill yağının düzenlediği glukoz, lipit ve mitokondriyal solunum zinciri gibi önemli metabolik yolları düzenleyememektedir (39). Krill yağı ile ilgili çalışmaların yetersizliği nedeniyle besin desteği olarak hangisinin kullanılması gerektiği konusunda tam olarak bir fikir birliğine varılamamıştır. Ayrıca literatürde balık yağı ile krill yağının kıyaslayan çalışmaların eksikliği de göze çarpmaktadır.

Obezite ve obezite ile ilişkili metabolik risk parametreleri (lipit profili, glisemik kontrol) dolayısıyla T2DM, KVH ve NAYKH gibi hastalıklar üzerinde n-3 LCPUFA'nın etkisinin moleküler düzeyde açıklanması hala yetersizdir ve bu konuda krill yağı balık yağının olası farklı etkilerine ait mekanizmaları açıklayan az sayıda çalışmaya rastlanmıştır.

1.2. Amaç ve Hipotezler

Bu çalışmanın amacı, obezite ve obezite ile ilişkili hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde n-3 LCPUFA desteğinin etkinliğini belirlemek ve kaynaklarını karşılaştırmaktır. Bu amaç doğrultusunda, yüksek yağlı diyet ile birlikte verilen krill yağı ve balık yağı desteğinin, vücut ağırlığı ve besin tüketimi, obezite ile ilişkili biyokimyasal parametreler, karaciğer yağ asidi kompozisyonu ve bazı gen ekspresyonları üzerine etkileri incelenecektir. Çalışmanın hipotezleri aşağıda belirtilmiştir.

Bu çalışmada test edilecek hipotezler:

Hipotez 1:

H₁: Yüksek yağlı diyetle birlikte alınan krill yağı veya balık yağının, kontrol diyeti veya yüksek yağlı diyete göre, vücut ağırlığı üzerinde farklı etkisi vardır.

H₀: Yüksek yağlı diyetle birlikte alınan krill yağı veya balık yağının, kontrol diyeti veya yüksek yağlı diyete göre, vücut ağırlığı üzerinde farklı etkisi yoktur.

Hipotez 2:

H₁: Yüksek yağlı diyetle birlikte alınan krill yağı veya balık yağının, kontrol diyeti veya yüksek yağlı diyete göre, besin alımı üzerinde farklı etkisi vardır.

H₀: Yüksek yağlı diyetle birlikte alınan krill yağı veya balık yağının, kontrol diyeti veya yüksek yağlı diyete göre, besin alımı üzerinde farklı etkisi yoktur.

Hipotez 3:

H₁: Yüksek yağlı diyetle birlikte alınan krill yağı veya balık yağının, kontrol diyeti veya yüksek yağlı diyetle göre, obezite ile ilişkili biyokimyasal parametreler üzerinde farklı etkisi vardır.

H₀: Yüksek yağlı diyetle birlikte alınan krill yağı veya balık yağının, kontrol diyeti veya yüksek yağlı diyetle göre, obezite ile ilişkili biyokimyasal parametreler üzerinde farklı etkisi yoktur.

Hipotez 4:

H₁: Yüksek yağlı diyetle birlikte alınan krill yağı veya balık yağının, kontrol diyeti veya yüksek yağlı diyetle göre, bazı gen ekspresyonları üzerinde farklı etkisi vardır.

H₀: Yüksek yağlı diyetle birlikte alınan krill yağı veya balık yağının, kontrol diyeti veya yüksek yağlı diyetle göre, bazı gen ekspresyonları üzerinde farklı etkisi yoktur.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Obezite Tanımı ve Epidemiyolojisi

Obezite, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından sağlığı bozacak şekilde vücut yağının artması olarak tanımlanmaktadır. Latince “yağlı-şişman” anlamına gelen “obesitas” kelimesinden türetilen obezite -globezite- günümüzde global, önlenebilir ve epidemik bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir (1, 40, 41).

Obezite prevalansı 1975 yılından beri dünya genelinde yaklaşık 3 kat artmıştır; DSÖ 2016 yılı verileri, yaklaşık 1.9 milyar (%39) yetişkinin hafif şişman, 650 milyon yetişkinin (%13) ise obez olduğunu göstermektedir. Aynı verilere göre 5 yaş altı 141 milyon çocuğun, 5-19 yaş arası 340 milyon çocuk ve adolesanın hafif şişman veya obez olduğu bildirilmiştir. Obezite prevalansı sadece yüksek gelirli ülkelerde değil düşük-orta gelirli ülkelerde de artmaktadır (41).

Dünya’da olduğu gibi ülkemizde de son yirmi yıldır yetişkinlerde ve çocuklarda hafif şişman/obezite prevalansı artış göstermektedir (42). Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması-I (TURDEP-I) ve Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması-II (TURDEP II) sonuçlarına göre ülkemizde 12 yılda kadınlarda obezite prevalansı %34, erkeklerde %107 artmıştır (43). Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması-2010 (TBSA) verilerine göre tüm yetişkin bireylerde obezite prevalansı %30,3, hafif şişmanlık prevalansı %34,6; 0-5 yaş grubu çocuklarda obezite ve hafif şişmanlık prevalansı sırasıyla %5,9 ve %14,6’dır (44). Türkiye Sağlık Araştırması’nda 15 yaş ve üzeri bireylerin %19,6’sının obez, %34,3’ünün hafif şişman olduğu bildirilmiştir (45). Bu araştırmaların tümünde cinsiyete göre bakıldığında kadınlarda obezite görülme sıklığı erkeklere göre daha fazla bulunmuştur (43-45) .

Obezitenin sınıflandırılmasında sıklıkla kullanılan ve boya göre ağırlığın basit bir göstergesi olan beden kütle indeksi (BKİ), bireyin kilogram cinsinden ağırlığının, metre cinsinden boyun karesine bölünmesi (kg/m^2) ile elde edilmektedir (46). Tablo 2.1’de yetişkinlerde BKİ’ye göre vücut ağırlığının değerlendirilmesi gösterilmiştir (47).

Tablo 2.1. Yetişkinlerde BKİ'ye göre vücut ağırlığının değerlendirilmesi (47).

Sınıflandırma	BKİ (kg/m ²)
Zayıf	< 18,5
Normal	18,5-24,99
Hafif Şişman	> 25,00-29,99
Obez	>30,00
I. Derece obez	30,00-34,99
II. Derece obez	34,99-39,99
III. Derece obez	>40,00

Vücut kompozisyonu (vücut yağ kütlesi, kas kütlesi vb.) ve yağ dağılımı hakkında bilgi vermediği için BKİ yerine vücut yağ dağılımının göstergesi olarak bel çevresi ve bel/kalça oranı kullanılabilir. Bulaşıcı olmayan kronik hastalık riskinin artmaması için bel/kalça oranı, erkeklerde 0.9, kadınlarda 0.85'in üzerine çıkmamalıdır (40, 46).

2.2. Obeziteye Eşlik Eden Hastalıklar

Obezite, kardiyovasküler hastalık (KVH), tip 2 diyabetes mellitus (T2DM), kas-iskelet hastalıkları, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH) ve bazı kanser türleri (endometriyal, kolon, meme) gibi beslenme ile ilişkili bulaşıcı olmayan hastalıklar için önemli bir risk faktörüdür (5, 41). Bu hastalıkların etiyopatogenezinde obezitenin yer almasının en çok bilinen nedeni obezitede görülen düşük düzeyli kronik inflamasyon -metaflamasyon- durumudur (2, 4). Çeşitli çalışmalarda, obez bireylerde, proinflamatuvar sitokinler olan C-reaktif protein, tümör nekrozis faktör (TNF)- α ve interlökin 6 düzeylerinin sağlıklı bireylere göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (48, 49). Bozulan proinflamatuvar-antiinflamatuvar dengenin yol açtığı inflamatuvar sürecin insülin direnci ve lipit metabolizması anormalliklerine neden olarak, obezite ile ilişkili metabolik komplikasyonların (T2DM, dislipidemi, NAYKH) başlamasına ve ilerlemesine katkıda bulunduğu bildirilmiştir (5).

2.2.1. Obezite-T2DM

Obezitedeki artışla T2DM'deki artışın ilişkili olduğu ve T2DM'nin %90'nından ağırlık artışının sorumlu olduğu düşünülmektedir. Obez bireylerde, yüksek yağlı beslenme ve adipoz doku miktarının artması gibi nedenlerle yükselen serbest yağ asidi (SYA) düzeyleri insülin yetersizliğinin ve direncinin oluşmasında temel rol oynamaktadır. Pankreasta biriken SYA'lar beta hücrelerinde lipotoksik etki yaparak insülin sentezini azaltabileceği gibi, kasların glukoz tutulumunu ve glikojen sentezini azaltarak hiperglisemiye (glukotoksisite), hiperinsülinemiye ve sonucunda insülin direncine neden olabileceği bildirilmiştir. Ayrıca hiperglisemi, proteinlerin glukolizasyonunu ve glukolizasyon son ürünlerini artırarak beta hücre apoptozunu artırmaktadır. Bütün bu nedenlere ek olarak, obezitedeki inflamasyon durumu da T2DM gelişme riski ile ilişkili bulunmuştur (50).

İnsülin direnci ve T2DM riskini belirleyen en önemli göstergelerden biri vücut yağ dağılımıdır. Özellikle, artmış visseral adipozite artmış T2DM riski ile ilişkilendirilmektedir. Visseral obezitenin klinik ölçümü olan bel çevresi ve bel/kalça çevresi oranı T2DM için iyi metabolik risk göstergesidir (51).

2.2.2. Obezite-KVH

Obezite özellikle visseral obezite, artmış serum total kolesterol (TK), trigliserit (TG), düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol (Low Density Lipoprotein-LDL-K), çok düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol (Very Low Density Lipoprotein-VLDL-K), apolipoprotein B ve azalmış yüksek dansiteli lipoprotein-kolesterol (High Density Lipoprotein-HDL-K) düzeyi ile ilişkilidir. Obezitede meydana gelen bozulmuş kan lipit profili, dislipidemi, KVH riskini artırmaktadır. Vücut ağırlığındaki her %10'luk artışın kolesterol seviyesini 12 mg/dl artırdığı bildirilmiştir. Ağırlık kaybı ile lipit profilinin iyileştiği, küçük yoğun LDL-K düzeyinin azaldığı ve HDL-K düzeyinin yükseldiği gösterilmiştir (52).

2.2.3. Obezite-NAYKH

Artmış adipozite, özellikle santral obezite ile, ilişkilendirilen NAYKH zayıf kişilerde de görülebilmektedir. Ancak bu kişilerde ağır insülin direnci veya belirgin

visseral obezite bulunduğu bildirilmiştir. Hepatik steatoz, karaciğerdeki yağın dağılımı ve kullanımdaki dengesizlik sonucu ortaya çıkmaktadır. Yüksek enerjili, yağlı ve şekerli beslenme tokluk plazma glukozunu ve insülin düzeylerini yükselterek NAYKH için risk faktörleri olan hepatic de-novo lipogenezi, steatozu, insülin direncini ve santral obeziteyi artırmaktadır. Ayrıca obezitede görülen artmış SYA'lar karaciğer mitokondrisinde oksidatif stresi artırarak, kupfer ve yıldız hücrelerde proinflamatuvar ve fibrojenik sitokin sentezini uyarmaktadır. Bozulan inflamatuvar dengenin ve fibrojen sentezinin karaciğer inflamasyonuna, fibrozisine ve NAYKH'ye neden olabileceği belirtilmiştir (53).

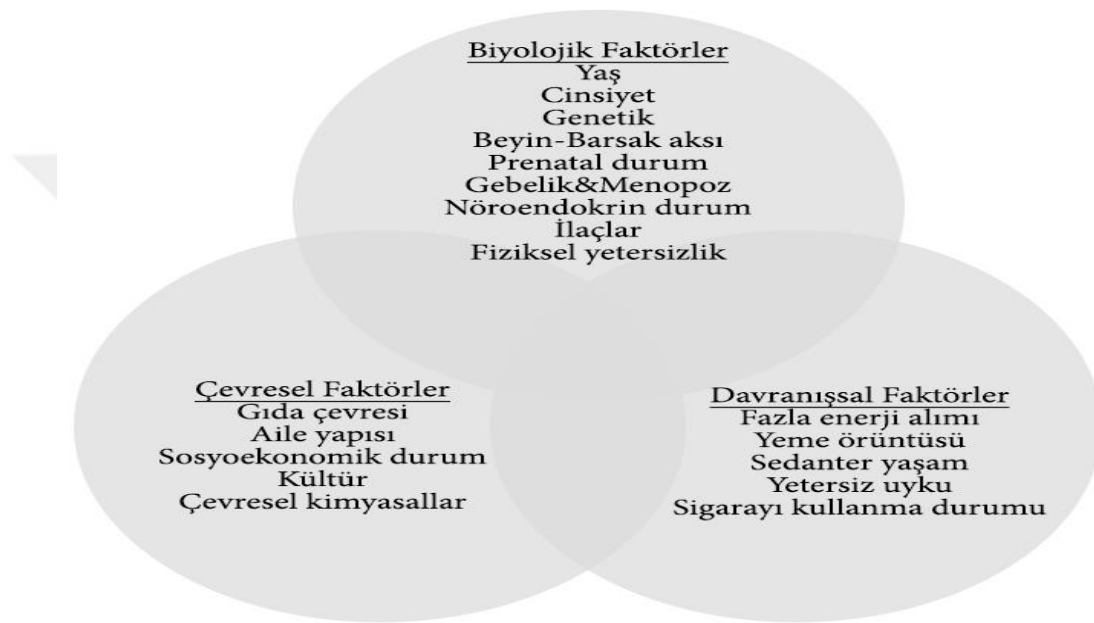
2.3. Obezitenin Etiyolojisi

Obezite ile mücadele edebilmek için nedenlerinin ve etiolojisinin anlaşılması büyük önem taşımaktadır (54). En basit şekli ile obezite, enerji alımı enerji harcamasından daha fazla olduğunda ortaya çıkmaktadır. Yüksek enerjili ve yağlı besinlerin hem ucuz hem de ulaşımının kolay olması bu besinlerin aşırı tüketimine teşvik etmekte ve bu durumda enerji açığına neden olmaktadır (40, 41). Swinburn ve ark.'na (55) göre, Amerikan toplumunda 1970'den beri 382 kkal/gün enerji alımının artması ağırlık artışından sorumludur. Bouchard ve ark. (56) yapmış oldukları çalışmada BKİ'si 30 kg/m² olan bireylerde günlük enerji açığı 300-400 kkal, BKİ'si 40 kg/m² olan bireylerde ise yaklaşık 1000 kkal olduğunu bildirmişlerdir. Ülkemizde Gıda ve Tarım Organizasyonu verileri ile yapılan bir çalışmada, 1961 ve 2011 yılları arasında kişi başı günlük enerji alımının %19,5 arttığı ve makro besin ögesi alımında en çok artışın %50,5 ile yağ tüketiminde olduğu gösterilmiştir (57).

Yüksek enerjili ve yağlı besinlerin tüketimindeki artışa ek olarak, dünya genelinde fiziksel aktivitenin teknoloji ile birlikte azaldığı dikkate alınırsa pozitif enerji dengesi yönünde olan enerji açığı ülkemizdeki artan obezite prevalansını da açıklamaktadır (40, 57, 58).

Obezitenin temel olarak enerji harcamasına göre enerji alımındaki yükseklik nedeniyle ortaya çıktığı bilinse de etiyojisi multifaktöriyeldir ve diyetel faktörler ile iç (genetik, epigenetik, metabolik profil) ve dış (diyet, fiziksel aktivite vb. yaşam tarzı alışkanlıkları) etmenlerin arasındaki etkileşimi içermektedir (58, 59). Sadece

fazla enerji alımı veya sedanter yaşam tarzı değil, yetersiz uyku, endokrin bozukluklar, bazı polimorfizmler veya tek gen mutasyonları, bazı ilaçlar gibi birçok faktör obezite riskini artırmaktadır (40, 60). Biyolojik, çevresel ve davranışsal etmenler enerji alımını ve/veya harcamasını etkileyerek vücut ağırlığını değiştirmektedir. Obezite, pozitif enerji dengesine yol açan biyolojik, çevresel ve davranışsal birçok etmenin etkileşimi sonucu ortaya çıkmaktadır. Şekil 2.1.'de obezitenin etiolojisinde yer alan etmenler gösterilmiştir (61).



Şekil 2.1. Obezitenin multifaktoriyel etiolojisi (61).

2.3.1. İştah Metabolizması ve Obezite

Beyin-bağırsak aksı, bağırsak hormonları ve hipotalamusun karşılıklı iletişimi, iştahın, besin alımının ve obezitenin gelişiminde önemli bir yere sahiptir (62). İştahın ve enerji dengesinin düzenlenmesinde esas organ hipotalamustur. Hipotalamus arkuat (ARC), lateral (LHA), ventromedial (VMN), paraventriküler (PVN) ve dorsomedial (DMN) gibi birbiriyle ilişki halinde olan birçok çekirdek içermektedir. Periferik metabolik sinyalleri öncelikli olarak algılayan arkuat nükleus (ARC) hem oreksijenik nöropeptitler [nöropeptit Y (NPY) ve agouti-ilişkili peptit (Agouti Related-Peptit-AgRP)] hem de anoreksijenik nöropeptitler [pro-

opiomelanokortin (POMC) ve kokain-amfetamin düzenleyici transkript (cocaine-and amphetamine-regulated transcript-CART)] içermektedir. Bu nöronlar leptin, insülin, ghrelin ve besin öğelerinden gelen perifer metabolik sinyalleri ilk önce algılamakta ve hipotalamusun diğer kısımlarına iletmektedir (63). Hipotalamus açlık ve tokluk merkezlerinden salgıladığı oreksijenik ve anoreksijenik peptitler yardımıyla kısa ve uzun dönem besin alımını kontrol etmektedir (64). Beslenmenin nöroendokrin regülasyonu kısa dönemde öğün tüketiminin başlaması, sonlandırılması ve öğünler arasındaki süreyi kontrol ederken uzun dönemde yağ kütlelerini ve vücut ağırlığını düzenlemektedir (65). Kısa dönemde, dolaşımdaki glukoz, yağ asitleri ve bazı aminoasit düzeyleri azaldığı zaman ghrelin mideden salgılanır ve besin alımını uyarmaktadır. Yemekten sonra birçok doygunluk hormonları (kolesistokinin, glukagon like peptit 1, oksintomodulin, pankreatik polipeptit, peptit YY) artar ve açlık sinyalleri inhibe olur böylece beyinde tokluk hissi oluşmaktadır. Uzun dönem sinyalleri yağ depolarına özellikle leptine ve insüline bağlıdır (66).

Leptin

Leptin, beyindeki özellikle hipotalamustaki nöral yollar aracılığı ile besin alımını baskılayan enerji harcamasını artıran adiposit kökenli bir hormondur (67). Zhang ve ark. (68) tarafından 1994 yılında keşfedilen adipokin olan leptin, Yunanca leptos” kelimesinden türetilmiştir ve “ince-zayıf” anlamına gelmektedir. Leptin, 16 kilodalton ağırlığındadır ve 167 aminoasitten oluşmaktadır. Çoğunlukla adipoz dokudan sentezlenen leptin; plasenta, overler, iskelet kasları, kemik iliği ve lenfoid dokularda da eksprese olmaktadır (69, 70).

Leptin keşfinden sonra, 1995 yılında leptin reseptörü olan LepR geni db keşfedilmiştir. LepR geninden eksprese olan leptin reseptörünün LepR a, b, c, d, e ve f olmak üzere 6 izoformu mevcuttur. Bu izoformlar aynı ekstrasellüler alanları kullanmalarına rağmen farklı transmembran ve sitoplazmik bölgeleri kullanmaktadırlar. LepRb (ObRb) intrasellüler tek formudur ve vücutta hemen her bölgede eksprese edilmektedir. Leptin, enerji dengesi ve vücut ağırlığı üzerine etkilerini LepRb reseptörleri aracılığıyla göstermektedir (71).

Leptin salınımı sirkadiyen ritim göstermektedir. Gece yarısı ve sabahın erken saatleri arasında en yüksek seviyeye ulaşırken, öğleden sonraya kadar en düşük

seviyeye inmektedir (72). Plazma leptin konsantrasyonu vücut yağ kütlesi ile pozitif kolerasyon göstermektedir ve adipozitenin biyolojik göstergesidir (63). Özellikle subkutan yağ visseral yağa göre daha fazla leptin salgılamaktadır (73). Leptin kan-beyin bariyerini reseptör aracılı endositoz yolu ile geçerek serebrospinal sıvıya ulaşır. Bu basamak leptinin etki gösterebilmesi için önemlidir ve klinik uygulamalar için hedef adımdır. Leptin ARC'de leptin reseptörü uzun formuna bağlanarak (Ob-Rb) Janus kinaz 2-sinyal iletimi ve transkripsiyon protein aktivatör-3 sinyalizasyonunu aktive ederken, AMP-aktive edilmiş protein kinaz (AMPK) aktivitesini inhibe etmektedir. Hipotalamik leptin sinyalizasyonunun uyarılması ile anoreksijenik POMC/CART nöronal aktivitesi artarken NPY/AgRP nöronlarının aktivitesi azalmaktadır. Leptin artan POMC/CART aktivitesi anorektik hormon olan melanokortin 4 reseptörüne bağlanarak etki gösteren a-melanosit uyarıcı hormonu (a-MSH) uyarmaktadır (67, 74). Sonuçta, leptin iştahı baskılamakta ve besin alımını azaltmaktadır (63).

Leptin, iştah ve doyunluğu düzenleyerek enerji alımı azaltmasının yanı sıra enerji harcamasını da artırarak vücut ağırlığını etkilemektedir. Bu etkisini adrenerjik sistemi ve melanokortinleri uyararak, kahverengi yağ dokusu ve *forkhead box O1* aktivitesini artırarak göstermektedir (75-78). Ayrıca leptin hedonik beslenmeyi baskılayarak besin alımını azaltmaktadır. Leptin eksikliği olan ob/ob farelerinde yapılan bir çalışmada, ob/ob fareleri doğal türe göre daha çok yağlı besinleri tercih ederken leptin verilmesiyle yağlı besin tercihinin azaldığı gösterilmiştir (79).

Ancak obez bireylerde leptin yetersizliğinin aksine leptin fazlalığı görülmektedir. Leptinin etki gösterememesinin nedeni 'leptin direnci' ile açıklanmaktadır. Hiperleptinemiye karşı geribildirim olarak hücresel cevabı azaltmak için leptin reseptör geni (Ob-R) ekspresyonunun baskılanması ile reseptör düzeylerinin azalması sonucu leptin direnci gelişebildiği gibi leptin direncinin başka birçok nedeni olabileceği ileri sürülmüştür. Diğer nedenleri arasında, leptinin kan-beyin bariyerini geçememesi, hücre içi sinyal proteinlerinin azalması, spesifik nöronların desensitizasyonu, proinflamatuvar sitokinlerin yükselmesi ile leptinin membran reseptörlerine bağlanamaması sayılabilmektedir (67, 80). Yüksek yağlı diyet (YYD) ile leptin direncinin geliştiği birçok yayında bildirilmiştir (67, 80, 81). Olofsson ve ark. (81) YYD (%60) verilen ratlarda sitokin sinyal 3 supresörünü aktive ederek

AgRP ve POMC nöronlarında leptinin sinyal iletimi ve transkripsiyon protein aktivatör-3 aracılığı ile sağladığı hücre içi sinyalizasyonunu engellediğini ve leptin direncine neden olduğunu bildirmişlerdir. YYD (%30) ve yüksek fruktozlu diyetin (%40) leptin direncine etkisinin incelendiği bir çalışmada, izoenerjik olarak yüksek fruktozlu/yüksek yağlı diyet alan sıçanlarda şekersiz/yüksek yağlı diyet alan gruba göre leptin seviyelerinin yükseldiği ve leptin uygulamasına rağmen besin tüketiminde değişiklik olmadığı için leptin direncinin geliştiği saptanmıştır. Diyetten fruktoz uzaklaştırılınca leptin seviyelerinin ve leptin direncinin düzeldiği görülmüştür. Araştırmacılar %30 yağlı diyetin leptin direnci gelişimine etki etmediğini fruktozun leptin direnci için daha önemli bir diyet komponenti olduğunu bildirmişlerdir (82). YYD ile hiperleptinemiden bağımsız olarak c-jun n-terminal kinaz inflamasyonu nedeniyle de leptin direnci gelişebildiği bildirilmiştir (83).

Obezitede gelişen leptin direnci nedeniyle günümüzde leptin replasman tedavisi obezite tedavisinde değil lipodistrofi, hipotalamik amenore ve konjenital leptin yetersizliğinde nöroendokrin ve metabolik anormallikleri iyileştirmek veya düzeltmek için kullanılmaktadır (84). Leptin enerji dengesinin yanı sıra üreme, angiogenez, immun sistem, kan basıncı, kemik kütlesi ve sinir sistemi gibi çok geniş bir etki alanına sahiptir (54, 85).

Ghreltin

Gastrointestinal peptit hormonu olan ghreltin, 1999 yılında Kojima ve ark. (86) tarafından büyüme hormonu salgılatıcı reseptörünün endojen ligandı olarak keşfedilmiştir. Preproghreltin geni tarafından kodlanan ghreltin 28 aminoasit içermektedir (87). Gastrik oksintik bezlerin X/A hücreleri tarafından öncüsü 117 aminoasitli preproghreltinden sentezlenmektedir (88). Ghreltinin dolaşımında açıl ghreltin ve deaçil ghreltin olmak üzere iki formu bulunmaktadır. Açıl ghreltin formu büyüme hormonu salgılatıcı reseptör 1a'ya bağlanarak besin alımı ve obezite üzerine etki gösterirken, deaçil ghreltin formu büyüme hormonu salgılatıcı reseptöre bağlanamadığı için bu formu inaktif olarak kabul ediliyordu. Ancak günümüzde deaçil ghreltinin beslenme ile ilgili rolünü araştıran çalışma sayısı azlığı ve sonuçların çelişkili olması nedeniyle, fizyolojik rolü ve etki mekanizması henüz net olarak

anlaşılamamıştır (89-91). Dolaşımdaki ghrelinin sadece %10'nundan daha azı obezite üzerine etkili formu olan açıl ghrelindir (92).

Sıçanlarda ghrelin karanlık ve aydınlık dönemlerden önce diurnal ritim göstermektedir (93). İnsanlarda ise öğün aralarındaki ghrelin seviyesi diurnal ritim ile gün boyu yükselir ve 01.00'da en yüksek seviyeye ulaşır gece boyunca azalarak 09.00'da düşük seviyeye inmektedir (94). Ghrelin, mide, beyin, bağırsak, pankreas, over ve testis gibi birçok dokuda eksprese olurken, karaciğer ekspresyonunun hiç yok denecek kadar az olduğu ve en çok midede eksprese olduğu bildirilmiştir (95).

Keşfinin ilk yıllarında vücutta büyüme hormonu salınımını artırıcı bir hormon olarak görülse de sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda iştah ve vücut ağırlığının kontrolü üzerine etkileri ortaya konmuştur (86, 93, 96). Ghrelin, leptinin tersine, anoreksijenik POMC nöronlarını inhibe ederek oreksijenik NPY/AgRP nöronlarını ise aktive ederek, besin alımını artırmakta ve enerji harcamasını azaltmaktadır (97). Tschöp ve ark. (96) serum ghrelin seviyesinin açlıkla birlikte arttığını, beslenme ve oral glukoz alımı sonrası azaldığını fakat su tüketiminden etkilenmediğini bildirmişlerdir. Wren ve ark. (98, 99) deney hayvanları ve insanlarda yapmış oldukları çalışmada, periferal ve santral olarak uygulanan ghrelinin iştahı ve besin tüketimini artırdığını göstermişlerdir.

Ghrelin üretimi ve salınımı enerji alımı ile düzenlenmektedir. Uzun süreli yüksek yağlı diyetle beslenmenin ghrelin düzeylerini etkileyerek obeziteye yol açabileceği bildirilmiştir. On üç hafta süreyle %60 yağlı diyetle beslenen farelerde standart diyetle beslenen farelere göre midedeki preproghrelin gen ekspresyonun %15 arttığı saptanmıştır (100). Sağlıklı insanlarda yapılan bir çalışmada, yedi gün süreyle çoklu doymamış yağ asitlerinden (n-6/n-3=2/1) zengin beslenme leptin seviyesini etkilemezken açlık ghrelin seviyesini azalttığı tokluk peptit YY seviyesini artırdığı saptanmıştır. Fakat açlık ve tokluk görsel analog skorunu etkilememiştir (101).

Dolaşımdaki ghrelin seviyesi ve BKİ arasında negatif kolerasyon bulunmaktadır. Öğün öncesi ghrelin seviyesi obez bireylerde normal bireylere göre daha düşükken, öğün sonrası ghrelin seviyesi daha yavaş düşmektedir. Bu durumda, obez bireylerde daha geç doyumluk sinyalinin oluşmasına neden olmakta ve besin tüketimini artırmaktadır (102-104)

Zayıf ($<17,5 \text{ kg/m}^2$), normal ($18,5-25,0 \text{ kg/m}^2$) ve farklı derecelerde obez bireylerin plazma ghrelin ve ghrelin O-açıl transferaz (GOAT) düzeylerinin karşılaştırıldığı çalışmada, GOAT seviyesinin normal kişilere göre zayıf olan kişilerde daha düşük ve obez bireylerde ($>50 \text{ kg/m}^2$) ise daha yüksek olduğu; ghrelin seviyesinin ise diğer gruplara göre zayıf kişilerde daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Ayrıca plazma GOAT ekspresyonu BKİ ile pozitif kolerasyon gösterirken, ghrelin seviyesi ile negatif kolere olduğu saptanmıştır. GOAT ekspresyonundaki bu farklılıkların obez bireylerde meydana gelen artmış sinyalizasyondan veya zayıf kişilerdeki azalmış sinyalizasyondan sorumlu olabileceği bildirilmiştir (105).

Diyet ve/veya egzersiz ile ağırlık kaybı programları sonrası daha yüksek ağırlık kaybı ile ghrelin seviyesinin arttığı gösterilmiştir (67, 106). Dolaşımdaki ghrelin seviyesindeki bu değişimin vücut ağırlığını restore edebilmek için önemli bir adaptasyon mekanizması olduğu düşünülmektedir (106, 107). Ağırlık kaybı sonrası geri ağırlık kazanımından ghrelin seviyesindeki bu değişiklik sorumlu tutulsa da 2014 yılında yayınlanan sistematik derlemede elde edilen kanıtların leptin ve/veya ghrelin seviyelerindeki değişimlerin geri ağırlık kazanımından sorumlu olduğu fikri için yetersiz olduğu bildirilmiştir (108).

Ghrelinin vücut ağırlığı regülasyonu ve enerji dengesi dışında santral ve periferel birçok etkisi olduğu bilinmektedir. Bağırsak motilitesi ve gastrik asit sekresyonunu uyardığı, uykuyu düzenlediği, tat hissi ve ödüllendirme davranışı üzerinde etkili olduğu, glukoz metabolizmasını düzenlediği, kahverengi yağ dokusu termogenezini baskıladığı, stres ve anksiyete modülasyonu sağladığı, kas atrofisini önlediği ve vazodilatasyon gibi etkisiyle kardiyovasküler fonksiyonu iyileştirdiği yayınlarda gösterilmiştir (87).

2.4. Obezitenin Tedavisi

Obezite tedavisinde tıbbi beslenme, egzersiz, ilaç, cerrahi ve davranış tedavisi gibi çeşitli tedavi yöntemleri kullanılmaktadır. Ancak bu seçenekler tercih edilirken hastanın BKİ'si, obeziteye eşlik eden diğer hastalıkları ve gelecekte karşılaşılabileceği riskler değerlendirilerek karar verilmesi gerektiği belirtilmiştir (109). İlaç ve/veya cerrahi tedavi alsalar da, tüm hafif obez/obez bireylere diyet, fiziksel aktivite ve

davranış değişikliği tedavisini içeren yaşam tarzı değişikliği tedavisi uygulanmalıdır (110).

2.4.1. Diyet Tedavisi

Obezitenin tedavisi için vücutta negatif enerji dengesi oluşturulmalıdır ve tedavide başarılı olabilmek için enerji alımı azaltılması en önemli adımdır. Zayıflama diyetlerini planlarken diyetisyenlerin hastaların tercihlerini ve sağlık durumlarını dikkate alarak enerjisi azaltılmış, yeterli ve dengeli kişiselleştirilmiş beslenme programları düzenlemesi gerektiği bildirilmiştir. Hedeflenen ağırlık kaybı için 500-750 kalori (kal)/gün azaltılması ve yüksek karbonhidratlı, yüksek yağlı, düşük posalı besinlerin sınırlandırılması stratejilerden birkaçıdır. Sadece %3-5 ağırlık kayıpları bile bazı sağlık parametrelerini (kan glukozu, TG ve T2DM gelişme riskinde azalma) iyileştirmekle birlikte daha fazla kayıplar KVH risk parametrelerinde (HDL-K, LDL-K, kan basıncı) düzelmeler sağlamaktadır (110). Amerikan Kalp Derneği (American Heart Association-AHA), Beslenme ve Diyetetik Akademisi (AND) ve Türkiye'ye Özgü Beslenme Rehberi'ne (TÖBER) göre önerilen ağırlık kaybı 3-6 aylık dönemde %5-10'dur. Geri ağırlık kazanımını önlemek için hızlı ağırlık kaybından kaçınılmalıdır (32, 110, 111).

Planlanan beslenme programlarında temel hedef olan enerji kısıtlamasının yanı sıra makro besin ögesi dağılımı ve diyet örüntüsü de dikkate alınmalıdır. Yüksek posa-düşük yağ içeren, düşük enerji yoğunluklu beslenme programlarının iştahı baskıladığı, enerji alımını azalttığı ve ağırlık kaybı sağladığı bildirilmiştir (112, 113). Günümüzde sağlıklı beslenme biçimi olarak kabul edilen, sebze, meyve, tam tahıllar, balık ve zeytinyağından zengin, doymuş yağ kaynağı olan kırmızı etten sınırlı olan Akdeniz diyeti ağırlık kaybı programlarında kullanılabilir (32, 110). Akdeniz diyeti ile ağırlık kaybı arasındaki ilişki inceleyen randomize kontrollü çalışmaların meta-analizinde özellikle enerji kısıtlaması olan ve 6 aydan uzun süren Akdeniz diyet programlarının ağırlık kaybında etkin bir yöntem olduğu bildirilmiştir (114).

Diyet tedavisi ile diğer yöntemlerin (davranış değişikliği/egzersiz) ağırlık kaybına etkisini karşılaştıran kırk sekiz randomize kontrollü çalışmanın dahil edildiği bir meta-analizde, düşük yağlı ve karbonhidratlı diyetlerin diğer yöntemlere göre 6

ayda 8 kg daha fazla ağırlık kaybı sağladığı ve 12 aylık izlemde bu farkın sadece 1-2 kg azaldığı gösterilmiştir (115). Düşük karbonhidratlı diyetler (< %20) ile düşük yağlı diyetlerin (<%30) ağırlık kaybı ve kardiyovasküler risk parametrelerine etkisinin incelendiği başka bir meta-analizde, düşük karbonhidratlı diyetlerin daha fazla ağırlık kaybı sağladığı ama LDL-K'yı artırdığı bu nedenle bu zararlı etkisinin dikkate alınması gerektiği bildirilmiştir (116).

Diğer bir makro besin ögesi olan protein incelendiğinde, yüksek proteinli diyetlerin (enerjinin \geq %27) düşük veya normal proteinli diyetlere (enerjinin \leq %18) göre daha fazla ağırlık kaybı sağladığı çeşitli meta-analizlerde gösterilmiştir (117, 118). Fakat yüksek proteinli diyetlerin ağırlık kaybı ve adipozite üzerindeki olumlu ama küçük etkisine karşı olumsuz etkileri de bulunabileceği bildirilmiştir (118). Yüksek protein içerdiği bilinen düşük karbonhidratlı diyetlerin tüm nedenlerden ölüm oranını, kardiyovasküler hastalık ve kanser insidansını artırdığı çalışmalarda gösterildiği için yüksek proteinli-düşük karbonhidratlı diyetlerin uzun dönem etkileri de göz önüne alınmalıdır (119-121). TÖBER'de sağlıklı yetişkin bir kişi için enerjinin %55-60'ı karbonhidratlardan, %10-15'i proteinlerden, %25-30'u yağlardan sağlanması gerektiği belirtilmiştir (32).

2.4.2. Egzersiz Tedavisi

Ağırlık kaybı için gerekli olan negatif enerji dengesi sağlanmasında, enerji alımının azaltılması ile birlikte fiziksel aktivitenin artırılarak enerji harcamasının artırılması diğer stratejilerden biridir ve düzenli fiziksel aktivite ağırlık kaybı programlarının önemli bir parçasıdır (40). DSÖ tarafından haftada 150 dakika orta düzey fiziksel aktivite veya 75 dakika/hafta şiddetli düzeyde aktivite önerilmektedir (122). ADN ise ağırlık kaybı programlarında tıbbi olarak kontraendike değilse, şiddetine bağlı olarak 150-420 dakika/hafta, ağırlık koruma programlarında ise 200-300 dk/hafta fiziksel aktivite önermektedir (110).

2.4.3. İlaç Tedavisi

İlaç tedavisi obez bireylerde ağırlık kaybını kolaylaştırmaktadır. Ancak reçete edilmesi ve kullanılabilmesi için çeşitli BKİ kriterleri bulunmaktadır (40). Yaşam tarzı müdahaleleri ile başarılı ağırlık kaybı sağlayamayan BKİ'si 30 kg/m^2 ve

üzeri olan veya 27 kg/m^2 ve üzeri olup, obezite komorbiditeleri olan obez bireylerde ilaç tedavisi kullanılabilir (123). Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration, FDA) fentermin, dietilpropion, fendimetrazin, benzphetamine gibi santral sinir sistemini taklit ederek tokluk sağlayan bazı ilaçları kısa dönem (<12 hafta); yağ emilimini azaltan orlistat, serotonin reseptör agonisti olan lorcaserin, santral iştah baskılayıcı fentermin-topiramate gibi bazı ilaçları ise uzun dönem kullanımlarda onaylamıştır (124-126). Günümüzde daha etkili ve güvenilir ilaç geliştirme çalışmaları devam etmektedir. Yeni nesil ilaçların hedefi kahverengi yağ dokusunun aktivitesini artırarak enerji harcamasını artırmak veya glukagon benzer peptid-1 gibi diğer bağırsak hormonlarını taklit ederek tokluğu sağlamaktır (125). Yanovski ve ark. (124) yapmış oldukları meta-analizde uzun dönem ilaç tedavisinin yaşam tarzı değişiklikleri ile birlikte kullanıldığında plaseboya göre daha iyi ağırlık kaybı sağladığını fakat en az %5 ağırlık kaybı sağlanamıyorsa maliyet ve yan etkileri göz önüne alınarak ilaç tedavisinin kesilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

2.4.4. Cerrahi Tedavi

Bariatrik cerrahi ameliyatları BKİ'si $\geq 40 \text{ kg/m}^2$ veya $\geq 35 \text{ kg/m}^2$ obezite komorbiditeleri olan hastalara yapılmaktadır. BKİ'si 70 kg/m^2 ve üzerinde olanlarda, adolesanlarda ve çocuklarda önerilmemektedir (126). Laparoskopik gastrik band, sleeve gastrektomi ve Roux-en-Y gastrik bypass en sık yapılan bariatrik cerrahi uygulamalarıdır (123). Cerrahi tedavinin, zihinsel ve fiziksel sağlığı iyileştirdiği, ağırlık kaybı sağladığı, mortaliteyi azalttığı, cinsel fonksiyonları düzelttiği, T2DM, hiperlipidemi ve hipertansiyonu iyileştirdiği bildirilmiştir. Bariatrik cerrahi bildirilen bu yararları ile birlikte tekrar cerrahi girişim gerektirebilen uzun süren komplikasyonlara, gastrointestinal problemlere, uygulaması zor ve sıkı beslenme tarzı değişikliklerine bağlı beslenme yetersizliklerine ve mortaliteye neden olabilmektedir. Bu nedenle, cerrahi operasyonlarda bu komplikasyonlarının dikkate alınması gerekmektedir (126).

2.4.5. Davranışsal/Bilişsel Tedavi

Birinci basamak tedavi yaklaşımı olan davranışsal ve bilişsel tedavi, hafif obez bireylerde %5-10 ağırlık kaybı sağlayabilmektedir (127). Davranışsal/bilişsel

tedavide enerji alımının azaltılması, fiziksel aktivitenin artırılması ile birlikte kendi kendini izlem, uyarıcı kontrolünü sağlama, hedef koyma, planlama yapma, problem çözme gibi diyet ve aktiviteye uyumu kolaylaştıracak davranış değişikliklerinin bireye kazandırılması hedeflenmektedir (128). Bunun için internet, akıllı telefon uygulamaları, grup görüşmeleri ve okul programları kullanılabilir (126, 129).

Ülkemiz de dahil olmak üzere birçok ülkede sağlık otoriteleri hem hastalık yüklerini hem de sağlık harcamalarını azaltabilmek için davranışsal/bilişsel tedaviyi destekleyecek obezite ile mücadele planları geliştirmektedir (1, 7, 8). Ülkemizde Sağlık Bakanlığı tarafından yürütülen “Türkiye Sağlıklı Beslenme ve Hareketli Hayat Programı” ile bireyleri sağlıklı beslenme ve fiziksel aktiviteye yönlendirecek haberlere, reklamlara ve yasal düzenlemelere yer verilmektedir (8).

2.5. Obezite ve n-3 LCPUFA

Obez bireylerin birçoğu enerji alımının azaltılması ve/veya fiziksel aktivite artırılması gibi yaşam tarzı değişiklikleri yapmak yerine daha kolay olduğu için “sihirli mermi” olarak düşündükleri tamamlayıcı tedavi yöntemi olan besin desteklerini tercih etmektedir (9, 10). Besin desteği piyasasının büyümesine karşın birçok desteğin yasal düzenlemelerden dolayı etkinliği ve güvenilirliği tartışmalıdır (6). Birçok besin desteğinin aksine obezite ve obezite ile ilişkili hastalıkların tedavisinde kullanılan n-3 uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitlerinin (Long Chain Unsaturated Fatty Acids-LCPUFA) yayınlarda bildirilen ve kabul edilmiş yararlı etkileri vardır; bu nedenle de n-3 LCPUFA içeren nutrasötikler ve fonksiyonel besinler tüm dünyada büyük ilgi görmektedir (12, 13).

Amerika’da 2007-2010 yılları arasında gerçekleştirilen beslenme ve sağlık taramalarında en çok kullanılan besin desteklerinden birinin n-3 LCPUFA olduğu, Türkiye’de ise TBSA ile 12 yaş üstü bireylerin %0.3’ünün n-3 LCPUFA desteği aldığı saptanmıştır (32, 130).

Balık veya balık yağı tüketiminin obezite parametrelerine etkisinin incelendiği bir meta-analizinde, balık veya balık yağı tüketen bireylerde kontrollere göre vücut ağırlığı 0.59 kg, yağ yüzdesi %0.49, BKİ 0.24 kg/m² daha düşük bulunmuştur (12, 131). Bu sonuçlarla tutarlı bir şekilde Buckley ve Howe (12) tarafından yapılan bir derlemede 0.3-3 g/gün n-3 LCPUFA alımının vücut ağırlığını

azalttığı ve vücut kompozisyonunu iyileştirdiği bildirilmiştir. Ancak uzun dönem n-3 LCPUFA alımının vücut ağırlığı ve adipozite üzerine etkisini ortaya koyacak çalışmalara ihtiyaç vardır. Çalışmaların bir çoğunun süresi 12 haftadan kısadır ve sadece bir çalışma bir yıldan uzun süre yürütülmüştür (132).

Vücut ağırlığı ve yağ kütlesi üzerine n-3 LCPUFA'nın etkisini inceleyen geniş kapsamlı uzun süren prospektif çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Sağlık Profesyonelleri Takip çalışmasında erkeklerde daha sık balık tüketimi ile (haftada ≥ 5 kez) hafif obez olma ihtimalinin daha az olduğu saptanmıştır (133). Tam tersi *Nurses' Health Study* verilerine göre yüksek balık ve n-3 LCPUFA alımı ile artmış obezite prevalansı ile ilişkilendirilmiştir (134). Bu çalışmalarda çok hassas bir yöntem olmayan semi-kantitatif besin tüketim sıklığı anketi uygulanmıştır. Plazma n-3 LCPUFA düzeyleri n-3 LCPUFA alımının bir biyomarkeri olarak kullanılabilir. Özellikle n-3 LCPUFA'ların plazma düzeylerinin obez çocuklarda, adolesanlarda ve yetişkinlerde normal bireylere göre daha düşük çıkması adiposit gelişimini engellediğinin göstergesi olabileceği bildirilmiştir (135-137).

Hayvan çalışmalarında n-3 LCPUFA'nın adipozite ve vücut ağırlığı üzerine etkisi gösterilmiştir. Bazı çalışmalarda vücut ağırlığını ve yağ dokusunu azalttığı, bazı çalışmalarda ise etkilemediği gösterilmiştir (16, 138-142). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada yüksek yağlı diyet ile birlikte verildiğinde visseral yağ birikimini engellediği, obez yetişkin hayvanlarda ise vücut ağırlığını azalttığı bildirilmiştir (21).

Antiobezojenik etkisi olan n-3 LCPUFA farklı mekanizmalar ile etki göstermektedir. Antiobezojenik etkisini preadipozit apoptozunu uyararak, adiposit farklılaşmasını engelleyerek, lipogenezi baskılayarak, adipositlerde beta oksidasyonunu uyararak lipit metabolizması üzerinden gösterebilmektedir (21-24). Aynı zamanda n-3 LCPUFA'lar karaciğer, kalp gibi çeşitli dokularda yağ asidi oksidasyonunda yer alan genlerin ekspresyonunu artırırken, adipoz dokuda ve karaciğerde lipogenik genlerin ekspresyonunu azaltmaktadır (21, 25).

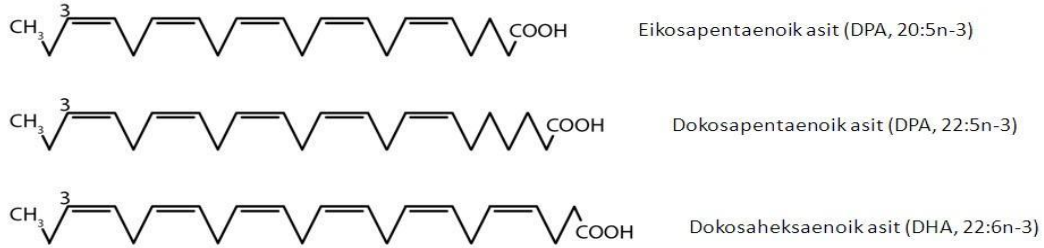
İştah kontrolü üzerinde de n-3 LCPUFA'nın etkili olduğu bildirilmiştir. Post-prandiyal doygunluğu artırarak ve besin alımını azaltarak etki gösterebildiği gibi, besin alımından bağımsız olarak daha az ağırlık kazanımı ve adiposit oluşumu sağladığı da kaydedilmiştir (14-16).

n-3 LCPUFA desteğinin önemli bir kaynağı da krill yağıdır. Krill yağı ile balık yağının obezite üzerindeki olası farklı etkilerini inceleyen çalışmalar genellikle besin alımı ve enerji harcamasını düzenleyen ve vücut kompozisyonunda etkili olan endokannabinoid sistem üzerine yoğunlaşmıştır (36, 37). Krill yağının balık yağına göre endokannabinoid sistemin baskılanmasında daha etkin olduğu tespit edilmiştir (38). Yapılan çalışmalarda yüksek yağlı diyetle eklenen krill yağının endokannabinoid öncülerini ve biyosentezini; vücut ağırlığı kazanımını ve beyaz adipoz doku miktarını azalttığı saptanmıştır (37, 143, 144). Her iki n-3 LCPUFA kaynağı da lipit metabolizmasında etkili olsa da bu etkilerini farklı metabolik yollarla gösterdiği ve krill yağının lipit katabolizmasındaki etkisi daha fazla olduğu bildirilmiştir (145, 146). Ayrıca krill yağı ve balık yağının enerji metabolizmasında etkili hepatik gen ekspresyonlarına etkileri de farklıdır. Burri ve ark. (39) tarafından yapılan bir çalışmada, balık yağının aynı miktarda eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosaheksaenoik asit (DHA) içeren krill yağının düzenlediği glukoz, lipit ve mitokondriyal solunum zinciri gibi önemli metabolik yolları düzenleyemediği gösterilmiştir.

2.6. α - Linolenik Asit ve n-3 Uzun Zincirli Çoklu Doymamış Yağ Asitleri

α - Linolenik Asit (ALA) üç adet çift bağ içeren 18 karbonlu ve cis-konfirigasyonunda metil ucundan ilk çift bağı üçüncü karbon atomunda taşıyan en kısa n-3 LCPUFA'dır. Bitkiler 15-desaturaz yardımıyla linoleik asitten (LA), ALA'yı sentezleyebilmektedir. Fakat insanlarda bu enzim bulunmadığı için ALA sentezi yapılamamaktadır (147). Bu nedenle, LA gibi ALA'da insanlar için elzem bir yağ asididir. Fizyolojik süreçte ALA çeşitli desaturaz ve elongaz enzimleri ile n-3 LCPUFA'lara [(C20:5n-3, EPA), dokosapentaenoik asit (22:5n-3, DPA) ve (C22:6, n-3 DHA)] enzimatik basamaklarla (3 desaturasyon, 3 elongasyon, 1 oksidasyon) dönüştürülmektedir (13, 148). Ancak bitkisel kaynaklı ALA'nın insanda asıl etkin n-3 formları olan EPA ve DHA'ya dönüşümleri çok düşük oranda gerçekleşmektedir (149). Diyetle alınan ALA'nın sadece %5-10'unu EPA'ya dönüştürülürken, yaklaşık %1'i DHA'ya dönüşmektedir (150). Oysa fitoplanktonlar ALA'yı EPA ve DHA'ya dönüştürebilirler ve bu nedenle besin zinciri ile fitoplanktonlarla beslenen deniz canlılarında bitkisel kaynağa göre daha etkin kalitede n-3 LCPUFA'lar

bulunmaktadır (151). Şekil 2.2’de n-3 LCPUFA’ların kimyasal formülü verilmiştir (152).



Şekil 2.2. n-3 LCPUFA’ların kimyasal formülü (152).

2.6.1. n-3 LCPUFA Kaynakları

Hem bitkisel hem de hayvansal kaynaklı besinlerde ALA bulunmaktadır. Bitkisel kaynaklar; alger, keten tohumu, kekreyemiş (lingonberry, toplam yağının %50’si ALA), kolza, perilla, ceviz, soya, chia ve yeşil yapraklı sebzeler iken hayvansal kaynaklar balık ve deniz ürünleridir (13, 148, 153, 154). Keten tohumu ve yağlarının %45-55’i; soya yağı, ceviz ve kolza tohumunun yaklaşık %5-10’u; mısır özü ve ayçiçek yağının çok az miktarı ALA’dır (153).

İnsanların asıl n-3 LCPUFA kaynağı balık ve deniz ürünleridir. Alglerle beslenen balıklar ve bu balıklarla beslenen daha büyük balıklarda EPA ve DHA gibi n-3 LCPUFA miktarları daha fazladır (155). Bu nedenle, diğer besinlerle karşılaştırıldığında balık ve diğer deniz ürünleri n-3 LCPUFA’dan daha zengindir. Yağlı balıkların vücudundan veya yağsız balıkların karaciğerinden elde edilen yağlar “balık yağı” olarak adlandırılır. Tipik bir 1 g balık yağı kapsülü 0,3 g EPA ve DHA içermektedir. Birçok standart balık yağında EPA ve DHA oranları 1.5:1’dir. Sadece ton balığında DHA miktarı EPA’dan daha fazla bulunmaktadır. Balık yağlarında EPA ve DHA farklı formülasyonlarda bulunur ve birçoğu TG formundadır (153).

Hayvansal kaynaklı n-3 LCPUFA’ların önemli bir kaynağı da Antartik krill (*Euphausia superba*)’den ekstrakte edilen EPA ve DHA’dan zengin krill yağıdır (34, 35). Krill özellikle güney (Antartika) ve kuzey (Artrik) kutup denizlerinde bulunan küçük kabuklu deniz canlısıdır. Krill yağı, krill türünün en büyüğü olan *Euphausia Superba*’dan elde edilmektedir (156, 157). Krill yağında EPA ve DHA oranı yaklaşık

2:1'dir (158). Balık yağında n-3 LCPUFA'lar TG formunda; krill yağında EPA ve DHA'nın %80'i fosfoditilkolin formundadır. Krill yağı ile balık yağının biyoyararlılığının karşılaştırıldığı bazı çalışmalarda fark bulunmazken, bazı çalışmalarda krill yağının biyoyararlılığı daha yüksek bulunmuştur (159-161). Olası farkın nedeni krill yağındaki fosfolipitlerin emülsiyonunun daha fazla olması ile lipazın daha iyi etki göstermesi ve sonuçta krill yağının sindirimin ve emiliminin daha fazla olması olarak açıklansa da, bu konuda daha etkin çalışmalara ihtiyaç olduğu bildirilmiştir (33). Aynı zamanda, bu formundan dolayı krill sadece n-3 LCPUFA kaynağı değil, lipit transportunda ve nörotransmitter sentezinde etkili olan kolinin de önemli bir kaynağıdır (162). Tablo 2.2.'de krill yağı ve balık yağının besin ögesi kompozisyonu verilmiştir (156, 163).

Tablo 2.2. Krill yağı ve balık yağının makro besin ögesi kompozisyonu (156, 163).

Kompozisyon	Krill Yağı (g/100 g)	Balık Yağı(g/100 g)
Protein	-	-
Toplam yağ	89	100
Toplam fosfolipit	43	-
Fosfoditilkolin	35	-
Toplam n-3	25	28
EPA	13	13
DHA	7	9
Toplam n-6	2	6
Doymuş yağ asidi	23	30
Tekli doymamış yağ asidi	15	27

Krill canlısı az miktarda yağda çözünebilir bir karetonoid olan astaksantin içermektedir. Koyu kırmızı olan astaksantin krille pembemsi rengini vermektedir (162). Antioksidan özelliği olan astaksantini, krill canlısının endojen üretimini yapmadığı, besin zincirinde tükettiği alglerden aldığı bildirilmiştir (157). Yeterli antioksidan varlığı n-3 LCPUFA'ların oksidasyondan korunması için çok önemlidir (154). Balık yağından farklı olan astaksantin içeriği krill yağını oksidasyondan korumaktadır. Astaksantin sadece krill yağını oksidasyondan korumadığı aynı zamanda hiperlipidemi ve inflamasyon üzerine olumlu etkileri bulunduğu bildirilmiştir (162).

Krill yağı FDA tarafından genel olarak güvenli (generally recognized as safe-GRAS) statüsünde değerlendirilmiştir (164). Genotoksisite ve subkronik toksisitesinin değerlendirildiği bir çalışmada gözlenebilen hiçbir yan etki göstermeyen doz sıçanlar için %5 (2,5-5,0 g/kg), insana eşdeğer doz çevrildikten sonra 24-48 kat güven payı içinde 1 g/gün olarak belirlenmiştir (151). İnsan ve hayvan çalışmalarında krill yağının antiobezojenik, hipolipidemik, anti-inflamatuvar, anti-tümoral, antidiyabetik, lipolitik ve gen ekspresyonunu düzenleyici etkileri gösterilmiştir (143, 159). Krill yağı ile yapılmış hayvan çalışmalarının özeti aşağıda Tablo 2.3'de verilmiştir.

2.6.2. n-3 LCPUFA Sindirim ve Emilimi

Besinlerde n-3 PUFA'lar SYA, monoasilgliserol (MAG), diasilgliserol (DAG), TG veya fosfolipitlere bağlı olarak bulunabilmektedir. Diyetle alınan yağların sindirimi lingual/gastrik lipaz ile başlar ama bu sindirim %10'dan daha azdır. Midedeki mekanik sindirime yardımcı olan peristaltik hareketlerle yağlar küçük parçalara ayrılırlar. Yağların esas sindirimi ince bağırsakta yapılmaktadır. İnce barsağın üst kısmında devam eden peristaltik hareketlerle hem mekanik sindirim devam eder, hem de safra asitleri ile birleşen yağlar emülsiyeye olurlar. Emülsiyeye olmuş yağ damlacıkları çoğunlukla TAG ve az miktarda SYA ve DAG içermektedirler. Emülsiyon ve mekanik parçalanma, ester bağlarını hidrolize eden pankreatik lipazın etkinliğini artırmaktadır. Bu enzim ince bağırsakta sn-1/3 pozisyonundaki yağ asitlerini 2-MAG ve az miktarda DAG'a parçalamaktadır (161, 165). Enterositlerde serbest ve 2-MAG n-3 yağ asitleri, safra asitleri ile miçeller oluşturarak pasif difüzyon ile emilir. On iki karbon ve üzeri olan serbest ve 2-MAG n-3 yağ asitleri lenf dolaşımına geçmeden önce transfer edilebilir hale gelmelidir. Şilomikronların yapısındaki apolipoproteinlerle birleşen reesterefiye TG, kolesterol esterleri ve fosfolipitler bazolateral membrandan ekzositoz yardımıyla lenf dolaşımına, torasik lenfatik kanaldan da kan dolaşımına geçer. Hedef organlara kan dolaşımı ile ulaşan n-3 LCPUFA'lar özellikle beyin, retina ve kalp kasında hücre zarının yapısına katılmaktadır (161, 165).

Tablo 2.3. Krill yağı ile yapılmış çeşitli hayvan çalışmalarının özeti.

Deney Türü	Hayvanın Türü	Diyet Müdahalesi	Deney süresi	Krill yağının Etkisi	Kaynak
Sprague-Dawley sıçan	Yüksek yağlı diyet (YYD) + 16,7, 33,3, 99,9 or 199,8 g/L Krill Yağı (KY)	4 hafta	Vücut ağırlığında azalma	(143)	
Zucker sıçan (obez)	Standart diyet ile 0,5 g EPA+DHA KY ve Balık Yağı (BY)	4 hafta	Serum TG, TK ve LDL-K düzeylerine azalma	(38)	
C57BL/6 fareleri	Standart diyet YYD+% 1,25, 2,5, 5,0 KY	8 hafta	Plazma LDL-K düzeyinde azalma Plazma TG düzeyinde artma Karaciğer ve kalp TG azalma Endokannabinoid öncülleri azalma Makrofajlardaki TNF- α azalma Hepatik steatoz, plazma glukoz ve TK'da azalma Adiponektin artma Hepatik TNF- α gen ekspresyonunu ve yağ asidi sentezinde ve katabolizmasında görev alan birçok hepatik genin downregülasyonu	(166)	

Tablo 2.3. Krill yağı ile yapılmış çeşitli hayvan çalışmalarının özeti (*devam*).

Deneysel Türü	Hayvanın Türü	Diyet Müdahalesi	Deneysel Süresi	Krill Yağının Etkisi	Kaynak
Zucker sıçan	Standart diyet+0,5 g EPA+DHA/100 g KY veya BY	Standart diyet	4 hafta	Beyinde EPA ve DHA düzeyinde artma	(167)
C57BL/6 fareleri	Standart diyet	Standart diyet	8 hafta	Beyinde endokannabinoid düzeyinde azalma	
Sprague-dawley sıçanı	YYD+% 1,25, 2,5 or 5 KY	Standart diyet	12 hafta	Kalp, böbrekte, kasta ve adi poz dokuda endokannabinoid öncülerinde azalma	(37)
	YYD	YYD+%2,5 KY		Hepatik TG ve TK azalma	(168)
	YYD+%5,8 BY veya %5,7 KY			Plazma TG ve glukoz azalma	
				Hepatik yağ asidi sentezinde azalma ve oksidasyonunda artma	
				Vücut ağırlığında azalma	
C57BL/6 fareleri	YYD	YYD+%5,8 BY veya %5,7 KY	6 hafta	Plazma non-esterifiye yağ asidi düzeyinde azalma	(146)
				Kolesterol ve yağ asidi sentezinde down regülasyon	

Tablo 2.3. Krill yağı ile yapılmış çeşitli hayvan çalışmalarının özeti (*devam*).

Deneysel Türü	Hayvanın Türü	Diyet Müdahalesi	Deneysel Süresi	Krill yağının Etkisi	Kaynak
	Yeni Zelanda beyaz tavşanı	Kısırlaştırılmış + standart diyet Kısırlaştırılmamış+standart diyet Kısırlaştırılmış+600 mg n-3 içeren KY veya BY	2 ay	Açlık glukozunda azalma	(169)
	C57BL/6 fareleri	Standart diyet YYD YYD ile %2,5 KY veya ksantijen	10 hafta	Vücut ağırlığında ve hepatik steatozda azalma Besin tüketiminde etkisiz	(144)
	Sprague-dawley sıçanı	Standart diyet YYD YYD +%2,5 KY	4 hafta	Mitokondriyal enerji iyileşme	(170)
	ICR fareleri	Standart diyet Yüksek şekerli yüksek yağlı diyet+100, 200, 600 µg/g KY	12 hafta	Mikrobiyota değişimi ile hiperlipidemide iyileşme ve doza bağlı şekilde vücut ağırlığında azalma	(162)

Tablo 2.3. Krill yağı ile yapılmış çeşitli hayvan çalışmalarının özeti (*devam*).

Deney Türü	Hayvanın Türü	Diyet Müdahalesi	Deney süresi	Krill yağının Etkisi	Kaynak
C57BL/6J fareler	Standart diyet YYD YYD+%5 g/100 g KY	12 hafta	Vücut ağırlığı artışında ve yağında azalma LDL-K düzeyinde azalma Malondialdehit düzeyinde azalma ve superoksitidismutaz düzeyinde artma Açlık glukozunda azalma	(171)	

2.6.3. n-3 LCPUFA'nın Biyoyararlılığı

Kimyasal bağın tipi, yağ içeriği ve besinin yapısındaki diğer bileşenler gibi birçok faktör n-3 LCPUFA'nın biyoyararlılığını etkilemektedir. Kısa dönem n-3 LCPUFA biyoyararlılığı serum veya plazma seviyeleri ölçülerek belirlenebilmektedir (172). Uzun dönem yararlık ve vücudun yeterli n-3 LCPUFA alıp almadığının göstergesi olarak eritrosit membran omega-3 indeksi (EPA+DHA/tüm yağ asitleri) kullanılmaktadır (173). Birçok çalışmada eritrosit membran EPA ve DHA düzeyleri ile karaciğer, kalp, böbrek gibi dokularının hücre membran EPA ve DHA düzeylerinin pozitif kolerasyon gösterdiği saptanmıştır (173-175). Tu ve ark. (176) omega 3 indeksinin özellikle besin desteğinin etkinliğini ve vücuda yeterli düzeyde n-3 LCPUFA sağlayıp sağlamadığını değerlendirmek için kullanılabileceğini bildirmiştir.

n-3 LCPUFA'ların kimyasal yapısı biyoyararlılığını etkilemektedir. Balıklarda doğal olarak bulunan n-3 LCPUFA TG formunda bulunurken, balık yağı suplementasyonlarında genellikle etil-ester (EE) veya reesterefiye TG (rTG) olarak bulunmaktadır (161). Özellikle serbest n-3 LCPUFA sindirime gerek olmadığı için TG formuna göre daha fazla, TG ise EE formuna göre daha fazla biyoyararlılığa sahip olduğu bildirilmiştir. Fakat serbest yağ asitleri oksidasyona açık olduğu ve gastrointestinal sistemde bazı yan etkileri nedeniyle besin desteği üretiminde çok fazla tercih edilmemektedir (33, 177).

Kimyasal yapısı dışında n-3 LCPUFA desteği ile birlikte tüketilen besinler ve emülsiyon, mikrokapsulasyon gibi formulasyonlarının da n-3 LCPUFA biyoyararlılığını etkileyebileceği bildirilmiştir (161). Yüksek yağlı öğün ile birlikte alındığında n-3 LCPUFA biyoyararlılığının arttığı, kalsiyum ile birlikte alındığında ise kompleks oluşturduğu için azaldığı saptanmıştır (161, 178, 179). Kullanım önerisi verilirken n-3 LCPUFA desteğinin kimyasal formu, formülasyonu ve birlikte tüketilen besinin içeriği dikkate alınmalıdır. Özellikle n-3 LCPUFA EE desteğinin, lipaz salgısı uyarılabilmesi için yeterli miktarda yağ içeren öğün ile birlikte alınması gerektiği bildirilmiştir (179).

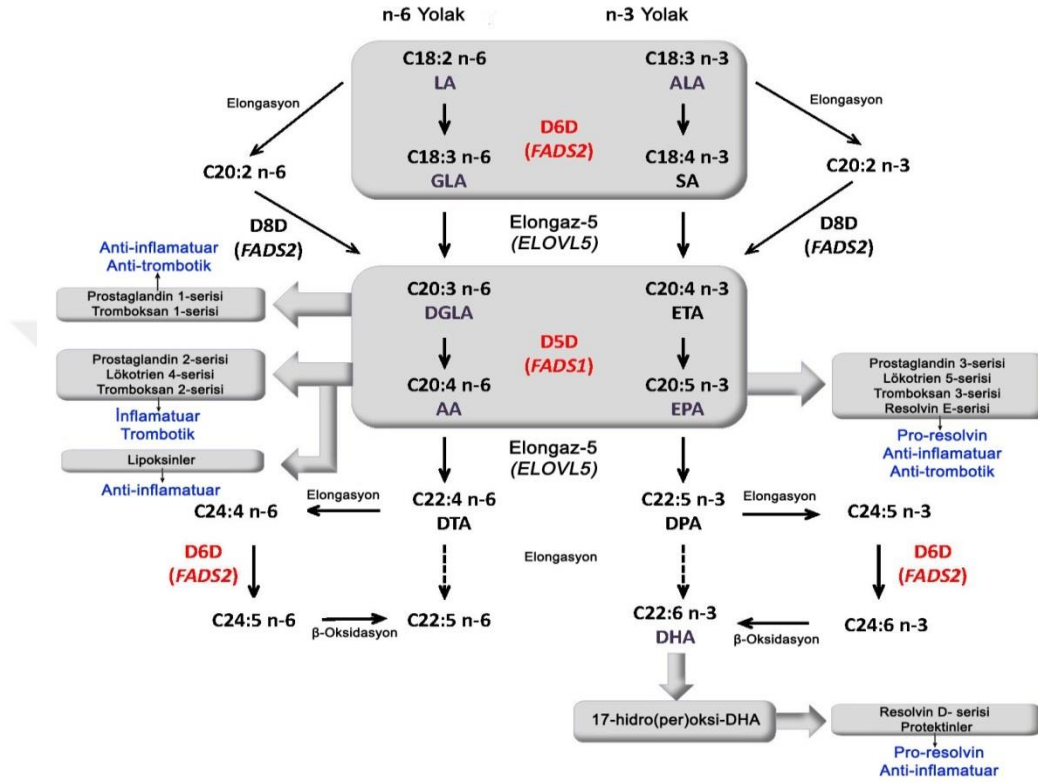
2.6.4. n-3 LCPUFA Metabolizması ve Fonksiyonları

Diyetle alınan n-6/n-3 oranı LCPUFA oluşumunda önemlidir. Bir yağ asidi serisinin diyetle daha fazla alınması diğer yağ asidi serisinin daha az oluşumuna neden olmaktadır. Yani LA'nın daha fazla alınması n-3 LCPUFA oluşumunu azaltmaktadır (180). ALA'dan EPA ve DHA oluşumu LA'dan araşidonik asit (AA) oluşumu ile aynı enzimi paylaştıkları için yarış halindedir. Hız sınırlayıcı olan bu enzimler; delta 6 desaturaz (D6D) ve delta 5 desaturaz (D5D)'dir (153). D5D ve D6D enzimleri karboksil ucundan sırasıyla 5. ve 6. karbonlara cis formunda çift bağ eklemektedir. D6D, 18 ve 24 karbonlu; D5D 20 karbonlu PUFA'ların desaturasyonundan sorumludur. D6D, LA'den, gama linoleik asit (GLA, 18:3-6,9,12), ALA'dan stearidonik asit (SA, 18:4-6, 9, 12, 15) oluşumunu sağlamaktadır. GLA ve SA elongaz ile dihomogama-linoleik asit (DGLA, 20:3-8,11,14) ve eikosatetraeonic asite (ETA, 20:4-,8,11,14,17) daha sonra D5D aracılığı ile sırasıyla AA (20:4-5,8,11,14) ve EPA'ya (20:5-5,8,11,14,17) dönüşmektedir. EPA DPA'ya (22:5-7,10,13,16,19) uzatılır ve daha sonra insanlarda delta-4 desaturaz olmadığı için "geri dönüşüm yolağı" ile DHA sentezlenir. Delta desaturaz 8, daha dallı bir yol ile LA ve ALA'nın elongasyon ürünlerinin 8. karbonuna çift bağ ekleyerek sırasıyla GLA ve ETA oluşumunu sağlamaktadır (181). Şekil 2.3'de LA ve ALA metabolizması gösterilmiştir.

Sonuç olarak, EPA ve DHA'dan oluşan tromboksan, prostaglandin ve lökotrienler gibi eikosonoidler antiinflamatuvar etkiye sahipken, AA'dan oluşanlar ise proinflamatuvar etkiye sahiptirler. Bu da daha fazla inflamatuvar reaksiyonları uyarmaktadır. Dahası EPA ve DHA enflamasyonun çözücü etkisi bulunan, lökosit göçünü ve diapedezi azaltarak immun sistem düzenleyici etki gösteren anti inflamatuvar resolvin, protektin, maresin gibi biyoaktif maddelerin öncüsüdür (180). Bu biyoaktif maddelerin aktivitesinin inflamasyon, kanser, obezite, koroner kalp hastalıkları, T2DM gibi birçok kronik hastalıkla ilişkili olduğu bildirilmiştir (182).

Metabolizmada n-3 LCPUFA'nın başka birçok fonksiyonu bulunmaktadır. Sterol düzenleyici element bağlayan proteinler (SREBP-1), nükleer faktör kappa beta (NF- κ), peroksizom proliferasyonunu aktive edici reseptör (PPAR) gibi birçok transkripsiyon faktörlerinin doğal ligantıdır. Bu genlerin çalışmasını ve ikincil mesajcıları düzenlemektedir. Ayrıca hücre zarının yapısında bulunarak membran

akışkanlığı ve membran ile ilişkili reseptörlerin ve enzimlerin aktivitesi üzerinde etkin bir fonksiyona sahiptir. Aynı zamanda n-3 LCPUFA'nın mitokondriyal enerji metabolizmasını düzenleyerek beta oksidasyonu artırdığı belirtilmiştir (152).



Şekil 2.3. ALA ve LA metabolizması (28, 183).

Yağ Asidi Desaturaz 1 ve Yağ Asidi Desaturaz 2

Yağ asidi desaturaz 1 (Fatty Acid Desaturase 1-FADS1) geni D5D enzimini ve yağ asidi desaturaz 2 (Fatty Acid Desaturase 2-FADS2) geni D6D enzimini kodlamaktadır. Bu genler 11. kromozomun (11q12-q13.1) üzerinde 100 kb'lik bir alanı kapsamaktadır ve her ikisi de 12 ekson ve 11 intron içermektedirler. Birçok dokuda eksprese olmakla birlikte, en fazla karaciğerde eksprese olmaktadır (147, 184). Transkripsiyon faktörleri olan SREBP-1 ve PPAR- α bu genlerin ekspresyon düzeylerini etkilemektedir. Hem bu transkripsiyon faktörlerini etkileyerek hem de metabolize edilecek ürün miktarlarını değiştirerek n-3 LCPUFA desteğinin FADS1 ve FADS2 ekspresyon düzeylerini etkileyebileceği bildirilmiştir (27, 175).

Yağ asidi desaturazlar hem plazma hem de doku yağ asidi profillerini belirlemede kilit bir rol oynamaktadır (175). Membran yağ asidi kompozisyonundaki anormallik T2DM, alzheimer, atopik egzama, kanser, kardiyovasküler ve otoimmün hastalıklar gibi birçok hastalık ile ilişkilendirilmiştir (153, 185-190). Desaturaz aktivitesi ürün substrat oranı ile belirlenmektedir. Desaturaz aktivitesi belirlenirken beslenmeden daha çok etkilendiği için ALA son ürünleri olan EPA ve DHA yerine n-6 metabolitleri kullanılmaktadır. Global desaturaz aktivitesi, AA/LA; D5D aktivitesi AA/DGLA, D6D aktivitesi GLA/LA ile hesaplanmaktadır (191).

Yüksek yağlı diyetle beslenen obez ve non alkolik steatohepatit gelişen farelerde FADS 1 ve FADS2 ekspresyonlarının ve karaciğerdeki desaturaz enzim proteinlerinin arttığı gösterilmiştir (192).

2.6.5. n-3 LCPUFA ve Diğer Hastalıklarla İlişkisi

Hücre membranının fiziksel yapısı, hücre sinyalizasyonu, eikosanoid ve anti-inflamatuvar lipit mediyatörlerinin oluşumu, gen ekspresyonunun düzenlenmesi gibi birçok fonksiyona sahip olduğu için n-3 LCPUFA, sağlığın korunmasında ve hastalıkların önlenmesinde önemli bir yere sahiptir (153). Bu nedenle diyetle alınan n-3 LCPUFA miktarının artırılması kronik hastalıklarla mücadelede önemlidir (193). Kronik hastalıkların önlenmesi için n-6/n-3 LCPUFA oranının 4-5/1 veya daha az olması önerilmektedir. Batı diyetlerinde n-6/n-3 LCPUFA oranı yaklaşık 15-16/1, ülkemizde ise TBSA verilerine göre yaklaşık 12/1'dir. Bu oran inflamatuvar dengeyi proinflamatuvar yöne kaydırarak kronik hastalıkların oluşumuna neden olmaktadır (32, 193).

Plazma proteinlerini, kan basıncını, vasküler ve kardiyak fonksiyonu, inflamatuvar göstergeleri, trombojenisiteyi ve lipoprotein metabolizmasını etkileyen n-3 LCPUFA, bu özellikleri sayesinde kardiyoprotektif etki göstermektedir (194, 195). Wen ve ark. (196) tarafından yapılan bir meta-analizde n-3 LCPUFA'nın kardiyak nedeni ve tüm nedenlerden meydana gelen ölüm risklerini azalttığı saptanmıştır.

Kan lipitleri ile DHA alımı arasındaki ilişkinin incelendiği başka bir meta-analizde alg kökenli 1.68 g/gün DHA suplementasyonunun TG'leri önemli bir şekilde düşürürken LDL-K ve HDL-K'yı yükselttiği bildirilmiştir (197). Lipoprotein

metabolizmasında olumlu değişikler yaptığı bilinen n-3 LCPUFA'nın apolipoprotein B ve TG sentezini azaltıp karaciğerde VLDL-K yapımını azaltarak ve kolesterol ester transfer protein aktivitesini azaltıp HDL-K miktarını artırarak etki gösterdiği bilinmektedir. Ancak bu süreçte LDL-K düzeyinin hafif artabileceği belirtilmiştir (198). n-3 LCPUFA, LDL-K'nın sayısını değil partikül büyüklüğünü artırmaktadır. Bu nedenle küçük, yoğun LDL-K'ları azaltırken büyük LDL-K'ları artırarak LDL-K'nın aterojenik potansiyelini azaltmaktadır (199, 200).

Yetişkinlerde ani ölüm veya ölüm riskini azaltmak için AHA, 2 porsiyon (\approx 230 g/hafta) balık tüketimi veya günlük en az 250 mg EPA+DHA alımı önermektedir (154, 201, 202). Bu önerilerle paralel bir şekilde yetişkinlerde birincil korumada 500 mg EPA+DHA, hekim gözetimine KVH olan bireylerde 1 g EPA+DHA hipertrigliseridemi tedavisinde ise 2-4 g EPA+DHA önerilmektedir (194, 201, 202). Tedavinin başarısında n-3 LCPUFA desteğinin kullanım süresi ve miktarı, önemli bir etkiye sahiptir. Yüksek doz n-3 LCPUFA (2-4 g EPA-DHA) desteğinin ve uzun tedavi süresinin kardiyovasküler yarar sağladığı bildirilmiştir (196).

Leptin ve adiponektin sekresyonunu artırarak n-3 LCPUFA'ların insülini uyardığı ve anti inflamatuvar etkisi ile insülin direncini azaltabileceği bildirilmiştir (16, 203). Moleküler düzeydeki etkisi ile SREBP-1c'ye etki ederek yağ asidi oksidasyonunu artırıp, de novo lipogenezi azaltarak karaciğer insülin duyarlılığını artıracağı düşünölmektedir. Fakat n-3 LCPUFA'nın insülin direnci/T2DM riskine etkisi ile ilgili çalışma sonuçları çelişkilidir. Özellikle deney hayvanları üzerinde olumlu etkisi gösterilirken insan çalışmalarında bu etki gösterilememiştir (204). Bazı çalışmalarda n-3 LCPUFA'nın glukoz metabolizması üzerine olumlu, bazı çalışmalarda olumsuz etkisi gösterilirken bazı çalışmalarda ise etkisi bulunmamıştır (205-211). Chen ve ark. yaptıkları bir meta-analizde ise n-3 LCPUFA alımı ile T2DM arasındaki ilişkinin U-şekli olduğu ve pik noktasının 0.43 g/gün olduğu bildirilmiştir (212).

Günümüzde sanayileşmiş ölkelerde en sık rastlanan karaciğer hastalığı olarak düşünölen NAYKH'ın önümüzdeki on yılda karaciğer transplantasyonunda en sık endikasyon nedeni olacağı tahmin edilmektedir. Bugüne kadar NAYKH için tam bir tedavi protokolü bulunmamaktadır. Bu nedenle, NAYKH'nin bilinen patogeneziine dayanarak, farklı beslenme takviyesi ve ilaç üretimi ile ilgili birçok klinik çalışma

yapılmaya başlanmış ve çalışmalar halen devam etmektedir. Bu desteklerden biri olan n-3 LCPUFA'nın karaciğerde lipogenezi baskılayarak etki gösterdiği bildirilmiştir (213). Phillips ve ark. yapmış oldukları sistematik derlemede NAYKH'nin diyet tedavisi için etkin yöntemlerden birinin n-3 LCPUFA desteği olduğunu bildirmişlerdir (214). Başka bir meta-analizde <0.83 g/gün n-3 LCPUFA alımının karaciğer yağlanması üzerinde etkili olduğu bulunmuştur (213).

Kolon, kolorektal, prostat, meme, akciğer kanseri ile n-3 LCPUFA alımı arasında ilişki olabileceği bildirilmiştir (150). *In vivo* ve *in vitro* çalışmalarda n-3 LCPUFA'nın anti-kanserojen etkisi gösterilmiştir (215, 216). Hücre nekrozu veya apoptozu ile hücre ölümlerini artırarak, tümör hücrelerinin büyümesini engelleyerek ve protümorjenik eikosonoid üretimini azaltarak etki gösterebilmektedir. Kolorektal kanser modeli geliştirilmiş sıçanlarda n-3 LCPUFA'nın etkinliğini araştıran bir çalışmada, n-3 LCPUFA'nın tümör büyümesini ve insidansını azalttığını, bunu da DNA metilasyonunu düzenleyerek yaptığı bildirilmiştir (217).

İnflamatuvar bağırsak hastalıklarında n-3 LCPUFA metabolizması sonucu üretilen anti-inflamatuvar maresin, resolvin ve protektinlerin olumlu etki gösterebileceği düşünülmektedir. Fakat çalışmaların sonuçları çelişkilidir; bu nedenle bu hastalıkların üzerinde n-3 LCPUFA'nın tam etkisi ortaya koymak için ve tedavisinde ve önlenmesinde günlük önerilecek miktarları saptayabilmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (218).

Beyin ve mental sağlık üzerinde de n-3 LCPUFA'lar etkin bir role sahiptir. Beyinin yapısının önemli bir kısmını oluşturan n-3 LCPUFA özellikle DHA sinyalizasyon, nöroenez, sinir sisteminin gelişimi, devamı ve fonksiyonu için önemli bir bileşendir. Bu nedenle mental sağlık üzerinde önemli etkileri olduğu düşünülmektedir (154). Ayrıca n-3 LCPUFA'nın otistik spektrum bozukluklarında, dikkat eksikliği-hiperaktivite bozukluğu, depresyon, şizofreni, alzheimer gibi nörolojik ve psikiyatrik hastalıklarda da etkili olduğu bildirilmiştir (219-222). Bu hastalıklarda n-3 LCPUFA'nın etkinliğini tam olarak ortaya koyabilmek için daha büyük popülasyonlarda ve daha uzun müdahale süresi planlanmış çalışmalara ihtiyaç vardır (223).

2.6.6. n-3 LCPUFA Gereksinimi

Amerikan Tıp Enstitüsü yetişkinlerde ve çocuklarda enerjinin %0,6-1,2'sinin n-3 LCPUFA'dan karşılanmasını ve Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi 250 mg/gün EPA+DHA alımı önermektedir (31, 224). Ayrıca TÖBER'de, enerjinin %0,5-2,0'sinin ALA olması gerektiği, EPA+DHA alımının farklı yaş grupları için 90-650 mg/gün olduğu bu düzeylere ulaşabilmek için haftada en az 2-3 kez balık tüketilmesi gerektiği belirtilmiştir (32). Tablo 2.4'de farklı durumlar için değişik otoriterin n-3 LCPUFA önerileri verilmiştir.

Tablo 2.4. Çeşitli otoriterin n-3 LCPUFA önerileri.

Otorite	Öneri Nedeni	Balık Tüketimi/Hafta	n-3 LCPUFA/gün
AHA (202)	KVH önlenmesi	2 porsiyon	1 g
Amerikan Diyabet Derneği (225)	KVH önlenmesi	≥2 porsiyon	
AND (226)	KVH önlenmesi	2 porsiyon	500 mg
DSÖ (227)	KVH önlenmesi	2 porsiyon	200-500 mg
Belçika Yüksek Sağlık Konseyi (182)	KVH önlenmesi		Enerjinin %0,3'ü
Hollanda Sağlık Konseyi (182)	KVH önlenmesi	2 porsiyon	450 mg
Birleşmiş Krallık Beslenme Bilimsel Danışma Kurulu (182)	KVH önlenmesi	2 porsiyon	450 mg
Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (228)	Normal kan basıncının korunması		3 g EPA+DHA
	Normal kan TG düzeyinin korunması		2-4 g EPA+DHA
TÖBER	Sağlığın Korunması	2-3 porsiyon	90-650 mg EPA+DHA

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Çalışma Dizaynı ve Deney Hayvanları

Bu çalışmada deney gruplarının oluşturulması amacıyla, ağırlıkları 200-250 g arasında değişen 8-10 haftalık 33 adet erkek wistar sıçan Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edilmiş ve bakımları bu laboratuvarda yapılmıştır. Sıçanlar $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de sabit oda ısısında, doğal gece-gündüz siklusları korunacak şekilde standart kafeslere (3 sıçan 1 kafeste) konulmuştur. Bir haftalık aklimatizasyondan sonra sıçanlar rastgele dört gruba ayrılmıştır. Sekiz hafta süre ile sıçanların *ad libitium* olarak taze içme suyu ve yeme ulaşımları sağlanmıştır. Sıçanlar deneysel beslenmeye geçmeden önce ve geçtikten sonra haftada bir kez aynı saatte (08.00-10.00) tartılmıştır. Haftalık ağırlıkları ve günlük yem tüketimleri kaydedilmiştir ve sekiz haftanın sonunda sıçanlar sakrifiye edilmiştir.

Bu çalışma, sıçanların vücut ağırlıkları (g), yem tüketim miktarları (g), serum biyokimyasal parametreleri [glukoz, trigliserit (TG), serum total kolesterol (TK), düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol (Low Density Lipoprotein-LDL-K), yüksek dansiteli lipoprotein-kolesterol (High Density Lipoprotein-HDL-K), insülin, leptin, ghrelin], karaciğer yağ asidi kompozisyonu ve hepatik yağ asidi desaturaz 1 (Fatty Acid Desaturase 1-FADS1) ve yağ asidi desaturaz 2 (Fatty Acid Desaturase 2-FADS2) gen ekspresyonu analizlerinin yer aldığı dört bölümden oluşmaktadır.

Araştırmaya ilişkin etik kurul raporu Kobay DHL A.Ş. Yerel Etik Kurulu'ndan 27.04.2017 tarihinde 226 sayılı protokol numarası ile alınmıştır (EK 1).

3.2. Sıçanlara Verilen Yem Özellikleri ve Grupların Oluşturulması

Grup I: Kontrol Grubu (n=6): Standart sıçan pelet yemi [Special Diet Services-VRF I (P)] ile beslenmiştir.

Grup II: Yüksek Yağlı Diyet (YYD, n=9): Enerjinin yaklaşık %60'ı yağdan gelecek şekilde ayarlanan domuz yağı içeren yüksek yağlı diyet (Testdiet-58Y1) ile beslenmiştir.

Grup III: Yüksek Yağlı Diyet+% 2,5 Balık Yağı (BY-YYD, n=9): Yüksek yağlı yeme ek olarak krill yağı ile eşit miktarda olacak şekilde 2,5 g/100 g menhaden balık yağı (Sigma-Aldrich, katalog no: F8020) verilmiştir. Kullanılan balık yağı 10-

15 g/100g eikosapentaenoik asit (EPA), 8-15 g/100 g dokosaheksaenoik asit (DHA) içermektedir.

Grup IV: Yüksek Yağlı Diyet+%2,5 Krill Yağı (KY-YYD, n=9): Yüksek yağlı yeme ek olarak 2,5 g/100 g krill yağı olacak şekilde krill yağı verilmiştir (170). Krill yağı Aker Biomarine ASA (Oslo,Norway)'dan temin edilmiştir. Krill yağının (Superba™2) EPA ve DHA içerikleri sırasıyla 12,2 g/100 g ve 7,1 g/100 g'dır. Krill yağının analiz raporu EK 2'de verilmiştir.

Yüksek yağlı yemler kullanım süresince +4°C'de saklanmıştır. Gruplarına göre sıçanlara uygulanan diyetlerin makro besin ögesi kompozisyonu Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Gruplara göre sıçanlara verilen diyetlerin enerji ve makro besin ögesi kompozisyonu.

	Kontrol	YYD	BY-YYD	KY-YYD
Enerji (kkal/g)	3,4	5,10	5,32	5,30
Protein (g/100 g)	19,11	23,10	23,10	23,10
Lipit (g/100 g)	4,75	34,90	37,4	37,1
<i>Doymuş Yağ Asitleri</i>	0,75	13,68	14,39	14,25
<i>Tekli Doymamış Yağ Asitleri</i>	1,07	14,00	14,50	14,37
<i>Çoklu Doymuş Yağ Asitleri</i>	2,66	5,15	5,93	5,78
<i>n-6</i>	2,38	4,76	4,91	4,78
<i>n-3</i>	0,28	0,39	1,02	1,00
<i>EPA</i>	-	-	0,31	0,30
<i>DHA</i>	-	-	0,29	0,18
Karbonhidrat (g/100 g)	55,32	25,90	25,90	25,90
<i>Posa</i>	3,85	6,50	6,50	6,50

3.3. Kan ve Doku Örneklerinin Hazırlanması

Sıçanlar sekiz hafta süre ile deney protokolüne uygun olarak beslenmiştir. Sekiz haftanın sonunda, 12 saat süre ile aç bırakılan sıçanlar, eter anestezi altında kardiyak kan alımlarını (5-10 ml) takiben eksanguinasyon işlemi ile sakrifiye edilmiştir. Alınan kan örnekleri pıhtılaşma için geçmesi gereken süre beklendikten sonra (10-20 dakika) 3000-3500 rpm'de 10 dk süreyle santrifuj edilmiş ve serumlar

20°C'ye alınmıştır. Serum örnekleri soğuk zincir bozulmadan kuru buz ile Erzurum Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilimdalı'na taşınmış ve analiz zamanına kadar -80°C'de saklanmıştır.

Karaciğerler hızlıca çıkartılarak tartılmıştır. Karaciğerin bir kısmı lipit kompozisyonu analizleri için her lobtan parça alacak şekilde küçük parçalar (300-400 mg) halinde -20°C'ye alınmıştır. Soğuk zincir bozulmadan kuru buz ile Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne (DAYTAM) taşınmış ve analiz zamanına kadar burada -80°C'de saklanmıştır.

Karaciğerin bir kısmı (30-50 mg) RNAlater (Qiagen, ABD-katalog no: 76104) içerisine konulmuştur (Tandy vd., 2009). Soğuk zincir bozulmadan kuru buz ile DAYTAM'a taşınmış ve analiz zamanına kadar burada -80°C'de saklanmıştır.

3.4. Yem Tüketimlerinin ve Vücut Ağırlığı Değerlendirilmesi

Sıçanların yem tüketimleri her gün aynı saatte tartılarak kaydedilmiştir. Deney protokolüne uygun olarak krill yağı ve balık yağı oral gavaj yolu ile verilmiştir. Sıçanların deney başlangıcında ve deney süresince haftada bir kez aynı saatte (08.00-10.00) vücut ağırlığı ölçümü yapılmış ve kaydedilmiştir.

3.5. Serum Örneklerinde Biyokimyasal Analizlerin Yapılması

3.5.1. Serum Glukoz ve Kan Lipitleri

Serum açlık glukoz, TG, TK, HDL-K, LDL-K düzeyleri Atatürk Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde Beckman marka otoanalizörde enzimatik kolorimetrik yöntemle uygun kit kullanılarak ölçülmüştür (229). İnsülin direnci için *Homeostasis Model Assesment of İnsulin İndex* (HOMA-IR)= (insülin (mU/L) * glukoz (mmol/L)/22,5) formülüne göre hesaplanmıştır ve 2,7'nin üzeri insülin direnci olarak kabul edilmiştir (230).

3.5.2. Serum İnsülin, Leptin, Ghrelin Düzeyleri

Çalışmada serum insülin, leptin ve ghrelin parametrelerinin analizleri için sıçan serumuna uygun her bir proteine özgün kitler kullanılmıştır. İnsülin (Sunredbio, Şanghay-katalog no: 201-11-0708), leptin (Sunredbio, Şanghay-katalog

no:201-11-0456) ve ghrelin (Sunredbio, Şanghay-katalog no: 201-11-1650) düzeylerinin belirlenmesi protein-antikor bağlanmasını temel alan Enzim İntili İmmun Assay (ELISA) yöntemi ile Erzurum Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilimdalı'nda kit protokolü uygulanarak gerçekleştirilmiştir (231). Kit protokolüne göre öncelikli olarak reaktifler, örnekler ve standartlar hazırlanmıştır. Daha sonra *96-well plate* içine bir tane boş kuyu olmak üzere belirtilen miktarlarda standartlar ve örnekler konulmuştur. Duplikasyon yöntemi ile çalışılmıştır. Bir saat 37°C'de inkübe edilmiştir. Otomatik yıkama cihazında (Stat Fax 2600) beş kez yıkanarak kromojen solüsyonları eklenmiştir. Reaksiyon için 10 dakika 37°C'de bekletilmiştir. Durdurucu solüsyon 10 dakika içinde eklenerek spektrofotometre (Biotek, Epoch-nano drop aparatlı) cihazında protein miktarları belirlenmiştir.

3.6. Karaciğer Yağ asidi Kompozisyon Analizi

Gaz kromatografi analizleri ile karaciğer yağ asidi kompozisyonu Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nde yapılmıştır. Üç aşamada yağ asidi kompozisyonu belirlenmiştir. Birinci aşamada, karaciğer örneklerinden toplam yağ ekstraksiyonu Folch ve ark. (232) bildirdiği yöntemine göre yapılmıştır. İkinci aşamada, elde edilen yağlardan yağ asidi metil esterlerinin elde edilmesi Metcalfe ve ark. (233) göre hazırlanmıştır. Son aşamada viallere aktarılan yağ asidi metil esterleri gaz kromatografi cihazına konularak protokol yürütülmüş ve analiz sonlandırılmıştır. n-3 LCPUFA toplam desaturaz aktivitesi, EPA/Linolenik Asit oranı ile n-6 LCPUFA desaturaz aktivitesi araşidonik asit/linoleik asit oranı ile hesaplanmıştır (234). Çalışmada kullanılan gaz kromatografi koşulları Tablo 3.2'de verilmiştir.

3.6.1. Karaciğer Örneklerinden Toplam Yağın Ekstrakte Edilmesi

Folch ve ark.'nın (232) bildirdiği yöntemine göre örneklerden toplam yağ ekstraksiyonu yapılmıştır. Yaklaşık 1 g ağırlığındaki karaciğer örnekleri alınarak tüplere konulmuş ve 20 ml %0,01 bütillenmiş hidroksitoluen (w/v) içeren kloroform/methanol (2:1 v/v) çözeltisinden üzerine eklenmiştir. Ultraturaks ile gerekli parçalanma sağlandıktan sonra Whatman No:1 türü filtre kağıdından geçirilmiştir. Süzülen örnekler sterilize edilmiş tüplere aktarılarak üzerine yaklaşık

örnek miktarının %2'si olacak şekilde $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ çözeltisinden eklenmiştir. Tüplere nitrojen gazı doldurularak kapakları sıkıca kapatılmıştır. Bir dakika vortekslenerek oda sıcaklığında faz ayrımı için bir gün bekletilmiştir. Sonraki gün pastör pipeti kullanılarak tüplerdeki alt faz alınmış ve sterilize edilmiş kuru tüplere konulmuştur. Azot evaporatör sistem kullanılarak örnekler ısıtma ve nitrojen gazında evaporasyon işlemi uygulanmıştır. Daraları daha önce alınmış tüplere evapore olmuş örnekler aktarılarak mini evaporatörde ara ara tartımları yapılmıştır. Ağırlık değişimi sabitlenince evaporasyon işlemine son verilmiştir. Son ağırlıktan tüpün ağırlığı çıkartılarak toplam yağ miktarı saptanmıştır. Başlangıçta alınan örnek ağırlıklarına oranlanarak karaciğer toplam yağ oranı (%) belirlenmiştir. Örneklerin üzerine kloroform eklenerek $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır.

3.6.2. Karaciğer Örneklerinde Yağ Asidi Metil Esterlerinin Tayini

Karaciğer örneklerinde yağ asidi metil ester tayini Metcalfe ve ark. (233) bildirdiği yöntemle göre yapılmıştır. Temiz tüplere 50 mg ekstrakte elde edilen saf yağ numunelerinden konularak üzerine 100 ml hekzan içinde çözdürülmüş 19:0 metil nonadekanoat (Fluka 74208) ve 1,5 ml 2 M sodyum hidroksit eklenmiştir. Daha sonra sabunlaşma işlemi için nitrojen gazı ile doldurulan tüpler 80°C 'de bir saat bekletilmiştir. Bu işlemin ardından soğumaya bırakılan numunelerin üzerine 2 ml brontrifluorür metanol konularak tekrar nitrojene tabi tutulmuş ve 80°C 'de otuz dakika daha inkübe edilmiştir. Soğuyan numunelere önce 1 ml hekzan eklenmiş vortekslendikten sonra 1 ml saf su eklenerek tekrar vorteklenmiştir. Oluşan hekzan tabakası alındıktan sonra Na_2SO_4 'lü tüplere konulmuştur. Daha sonra bir kez daha 1 ml hekzan eklenerek vortekslenmiştir. Bütün numuneler on dakika süre ile 6000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Üst kısımda kalan hekzan katmanı 2 ml'lik gaz kromatografi viallerine konulmuştur. Daha sonra nitrojen gazı ile doldurulan vialler gaz kromatografi (GC/MS) işlemi için cihaza yerleştirilmiştir.

3.6.3. Karaciğer Örneklerinde Yağ Asidi Oranlarının Belirlenmesi

Supelco Component yağ asidi metil esterlerini Mix standartları kullanılan sistem piklerine göre kalibrasyonu yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar yüzde alan şeklinde verilmiştir.

Tablo 3.2. Gaz kromatografi koşulları.

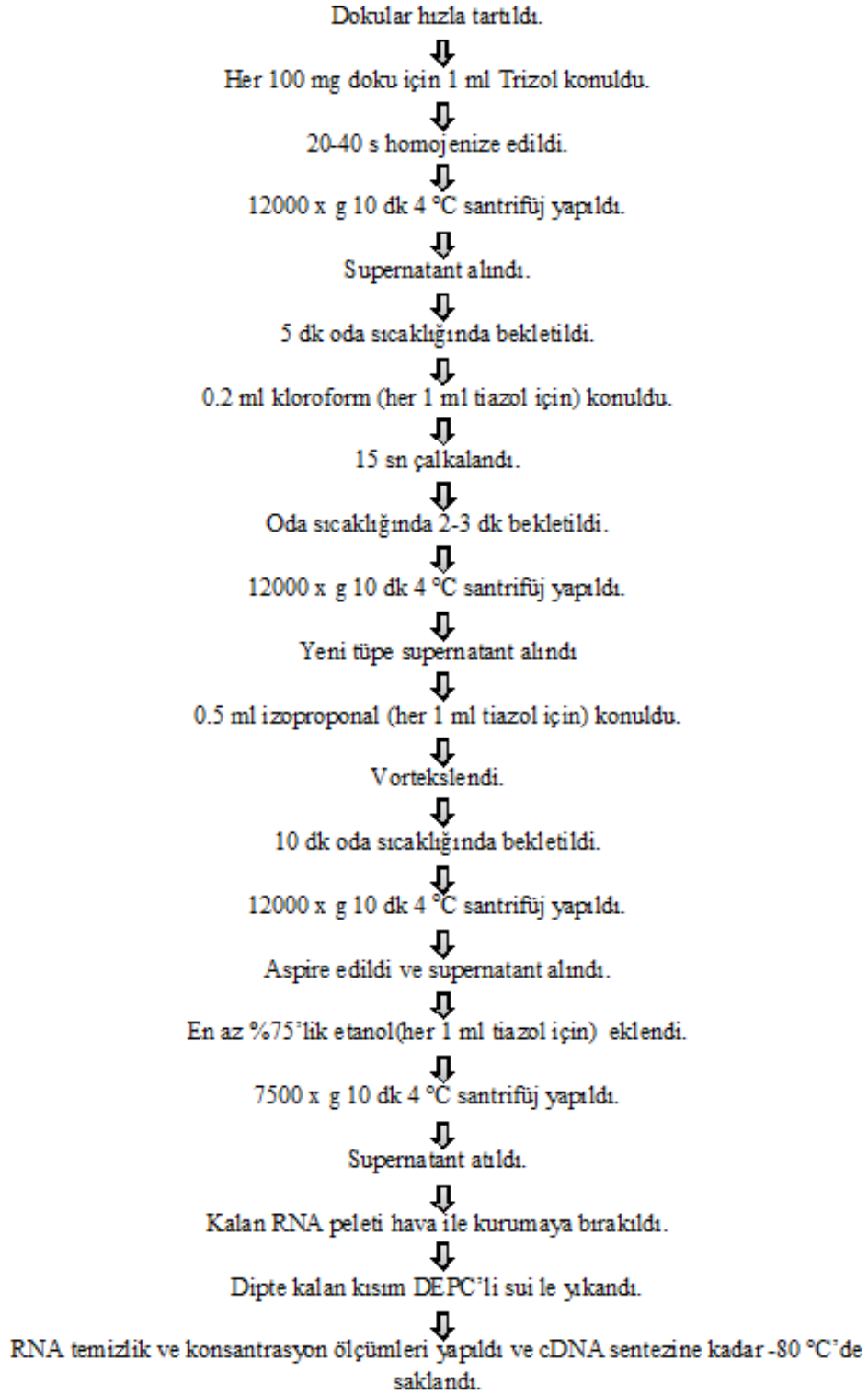
Cihaz Adı	Agilent 6980 mass gaz kromatografisi (GC/MS) 23
Dedektör	FID
Kolon	DB-23
Dedektör sıcaklığı	165°C 15 dakika
	Dakikada 5°C artışla 200°Cde 47 dakika
Taşıyıcı gaz	Hidrojen
Zaman sabiti	200
Akış hızı	1/50
Hava basıncı	350 ml/dk
Taşıyıcı gaz basıncı	35 ml/dk

3.7. Karaciğer FADS1 ve FADS2 Gen Ekspresyonlarının Belirlenmesi

Genlerin ekspresyon düzeyleri DAYTAM'da Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real time-Polymerase Chain Reaction, RT-PCR) yöntemiyle aşağıdaki aşamalar takip edilerek belirlenmiştir. Bütün aşamalar sıcaklık ve kontaminasyon ilkelerine dikkat edilerek yürütülmüştür.

3.7.1. RNA İzolasyonu

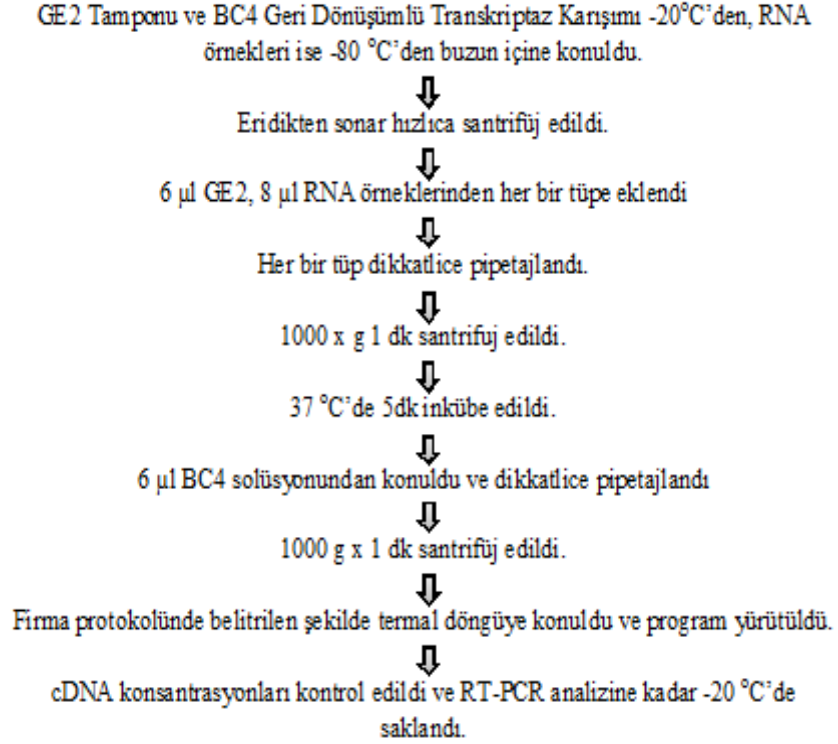
Karaciğer dokusundan RNA izolasyonu trizol (Qiazol Lysis Reagent) yardımıyla (Qiagen, ABD-katalog no: 79306) aşağıda anlatılan protokol takip edilerek yapılmıştır. RNA konsantrasyon ve saflığı 260/280 nm oranlarında spektrofotometre cihazında (Biotek Epoch, ABD) kontrol edilmiştir. Elde edilen RNA, RT-PCR uygulaması için cDNA'ya çevrilecek zamana kadar -80°C saklanmıştır. Şekil 3.1'de RNA izolasyonu için uygulanan protokol verilmiştir.



Şekil 3.1. RNA izolasyon protokolü.

3.7.2. cDNA Sentezi

RNA örneklerinden cDNA sentezi cDNA sentez kiti (RT² first strand kit- Qiagen, ABD-katalog no: 330404) kullanılarak yapılmıştır. Spektrofotometre cihazında (Biotek Epoch, ABD), cDNA konsantrasyonları kontrol edilmiştir. Şekil 3.2'de cDNA sentezi için uygulanan protokol verilmiştir.

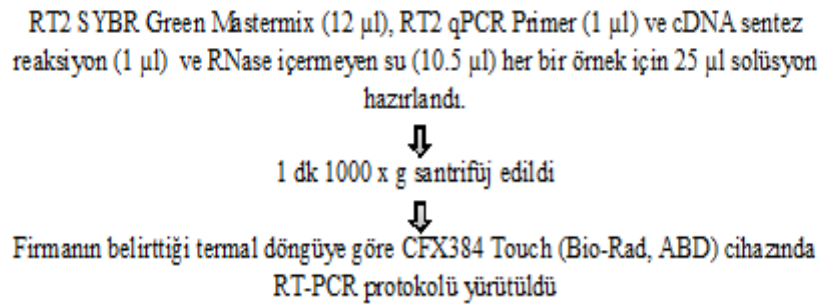


Şekil 3.2. RNA'dan cDNA sentez protokolü.

3.7.3. RT-PCR

Gerçek zamanlı kantitatif PCR nükleik asitlerin miktarlarının belirlenmesinde günümüzde kullanılan bir yöntemdir. "Real-time PCR"da oluşan ürün miktarı reaksiyon boyunca oluşan ürün miktarıyla orantılı olarak artan floresan boya ve probların verdiği sinyalin izlenmesiyle anlaşılır ve amplifikasyonun devir sayısı belirli miktardaki DNA moleküllerinin elde edilmesi açısından da gereklidir. Çift zincirli DNA'ya bağlanan SYBR-Green master mix (Qiagen, ABD-katalog no: 330500) floresan boyama yöntemi kullanılarak kantitatif RT-PCR yapılmıştır ve referans gene karşılık hedef genin (FADS1, FADS2) ekspresyon düzeyi belirlenmiştir. Referans gen olarak her dokuda eksprese olan ve ekspresyonu sabit

olan housekeeping gen (β -actin) kullanılmıştır. Bunun için ekspresyonu belirlenmek istenen FADS1 (NM_053445; Qiagen, ABD-katalog no: PPR48219B), FADS2 (NM_031344; Qiagen, ABD-katalog no: PPR48571B) ve referans gen olan β -actin (NM_031144; Qiagen, ABD-PPR06570C) ait primerler Qiagen firmasından temin edilmiştir. Primerler, master mix ve su kullanılarak mevcut protokole göre RT-PCR tamamlanmıştır. RT-PCR cihazı olarak CFX384 Touch (Bio-Rad, ABD) kullanılmıştır (27, 235).



Şekil 3.3. RT-PCR protokolü.

3.8. İstatistiksel Analiz

Araştırma sonunda elde edilen verilerin değerlendirilmesi için SPSS 22.0 for Windows programından yararlanılmıştır. Tanımlayıcı istatistik analizi olarak ortalama (\bar{X}), standart sapma (SS), medyan, alt, üst değerleri kullanılmıştır. Verilere normal dağılım testi olarak Kolmogorov-Smirnov ve homojenlik testleri uygulandıktan sonra parametrik veriler için Tek Yönlü Varyans Analizi, parametrik olmayan veriler için Kruskal Wallis testi yapılmıştır. Eğer gruplar arasındaki fark anlamlı olarak saptanırsa ($p < 0,05$) parametrik verilerin ikili karşılaştırmaları için varyansların eşit olma durumuna göre uygun post-hoc yöntemi, Kruskal Wallis testi yapılan veriler için ise Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Tekrarlı ölçümler için Friedman testi yapılmıştır. Veriler %95 güven aralığında 0,05 anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir (236). Şekillerin çizimi için GraphPad Prism 7.04 programından yararlanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Deney Gruplarına Göre Sıçanların Besin Alımları ve Vücut Ağırlıklarına İlişkin Bulgular

Tablo 4.1.'de sıçanların haftalara göre yem tüketim miktarları (g/gün) verilmiştir. Takip edilen bütün haftalarda, yüksek yağlı diyet (YYD), yüksek yağlı diyet+%2,5 balık yağı (BY-YYD), yüksek yağlı diyet+%2,5 krill yağı (KY-YYD) gruplarının yem tüketim miktarları kontrol grubundan daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Birinci, ikinci, üçüncü ve sekizinci haftalarda YYD, BY-YYD ve KY-YYD gruplarının yem tüketim miktarları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Dördüncü haftada, kontrol grubu günde ortalama $28,4\pm 0,1$ g/gün, YYD grubu $18,5\pm 0,4$ g/gün, BY-YYD grubu $17,5\pm 0,6$ g/gün, KY-YYD grubu $18,4\pm 0,3$ g/gün yem tüketmiştir. Gruplar arasındaki fark incelendiğinde, YYD grubuna göre, BY-YYD grubunun yem tüketim miktarı daha düşük ($p<0,05$); KY-YYD grubunun ise benzer bulunmuştur ($p>0,05$). BY-YYD ve KY-YYD gruplarının yem tüketim miktarları karşılaştırıldığında, BY-YYD grubunun yem tüketim miktarı KY-YYD grubundan istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

Altıncı haftada YYD grubundaki sıçanların yem tüketimi BY-YYD grubuna göre daha fazla ($p<0,05$); KY-YYD grubu ile benzer bulunmuştur ($p>0,05$). BY-YYD ile KY-YYD gruplarının yem tüketimleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Beşinci ve yedinci haftalarda, bütün grupların yem tüketimleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). YYD grubu, BY-YYD ve KY-YYD grubundan daha fazla yem tüketmiştir ($p<0,05$). En az yem tüketen grup BY-YYD olarak belirlenmiştir ($p<0,05$).

Tablo 4.1.'de verilen sekiz haftanın ortalama yem tüketimine göre deney gruplarının kontrol grubundan daha az yem tükettiği saptanmıştır ($p<0,05$). Deney grupları karşılaştırıldığında, YYD ile KY-YYD gruplarının yem tüketim miktarları benzer ($p>0,05$) iken, en az yem tüketen grubun BY-YYD olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Kontrol grubu ve tüm deney gruplarında sıçanların haftalara göre yem tüketim miktarlarının farklı olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).

Tablo 4.1. Sıçanların haftalara göre günlük yem tüketim miktarları (g/gün).

Haftalar	Kontrol (n:6)			YYD (n:9)			BY-YYD (n:9)			KY-YYD (n:9)			P
	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (Alt-Üst)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (Alt-Üst)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (Alt-Üst)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (Alt-Üst)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (Alt-Üst)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (Alt-Üst)	
1. Hafta*	25,5±0,5	25,5 (25,0-26,0)	16,5±0,7 ^a	16,7 (15,7-17,2)	16,2±0,3 ^a	16,3 (15,8-16,4)	16,1±0,2 ^a	16,2 (15,8-16,3)					0,001
2. Hafta*	29,0±1,0	29,0 (28,0-30,0)	17,2±1,3 ^a	17,9 (15,4-18,2)	16,8±1,0 ^a	16,7 (15,6-18,0)	16,9±0,2 ^a	16,9 (16,8-17,2)					0,002
3. Hafta*	28,4±0,1	28,4 (28,3-28,5)	17,7±0,9 ^a	17,7 (16,7-18,7)	16,9±1,2 ^a	17,3 (15,3-18,0)	17,3±0,6 ^a	17,4 (16,5-17,9)					0,001
4. Hafta*	28,4±0,1	28,4 (28,4-28,5)	18,5±0,4 ^a	18,5 (18,0-19,0)	17,5±0,6 ^{ab}	17,6 (16,7-18,1)	18,4±0,3 ^{ac}	18,5 (18,0-18,8)					0,000
5. Hafta*	31,1±0,4	31,1 (30,7-31,5)	18,6±0,1 ^a	18,7 (18,5-18,7)	18,0±0,1 ^{ab}	18,0 (17,9-18,2)	19,1±0,4 ^{ab,c}	18,9 (18,8-19,7)					0,000
6. Hafta*	29,9±0,4	29,8 (29,5-30,2)	19,1±0,5 ^a	19,3 (18,5-19,6)	18,6±0,5 ^{ab}	18,9 (17,9-19,1)	19,3±1,2 ^a	19,4 (17,9-20,7)					0,001
7. Hafta*	31,2±0,1	31,2 (31,2-31,3)	20,2±0,3 ^a	20,1 (19,8-20,6)	19,1±1,4 ^{ab}	19,6 (17,2-20,4)	20,6±0,2 ^{ab,c}	20,7 (20,4-20,8)					0,000
8. Hafta*	31,9±0,6	31,9 (31,4-32,5)	20,2±1,2 ^a	19,4 (19,4-21,8)	19,6±0,8 ^a	20,0 (18,5-20,2)	19,8±0,4 ^a	19,6 (19,5-20,4)					0,002
Toplam Yem	29,4±0,0	29,4 (29,4-29,5)	18,5±0,05 ^a	18,5 (18,5-18,6)	17,8±0,7 ^{ab}	18,1 (16,9-18,5)	18,5±0,1 ^{ac}	18,4 (18,4-18,6)					0,000
Tüketimi*	7												
Değişim p **		0,000		0,000		0,000		0,000				0,000	

*Kruskall-Wallis&Mann-Whitney U

**Friendman Testi

p<0,05

a: Kontrol Grubu

b: YYD Grubu

c: BY-YYD Grubu

Tablo 4.2.'de sıçanların haftalara göre enerji alımları gösterilmiştir. Birinci hafta kontrol grubu $86,7 \pm 1,9$ kkal/gün, YYD grubu $84,3 \pm 3,4$ kkal/gün, BY-YYD grubu $82,4 \pm 1,4$ kkal/gün, KY-YYD grubu $82,1 \pm 1,2$ kkal/gün; dördüncü haftada kontrol grubu $96,73 \pm 0,2$ kkal/gün, YYD grubu $94,3 \pm 2,2$ kkal/gün, BY-YYD grubu $89,0 \pm 3,1$ kkal/gün, KY-YYD grubu $94,0 \pm 1,8$ kkal/gün; sekizinci haftada sırasıyla $108,6 \pm 2,0$ kkal/gün, $103,0 \pm 6,1$ kkal/gün, $99,7 \pm 4,1$ kkal/gün, $101,1 \pm 2,0$ kkal/gün enerji aldıkları belirlenmiştir.

Birinci ve sekizinci haftalarda BY-YYD ve KY-YYD grupları ile kontrol grubunun enerji alımları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu haftalarda, YYD grubu ile kontrol grubu, BY-YYD ve KY-YYD gruplarının enerji alımları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p > 0,05$). Deney gruplarının enerji alımları benzer bulunmuştur ($p > 0,05$). İkinci ve üçüncü haftada kontrol grubuna göre tüm deney grupları daha az enerji alırken ($p < 0,05$), deney gruplarının enerji alımları benzer bulunmuştur ($p > 0,05$). Beşinci hafta, kontrol grubu ile YYD ve KY-YYD gruplarının enerji alımı benzer bulunurken ($p > 0,05$), KY-YYD grubunun YYD ve BY-YYD gruplarından daha fazla enerji aldığı saptanmıştır ($p < 0,05$). Altıncı haftada kontrol grubuna göre YYD ve BY-YYD gruplarının daha az enerji aldığı saptanmıştır ($p < 0,05$). Kontrol grubu ile KY-YYD grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p > 0,05$). Yedinci haftada tüm grupların enerji alımları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu haftalarda en az enerji alan grup BY-YYD grubu ($97,2 \pm 7,3$ kkal/gün) iken, en fazla enerji alan grubun kontrol grubu ($106,2 \pm 0,2$ kkal/gün) olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). Ayrıca YYD grubuna göre KY-YYD grubunun daha fazla enerji aldığı saptanmıştır ($p < 0,05$).

Tablo 4.2.'de gösterildiği gibi sekiz haftanın sonunda ortalama enerji alımları değerlendirildiğinde, tüm deney gruplarının kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha az enerji aldığı saptanmıştır ($p < 0,05$). YYD ve KY-YYD grupları arasında enerji alımları açısından istatistiksel olarak önemli fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Deney süresince en az enerji alan grubun BY-YYD olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Kontrol grubu ve tüm deney gruplarında sıçanların haftalara göre enerji alımlarının farklı olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$). Sıçanların haftalara göre günlük enerji alımlarının eğrileri Şekil 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Sıçanların haftalara göre günlük enerji alımları (kkal/gün).

	Kontrol (n=6)			YYD (n=9)			BY-YYD (n=9)			KY-YYD (n=9)			p
	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (Alt-Üst)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (Alt-Üst)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (Alt-Üst)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (Alt-Üst)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (Alt-Üst)	$\bar{X} \pm SS$	Medyan (Alt-Üst)	
1. Hafta*	86,7±1,9	86,7 (85,0-88,4)	84,3±3,4	85,2 (80,0-87,7)	82,4±1,4 ^a	83,1 (80,6-83,6)	82,1±1,2 ^a	82,6 (80,6-83,1)					0,001
2. Hafta *	98,6±3,7	98,6 (95,2-102,0)	87,5±6,9 ^a	91,3 (78,5-93,0)	85,5±5,3 ^{ab}	85,2 (79,6-91,8)	86,5±0,9 ^a	86,2 (85,7-87,7)					0,000
3. Hafta*	96,5±0,3	96,6 (96,2-96,9)	90,3±4,4 ^a	90,3 (85,2-95,4)	86,0±6,2 ^a	88,2 (78,0-91,8)	88,0±3,1 ^a	88,7 (84,1-91,3)					0,001
4. Hafta*	96,7±2,0	96,7 (96,6-96,9)	94,3±2,2 ^a	94,4 (91,8-96,9)	89,0±3,1 ^{ab}	89,8 (85,2-92,3)	94,0±1,8 ^{ac}	94,3 (91,8-95,9)					0,000
5. Hafta**	105,7±1,5	105,7 (104,4-107,1)	95,0±0,5	95,4 (94,4-95,4)	91,9±0,7 ^{ab}	91,8 (91,3-92,8)	97,6±2,2 ^{b,c}	96,4 (95,9-100,5)					0,000
6. Hafta*	101,5±1,3	101,5 (100,3-102,7)	97,6±2,5 ^a	98,4 (94,4-99,9)	95,0±2,8 ^a	96,4 (91,3-97,4)	98,6±6,2	98,9 (91,3-105,6)					0,027
7. Hafta**	106,2±0,2	106,2 (106,0-106,4)	102,9±1,8 ^a	102,5 (100,9-105,0)	97,2±7,3 ^{ab}	99,9 (87,7-104,0)	105,2±0,9 ^{abc}	105,6 (104,0-106,0)					0,000
8. Hafta*	108,6±2,0	108,6 (106,8-110,5)	103,0±6,1	98,9 (98,9-111,2)	99,7±4,1 ^a	102,0 (94,3-103,0)	101,1±2,1 ^a	100,0 (99,4-104,0)					0,002
Toplam Enerji Alımı**	100,0±0,2	100,0 (99,8-100,3)	94,4±2,2 ^a	94,3 (94,0-94,7)	90,9±3,7 ^{ab}	92,5 (93,5-95,0)	94,0±0,7 ^{ac}	94,1 (86,0-94,2)					0,000
Değişim p***													0,000

*One-way Anova&Dunnet'C

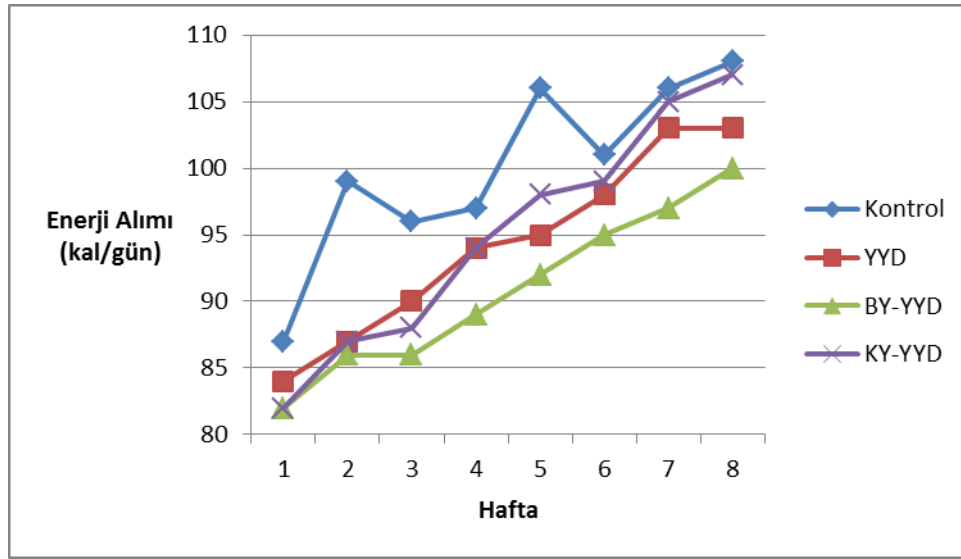
** Kruskal-Wallis&Mann-Whitney U

***Friedman Testi

p<0,05 a: Kontrol Grubu

b: YYD Grubu

c: BY-YYD Grubu



Şekil 4.1. Sıçanların haftalara göre günlük enerji alımlarının eğrileri (kcal/gün).

Tablo 4.3.'de sıçanların vücut ağırlığı değerleri verilmiştir. Deney başlangıcında gruplar arasında vücut ağırlıkları arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark yoktur ($p>0,05$). Deney sonunda tüm deney gruplarının (YYD= $530,5\pm 33,8$ g, BY-YYD= $527,4\pm 49,7$ g, KY-YYD= $519,8\pm 25,2$ g) vücut ağırlıkları kontrol grubundan ($454,7\pm 25,0$ g) daha fazladır (her biri için, $p<0,05$). Sekiz haftanın sonunda ağırlık kazanımları değerlendirildiğinde tüm deney grupları kontrol grubundan daha fazla ağırlık kazanmıştır (her biri için, $p<0,05$). YYD, BY-YYD ve KY-YYD gruplarının deney sonu ağırlıkları, ağırlık artışları (g) ve ağırlık artış oranları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Şekil 4.2.'de haftalık vücut ağırlığı değişimleri gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Gruplara göre sıçanların vücut ağırlıklarına ilişkin veriler.

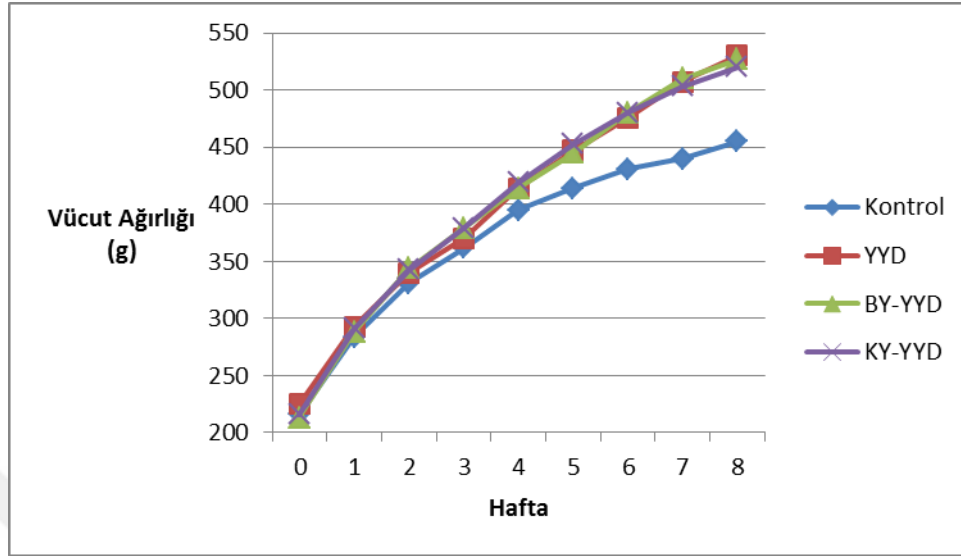
	Kontrol (n=6)	YYD (n=9)	BY-YYD (n=9)	KY-YYD (n=9)	p
	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	
Deney başlangıç vücut ağırlığı (g)	$216,5\pm 15,8$	$225,4\pm 11,4$	$213,0\pm 9,9$	$216,2\pm 10,1$	0,153
Deney sonu vücut ağırlığı (g)	$454,7\pm 25,0$	$530,5\pm 33,8^a$	$527,4\pm 49,7^a$	$519,8\pm 25,2^a$	0,001
Ağırlık artışı (g)	$238,2\pm 15,3$	$305,1\pm 23,24^a$	$314,4\pm 15,9^a$	$303,5\pm 40,1^a$	0,000
Ağırlık artış oranı (%)	$110,4\pm 9,0$	$135,3\pm 16,7^a$	$148,7\pm 13,1^{a,b}$	$140,7\pm 3,8^a$	0,000

One-way Anova&Tukey
 $p<0,05$ a: Kontrol Grubu

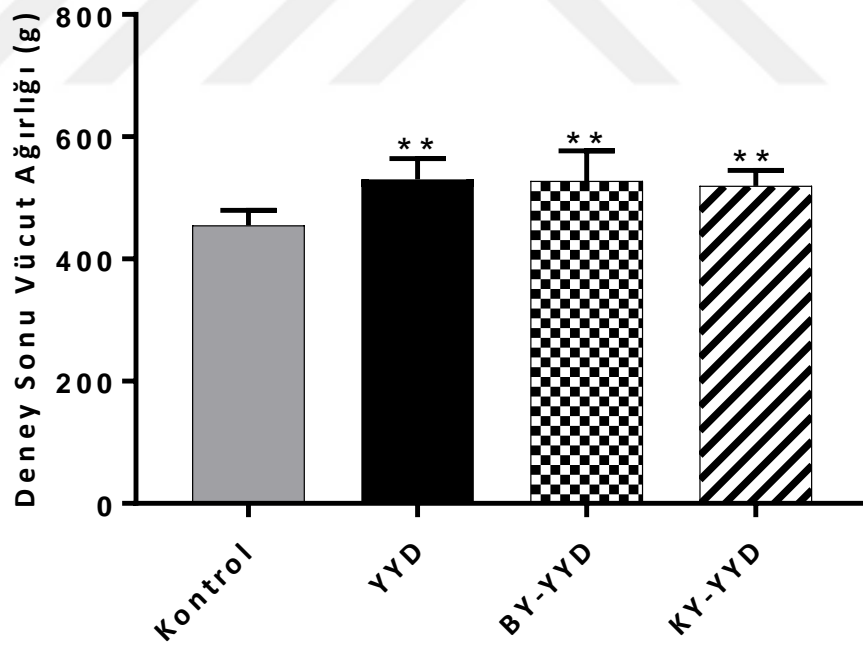
b: YYD Grubu

c: BY-YYD Grubu

Sıçanların haftalık vücut ağırlığı değişimleri Şekil 4.2.'de; deney gruplarına göre sıçanların deney sonu ortalama ağırlıkları ise Şekil 4.3.'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Sıçanların haftalık vücut ağırlığı değişimleri (g).



** p<0.01

Şekil 4.3. Sıçanların deney gruplarına göre deney sonu ortalama ağırlıkları.

4.2. Deney Gruplarına Göre Sıçanların Bazı Biyokimyasal Bulguları

Tablo 4.4.'de sıçanların bazı biyokimyasal parametreleri verilmiştir. Açlık serum glukoz düzeyleri incelendiğinde, kontrol grubunun $97,80 \pm 13,9$ mg/dl, YYD grubunun $131,3 \pm 25,8,6$ mg/dl, BY-YYD grubunun $121,8 \pm 19,5$ mg/dl, KY-YYD grubunun $114,6 \pm 11,7$ mg/dl olarak bulunmuştur. YYD grubunun serum glukoz düzeyi kontrol grubunun daha yüksektir ($p < 0,05$). YYD grubunun serum glukoz düzeyi BY-YYD ve KY-YYD'ye göre daha yüksek bulursa da aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p > 0,05$). Deney gruplarına göre sıçanların serum açlık glukoz düzeylerinin ortalamaları Şekil 4.4.'de gösterilmiştir.

Serum insülin düzeyi ve hesaplanan Homeostasis Model Assesment of İnsulin İndex (HOMA-IR) değerleri sırasıyla kontrol grubunun $8,0 \pm 2,4$ mIU/L, $1,8 \pm 0,4$; YYD grubunun $16,7 \pm 10,1$ mIU/L, $5,7 \pm 4,7$; BY-YYD grubunun $13,8 \pm 7,7$ mIU/L, $3,2 \pm 1,2$; KY-YYD grubunun $11,3 \pm 4,3$ mIU/L, $4,2 \pm 2,6$ olarak bulunmuştur. YYD grubunun serum insülin düzeyinin ve HOMA-IR değerinin diğer gruplara göre yüksek olduğu görülmektedir; ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). HOMA-IR için 2,7'nin üzeri insülin direnci olarak kabul edildiğinde, bütün deney gruplarında insülin direncinin geliştiği görülmektedir. Sıçanların deney gruplarına göre, serum insülin düzeylerinin ortalamaları Şekil 4.5.'de; HOMA-IR değerlerinin ortalaması ise Şekil 4.6.'da verilmiştir.

Tablo 4.4.'de gösterildiği gibi sıçanların serum trigliserit (TG) düzeyi sırasıyla kontrol grubunun $65,5 \pm 11,3$ mg/dl, YYD grubunun $112,8 \pm 32,5$ mg/dl, BY-YYD grubunun $93,8 \pm 16,0$ mg/dl, KY-YYD grubunun $83,9 \pm 14,2$ mg/dl olarak saptanmıştır. Kontrol grubuna göre YYD grubunun TG düzeyi daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). Kontrol grubu ile BY-YYD ve KY-YYD gruplarının TG değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p < 0,05$). YYD ve BY-YYD; BY-YYD ve KY-YYD grupları arasında TG düzeyi açısından istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). YYD grubuna göre KY-YYD grubunun TG düzeyi daha düşük saptanmıştır ($p < 0,05$). Deney gruplarına göre sıçanların serum TG düzeylerinin ortalamaları Şekil 4.7.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.4.'de gösterilen sıçanların total kolesterol (TK) düzeyleri incelendiğinde, kontrol grubuna göre deney gruplarının TK değerleri daha yüksek bulunmuştur. Kontrol grubunun TK düzeyleri ile YYD ve BY-YYD gruplarının TK

düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli iken (her biri için $p>0,05$); kontrol grubunun TK düzeyleri ile KY-YYD grubunun TK düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p<0,05$). YYD ile BY-YYD grupları arasında TK düzeyleri arasında fark yoktur ($p>0,05$). YYD grubunun TK düzeyi KY-YYD grubun TK düzeyinden daha yüksektir ($p<0,05$). Deney gruplarına göre sıçanların serum TK düzeylerinin ortalamaları Şekil 4.8.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.4. Deney gruplarına göre sıçanların biyokimyasal bulguları.

	Kontrol (n=6)	YYD (n=9)	BY-YYD (n=9)	KY-YYD (n=9)	p
	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	
Açlık glukozu (mg/dl)	97,8±13,9	131,0±25,8 ^a	121,8±19,5	114,8±19,5	0,017
İnsulin (mIU/L)	8,0±2,4	16,7±10,1	13,8±7,7	11,3±4,3	0,131
Homa-IR	1,8±0,4	5,7±4,7	3,2±1,2	4,2±2,6	0,097
TG (mg/dl)	65,5±11,3	112,8±32,5 ^a	93,8±16,0	83,9±14,2 ^b	0,002
T.K (mg/dl)	43,2±3,5	55,0±7,0 ^a	55,1±6,9 ^a	46,1±5,1 ^{b,c}	0,001
HDL-K (mg/dl)	23,7±2,0	22,4±3,0	26,0±3,3	22,4±3,0	1,360
LDL-K (mg/dl)	17,0±1,4	21,2±3,6 ^a	18,9±1,76	20,5±2,8	0,023
Ghrelin (ng/ml)	12,4±1,6	10,2±3,0	10,0±2,4	10,4±2,5	0,289
Leptin (pg/ml)	1773,8±378,9	2724,3±832,5 ^a	2255,1±402,9	2055,2±569,4	0,027

One-way Anova&Tukey

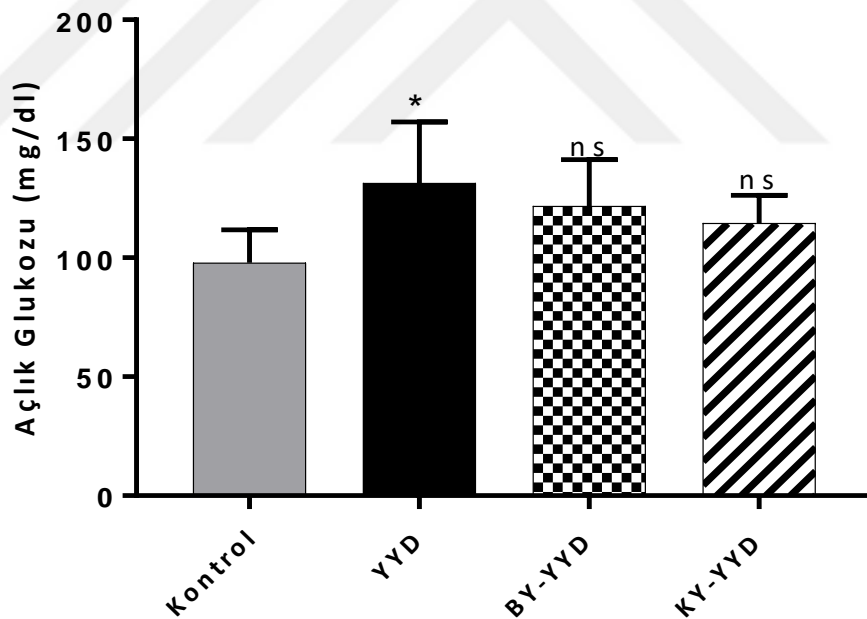
$p<0,05$ a: Kontrol Grubu b: YYD Grubu c: BY-YYD Grubu

Tablo 4.4.'de gösterildiği gibi sıçanların yüksek dansiteli lipoprotein-kolesterol (High Density Lipoprotein-HDL-K) düzeyleri karşılaştırıldığında, en yüksek HDL-K düzeyine BY-YYD grubunun sahip olduğu saptanmış; ancak HDL-K düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Sıçanların serum HDL-K düzeylerinin ortalamaları Şekil 4.9.'da gösterilmiştir.

Sıçanların düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol (Low Density Lipoprotein-LDL-K) düzeyleri karşılaştırıldığında, en yüksek LDL-K düzeyi YYD grubunda saptanmış ve gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Deney gruplarına göre sıçanların serum LDL-K düzeylerinin ortalamaları Şekil 4.10.'da verilmiştir.

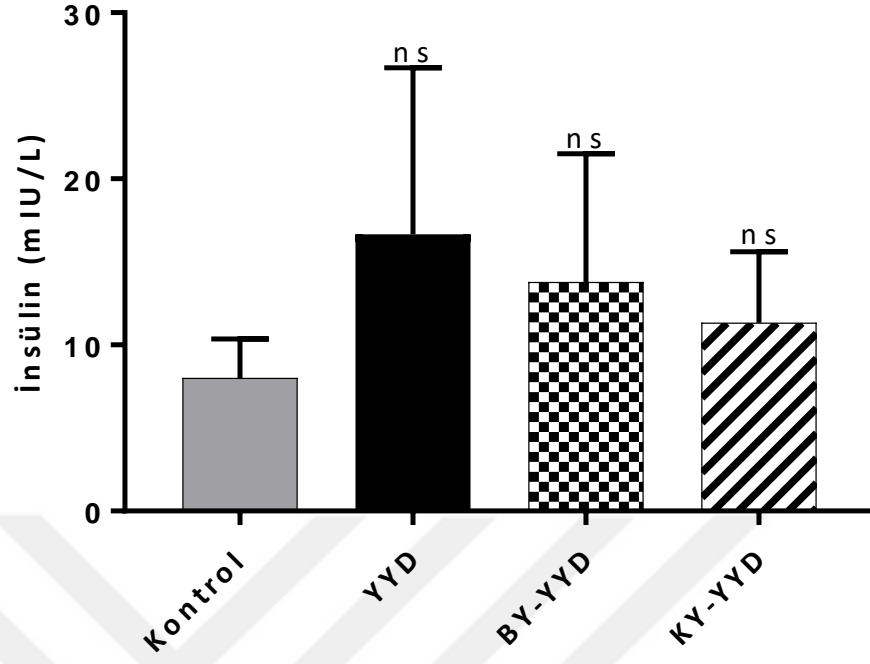
Serum ghrelin düzeyleri sırasıyla kontrol grubunun $12,4 \pm 1,6$ ng/ml, YYD grubunun $10,2 \pm 3,0$ ng/ml, BY-YYD grubunun $10,0 \pm 2,4$ ng/ml, KY-YYD grubunun $10,4 \pm 2,5$ ng/ml olarak saptanmıştır. Deney gruplarının ghrelin düzeyleri kontrol grubundan daha düşük olduğu tespit edilse de, gruplar aradaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p > 0,05$). Sıçanların deney gruplarına göre, serum ghrelin düzeylerinin ortalamaları Şekil 4.11.'de verilmiştir.

Sıçanların serum leptin düzeyleri incelendiğinde, tüm gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir ($p < 0,05$). Gruplar ayrı ayrı karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre deney gruplarının serum leptin düzeyinin daha yüksek olduğu görülmektedir ($p < 0,05$). Deney gruplarının serum leptin düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p > 0,05$). Sıçanların deney gruplarına göre, serum leptin düzeylerinin ortalamaları Şekil 4.12.'de verilmiştir.



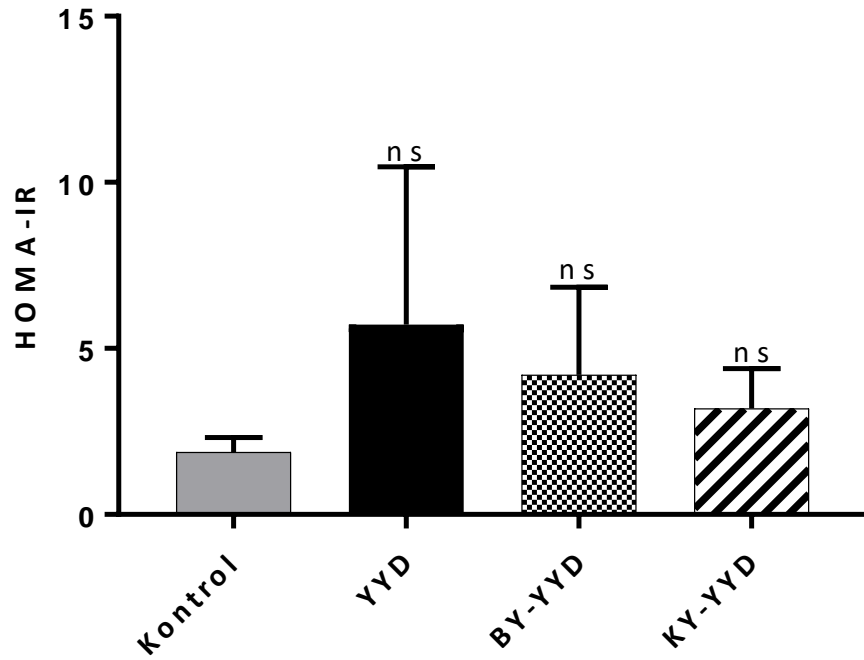
* $p < 0,05$, ns (*non significant*): $p > 0,05$

Şekil 4.4. Deney gruplarına göre sıçanların ortalama glukoz düzeyleri.



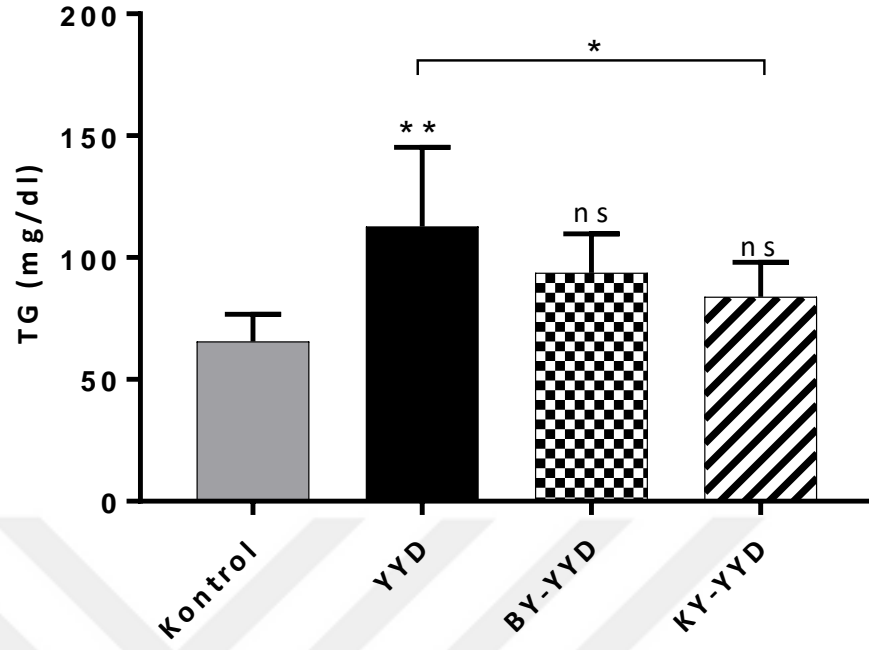
ns: $p > 0,05$

Şekil 4.5. Deney gruplarına göre sıçanların ortalama insülin düzeyleri.



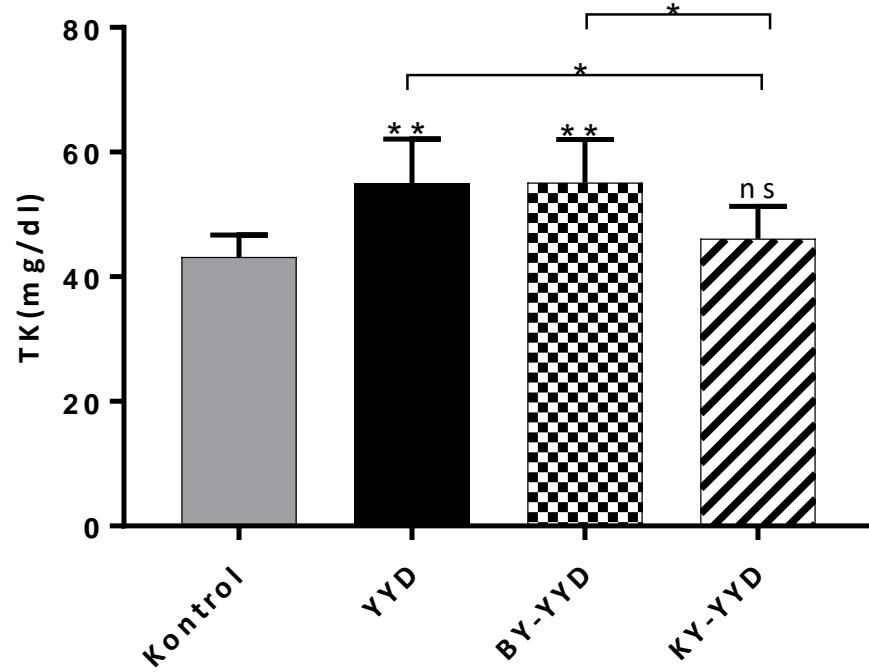
ns: $p > 0,05$

Şekil 4.6. Deney gruplarına göre sıçanların ortalama HOMA-IR düzeyleri.



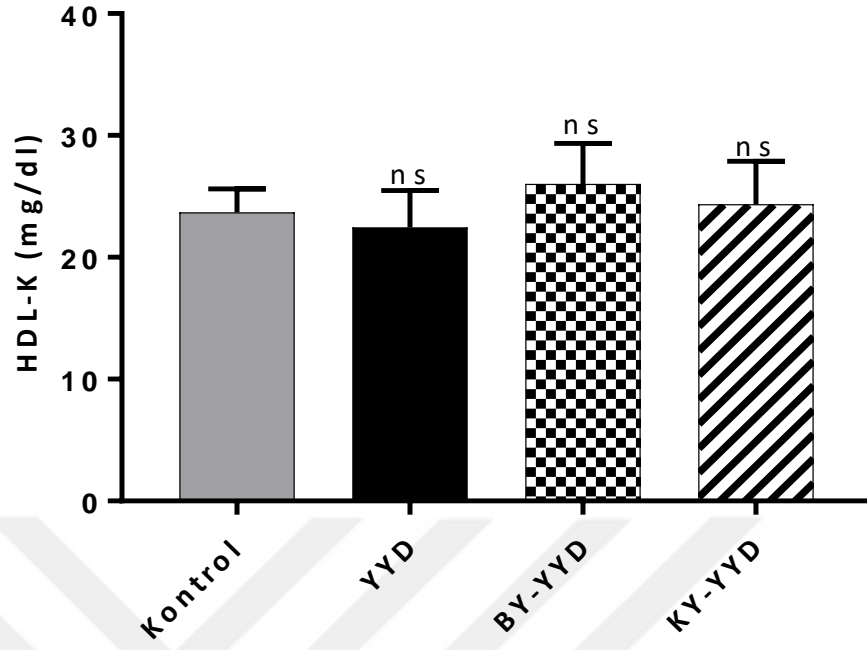
*p<0,05, ** p<0.01, ns: p>0,05

Şekil 4.7. Deney gruplarına göre sıçanların ortalama TG düzeyleri.



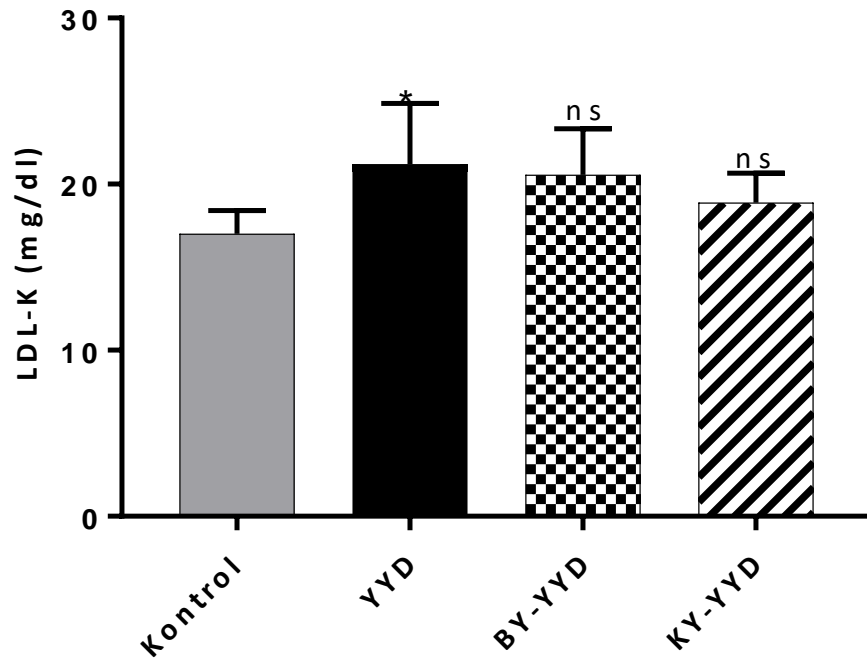
*p<0,05, ** p<0.01, ns: p>0,05

Şekil 4.8. Deney gruplarına göre sıçanların ortalama TK düzeyleri.



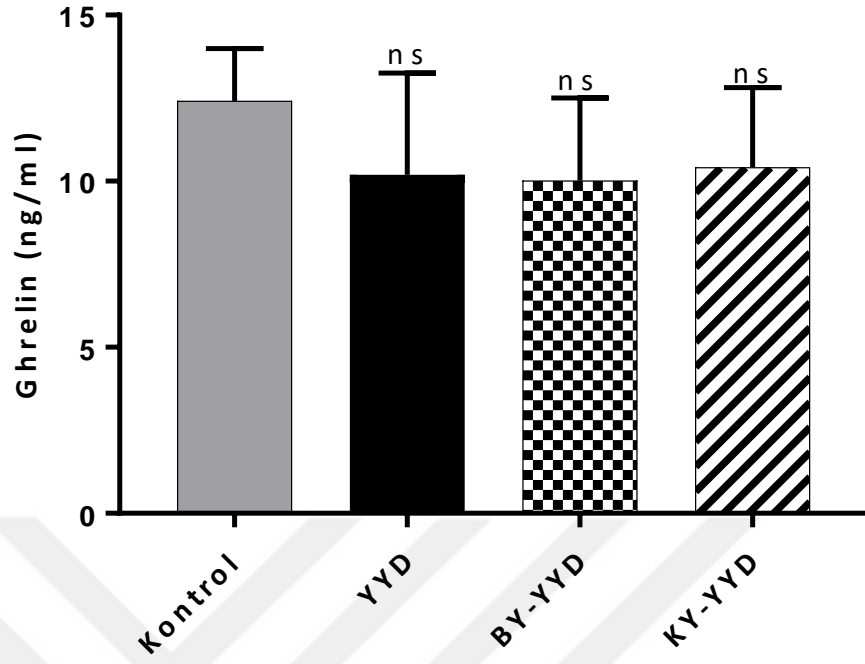
ns: $p > 0,05$

Şekil 4.9. Deney gruplarına göre sıçanların ortalama HDL-K düzeyleri.



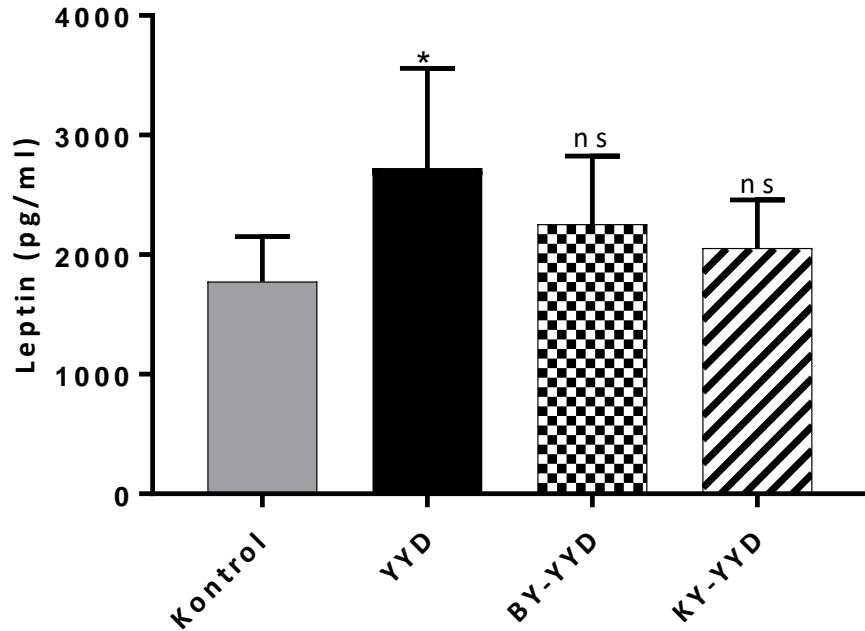
* $p < 0,05$, ns: $p > 0,05$

Şekil 4.10. Deney gruplarına göre sıçanların ortalama LDL-K düzeyleri.



ns: $p > 0,05$

Şekil 4.11. Deney gruplarına göre sıçanların ortalama ghrelin düzeyleri.

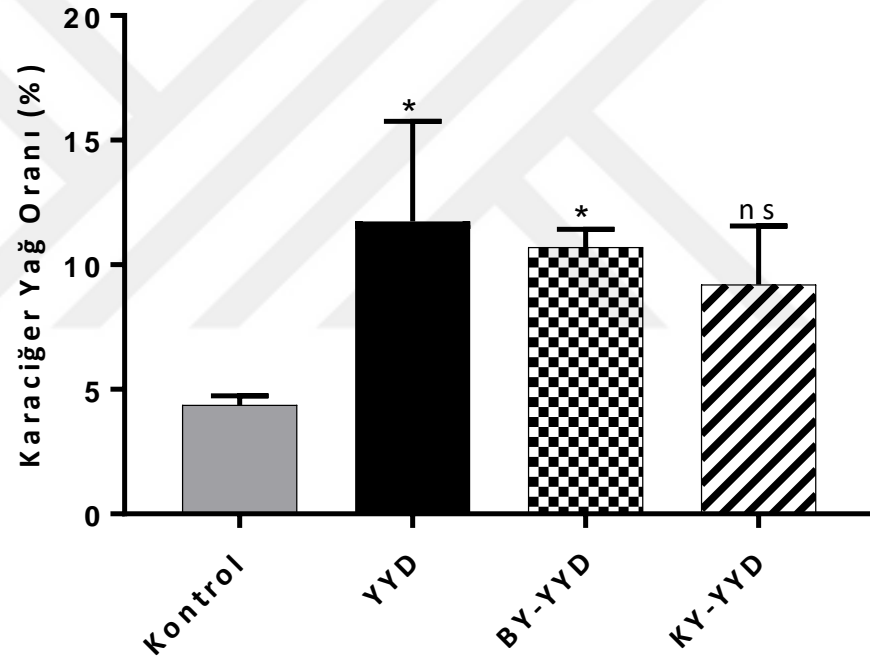


* $p < 0,05$, ns: $p > 0,05$

Şekil 4.12. Deney gruplarına göre sıçanların ortalama leptin düzeyleri.

4.3. Deney Gruplarına Göre Sıçanların Karaciğer Yağ Asidi Kompozisyonuna İlişkin Bulgular

Deney gruplarına göre sıçanların karaciğer yağ oranları Şekil 4.13.'de gösterilmiştir. Karaciğer yağ oranı kontrol grubuna göre YYD ve BY-YYD gruplarının yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). Kontrol grubu ile KY-YYD grubu arasında fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Karaciğer yağ oranı KY-YYD grubunun YYD ve BY-YYD gruplarından daha düşük olsa da fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p > 0,05$).



* $p < 0,05$, ns (*non significant*)= $p > 0,05$

Şekil 4.13. Sıçanların deney gruplarına göre ortalama karaciğer yağ oranları.

Tablo 4.5.'de deney gruplarına göre sıçanların karaciğer yağ asidi kompozisyonları verilmiştir. Bu sonuçlara göre kontrol grubunun 14:0, 16:1n-7, 17:0, 20:4n-6 (araşidonik asit-AA), toplam doymuş ve çoklu doymamış yağ asidi oranları deney gruplarından daha yüksek saptanmıştır ($p < 0,05$). Deney grupları

arasında bu yağ asitleri oranları açısından fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).

Kontrol grubu ile deney grupları 15:0 yağ asidi oranları karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre YYD ve KY-YYD gruplarının daha düşük ($p<0,05$), BY-YYD grubu ile benzer bulunmuştur ($p>0,05$). Deney gruplarının 15:0 yağ asidi oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).

Kontrol grubunun 18:1n-9, 18:2n-6 (linoleik asit-LA) ve toplam tekli doymamış yağ asidi oranları deney gruplarından daha düşük olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Deney grupları arasında bu yağ asitleri oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Kontrol grubunun 16:0 yağ asidi oranı YYD grubunda daha düşük ($p<0,05$), BY-YYD ve KY-YYD grupları ile benzer bulunmuştur ($p>0,05$). Deney gruplarının 16:0 yağ asidi oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).

Sıçanların 18:0, 18:3n-3 (alfa linoleik asit-ALA), 20:1n-9, 20:2n-6, 20:n-3, 20:5n-3 (eikosapentaenoik asit-EPA), 22:0, 22:2n-6, 24:1 n-9 yağ asitleri ve n-6/n-3 oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).

Tablo 4.5.'de verildiği gibi kontrol grubu ile deney grupları 22:6n-3 (dokosaheksaenoik-DHA) yağ asidi oranları karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre YYD ve KY-YYD gruplarının daha düşük ($p<0,05$) ve BY-YYD grubu ile benzer bulunmuştur ($p>0,05$). Deney gruplarının 22:6n-3 yağ asidi oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Toplam n-3 yağ asidi oranı kontrol grubuna göre YYD grubunun daha düşük olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Kontrol grubu ile BY-YYD ve KY-YYD grupları toplam n-3 yağ asidi oranları benzer bulunmuştur ($p>0,05$). Deney gruplarının toplam n-3 oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Kontrol grubunun toplam n-6 yağ asidi oranı deney gruplarından daha yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Deney gruplarının n-6 yağ asidi oranı arasında istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur ($p>0,05$).

Toplam n-3 desaturaz aktivitesi kontrol grubuna göre YYD ve BY-YYD gruplarının daha düşük olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Kontrol grubu ile KY-YYD grubu toplam n-3 desaturaz aktivitesi benzer bulunmuştur ($p>0,05$). KY-YYD grubunun YYD ve BY-YYD gruplarından toplam n-3 desaturaz aktiviteleri daha

yüksek olsa da fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Toplam n-6 desaturaz aktivitesi kontrol grubunun deney gruplarından daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Deney gruplarının n-3 ve n-6 desaturaz aktiviteleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.5. Deney gruplarına göre sıçanların karaciğer yağ asidi kompozisyonları(%).

Yağ asitleri	Kontrol	YYD	BY-YYD	KY-YYD	p
	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	
14:0	9,5±0,8	6,1±1,6 ^a	6,4±0,7 ^a	6,4±0,7 ^a	0,010
15:0	0,6±0,2	0,2±0,0 ^a	0,4±0,2	0,2±0,1 ^a	0,017
16:0	16,1±0,9	19,8±1,2 ^a	18,8±0,8	18,7±1,5	0,020
16:1n-7	1,0±0,2	0,6±0,1 ^a	0,4±0,1 ^a	0,4±0,0 ^a	0,001
17:0	0,9±0,2	0,3±0,1 ^a	0,3±0,2 ^a	0,4±0,1 ^a	0,005
18:0	14,9±0,4	10,0±2,1	10,1±0,5	11,9±3,1	0,440
18:1n-9	8,7±1,0	24,9±4,4 ^a	21,3±1,0 ^a	20,6±3,2 ^a	0,001
18:2n-6	15,5±0,8	19,7±0,3 ^a	20,8±0,3 ^a	20,1±1,7 ^a	0,001
18:3n-3	0,7±0,1	1,2±0,5	1,5±0,3	1,1±0,3	0,073
20:1n-9	0,4±0,2	0,4±0,3	0,5±0,1	0,2±0,1	0,453
20:2n-6	0,7±0,3	0,5±0,1	0,7±0,2	0,6±0,2	0,726
20:3n-3	1,0±0,2	0,6±0,2	0,7±0,3	0,7±0,1	0,222
20:4n-6	21,4±0,8	10,7±2,8 ^a	11,2±0,2 ^a	12,2±2,4 ^a	0,000
20:5n-3 (EPA)	0,6±0,1	0,3±0,2	0,4±0,2	0,5±0,2	0,178
22:0	0,8±0,4	0,4±0,1	0,2±0,2	0,5±0,4	0,199
22:2n-6	0,9±0,2	0,6±0,1	0,9±0,4	0,6±0,2	0,217
22:5n-3	0,7±0,3	0,7±0,2	1,1±0,4	0,9±0,3	0,296
22:6n-3 (DHA)	4,5±0,9	2,1±0,4 ^a	3,1±0,4	2,9±0,4 ^a	0,006
24:1n-9	1,2±0,7	1,1±0,2	1,2±0,3	1,2±0,2	0,988
∑Doymuş	42,7±0,7	36,8±2,1 ^a	36,3±0,6 ^a	38,1±2,1 ^a	0,004
∑Tekli doymamış	11,3±1,5	30,0±4,9 ^a	23,3±0,9 ^a	22,5±3,1 ^a	0,001
∑Çoklu doymamış	46,0±1,4	36,2±2,8 ^a	40,5±0,5 ^a	39,5±1,1 ^a	0,001
∑n3	7,4±1,2	4,8±0,6 ^a	6,8±0,9	6,0±0,2	0,022
∑n6	38,5±1,3	31,5±2,4 ^a	33,6±0,5 ^a	33,5±1,0 ^a	0,002
n6/n3	5,3±1,0	6,6±0,6	5,0±0,8	5,6±0,2	0,097
∑n-3 desaturaz aktivitesi	0,9±0,3	0,3±0,2 ^a	0,3±0,1 ^a	0,5±0,2	0,022
∑n-6 desaturaz aktivitesi	1,3±0,1	0,5±0,2 ^a	0,5±0,0 ^a	0,6±0,2 ^a	0,000
Toplam yağ	4,4±0,4	11,7±4,0 ^a	10,7±0,7 ^a	9,2±2,3	0,022

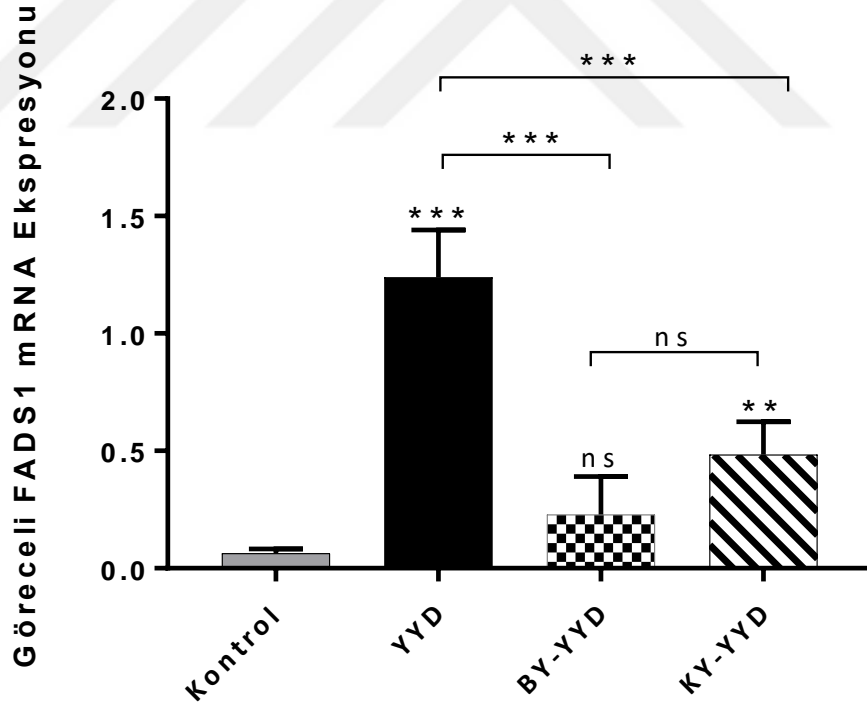
One-way Anova&Tukey
p<0,05 a: Kontrol Grubu

b: YYD Grubu

c: BY-YYD Grubu

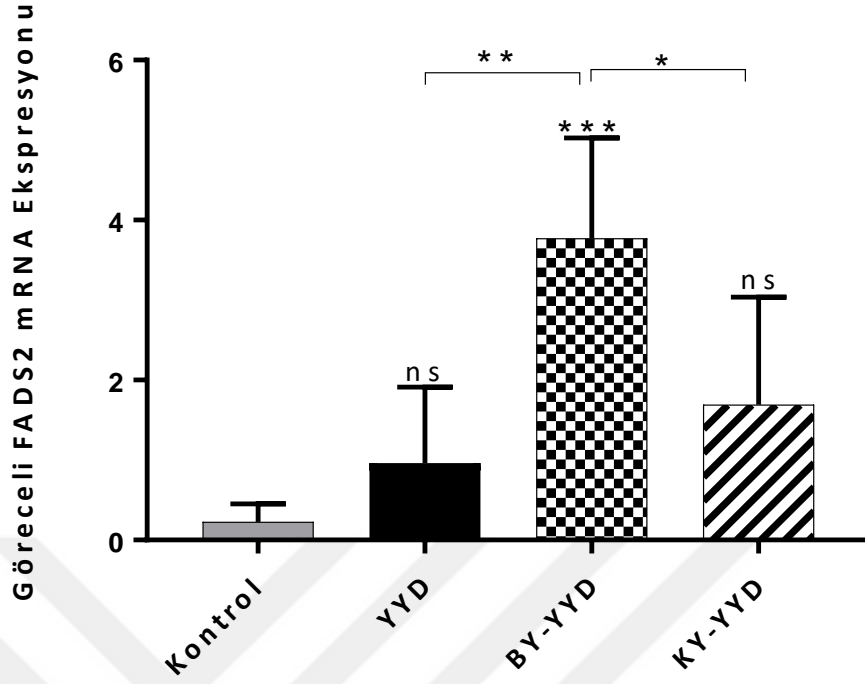
4.4. Deney Gruplarına Göre Sıçan Karaciğer Yağ Asidi Desaturaz 1 ve Yağ Asidi Desaturaz 2 mRNA Gen Ekspresyonu Bulguları

Şekil 4.14.'de deney gruplarına göre yağ asidi desaturaz 1 (Fatty Acid Desaturase 1-FADS1) gen ekspresyon düzeyleri verilmiştir. YYD ve KY-YYD gruplarının FADS1 gen ekspresyon düzeyleri kontrol grubundan daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). BY-YYD grubunun FADS1 ekspresyon düzeyleri kontrol grubundan daha yüksek bulunsa da aradaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p > 0,05$). Deney grupları karşılaştırıldığında, YYD grubuna göre BY-YYD ve KY-YYD gruplarının FADS1 gen ekspresyon düzeylerinin daha düşük olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Ayrıca BY-YYD ve KY-YYD gruplarının FADS1 geni ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).



* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, ns: $p > 0,05$

Şekil 4.14. Deney gruplarına göre sıçanların karaciğer FADS1 gen ekspresyonları.



* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, ns: $p > 0,05$

Şekil 4.15. Deney gruplarına göre sıçanların karaciğer FADS2 gen ekspresyonları.

Şekil 4.15.'de deney gruplarına göre yağ asidi desaturaz 2 (Fatty Acid Desaturase 2-FADS2) geni ekspresyon düzeyleri verilmiştir. Kontrol grubu ile YYD ve KY-YYD grupları FADS2 ekspresyon düzeyi benzerdir ($p > 0,05$) ve BY-YYD grubunun FADS2 ekspresyon düzeyi kontrol grubundan daha yüksek ($p < 0,05$) bulunmuştur. YYD ve BY-YYD gruplarının FADS2 ekspresyon düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p < 0,05$). YYD ve KY-YYD grupları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir ($p > 0,05$). BY-YYD gruplarının FADS2 gen ekspresyon düzeyi KY-YYD ve diğer tüm gruplardan daha fazla olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$).

5. TARTIŞMA

Dünya’da olduğu gibi ülkemizde de obezite ve obeziteye eşlik eden hastalıkların prevalansı artmaktadır (41, 42). Sağlık otoriteleri obezitenin önlenmesi ve tedavisi için diyetle enerji alımının azaltılmasını ve fiziksel aktivitenin artırılmasını önermektedir (6, 8). Birçok insan yaşam tarzı değişikliklerinin yerine veya bazen bu değişiklikler ile birlikte vücut ağırlığının kontrolü için çeşitli besin desteklerinin kullanımını tercih etmektedir (9, 10). Yayınlarda bildirilen ve kabul edilmiş yararlı etkilerinden dolayı dünyada en fazla ilgi gören besin desteklerinden biri n-3 uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleridir (Long Chain Unsaturated Fatty Acids-LCPUFA) (11). Obeziteye eşlik eden kardiyovasküler hastalık (KVH), hiperlipidemi ve hipertansiyon gibi kronik hastalıklar için otoritelerin çeşitli n-3 LCPUFA önerileri bulunmasına karşın, obeziteyi önlemek veya tedavi etmek için herhangi bir n-3 LCPUFA önerisi bulunmamaktadır (182). n-3 LCPUFA’nın vücut ağırlığı ve iştah üzerine etkisini değerlendiren çalışmaların sonuçları çelişkilidir (16, 138-141). Bu çalışma, obezite ve obezite ile ilişkili hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde n-3 LCPUFA desteğinin etkinliğini belirlemek ve kaynaklarını karşılaştırmak amacıyla planlanmış ve yürütülmüştür.

5.1. n-3 LCPUFA’nın Besin Alımı ve Vücut Ağırlığı Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi

Literatürde deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalarda n-3 LCPUFA’ların vücut ağırlığını azalttığını gösteren çalışmalar bulunduğu gibi, etkisi olmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur (16, 138-142). Tandy ve ark. (166) yapmış oldukları çalışmada, fareler beş gruba ayrılarak standart diyet, yüksek yağlı diyet (yaklaşık%40) veya yüksek yağlı diyet ve farklı miktarlarda krill yağı (% 1,25; 2,5; 5,0) içeren diyet ile beslenmiştir. Sekiz haftanın sonunda yüksek yağlı diyet ile beslenen tüm deney gruplarında standart diyet grubundan daha az yem tüketimine rağmen daha fazla ağırlık kazanımı olduğu tespit edilmiştir. Krill yağı verilen grup ile yüksek yağlı diyet grubu arasında yem tüketimi ve ağırlık kazanımı açısından bir fark olmadığı bildirilmiştir. Brezilya’da 2012 yılında yapılan bir çalışmada ise, normal diyet, yüksek yağlı diyet (35 g/100g) veya yüksek yağlı diyet+%2,5 krill yağı ile beslenen sıçanların on iki hafta sonunda besin tüketimleri farklı olmasa bile,

kontrol ve krill yağı grubuna göre yüksek yağlı diyet alan grubun daha fazla ağırlık kazandığı gösterilmiştir (168). C57BL/6J farelerinde yapılan bir çalışmada yüksek yağlı diyet ile birlikte verilen krill yağının (2,5 g/100 g) daha az ağırlık kazanımına neden olduğu bildirilmiştir (144). Di marzo ve ark. (167) kontrol diyetine ek olarak verilen %0,5 eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosaheksaenoik asit (DHA) içeren krill yağının beyinde endokannabinoid olan 2-araşidonilgliserolü azalttığı fakat besin alımını ve vücut ağırlığını etkilemediğini belirtmişlerdir. Azalan beyin endokannabinoid seviyesine karşın besin tüketiminin etkilenmemesi nedeniyle 2-araşidonilgliserol düzeyindeki azalmanın besin alımını kontrol eden hipotalamusta değil, beyinin diğer kısımlarında olabileceği veyaannabinoid reseptör aktivitesini etkileyecek önemli miktarda azalmanın olmadığı şeklinde açıklamışlardır (167).

Bu çalışmada yüksek yağlı diyet alan bütün deney gruplarının kontrol grubuna göre daha az yem tükettiği ve daha az enerji aldığı bulunmuştur. Deney grupları içerisinde en az enerji alan grubun balık yağı (90.9 ± 3.7 kkal/gün) olduğu gösterilmiştir. Krill yağının iştah uyarıcı özel kokusu ve tadı nedeniyle hayvanlar daha fazla yem tüketebilmektedir (237). Yağların kolesistokinin salınımını uyarıp mide boşalmasını geciktirerek ve erken doyumluk sağlayarak besin alımını azaltabileceği literatürde çeşitli yayınlarda bildirilmiştir (238, 239). Ayrıca diyetin posa miktarı da iştahı etkileyebilmektedir. Bu çalışmada yüksek yağlı diyet yeminin posa miktarı kontrol diyetinden daha fazladır (Bkz. Tablo 3.1.) ve bu durumun da besin tüketiminin azalmasında etkili olabileceği düşünülmektedir (240).

Bu çalışmada, Tandy ve ark. (166) yapmış oldukları çalışma ile benzer şekilde, deney gruplarının daha az yem tüketmesine karşın, kontrol grubundan daha fazla ağırlık kazandığı ve n-3 LCPUFA desteğinin ağırlık kazanımını etkilemediği saptanmıştır. Tüm deney gruplarının, deney sonu vücut ağırlıklarının (YYD= $530,5 \pm 33,8$ g, BY-YYD= $527,4 \pm 49,7$ g, KY-YYD= $519,8 \pm 25,2$ g) kontrol grubundan (kontrol= $454,7 \pm 25,0$ g) daha fazla olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma ile yüksek yağlı diyetlerin sadece besin tüketimini artırarak değil, diğer mekanizmalarla da obezogenik etki gösterebileceği düşüncesi desteklenmiştir. Yüksek yağlı diyetlerin, yağ oksidasyonunu ve uncoupling protein 1 gen ekspresyonunu etkileyip termogenezi azaltarak, lipoprotein lipaz aktivitesini artırarak ve insülin direncine neden olarak vücut ağırlığını artırabileceği bilinmektedir (241, 242). Bu çalışmada da

obezite için risk faktörü olan insülin direncinin (HOMA-IR>2,7) bütün deney gruplarında meydana geldiği saptanmıştır. Ayrıca balık yağı alan grubun krill yağı alan gruba göre daha az yem tüketmesine karşın, ağırlık kazanımları arasında fark olmadığı gösterilmiştir. Elde edilen bu sonuç krill yağının lipit katabolizmasında daha etkili olabileceği fikrini desteklemektedir (145).

Antilipolitik aktivitesi olduğu bildirilen n-3 LCPUFA, bu etkisini mitokondriyal yağ oksidasyonunda major enzim olan karnitin palmitoil transferaz-1 ve peroksimal asil KoA oksidaz enzimlerini uyararak, sterol düzenleyici element bağlayan proteinler (SREBP-1) gen aktivitelerini baskılayarak göstermektedir. Ayrıca n-3 LCPUFA'ların iştahı azaltarak, insülin toleransını iyileştirerek, beta oksidasyonu ve termogenezi artırarak anti-obezojenik etki gösterebileceği ileri sürülmüştür. Bu çalışmada, balık yağı alan grubun daha az besin tükettiği gösterilse de, deney gruplarının vücut ağırlıkları arasında herhangi bir fark bulunmamıştır. Poudyal ve ark. (243) n-3 LCPUFA'ların vücut ağırlığı ve adipoziteyi azaltıcı etkisini düşük yağlı diyetlerde daha iyi gösterdiğini bildirmişlerdir. Diyet yağ asitleri içindeki n-3 LCPUFA oranının, miktarına göre n-3 LCPUFA'ların metabolik etkisi üzerinde daha önemli etkilere sahip olduğunu belirtilmiştir. Ayrıca diyetteki karbonhidrat kaynağı da çalışmaların sonuçlarındaki farklılıklara neden olabilmektedir. Düşük yağlı diyetlerde karbonhidrat kaynağı genellikle mısır nişastası olmasına karşın, yüksek yağlı diyetlerde fruktoz veya süt olabilmektedir (152). Hao ve ark. (244) balık yağının glukoz ve sukroza göre, fruktoz ile birlikte daha iyi ağırlık kaybı sağladığı gösterilmiştir. Bu çalışmada kullanılan yüksek yağlı yemdeki majör karbonhidrat kaynağı maltodekstrindir.

5.2. n-3 LCPUFA'nın Bazı Biyokimyasal Bulgular Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi

Glukoz ve lipit metabolizması üzerindeki etkilerini n-3 LCPUFA'lar aynı metabolik yolları kullanarak göstermektedir. İskelet kasında ve karaciğerdeki lipogenez ve beta oksidasyonda görev alan genlerin ve enzimlerin seviyelerini peroksizom proliferasyonunu aktive edici reseptör- α (PPAR α) aktivasyonu yolu ile değiştirerek, tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) gibi inflamatuvar biyogöstergeleri

azaltarak, adiponektin ve AMPK düzeylerini artırarak, glukoz ve lipit metabolizmasında etkili olmaktadır (16, 145, 169, 237, 245, 246).

Sun ve ark. (171) yapmış oldukları çalışmada, sıçanlar üç gruba ayrılarak kontrol diyeti, yüksek yağlı diyet veya krill yağı içeren diyet ile on iki hafta süre ile beslenmişlerdir. Çalışmanın sonucunda krill yağının yüksek yağlı diyete göre TG, TK, LDL-K ve HDL-K düzeylerini azalttığı, yüksek yağlı diyetin bozduğu glukoz toleransını düzelttiği bulunmuştur. Araştırmacılar, krill yağının dislipidemi ve glukoz intoleransını iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca, DHA'nın, G protein reseptör 120'nin endojen ligantı olduğu ve bu reseptör aracılığı ile intrasellüler kalsiyum seviyesini artırdığı bilinmektedir. Bu etkisi ile n-3 LCPUFA'nın AMP-aktive edilmiş protein kinaz (AMPK) aktivasyonu ve iskelet kaslarının glukoz tutulumunu artırarak glukoz metabolizmasını olumlu etkileyebileceği ileri sürülmüştür (237).

Kore'de 2016 yılında yapılan bir çalışmada on hafta süre ile %40 yağlı diyete eklenen 2 g/100 g krill yağının açlık glukozu, total kolesterol (TK), yüksek dansiteli lipoprotein-kolesterol (High Density Lipoprotein-HDL-K) adiponektin düzeylerini değiştirmedeği; trigliserit (TG) ve düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol (Low Density Lipoprotein-LDL-K) düzeylerini ise azalttığı gösterilmiştir. Araştırmacılar krill yağı desteğinin dislipidemi için düşük maliyetli bir yaklaşım olduğunu ve hepatik steatozu önleyici güçlü etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Ayrıca, aynı çalışmada krill yağının Thr172-fosforlanmış AMPK ve ser79-fosforlanmış asetil KoA karboksilazı etkileyerek, AMPK düzeylerini artırdığı ve lipogenik genlerin major transkripsiyon faktörü olan SREBP-1, yağ asidi sentezinde etkili olan yağ asidi sentaz ve asetil KoA karboksilaz düzeylerini azalttığı gösterilmiştir (237).

Tavşanlarda yapılan bir çalışmada balık yağı ve krill yağı desteğinin benzer şekilde açlık glukozunu ve glukoz toleransını iyileştirdiğini fakat insulin reseptör sübsrat 1 gen ekspresyonunu etkilemediği bulunmuştur. İskelet kasında ve karaciğerdeki lipogenez ve beta oksidasyonda görev alan enzimlerin düzeylerini değiştirerek n-3 LCPUFA'nın glukoz metabolizmasını etkileyebileceği bildirilmiştir (169).

Batteta ve ark. (38) 2009 yılında yapmış oldukları çalışmada, Zucker sıçanlarını üç gruba ayırarak dört hafta süre ile kontrol diyeti, kontrol diyeti ile

birlikte 0,5 g/100 g krill yağı veya balık yağı desteği verilmiştir. Sonuçta, kalp ve karaciğer trigliserit düzeyleri ile inflamatuvar göstergelerdeki iyileşmenin sadece krill yağı alan grupta olduğu bildirilmiştir (38).

Bu çalışmada, tüm deney gruplarında HOMA-IR 2,7'nin üzerinde bulunmuş ve insülin direnci geliştiği saptanmıştır. Ayrıca, serum glukoz ve insülin düzeyleri ile HOMA-IR değerlerinde yüksek yağlı diyet alan grupta n-3 LCPUFA alan gruplara göre hafif yükseklik tespit edilmiştir. Bu durum, n-3 LCPUFA desteğinin glukoz toleransında bir miktar düzelme sağlasa da, yüksek yağlı diyetin neden olduğu insülin direncini iyileştiremediğini göstermektedir. İleri çalışmalarda, n-3 LCPUFA desteğinin olası etkisinin normal yağlı diyetle birlikte değerlendirilmesinin farklı sonuçlar ortaya koyabileceğini düşündürmektedir.

Yüksek yağlı diyetle eklenen aynı miktarda EPA+DHA içeren krill yağı ve balık yağının lipit metabolizması üzerine etkisini incelediği çalışmada, krill yağının TG ve TK seviyelerini düşürürken, LDL-K ve HDL-K seviyelerini etkilemediği; balık yağının ise TG üzerinde etkisinin krill yağı kadar olmadığı; ayrıca TK ve LDL-K düzeylerini düşürdüğü saptanmıştır. Ayrıca krill yağının kolesterol sentezinde görev alan enzimleri transkripsiyonel seviyede baskıladığı bildirilmiştir (145). Daha önce bildirildiği gibi n-3 LCPUFA beta oksidasyonu artırarak ve hepatik TG sentezini azaltarak, çok düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol (Very Low Density Lipoprotein-VLDL-K) sentezini azaltabilmektedir. Bu çalışmada, daha önce bildirilen çalışmalarla uyumlu bir şekilde, yüksek yağlı diyetin TK, TG ve LDL-K'yı yükselttiği ve HDL-K'yı etkilemediği bulunmuştur (145, 171). n-3 LCPUFA'nın lipit metabolizması üzerindeki etkinliği incelendiğinde, krill yağının TG ve TK seviyesini önemli bir şekilde azaltırken, HDL-K ve LDL-K seviyelerini etkilemediği; balık yağının ise kan lipitlerini etkilemediği gösterilmiştir.

In vivo ve *in vitro* çalışmalarda, n-3 LCPUFA'ların leptin düzeyine ve gen ekspresyonuna etkisi ortaya konulmuştur; ancak çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Bazı çalışmalarda leptin düzeyini ve gen ekspresyonunu azalttığı, bazı çalışmalarda ise yükselttiği bildirilmiştir (247-252). Literatürde krill yağının leptin ve ghrelin düzeyine etkisini ortaya koyan herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Perez Matute ve ark. (16) EPA alımının adipoziteye etkisini inceledikleri çalışmada, sıçanlar kontrol diyeti, kontrol diyeti+1 g/kg EPA etil ester (EE), kaferya

diyeti, kafeterya diyeti+ 1 g/kg EPA EE olmak üzere dört gruba ayrılarak, beş hafta süre ile beslenmiştir. Kafeterya diyeti alan grubun, kontrol grubuna göre daha yüksek leptin düzeyine sahip olduğu; EPA tedavisinin kontrol grubunda leptin düzeyini azaltırken, kafeterya diyeti alan grupta leptin düzeyini artırdığı saptanmıştır. Aynı zamanda, yüksek yağlı diyet alan grupta EPA'nın yem tüketimini azalttığı bulunmuştur. Dolaşımdaki leptin seviyesinin diyet ve EPA tedavisinin etkileşimine bağlı olduğu bildirilmiştir. Ayrıca araştırmacılar EPA'nın etkisinin diyet kompozisyonuna, fizyolojik ve metabolik durumuna göre değiştiğini, n-3 LCPUFA suplementasyonu yapılırken bunun dikkate alınması gerektiğini belirtmişlerdir (16).

İnsan çalışmalarına bakıldığında, bir meta-analizde obez insanlarda n-3 LCPUFA'nın leptin seviyesini yükselttiği ama obez olmayanlarda düşürdüğü gösterilmiştir (241). Bu bağlamda yapılan bir çalışmada ağırlık kaybı sırasında EPA desteğinin hafif şişman/obez bireylerde leptin seviyesinin azalmasını önleyerek, geri ağırlık kazanımını engellediği bildirilmiştir (253).

Handjieva-Darlenska T. ve Boyadjieva N. (231) yapmış oldukları çalışmada, sıçanlar iki gruba ayrılarak kontrol diyeti veya %65 yüksek yağlı diyetle on bir hafta süresince beslenmiş; yüksek yağlı diyet alan grupta daha fazla ağırlık kazanımı, hiperleptinemi ve hipoghrelinemi saptanmıştır. Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH) modelinde yapılan bir çalışmada ise, n-3 LCPUFA desteğinin yüksek yağlı diyetin neden olduğu leptin düzeylerini düşürdüğü bildirilmiştir (254). Bu çalışmada da, benzer bir şekilde yüksek yağlı diyet alan grubun serum leptin düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Ancak n-3 LCPUFA'nın serum leptin düzeyine önemli bir etkisi bulunmamıştır.

Burghardt ve ark. (255) yapmış oldukları çalışmada, sağlıklı veya metabolik sendroma yatkın olan sıçanlar farklı n-6/n-3 oranlarında (1/1 veya 30/1) beslenerek dolaşımdaki leptin ve ghrelin düzeyleri ve besin alımı incelenmiştir. Besin alımları arasında fark bulunamazken, 1:1 ile beslenen metabolik sendrom olan grupta leptin düzeyi daha yüksek bulunurken, 30:1 alanlarda leptin düzeyi değişmemiştir. Sağlıklı sıçanlardan 1:1 ile beslenen grubun serum ghrelin düzeyi 30:1 olan gruptan daha yüksektir; ancak metabolik sendrom grubunda fark bulunmamıştır. Sağlıklı olan grubun serum ghrelin düzeyi metabolik sendrom olan gruba göre daha düşük bulunmuştur. Hormon değişikliklerinin yeme davranışına aktarılamamasının nedeni,

hormon düzeylerinin terminal uç noktaları olabileceği veya merkezi yeme davranışı kontrolünün daha fazla yem tüketimini engelleyebileceği şeklinde açıklanmıştır (255).

Diyetin yağ içeriği arttıkça, serum ghrelin düzeyinin düştüğü çeşitli yayınlarda bildirilmiştir (231, 256). Bu çalışmada da, paralel bir şekilde, ghrelin düzeyinin deney gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli olmayan bir şekilde daha düşük olduğu saptanmıştır ve n-3 LCPUFA'nın ghrelin düzeyine etkisi gösterilememiştir.

Bu çalışmada, deney gruplarının kontrol grubuna göre, istatistiksel olarak önemli olmayan bir şekilde, serum leptin düzeylerinin yüksek ve ghrelin düzeyinin düşük olduğu gösterilmiştir (Bkz. Tablo 4.4.). Buradan yola çıkarak, kontrol grubunun daha fazla yem tüketimi hormon parametrelerinin değişimi ile açıklanabilir. Bu hormonların etki gösterebilmesi için belirli bir eşik değerlerinin olması gerektiği bilinmektedir (80). Deney grupları karşılaştırıldığında, serum leptin seviyesinin yüksek yağlı diyet grubunda en yüksek; krill yağlı diyet grubunda ise en düşük olduğu; ancak yem tüketimlerine bakıldığında en az yem tüketiminin balık yağlı diyet grubunda olduğu görülmektedir. Leptin tokluk sağlamakla birlikte hormon düzeylerini yükselmesi ile leptin direnci sonucu bu etkisinin ortadan kalktığı bilinmektedir. Bu çalışmada da, leptinin tokluk üzerinde etkisi balık yağı grubu ile açıklanabilir. Yüksek yağlı diyet grubunda daha yüksek leptin düzeylerine karşın, balık yağlı diyet grubundan daha fazla yem tüketimi olduğunun saptanması leptin direncinin gelişmeye başladığının kanıtı olarak gösterilebilir. Eğer çalışma süresi biraz daha uzun tutulsaydı; yüksek yağlı diyet grubunda gelişen leptin direnci ile daha fazla yem tüketimi ve krill yağı ve balık yağının leptin düzeyine etkisi tam olarak ortaya konulabilirdi. Krill yağının diğer deney gruplarına göre, serum leptin düzeyini daha az yükseltmesi, yüksek yağlı diyetin neden olabileceği leptin direncine karşı koruyucu bir etki oluşturabileceğini düşündürmektedir.

5.3. n-3 LCPUFA'nın Karaciğer Yağ Asidi Kompozisyonu Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi

Tillander ve ark. (146) yapmış oldukları çalışmada C57BL/6J fareleri 6 hafta süre ile yüksek yağlı diyet (24 g/100 g), yüksek yağlı diyet+balık yağı (5,8 g/100 g)

veya yüksek yağlı diyet+krill yağı ile beslenmiştir. Çalışma sonunda karaciğer TG ve fosfolipitlerinin yağ asidi kompozisyonları gaz kromatografi ile incelendiğinde, krill yağı grubunda toplam yağ, doymuş yağ asidi, tekli doymamış yağ asidi ve n-6 yağ asitleri miktarı değişmezken; n-3 yağ asidi miktarının arttığı ve özellikle balık yağı grubunda n-3 yağ asidi içeriğinin krill yağından önemli düzeyde daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Karaciğer TG'nin düşük n-3 yağ asidi içeriğine karşın, krill yağının n-6 yağ asitleri düzeyini daha iyi düşürdüğü bildirilmiştir. Fosfolipit fraksiyonunda ise, krill yağı ve balık yağının doymuş yağ asitleri, tekli doymamış yağ asitleri ve n-3 yağ asitlerinin miktarlarını yükseltirken, n-6 yağ asitlerinin miktarını düşürdüğü ve krill yağı grubunda n-3 yağ asidi içeriğinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Krill yağı Asetil KoA karboksilaz ve yağ asit sentetazı azaltarak yağ birikimini azaltabilmektedir. Krill yağı daha az EPA ve DHA içermesine karşın, EPA/DHA oranlarını aynı miktarda yükselttiği bildirilmiştir (146).

Vigerust ve ark. (145) yapmış oldukları çalışmada, yüksek yağlı diyete eşit miktarda EPA ve DHA içeren balık yağı (%2,9) veya krill yağı (%5,8) eklenmesinin karaciğer doymuş yağ asidi ve toplam yağ asidi içeriğini etkilemediği gösterilmiştir. Balık yağı veya krill yağı alan grupların karaciğer EPA oranı arasında fark yokken, balık yağı grubunda karaciğer DHA miktarının daha yüksek olduğu karaciğer n-3 yağ asidi içeriğini artırırken, n-6 ve tekli doymamış yağ asidi içeriğini azalttığı bildirilmiştir.

Karaciğer yağ asidi kompozisyonu değerlendirildiğinde, kontrol grubuna göre deney gruplarında doymuş yağ asidi ve araşidonik asit (AA) oranları daha yüksek; PUFA ve tekli doymamış yağ asidi oranları ise daha düşük bulunmuştur. Bu sonuçlar, yüksek yağlı diyet içeriğinde tekli doymamış yağ asidi miktarının yüksek olması ve çalışma süresinin kısa olması ile açıklanabilmektedir. Hepatik steatozu olan hastaların karaciğerinde oleik asit birikimi olduğu ve *in vitro* çalışmalarda yağ birikimini artırmak için yüksek konsantrasyonlarda kullanıldığı daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (257-259). Bu çalışmada, karaciğer EPA, DHA ve n-6/n-3 oranları tüm gruplarda benzer bulunmuştur. n-3 yağ asidi oranı sadece yüksek yağlı diyet grubunda kontrol grubundan daha düşük bulunmuştur. Bu nedenle, kullanılan krill yağı ve balık yağı miktarları karaciğer yağ asidi profilini olumlu yönde etkileyememiştir.

Bu çalışmada, dihomogama-linoleik asit ve gama-linoleik asit miktarları tespit edilemediği için toplam n-3 yağ asidi desaturaz aktivitesi ve toplam n-6 yağ asidi desaturaz aktivitesi hesaplanmıştır (234). Yüksek yağlı diyet alan bütün deney gruplarında toplam n-6 yağ asidi desaturaz aktivitesinin azaldığı bulunmuştur. Toplam n-3 yağ asidi desaturaz aktivitesi, yüksek yağlı ve balık yağlı diyet gruplarında azalırken; krill yağından etkilenmediği saptanmıştır. PUFA alımının desaturaz aktivitesini azalttığı daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (260-262). Krill yağının, balık yağından daha az EPA ve DHA içermesine karşın, n-3 yağ asidi desaturaz aktivitesini azaltmamasının nedeni, astaksantin veya fosfolipit içeriği ile açıklanabileceği düşünülmektedir.

Ayrıca bu çalışmada, literatürle paralel olarak, yüksek yağlı diyet ve balık yağı grubunda karaciğer lipit oranı, krill yağı ve kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Krill yağının lipojenik enzim aktiviteleri, gen ekspresyonu ve mitokondriyal sonlunum zinciri gibi birçok metabolik yolağı balık yağından daha iyi düzenleyerek hepatik lipogenezi azalttığı bildirilmiştir (39). Krill yağının karaciğerin yağ miktarına etkisi, n-3 LCPUFA içeriği dışında fosfolipit ve astaksantin içeriği ile de açıklanabileceği düşünülmektedir. Bitkisel PUFA'larla alınan fosfolipitlerin karaciğer yağ miktarını azalttığı gösterilmiştir (263). Ayrıca krill yağının lipit düşürücü etkisini gösteren bileşiminden biri de astaksantindir. Astaksantin, lipit metabolizmasında rol alan genlerin ekspresyonunu değiştirerek ve insülin direnci üzerine olumlu etki göstererek lipit profilini iyileştirdiği ve NAYKH'ını önleyebileceği bildirilmiştir (264, 265). Yapılan bir çalışmada, günde 5-10 mg/kg astaksantin karaciğer lipit metabolizması üzerinde olumlu etkisi olduğu gösterilmiştir (166).

5.4. n-3 LCPUFA'nın Karaciğer Yağ Asidi Desaturaz 1 ve Yağ Asidi Desaturaz 2 Gen Ekspresyonları Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi

Yağ asidi desaturasyonu doymuş, tekli doymamış ve çoklu doymamış yağ asitlerinin sentezi için kilit metabolik yoldur. Bu enzimlerin aktivitesi vücut ve hücre lipit kompozisyonunda önemli rol oynamaktadır. Hormonlar ve besin öğeleri desaturaz aktivitelerinin düzenlenmesinde ve LCPUFA oluşumunda etkilidir (266). Memelilerde yağ asidi desaturazların gen ekspresyonu iki transkripsiyon

faktörü tarafından düzenlenir: açlık durumunda PPAR- α ve tokluk durumunda SREBP-1. Diyet PUFA alımının SREBP-1'in aktif formunu azaltarak desaturaz gen ekspresyonunu azalttığı ve düşük PUFA alımının ise hücrelerin PUFA ihtiyacını karşılamak için yağ asidi desaturaz 1 (Fatty Acid Desaturase 1-FADS1) ve yağ asidi desaturaz 2 (Fatty Acid Desaturase 2-FADS2) gen ekspresyonunu artırdığı bildirilmiştir (262).

Babunlarda yapılan bir çalışmada yeni doğan babunlar üç gruba ayrılarak LCPUFA içermeyen kontrol diyeti ve farklı oranlarda LCPUFA içeren (%0,33 DHA/0,67 AA; %1 DHA/0,67 AA) diyetle on iki hafta beslenmiştir. Sonuçta n-3 LCPUFA'nın FADS1 ve FADS2 ekspresyon düzeylerini azalttığı gösterilmiştir. Diyetle n-3 LCPUFA alımı ile FADS1 ve FADS2 gen ekspresyonlarının azalmasının nedeni, organizmanın hücre zarlarının doymamışlık endeksini koruyucu bir mekanizma olarak geliştirmesi olarak açıklanmıştır (27).

Wang ve ark. (266) yapmış oldukları çalışmada, on hafta süre ile yüksek yağlı diyet ile beslenmenin FADS1 ve FADS2 ekspresyonlarını etkilemediğini ama obez farelerde desaturaz gen ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir. İnsan adipoz dokusunda yağ asidi desaturaz aktivitesi ile gen ekspresyonları arasındaki ilişkinin incelendiği bir çalışmada, delta 5 desaturaz ve delta 6 desaturaz aktivitesinin FADS1 ve FADS2 gen ekspresyonundan etkilenmediği bildirilmiştir (30).

López-Vicario ve ark. (192) transjenik fat-1 (n-3 sentezi yapabilen) veya doğal tür fareleri kullandıkları çalışmada, doğal türleri 3 gruba ayırarak kontrol diyeti, yüksek yağlı diyet (%60) veya yüksek yağlı diyet+n-3 LCPUFA; fat-1 farelerini ise sadece yüksek yağlı diyet ile 16 hafta beslemişlerdir. Yüksek yağlı diyet alan doğal farelerde FADS1 ve FADS2 gen ekspresyonunun anlamlı bir şekilde yükseldiği; fat-1 grubunda FADS1 ve FADS2 gen ekspresyonunun azaldığı; n-3 LCPUFA desteğinin FADS1'i değiştirmezken, FADS2'yi önemli bir şekilde azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca D5D ve D6D inhibisyonunun karaciğerde yağ birikimini azalttığı bildirilmiştir (192).

Bu çalışmada, daha önceki çalışmalarla paralel bir şekilde, yüksek yağlı diyetin kontrol diyetine göre FADS1 gen ekspresyonunu artırdığı ve FADS2 gen ekspresyonunu etkilemediği gösterilmiştir (192, 266). Su ve ark. (29) FADS2 olmayan farelerde FADS1 gen ekspresyonunun artarak, FADS2'yi telafi ettiğini

bildirmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada, n-3 LCPUFA desteğinin FADS1 ve FADS2 gen ekspresyonlarını farklı şekilde düzenlediği gösterilmiştir. Bu çalışma, krill yağının FADS1 ve FADS2 gen ekspresyonu üzerine etkisini ortaya koyan literatürdeki ilk çalışmadır. Yüksek yağlı diyetle göre n-3 LCPUFA desteği diğer çalışmaları destekleyecek şekilde FADS1 gen ekspresyonunu azaltmıştır (27, 192). Fakat FADS2 gen ekspresyonu n-3 LCPUFA kaynağına göre farklı düzenlenmiştir. Balık yağı alan grupta FADS2 gen ekspresyonu artarken, krill yağı alan grupta FADS2 gen ekspresyonu etkilenmemiştir. n-3 LCPUFA'ların daha önce bildirilen desaturaz gen ekspresyonunu azaltıcı etkisi dikkate alınır, krill yağı balık yağından daha az EPA ve DHA içermesine karşın, FADS2 gen ekspresyonu balık yağı grubundan daha düşük olduğu gösterilmiştir. Krill yağının yapısında bulunan astaksantin ve fosfolipitlerin, bu farkın ortaya çıkmasında etkili olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca yüksek yağlı diyet grubunda olduğu gibi, balık yağı grubunda da FADS1 gen ekspresyonunun düşüklüğünü kompanse edici mekanizma ile FADS2 gen ekspresyonunun yükselmiş olabileceği düşünülmektedir.

Sonuçta, bu çalışmada, kontrol grubuna göre yüksek yağlı diyetin FADS1 gen ekspresyonunun artırırken, FADS2 gen ekspresyonunu değiştirmediği; balık yağının ise tam tersi etki gösterdiği bulunmuştur. Desaturaz gen ekspresyonundaki artışa karşın, bu gruplarda kontrol grubuna göre toplam n-3 ve n-6 yağ asidi aktivitesinin düşük olması enzim aktivitesi üzerinde gen ekspresyonundan başka faktörlerin etkili olabileceğini göstermektedir. Enzim aktivitesinin fizyolojik durum, oksidatif stres, hormonlar ve diğer besin öğelerinden etkilendiği bilinmektedir (259, 266). Ayrıca D5D ve D6D enzim aktivitesi ile oluşan yağ asitleri yüksek biyoaktif moleküllerdir ve yağ asidi oranları birçok metabolik durumdan etkilenebilir (30). Bu çalışma sonuçları ile n-3 LCPUFA'lar üzerinde yapılmış çalışma sonuçları arasındaki farklılıkların nedeninin, kullanılan diyetin içeriği, çalışmanın süresi, hayvanın türü, verilen n-3 LCPUFA miktarı ve kimyasal yapısındaki farklılıklardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir (267).

Bu çalışmanın en önemli kısıtlılığını yemlere eşit miktarda eklenen balık yağı ve krill yağının eşit miktarda EPA ve DHA içermemesi oluşturmaktadır. Bu kısıtlılığın karşın, bu çalışma krill yağının iştah hormonlarına ve desaturaz gen ekspresyonlarına etkisini inceleyen ilk çalışma olması nedeniyle, literatüre önemli

katkı sağlamıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar farklı n-3 LCPUFA kaynaklarının lipit metabolizması ve desaturaz gen ekspresyonu üzerinde farklı etkileri oluşturabileceğini göstererek literatüre farklı bir bakış açısı kazandırmıştır. Bu çalışma krill yağının balık yağına göre kan lipitleri ve karaciğer yağ metabolizmasında daha etkili olabileceği düşüncesini desteklenmiştir. Bu nedenle, krill kaynaklı n-3 LCPUFA'ların obezite ile ilgili parametrelere etkisini incelemek üzere yapılacak yeni çalışmalara zemin oluşturması nedeniyle önemli bir yere sahiptir.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

Bu çalışma obezite ve obezite ile ilişkili hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde n-3 uzun zincirli çoklu doymamış yağ asidi desteğinin etkinliğini belirlemek ve kaynaklarını karşılaştırmak amacıyla yapılmış ve aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir;

- 1- Takip edilen bütün haftalarda, YYD, BY-YYD, KY-YYD gruplarının yem tüketim miktarları kontrol grubundan daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$).
- 2- Birinci, ikinci, üçüncü ve sekizinci haftalarda YYD, BY-YYD ve KY-YYD gruplarının yem tüketim miktarları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).
- 3- Dördüncü haftada, kontrol grubu günde ortalama $28,4\pm 0,1$ g/gün, YYD grubu $18,5\pm 0,4$ g/gün, BY-YYD grubu $17,5\pm 0,6$ g/gün, KY-YYD grubu $18,4\pm 0,3$ g/gün yem tüketmiştir. Gruplar arasındaki fark incelendiğinde, YYD grubuna göre, BY-YYD grubunun yem tüketim miktarı daha düşük ($p<0,05$); KY-YYD grubunun ise benzer bulunmuştur ($p>0,05$). BY-YYD ve KY-YYD gruplarının yem tüketim miktarları karşılaştırıldığında, BY-YYD grubunun yem tüketim miktarı KY-YYD grubundan istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur ($p<0,05$).
- 4- Altıncı haftada YYD grubundaki sıçanların yem tüketimi BY-YYD grubuna göre daha fazla ($p<0,05$); KY-YYD grubu ile benzer bulunmuştur ($p>0,05$). BY-YYD ile KY-YYD gruplarının yem tüketimleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).
- 5- Beşinci ve yedinci haftalarda, bütün grupların yem tüketimleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). YYD grubu, BY-YYD ve KY-YYD grubundan daha fazla yem tüketmiştir ($p<0,05$). En az yem tüketen grup BY-YYD olarak belirlenmiştir ($p<0,05$).
- 6- Sıçanların ortalama yem tüketimi değerlendirildiğinde YYD, BY-YYD, KY-YYD gruplarının yem tüketim miktarları kontrol grubundan daha düşük saptanmıştır ($p<0,05$). Deney grupları karşılaştırıldığında, YYD ile KY-YYD

- gruplarının yem tüketim miktarları benzer ($p>0,05$) iken, en az yem tüketen grup BY-YYD olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).
- 7- Birinci ve sekizinci haftalarda kontrol grubu ile BY-YYD ve KY-YYD gruplarının enerji alımları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Bu haftalarda, kontrol grubu ile YYD grubunun ve deney gruplarının enerji alımları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).
 - 8- İkinci ve üçüncü haftada kontrol grubuna göre tüm deney grupları daha az enerji alırken ($p<0,05$), deney gruplarının enerji alımları benzer bulunmuştur ($p>0,05$).
 - 9- Beşinci hafta, kontrol grubu ile YYD ve KY-YYD gruplarının enerji alımı benzer bulunurken ($p>0,05$), KY-YYD grubunun YYD ve BY-YYD gruplarından daha fazla enerji aldığı saptanmıştır ($p<0,05$).
 - 10- Altıncı haftada YYD ve BY-YYD gruplarının kontrol grubuna göre daha az enerji aldığı saptanmıştır ($p<0,05$). Kontrol grubu ve KY-YYD grubu enerji alımları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).
 - 11- Yedinci haftada tüm grupların enerji alımları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Bu haftalarda en az enerji alan grup BY-YYD grubu ($97,2\pm 7,3$ kkal/gün) iken, en fazla enerji alan grubun kontrol grubu ($106,2\pm 0,2$ kkal/gün) olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Ayrıca YYD grubuna göre KY-YYD grubunun daha fazla enerji aldığı saptanmıştır ($p<0,05$).
 - 12- Sıçanların ortalama enerji alımları değerlendirildiğinde, tüm deney gruplarının kontrol grubuna göre daha düşük enerji aldığı saptanmıştır ($p<0,05$). YYD ve KY-YYD gruplarının enerji alımları benzer bulunmuştur ($p>0,05$). Deney süresince en az enerji alan grubun BY-YYD olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).
 - 13- Kontrol grubu ve tüm deney gruplarında sıçanların haftalara göre yem tüketim miktarları ve enerji alımlarının farklı olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).
 - 14- Deney başlangıcında gruplar arasında vücut ağırlıkları (kontrol grubu $216,5\pm 15,8$ g; YYD $225,4\pm 11,4$ g; BY-YYD $213,0\pm 9,9$; KY-YYD $216,2\pm 10,1$) açısından istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

- 15- Sıçanların deney sonu vücut ağırlıkları kontrol grubu= $454,7 \pm 25,0$ g, YYD= $530,5 \pm 33,8$ g, BY-YYD= $527,4 \pm 49,7$ g, KY-YYD= $519,8 \pm 25,2$ g olarak saptanmıştır. Deney gruplarının deney sonu vücut ağırlıklarının kontrol grubundan daha fazla olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$); ancak deney grupları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p > 0,05$).
- 16- Sekiz haftanın sonunda ağırlık kazanımları değerlendirildiğinde, tüm deney grupları kontrol grubundan daha fazla ağırlık kazandığı saptanmıştır ($p < 0,05$). YYD, BY-YYD ve KY-YYD gruplarının ağırlık artışları (g) ve ağırlık artış oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p > 0,05$).
- 17- Kontrol grubunun serum glukoz düzeyi YYD grubundan daha düşük olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Kontrol grubu ve n-3 LCPUFA verilen grupların (BY-YYD, KY-YYD) açlık serum glukoz düzeyleri benzer bulunmuştur ($p > 0,05$). n-3 LCPUFA kaynağının serum glukoz düzeylerine etkisi bulunmamıştır ($p > 0,05$).
- 18- Kontrol grubuna göre YYD grubunun TG düzeyinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). Kontrol grubu ile BY-YYD ve KY-YYD gruplarının TG düzeyleri benzer bulunmuştur ($p > 0,05$). Ayrıca YYD ve BY-YYD; BY-YYD ve KY-YYD grupları arasında TG düzeyi açısından istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). YYD grubuna göre KY-YYD grubunun TG düzeyi daha düşük saptanmıştır ($p < 0,05$).
- 19- Sıçanların TK düzeyleri incelendiğinde, kontrol grubuna göre YYD ve BY-YYD gruplarının TK düzeyi daha yüksek; KY-YYD grubu ile benzer bulunmuştur ($p < 0,05$). YYD ile BY-YYD gruplarının TK düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p > 0,05$). YYD grubunun TK düzeyi KY-YYD grubundan daha yüksek saptanmıştır ($p < 0,05$). n-3 LCPUFA kaynağı incelendiğinde KY-YYD grubunun TK düzeyleri BY-YYD grubundan daha düşük bulunmuştur ($p < 0,05$).
- 20- Sıçanların HDL-K düzeyleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

- 21- YYD grubunun LDL-K düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek saptanmıştır ($p>0,05$). Deney gruplarının LDL-K düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).
- 22- YYD grubunun serum insülin ve HOMA-IR düzeyinin diğer gruplara göre yüksek olduğu görülmektedir; ancak bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). HOMA-IR için 2,7'nin üzeri insülin direnci olarak kabul edildiğinde bütün deney gruplarında insülin direncinin geliştiği görülmektedir.
- 23- Serum ghrelin düzeyleri sırasıyla kontrol grubunun $12,4\pm 1,6$ ng/ml, YYD grubunun $10,2\pm 3,0$ ng/ml, BY-YYD grubunun $10,0\pm 2,4$ ng/ml, KY-YYD grubunun $10,4\pm 2,5$ ng/ml olarak saptanmıştır. Kontrol grubu ghrelin düzeyleri daha yüksek tespit edilse de arada ki bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).
- 24- Sıçanların serum leptin düzeyleri incelendiğinde, kontrol grubuna göre YYD grubunun serum leptin düzeyi daha yüksek saptanmıştır ($p<0,05$). Kontrol grubu ile BY-YYD ve KY-YYD gruplarının leptin düzeyleri benzerdir ($p>0,05$). n-3 LCPUFA kaynağının leptin düzeyine etkisi bulunmamıştır ($p>0,05$).
- 25- Karaciğer yağ asidi kompozisyonu gaz kromatografi sonuçları incelendiğinde, kontrol grubunun 14:0, 16:1n-7, 17:0, 20:4n-6 (AA), toplam doymuş ve çoklu doymamış yağ asidi oranları deney gruplarından daha yüksek saptanmıştır ($p<0,05$). Deney gruplarının bu yağ asitleri oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).
- 26- Kontrol grubu ile deney grupları 15:0 yağ asidi oranları karşılaştırıldığında, kontrol grubunun YYD ve KY-YYD gruplarından 15:0 yağ asidi oranının daha düşük ($p<0,05$); BY-YYD grubu ile benzer bulunmuştur ($p>0,05$). Deney gruplarının 15:0 yağ asidi oranı arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).
- 27- Kontrol grubunun 18:1n-9, 18:2n-6 (LA) ve toplam tekli doymamış yağ asidi oranları deney gruplarından daha düşük saptanmıştır ($p<0,05$). Deney gruplarının bu yağ asitleri oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).

- 28- Kontrol grubunun 16:0 yağ asidi oranı YYD grubundan daha düşük ($p<0,05$); BY-YYD ve KY-YYD grupları ile benzer bulunmuştur ($p>0,05$). Deney gruplarının bu yağ asitleri oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).
- 29- Kontrol grubu ile deney grupları arasında 18:0, 18:3n-3 (ALA), 20:1n-9, 20:2n-6, 20:n-3, 20:5n-3 (EPA), 22:0, 22:2n-6, 24:1 n-9 yağ asitleri ve n-6/n-3 oranları benzer bulunmuştur ($p>0,05$).
- 30- Kontrol grubu ile deney grupları 22:6n-3 yağ asidi oranları karşılaştırıldığında, kontrol grubu 22:6n-3 yağ asidi oranının YYD ve KY-YYD gruplarından daha düşük ($p<0,05$); BY-YYD grubu ile benzer bulunmuştur ($p>0,05$). Deney gruplarının 22:6n-3 yağ asidi oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).
- 31- Toplam n-3 yağ asidi oranı YYD grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Kontrol grubu ile BY-YYD ve KY-YYD grubu toplam n-3 yağ asidi oranı benzer bulunmuştur ($p>0,05$). Deney gruplarının toplam n-3 yağ asidi oranı arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).
- 32- Toplam n-6 yağ asidi oranı kontrol grubunda diğer deney gruplarından daha yüksek saptanmıştır ($p<0,05$). Deney gruplarının toplam n-6 yağ asidi oranı arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).
- 33- Toplam n-3 desaturaz aktivitesi kontrol grubuna göre YYD ve BY-YYD gruplarının daha düşük saptanmıştır ($p<0,05$). Kontrol grubu ile KY-YYD grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Deney gruplarının toplam n-3 desaturaz aktiviteleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).
- 34- Toplam n-6 desaturaz aktivitesi kontrol grubunda diğer deney gruplarından daha yüksek saptanmıştır ($p<0,05$). Deney gruplarının toplam n-6 desaturaz aktiviteleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).
- 35- Karaciğer yağ oranı kontrol grubuna göre YYD ve BY-YYD gruplarının daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Kontrol grubu ile KY-YYD grubu karaciğer yağ oranı benzerdir ($p>0,05$). Deney gruplarının karaciğer yağ oranı arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).

36- FADS1 gen ekspresyonlar incelendiğinde kontrol grubuna göre YYD ve KY-YYD gruplarının FADS1 gen ekspresyon düzeyleri daha yüksek saptanmıştır ($p<0,05$). Kontrol grubu ile BY-YYD grupları FADS1 gen ekspresyonları benzerdir ($p>0,05$). YYD grubuna göre BY-YYD ve KY-YYD gruplarının FADS1 gen ekspresyon düzeyleri daha düşük saptanmıştır ($p<0,05$). BY-YYD ve KY-YYD gruplarının FADS1 geni ekspresyon düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).

37- BY-YYD grubunun FADS2 gen ekspresyon düzeyi kontrol grubunun göre daha yüksek ($p<0,05$); kontrol grubu ile YYD ve KY-YYD gruplarının benzer bulunmuştur ($p>0,05$). YYD grubunun FADS2 ekspresyon düzeyi BY-YYD grubundan daha düşük ($p<0,05$); KY-YYD grubu ile benzer bulunmuştur ($p>0,05$). BY-YYD grubunun FADS2 gen ekspresyon düzeyi KY-YYD ve diğer tüm gruplardan daha fazla saptanmıştır ($p<0,05$).

6.2. Öneriler

Dünyada ve ülkemizde prevalansı gün geçtikçe artarak global halk sağlığı problemi haline gelen obezite ve obeziteye eşlik eden hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde diyetle alınan enerjinin azaltılmasını ve/veya fiziksel aktivitesini artırılmasını hedefleyen pek çok yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden biri de daha kolay, hızlı yanıt verdiği düşünülen ve son zamanlarda popüler hale gelen besin desteği kullanımıdır.

Anti-inflamatuvar etkilerden dolayı sıklıkla kullanılan besin desteklerinden biri elzem bir yağ asidi olan n-3 LCPUFA'dır. n-3 LCPUFA'nın yeterli alınması sağlıklı bir yaşam için elzemdir. Bu nedenle, kontraendike bir durum yok ise haftada en az iki kez balık tüketilmelidir. Eğer yeterli düzeyde balık tüketimi sağlanamıyorsa en az 250 mg EPA+DHA içerecek şekilde n-3 LCPUFA desteği kullanımı önerilebilir.

Hastalara n-3 LCPUFA desteği önerilmeden önce maksimum fayda sağlayabilmek için hastanın metabolik durumuna, n-3 LCPUFA desteğinin türüne, miktarına ve kimyasal yapısına dikkat edilmelidir.

Tedavi amaçlı yüksek dozlarda (2-4 g/gün) n-3 LCPUFA desteğinin hekim kontrolünde yapılması gerekmektedir. Ayrıca hastalara besin desteği kullanımı önerilmeden önce yarar-zarar ilişkisi dikkate alınmalıdır.

Vücut ağırlığı, iştah ve glukoz toleransı üzerine n-3 LCPUFA'ların etkilerini gösteren ve kaynaklarını karşılaştıran bu çalışma ve literatürde benzer çalışma sonuçlarının çelişkili olması nedeniyle vücut ağırlığının azaltılması ve/veya T2DM tedavisi için n-3 LCPUFA kullanımı önerilirken hastaların yaşayabileceği maddi kayıplar da göz önünde bulundurulmalıdır.

Hepatik stetatoz ve hiperlipidemi gibi sağlık problemi olan hastalara kontrendike değilse, balık tüketimi ile birlikte n-3 LCPUFA desteği tavsiye edilebilir. Krill yağının astaksantin ve fosfolipit içeriği nedeniyle hepatik lipit metabolizmasındaki etkinliğinin daha fazla olduğu düşünülmektedir.

Krill yağının ve balık yağının lipit metabolizması ve gen ekspresyonu üzerindeki etkinliğini ortaya koyabilmek için daha yüksek miktarda ve daha uzun müdahale süresi planlanmış laboratuvar çalışmaları yapılmalıdır.

Bu prelinik çalışmanın sonuçları ışığında hem hastalara daha fazla yarar sağlayabilmek hem de tedavi/öneri protokollerinin oluşturulmasına yardımcı olabilmek için insan metabolizmasında krill yağının ve balık yağının farklı etkilerini ortaya koyacak randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. World Health Organization. Controlling The Global Obesity Epidemic [İnternet]. [Erişim Tarihi 12 Aralık 2017]. Erişim Adresi: <http://www.who.int/nutrition/topics/obesity/en/>.
2. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol.* 2011;29:415-45.
3. Rytter D, Bech BH, Christensen JH, Schmidt EB, Henriksen TB, Olsen SF. Intake of fish oil during pregnancy and adiposity in 19-y-old offspring: follow-up on a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2011;94(3):701-8.
4. Fuentes E, Fuentes F, Vilahur G, Badimon L, Palomo I. Mechanisms of chronic state of inflammation as mediators that link obese adipose tissue and metabolic syndrome. *Mediators Inflamm.* 2013;2013.
5. Jung UJ, Choi M-S. Obesity and its metabolic complications: the role of adipokines and the relationship between obesity, inflammation, insulin resistance, dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Sci.* 2014;15(4):6184-223.
6. World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases 2014. İsviçre: World Health Organization; 2014
7. Cecchini M, Sassi F, Lauer JA, Lee YY, Guajardo-Barron V, Chisholm D. Tackling of unhealthy diets, physical inactivity, and obesity: health effects and cost-effectiveness. *The Lancet.* 2010;376(9754):1775-84.
8. T.C. Sağlık Bakanlığı. Türkiye Sağlıklı Beslenme ve Hareketli Hayat Programı 2013-2017. Ankara:Sağlık Bakanlığı; 2013, Rapor No: 773.
9. Saper RB, Eisenberg DM, Phillips RS. Common dietary supplements for weight loss. *Am Fam Physician.* 2004;70:1731-40.
10. Onakpoya IJ, Wider B, Pittler MH, Ernst E. Food supplements for body weight reduction: a systematic review of systematic reviews. *Obesity.* 2011;19(2):239-44.
11. Sarubin-Fragakis A, Thomson C. The health professional's guide to popular dietary supplements. 3rd ed. USA:American Dietetic Association; 2007.
12. Buckley JD, Howe PR. Long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids may be beneficial for reducing obesity—a review. *Nutrients.* 2010;2(12):1212-30.
13. Campioli E, Rustichelli C, Avallone R. n-3 Dietary supplementation and lipid metabolism: differences between vegetable-and fish-derived oils. *J Funct Foods.* 2012;4(1):207-12.
14. Parra D, Ramel A, Bandarra N, Kiely M, Martínez JA, Thorsdottir I. A diet rich in long chain omega-3 fatty acids modulates satiety in overweight and obese volunteers during weight loss. *Appetite.* 2008;51(3):676-80.

15. Bargut TCL, Mandarim-de-Lacerda CA, Aguila MB. A high-fish-oil diet prevents adiposity and modulates white adipose tissue inflammation pathways in mice. *J Nutr Biochem*. 2015;26(9):960-9.
16. Pérez-Matute P, Pérez-Echarri N, Martínez JA, Marti A, Moreno-Aliaga MJ. Eicosapentaenoic acid actions on adiposity and insulin resistance in control and high-fat-fed rats: role of apoptosis, adiponectin and tumour necrosis factor- α . *Br J Nutr*. 2007;97(2):389-98.
17. Huang XF, Xin X, McLennan P, Storlien L. Role of fat amount and type in ameliorating diet-induced obesity: insights at the level of hypothalamic arcuate nucleus leptin receptor, neuropeptide Y and pro-opiomelanocortin mRNA expression. *Diabetes Obes Metab*. 2004;6(1):35-44.
18. Watanabe RL, Andrade IS, Zemdegs JC, Albuquerque KT, Nascimento CM, Oyama LM, et al. Prolonged consumption of soy or fish-oil-enriched diets differentially affects the pattern of hypothalamic neuronal activation induced by refeeding in rats. *Nutr Neurosci*. 2009;12(6):242-8.
19. Selenscig D, Rossi A, Chicco A, Lombardo YB. Increased leptin storage with altered leptin secretion from adipocytes of rats with sucrose-induced dyslipidemia and insulin resistance: effect of dietary fish oil. *Metabolism*. 2010;59(6):787-95.
20. Saidpour A, Kimiagar M, Zahediasl S, Ghasemi A, Vafa M, Abadi A, et al. The modifying effects of fish oil on fasting ghrelin mRNA expression in weaned rats. *Gene*. 2012;507(1):44-9.
21. Buckley JD, Howe P. Anti-obesity effects of long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Obes Rev*. 2009;10(6):648-59.
22. Guo W, Xie W, Lei T, Hamilton JA. Eicosapentaenoic acid, but not oleic acid, stimulates β -oxidation in adipocytes. *Lipids*. 2005;40(8):815-21.
23. White PJ, Mitchell PL, Schwab M, Trottier J, Kang JX, Barbier O, et al. Transgenic ω -3 PUFA enrichment alters morphology and gene expression profile in adipose tissue of obese mice: Potential role for protectins. *Metabolism*. 2015;64(6):666-76.
24. Hensler M, Bardova K, Jilkova ZM, Wahli W, Meztger D, Chambon P, et al. The inhibition of fat cell proliferation by n-3 fatty acids in dietary obese mice. *Lipids Health Dis*. 2011;10(1):128.
25. Mock K, Tou J, Benedito V, Gigliotti J. Consumption of Different Sources of Omega-3 Fatty Acids Alters Lipogenic Gene Expression in Growing Rats. *FASEB J*. 2013;27(1 Supplement):345.5-.5.
26. Zhang JY, Kothapalli KS, Brenna JT. Desaturase and elongase-limiting endogenous long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2016;19(2):103-10.
27. Reardon HT, Hsieh AT, Park WJ, Kothapalli KS, Anthony JC, Nathanielsz PW, et al. Dietary long-chain polyunsaturated fatty acids upregulate expression of FADS3 transcripts. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2013;88(1):15-9.

28. Chisaguano AM, Montes R, Pérez-Berezo T, Castellote AI, Guerendiain M, Bustamante M, et al. Gene expression of desaturase (FADS1 and FADS2) and Elongase (ELOVL5) enzymes in peripheral blood: association with polyunsaturated fatty acid levels and atopic eczema in 4-year-old children. *PloS one*. 2013;8(10):e78245.
29. Su H, Zhou D, Pan Y-X, Wang X, Nakamura MT. Compensatory induction of Fads1 gene expression in heterozygous Fads2-null mice and by diet with a high n-6/n-3 PUFA ratio. *J Lipid Res*. 2016;57(11):1995-2004.
30. Sjögren P, Sierra-Johnson J, Gertow K, Rosell M, Vessby B, De Faire U, et al. Fatty acid desaturases in human adipose tissue: relationships between gene expression, desaturation indexes and insulin resistance. *Diabetologia*. 2008;51(2):328-35.
31. EFSA. Scientific opinion on dietary reference values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal*. 2010;8:1461-566.
32. Hacettepe Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü. Türkiye'ye Özgü Besin ve Beslenme Rehberi. Ankara: Hacettepe Üniversitesi; 2015.
33. Schuchardt JP, Hahn A. Bioavailability of long-chain omega-3 fatty acids. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2013;89(1):1-8.
34. Tou JC, Jaczynski J, Chen Y-C. Krill for human consumption: nutritional value and potential health benefits. *Nutr Rev*. 2007;65(2):63-77.
35. Cunningham E. Are krill oil supplements a better source of n-3 fatty acids than fish oil supplements? *J Acad Nutr Diet*. 2012;112(2):344.
36. Banni S, Carta G, Murru E, Cordeddu L, Giordano E, Sirigu AR, et al. Krill oil significantly decreases 2-arachidonoylglycerol plasma levels in obese subjects. *Nutr Metab*. 2011;8(1):7.
37. Piscitelli F, Carta G, Bisogno T, Murru E, Cordeddu L, Berge K, et al. Effect of dietary krill oil supplementation on the endocannabinoidome of metabolically relevant tissues from high-fat-fed mice. *Nutr Metab*. 2011;8(1):51.
38. Batetta B, Griinari M, Carta G, Murru E, Ligresti A, Cordeddu L, et al. Endocannabinoids may mediate the ability of (n-3) fatty acids to reduce ectopic fat and inflammatory mediators in obese Zucker rats. *J Nutr*. 2009;139(8):1495-501.
39. Burri L, Berge K, Wibrand K, Berge RK, Barger JL. Differential effects of krill oil and fish oil on the hepatic transcriptome in mice. *Front Genet*. 2011;2.
40. Mohamed GA, Ibrahim SR, Elkhayat ES, El Dine RS. Natural anti-obesity agents. *Bull Fac Pharm Cairo Univ*. 2014;52(2):269-84.
41. World Health Organization. Obesity and Overweight [Internet]. 2017 [Erişim Tarihi 8 Kasım 2017]. Erişim adresi: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.

42. Erem C. Prevalence of overweight and obesity in Turkey. *IJC Metabolic & Endocrine*. 2015;8:38-41.
43. Türk Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması II [Internet]. 2011 [Erişim Tarihi Aralık 2017]. Erişim adresi: http://www.turkendokrin.org/files/file/TURDEP_II_2011.pdf
44. T. C Sağlık Bakanlığı. Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması 2010: Beslenme durumu ve alışkanlıklarının değerlendirilmesi sonuç raporu. Ankara: Sağlık Bakanlığı Sağlık Araştırmaları Genel Müdürlüğü; 2014, Rapor No: 931.
45. Türkiye İstatistik Kurumu. Türkiye Sağlık Araştırması, 2016 [Internet]. 2017 [Erişim Tarihi 8 Kasım 2017]. Erişim adresi: <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=24573>
46. World Health Organization. BMI classification [Internet]. 2018 [Erişim Tarihi 12 Aralık 2017]. Erişim adresi: http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html.
47. Pekcan G. Beslenme Durumunun Saptanması. Diyet El Kitabı. 6 ed. Ankara: Hatipoğlu; 2011.
48. Park HS, Park JY, Yu R. Relationship of obesity and visceral adiposity with serum concentrations of CRP, TNF- α and IL-6. *Diabetes Res Clin Pract*. 2005;69(1):29-35.
49. El-Wakkad A, Hassan NE-M, Sibaii H, El-Zayat SR. Proinflammatory, anti-inflammatory cytokines and adiponkines in students with central obesity. *Cytokine*. 2013;61(2):682-7.
50. Verma S, Hussain ME. Obesity and diabetes: An update. *Diabetes Metab Syndr*. 2017;11(1):73-9.
51. Pedersen SD. Metabolic complications of obesity. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2013;27(2):179-93.
52. Atkinson RL. Obesity: Complications. Lindsay H, Allen AP, editors. *Encyclopedia of Human Nutrition*. 3rd ed. USA: Academic Press; 2013.
53. Rajwal S, McClean P. Non-alcoholic fatty liver disease. *Paediatr Child Health (Oxford)*. 2017;27(12):556-60.
54. Li S, Li X. Leptin in normal physiology and leptin resistance. *Sci Bull (Beijing)*. 2016;61(19):1480-8.
55. Swinburn BA, Sacks G, Lo SK, Westerterp KR, Rush EC, Rosenbaum M, et al. Estimating the changes in energy flux that characterize the rise in obesity prevalence. *Am J Clin Nutr*. 2009;89(6):1723-8.
56. Bouchard C. The magnitude of the energy imbalance in obesity is generally underestimated. *Int J Obes (Lond)*. 2008;32(6):879.
57. Türközü D, Ayhan B, Köksal E. The Nutrition Transition in Turkey: Trends in Energy and Macronutrients Supply from 1961 to 2011. *GMJ*. 2017;28(4).

58. Sazonov ES, Schuckers S. The energetics of obesity: A review: Monitoring energy intake and energy expenditure in humans. *IEEE Eng Med Biol Mag.* 2010;29(1):31-5.
59. Qi L. Personalized nutrition and obesity. *Ann Med.* 2014;46(5):247-52.
60. Kadouh HC, Acosta A. Current paradigms in the etiology of obesity. *Tech Gastrointest Endosc.* 2016;19(1):2-11.
61. Richardson LA. Etiologies of obesity In: Westman MGSaE, editor. *Obesity Evaluation and Treatment Essentials.* United Kingdom: CRC Press; 2010. p. 5-24.
62. Das UN. Obesity: genes, brain, gut, and environment. *Nutrition.* 2010;26(5):459-73.
63. Yu JH, Kim M-S. Molecular mechanisms of appetite regulation. *Diabetes Metab J.* 2012;36(6):391-8.
64. Arora S. Role of neuropeptides in appetite regulation and obesity—a review. *Neuropeptides.* 2006;40(6):375-401.
65. Hagan S, Niswender KD. Neuroendocrine regulation of food intake. *Pediatr Blood Cancer.* 2012;58(1):149-53.
66. Baqai N, Wilding JP. Pathophysiology and aetiology of obesity. *Medicine.* 2015;43(2):73-6.
67. Crujeiras AB, Goyenechea E, Abete I, Lage M, Carreira MC, Martínez JA, et al. Weight regain after a diet-induced loss is predicted by higher baseline leptin and lower ghrelin plasma levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(11):5037-44.
68. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature.* 1994;372(6505):425-32.
69. Dardeno TA, Chou SH, Moon H-S, Chamberland JP, Fiorenza CG, Mantzoros CS. Leptin in human physiology and therapeutics. *Front Neuroendocrinol.* 2010;31(3):377-93.
70. Park H-K, Ahima RS. Leptin signaling. *F1000prime reports.* 2014;6:73.
71. Moon H-S, Dalamaga M, Kim S-Y, Polyzos SA, Hamnvik O-P, Magkos F, et al. Leptin's role in lipodystrophic and nonlipodystrophic insulin-resistant and diabetic individuals. *Endocr Rev.* 2013;34(3):377-412.
72. Sinha MK, Ohannesian JP, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Magosin S, et al. Nocturnal rise of leptin in lean, obese, and non-insulin-dependent diabetes mellitus subjects. *J Clin Invest.* 1996;97(5):1344.
73. Hube F, Lietz U, Igel M, Jensen P, Tornqvist H, Joost H-G, et al. Difference in leptin mRNA levels between omental and subcutaneous abdominal adipose tissue from obese humans. *Horm Metab Res.* 1996;28(12):690-3.
74. Zhou Y, Rui L. Leptin signaling and leptin resistance. *Front Med.* 2013;7(2):207-22.

75. Mantzoros CS, Frederich RC, Flier JS, Qu D, Susulic VS, Lowell BB, et al. Activation of β 3 adrenergic receptors suppresses leptin expression and mediates a leptin-independent inhibition of food intake in mice. *Diabetes*. 1996;45(7):909-14.
76. Pierroz DD, Ziotopoulou M, Ungsunan L, Moschos S, Flier JS, Mantzoros CS. Effects of acute and chronic administration of the melanocortin agonist MTII in mice with diet-induced obesity. *Diabetes*. 2002;51(5):1337-45.
77. Scarpace PJ, Matheny M, Pollock BH, Tümer N. Leptin increases uncoupling protein expression and energy expenditure. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 1997;273(1):E226-E30.
78. Kim KW, Donato Jr J, Berglund ED, Choi Y-H, Kohno D, Elias CF, et al. FOXO1 in the ventromedial hypothalamus regulates energy balance. *J Clin Invest*. 2012;122(7):2578.
79. Shimizu Y, Son C, Aotani D, Nomura H, Hikida T, Hosoda K, et al. Role of leptin in conditioned place preference to high-fat diet in leptin-deficient ob/ob mice. *Neurosci Lett*. 2017;640:60-3.
80. Sáinz N, Barrenetxe J, Moreno-Aliaga MJ, Martínez JA. Leptin resistance and diet-induced obesity: central and peripheral actions of leptin. *Metabolism*. 2015;64(1):35-46.
81. Olofsson LE, Unger EK, Cheung CC, Xu AW. Modulation of AgRP-neuronal function by SOCS3 as an initiating event in diet-induced hypothalamic leptin resistance. *Proc Natl Acad Sci*. 2013;110(8):E697-E706.
82. Shapiro A, Tümer N, Gao Y, Cheng K-Y, Scarpace PJ. Prevention and reversal of diet-induced leptin resistance with a sugar-free diet despite high fat content. *Br J Nutr*. 2011;106(3):390-7.
83. Koch C, Lowe C, Pretz D, Steger J, Williams L, Tups A. High-Fat Diet Induces Leptin Resistance in Leptin-Deficient Mice. *J Neuroendocrinol*. 2014;26(2):58-67.
84. Paz-Filho G, Mastronardi CA, Licinio J. Leptin treatment: facts and expectations. *Metabolism*. 2015;64(1):146-56.
85. Münzberg H, Morrison CD. Structure, production and signaling of leptin. *Metabolism*. 2015;64(1):13-23.
86. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*. 1999;402(6762):656-60.
87. Müller TD, Nogueiras R, Andermann ML, Andrews ZB, Anker S, Argente J, et al. Ghrelin. *Mol Metab*. 2015;4(6):437-60.
88. Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, et al. Ghrelin, a Novel Growth Hormone-Releasing Acylated Peptide, Is Synthesized in a Distinct Endocrine Cell Type in the Gastrointestinal Tracts of Rats and Humans. *Endocrinology*. 2000;141(11):4255-61.

89. Delhanty PJ, Neggers SJ, van der Lely AJ. Should we consider des-acyl ghrelin as a separate hormone and if so, what does it do? *Front Horm Res.* 2014;42:163-74
90. Sato T, Ida T, Nakamura Y, Shiimura Y, Kangawa K, Kojima M. Physiological roles of ghrelin on obesity. *Obes Res Clin Pract.* 2014;8(5):405-13.
91. Hassouna R, Labarthe A, Tolle V. Hypothalamic regulation of body growth and appetite by ghrelin-derived peptides during balanced nutrition or undernutrition. *Mol Cell Endocrinol.* 2016;438:42-51.
92. Al Massadi O, López M, Tschöp M, Diéguez C, Nogueiras R. Current understanding of the hypothalamic ghrelin pathways inducing appetite and adiposity. *Trends Neurosci.* 2017;40(3):167-180.
93. Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, et al. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature.* 2001;409(6817):194-8.
94. Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes.* 2001;50(8):1714-9.
95. Ghelardoni S, Carnicelli V, Frascarelli S, Ronca-Testoni S, Zucchi R. Ghrelin tissue distribution: comparison between gene and protein expression. *J Endocrinol Invest.* 2006;29(2):115-21.
96. Tschöp M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature.* 2000;407(6806):908-13.
97. Savino F, Fissore MF, Liguori SA, Oggero R. Can hormones contained in mothers' milk account for the beneficial effect of breast-feeding on obesity in children? *Clin Endocrinol (Oxf).* 2009;71(6):757-65.
98. Wren A, Seal L, Cohen M, Brynes A, Frost G, Murphy K, et al. Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:5992-95
99. Wren AM, Small CJ, Abbott CR, Dhillo WS, Seal LJ, Cohen MA, et al. Ghrelin causes hyperphagia and obesity in rats. *Diabetes.* 2001;50(11):2540-7.
100. François M, Barde S, Legrand R, Lucas N, Azhar S, el Dhaybi M, et al. High-fat diet increases ghrelin-expressing cells in stomach, contributing to obesity. *Nutrition.* 2016;32(6):709-15.
101. Stevenson JL, Paton CM, Cooper JA. Hunger and satiety responses to high-fat meals after a high-polyunsaturated fat diet: A randomized trial. *Nutrition.* 2017;41:14-23.
102. Le Roux C, Patterson M, Vincent R, Hunt C, Ghatei M, Bloom S. Postprandial plasma ghrelin is suppressed proportional to meal calorie content in normal-weight but not obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(2):1068-71.
103. Daghestani MH. A preprandial and postprandial plasma levels of ghrelin hormone in lean, overweight and obese Saudi females. *J King Saud Univ Sci.* 2009;21(2):119-24.

104. Tash RME, El-Dydamoni OA, Ezzat AA, Badr BMA, Radwan EE, Ahmed MI. Ghrelin and Leptin in Obese Postmenopausal Patients. *Clinical Medicine and Diagnostics*. 2016;6(3):77-83.
105. Goebel-Stengel M, Hofmann T, Elbelt U, Teuffel P, Ahnis A, Kobelt P, et al. The ghrelin activating enzyme ghrelin-O-acyltransferase (GOAT) is present in human plasma and expressed dependent on body mass index. *Peptides*. 2013;43:13-9.
106. Mason C, Xiao L, Imayama I, Duggan CR, Campbell KL, Kong A, et al. The effects of separate and combined dietary weight loss and exercise on fasting ghrelin concentrations in overweight and obese women: a randomized controlled trial. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015;82(3):369-76.
107. Foster-Schubert KE, McTiernan A, Frayo RS, Schwartz RS, Rajan KB, Yasui Y, et al. Human plasma ghrelin levels increase during a one-year exercise program. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(2):820-5.
108. Strohacker K, McCaffery J, Maclean P, Wing R. Adaptations of leptin, ghrelin or insulin during weight loss as predictors of weight regain: a review of current literature. *Int J Obes (Lond)*. 2014;38(3):388-96.
109. Wyatt HR. Update on treatment strategies for obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(4):1299-306.
110. Raynor HA, Champagne CM. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Interventions for the Treatment of Overweight and Obesity in Adults. *J Acad Nutr Diet*. 2016;116(1):129-47.
111. Jensen MD, Ryan DH, Apovian CM, Ard JD, Comuzzie AG, Donato KA, et al. 2013 AHA/ACC/TOS guideline for the management of overweight and obesity in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and The Obesity Society. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63:2985-3023.
112. Rolls BJ. Plenary Lecture 1 Dietary strategies for the prevention and treatment of obesity. *Proc Nutr Soc*. 2010;69(1):70-9.
113. Pérez-Escamilla R, Obbagy JE, Altman JM, Essery EV, McGrane MM, Wong YP, et al. Dietary energy density and body weight in adults and children: a systematic review. *J Acad Nutr Diet*. 2012;112(5):671-84.
114. Esposito K, Kastorini C-M, Panagiotakos DB, Giugliano D. Mediterranean diet and weight loss: meta-analysis of randomized controlled trials. *Metab Syndr Relat Disord*. 2011;9(1):1-12.
115. Johnston BC, Kanters S, Bandayrel K, Wu P, Naji F, Siemieniuk RA, et al. Comparison of weight loss among named diet programs in overweight and obese adults: a meta-analysis. *JAMA*. 2014;312(9):923-33.
116. Mansoor N, Vinknes KJ, Veierød MB, Retterstøl K. Effects of low-carbohydrate diets v. low-fat diets on body weight and cardiovascular risk factors: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Br J Nutr*. 2016;115(3):466-79.

117. Wycherley TP, Moran LJ, Clifton PM, Noakes M, Brinkworth GD. Effects of energy-restricted high-protein, low-fat compared with standard-protein, low-fat diets: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr.* 2012;96(6):1281-98.
118. Santesso N, Akl E, Bianchi M, Mente A, Mustafa R, Heels-Ansdell D, et al. Effects of higher-versus lower-protein diets on health outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Nutr.* 2012;66(7):780-8.
119. Noto H, Goto A, Tsujimoto T, Noda M. Low-carbohydrate diets and all-cause mortality: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *PLoS One.* 2013;8(1):e55030.
120. Lagiou P, Sandin S, Lof M, Trichopoulos D, Adami H-O, Weiderpass E. Low carbohydrate-high protein diet and incidence of cardiovascular diseases in Swedish women: prospective cohort study. *BMJ.* 2012;344:e4026.
121. Nilsson LM, Winkvist A, Johansson I, Lindahl B, Hallmans G, Lenner P, et al. Low-carbohydrate, high-protein diet score and risk of incident cancer; a prospective cohort study. *Nutr J.* 2013;12(1):58.
122. World Health Organization. Physical activity [Internet]. 2017 [Erişim Tarihi 12 Aralık 2017]. Erişim adresi: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs385/en/>.
123. Kushner RF. Weight loss strategies for treatment of obesity. *Prog Cardiovasc Dis.* 2014;56(4):465-72.
124. Yanovski SZ, Yanovski JA. Long-term drug treatment for obesity: a systematic and clinical review. *JAMA.* 2014;311(1):74-86.
125. Jones BJ, Bloom SR. The new era of drug therapy for obesity: the evidence and the expectations. *Drugs.* 2015;75(9):935-45.
126. Williams EP, Mesidor M, Winters K, Dubbert PM, Wyatt SB. Overweight and obesity: prevalence, consequences, and causes of a growing public health problem. *Curr Obes Rep.* 2015;4(3):363-70.
127. Butryn ML, Webb V, Wadden TA. Behavioral treatment of obesity. *Psychiatr Clin North Am.* 2011;34(4):841.
128. Olson K, Bond D, Wing RR. Behavioral Approaches to the Treatment of Obesity. *Rhode Island Medical Journal.* 2017;100(2):21.
129. Wadden TA, Butryn ML, Hong PS, Tsai AG. Behavioral treatment of obesity in patients encountered in primary care settings: a systematic review. *JAMA.* 2014;312(17):1779-91.
130. Bailey RL, Gahche JJ, Miller PE, Thomas PR, Dwyer JT. Why US adults use dietary supplements. *JAMA.* 2013;173(5):355-61.
131. Bender N, Portmann M, Heg Z, Hofmann K, Zwahlen M, Egger M. Fish or n3-PUFA intake and body composition: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev.* 2014;15(8):657-65.

132. Trøseid M, Arnesen H, Hjerkins EM, Seljeflot I. Serum levels of interleukin-18 are reduced by diet and n-3 fatty acid intervention in elderly high-risk men. *Metabolism*. 2009;58(11):1543-9.
133. He K, Rimm EB, Merchant A, Rosner BA, Stampfer MJ, Willett WC, et al. Fish consumption and risk of stroke in men. *JAMA*. 2002;288(24):3130-6.
134. Iso H, Rexrode KM, Stampfer MJ, Manson JE, Colditz GA, Speizer FE, et al. Intake of fish and omega-3 fatty acids and risk of stroke in women. *JAMA*. 2001;285(3):304-12.
135. Micallef M, Munro I, Phang M, Garg M. Plasma n-3 polyunsaturated fatty acids are negatively associated with obesity. *Br J Nutr*. 2009;102(9):1370-4.
136. Scaglioni S, Verduci E, Salvioni M, Bruzzese MG, Radaelli G, Zetterström R, et al. Plasma long-chain fatty acids and the degree of obesity in Italian children. *Acta Paediatr*. 2006;95(8):964-9.
137. Karlsson M, Mårild S, Brandberg J, Lönn L, Friberg P, Strandvik B. Serum phospholipid fatty acids, adipose tissue, and metabolic markers in obese adolescents. *Obesity*. 2006;14(11):1931-9.
138. Bertrand C, Pignalosa A, Wanecq E, Rancoule C, Batut A, Deleruyelle S, et al. Effects of dietary eicosapentaenoic acid (EPA) supplementation in high-fat fed mice on lipid metabolism and apelin/APJ system in skeletal muscle. *PloS One*. 2013;8(11):e78874.
139. Rossmeisl M, Jilkova ZM, Kuda O, Jelenik T, Medrikova D, Stankova B, et al. Metabolic effects of n-3 PUFA as phospholipids are superior to triglycerides in mice fed a high-fat diet: possible role of endocannabinoids. *PloS One*. 2012;7(6):e38834.
140. Philp LK, Heilbronn LK, Janovska A, Wittert GA. Dietary enrichment with fish oil prevents high fat-induced metabolic dysfunction in skeletal muscle in mice. *PLoS One*. 2015;10(2):e0117494.
141. White PJ, Arita M, Taguchi R, Kang JX, Marette A. Transgenic restoration of long-chain n-3 fatty acids in insulin target tissues improves resolution capacity and alleviates obesity-linked inflammation and insulin resistance in high-fat-fed mice. *Diabetes*. 2010;59(12):3066-73.
142. Todoric J, Löffler M, Huber J, Bilban M, Reimers M, Kadl A, et al. Adipose tissue inflammation induced by high-fat diet in obese diabetic mice is prevented by n-3 polyunsaturated fatty acids. *Diabetologia*. 2006;49(9):2109-19.
143. Zhu J-J, Shi J-H, Qian W-B, Cai Z-Z, Li D. Effects of krill oil on serum lipids of hyperlipidemic rats and human SW480 cells. *Lipids Health Dis*. 2008;7(1):30.
144. Lee M-F, Lai C-S, Cheng A-C, Hou J-S, Badmaev V, Ho C-T, et al. Krill oil and xanthigen separately inhibit high fat diet induced obesity and hepatic triacylglycerol accumulation in mice. *J Funct Foods*. 2015;19:913-21.

145. Vigerust NF, Bjørndal B, Bohov P, Brattelid T, Svardal A, Berge RK. Krill oil versus fish oil in modulation of inflammation and lipid metabolism in mice transgenic for TNF- α . *Eur J Nutr*. 2013;52(4):1315-25.
146. Tillander V, Bjørndal B, Burri L, Bohov P, Skorve J, Berge RK, et al. Fish oil and krill oil supplementations differentially regulate lipid catabolic and synthetic pathways in mice. *Nutr Metab (Lond)*. 2014;11(1):20.
147. Bond LM, Miyazaki M, O'Neill LM, Ding F, Ntambi JM. Fatty Acid Desaturation and Elongation in Mammals. Ridgway N, Mclead R, editors. *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins, and Membranes*. 6th ed. USA:Elsevier;2016.
148. Chilton FH, Murphy RC, Wilson BA, Sergeant S, Ainsworth H, Seeds MC, et al. Diet-gene interactions and PUFA metabolism: a potential contributor to health disparities and human diseases. *Nutrients*. 2014;6(5):1993-2022.
149. Arterburn LM, Hall EB, Oken H. Distribution, interconversion, and dose response of n-3 fatty acids in humans. *Am J Clin Nutr*. 2006;83(6):S1467-76S.
150. Huerta-Yépez S, Tirado-Rodriguez AB, Hankinson O. Role of diets rich in omega-3 and omega-6 in the development of cancer. *Bol Méd Hosp Infant Méxi*. 2016;73:397-404.
151. Robertson B, Burri L, Berge K. Genotoxicity test and subchronic toxicity study with Superba™ krill oil in rats. *Toxicol Rep*. 2014;1:764-76.
152. Abeywardena MY, Belobrajdic DP. Long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids and obesity. Shamim IA, Syed Khalid, editors. *Obesity*. Springer International Publishing; 2016.
153. Calder PC, Yaqoob P. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and human health outcomes. *Biofactors*. 2009;35(3):266-72.
154. Bentsen H. Dietary polyunsaturated fatty acids, brain function and mental health. *Microb Ecol Health Dis*. 2017;28(sup1):1281916.
155. Lenihan-Geels G, Bishop KS. Alternative Origins for Omega-3 Fatty Acids in the Diet. *Omega-3 Fatty Acids*: Springer; 2016. p. 475-86.
156. Burri L, Johnsen L. Krill products: an overview of animal studies. *Nutrients*. 2015;7(5):3300-21.
157. Kwantes JM, Grundmann O. A brief review of krill oil history, research, and the commercial market. *J Diet Suppl*. 2015;12(1):23-35.
158. Araujo P, Zhu H, Breivik JF, Hjelle JI, Zeng Y. Determination and structural elucidation of triacylglycerols in krill oil by chromatographic techniques. *Lipids*. 2014;49(2):163-72.
159. Ulven SM, Kirkhus B, Lamglait A, Basu S, Elind E, Haider T, et al. Metabolic effects of krill oil are essentially similar to those of fish oil but at lower dose of EPA and DHA, in healthy volunteers. *Lipids*. 2011;46(1):37-46.
160. Maki KC, Reeves MS, Farmer M, Griinari M, Berge K, Vik H, et al. Krill oil supplementation increases plasma concentrations of eicosapentaenoic and

- docosahexaenoic acids in overweight and obese men and women. *Nutr Res.* 2009;29(9):609-15.
161. Schuchardt JP, Schneider I, Meyer H, Neubronner J, von Schacky C, Hahn A. Incorporation of EPA and DHA into plasma phospholipids in response to different omega-3 fatty acid formulations-a comparative bioavailability study of fish oil vs. krill oil. *Lipids Health Dis.* 2011;10(1):145.
 162. Lu C, Sun T, Li Y, Zhang D, Zhou J, Su X. Modulation of the gut microbiota by krill oil in mice fed a high-sugar high-fat diet. *Front Microbiol.* 2017;8: 905.
 163. USDA. National Nutrient Database for Standard Reference Release 28 [Internet]. 2016 [Erişim Tarihi 1 Şubat 2017]. Erişim adresi: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/727?n1=%7BQv%3D1%7D&fgcd=&man=&facet=&count=&max=&sort=&qlookup=&offset=&format=Full&new=&measureby=&Qv=1&ds=&qt=&qp=&qa=&qn=&q=&ing=>.
 164. FDA. Notification GRAS determination for krill oil 2010 [Internet]. 2011 [Erişim Tarihi 10 Aralık 2017]. Erişim adresi: <http://www.fda.gov/downloads/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/NoticeInventory/ucm274421.pdf>.
 165. Garaiova I, Guschina IA, Plummer SF, Tang J, Wang D, Plummer NT. A randomised cross-over trial in healthy adults indicating improved absorption of omega-3 fatty acids by pre-emulsification. *Nutr J.* 2007;6(1):4.
 166. Tandy S, Chung RW, Wat E, Kamili A, Berge K, Griinari M, et al. Dietary krill oil supplementation reduces hepatic steatosis, glycemia, and hypercholesterolemia in high-fat-fed mice. *J Agric Food Chem.* 2009;57(19):9339-45.
 167. Di Marzo V, Griinari M, Carta G, Murru E, Ligresti A, Cordeddu L, et al. Dietary krill oil increases docosahexaenoic acid and reduces 2-arachidonoylglycerol but not N-acyl ethanolamine levels in the brain of obese Zucker rats. *Int Dairy J.* 2010;20(4):231-5.
 168. Ferramosca A, Conte A, Burri L, Berge K, De Nuccio F, Giudetti AM, et al. A krill oil supplemented diet suppresses hepatic steatosis in high-fat fed rats. *PloS one.* 2012;7(6):e38797.
 169. Ivanova Z, Bjørndal B, Grigorova N, Roussenov A, Vachkova E, Berge K, et al. Effect of fish and krill oil supplementation on glucose tolerance in rabbits with experimentally induced obesity. *Eur J Nutr.* 2015;54(7):1055-67.
 170. Ferramosca A, Conte A, Zara V. Krill oil ameliorates mitochondrial dysfunctions in rats treated with high-fat diet. *Biomed Res Int.* 2015;2015:645984.
 171. Sun D, Zhang L, Chen H, Feng R, Cao P, Liu Y. Effects of Antarctic krill oil on lipid and glucose metabolism in C57BL/6J mice fed with high fat diet. *Lipids Health Dis.* 2017;16(1):218.
 172. Schneider I, Schuchardt JP, Meyer H, Hahn A. Effect of gastric acid resistant coating of fish oil capsules on intestinal uptake of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid. *J Funct Foods.* 2011;3(2):129-33.

173. Harris WS, Sands SA, Windsor SL, Ali HA, Stevens TL, Magalski A, et al. Omega-3 fatty acids in cardiac biopsies from heart transplantation patients. *Circulation*. 2004;110(12):1645-9.
174. Metcalf RG, James MJ, Gibson RA, Edwards JR, Stubberfield J, Stuklis R, et al. Effects of fish-oil supplementation on myocardial fatty acids in humans. *Am J Clin Nutr*. 2007;85(5):1222-8.
175. Tu W, Mühlhäusler B, Yelland L, Gibson R. Correlations between blood and tissue omega-3 LCPUFA status following dietary ALA intervention in rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2013;88(1):53-60.
176. Tu H, Kastin AJ, Hsueh H, Pan W. Soluble receptor inhibits leptin transport. *J Cell Physiol*. 2008;214(2):301-5.
177. Ghasemifard S, Turchini GM, Sinclair AJ. Omega-3 long chain fatty acid "bioavailability": a review of evidence and methodological considerations. *Prog Lipid Res*. 2014;56:92-108.
178. Kling DF, Johnson J, Rooney M, Davidson M. Omega-3 free fatty acids demonstrate more than 4-fold greater bioavailability for EPA and DHA compared with omega-3-acid ethyl esters in conjunction with a low-fat diet: The ECLIPSE Study. *J Clin Lipidol*. 2011;5(3):231.
179. Davidson MH, Johnson J, Rooney MW, Kyle ML, Kling DF. A novel omega-3 free fatty acid formulation has dramatically improved bioavailability during a low-fat diet compared with omega-3-acid ethyl esters: The ECLIPSE (Epanova® compared to Lovaza® in a pharmacokinetic single-dose evaluation) study. *J Clin Lipidol*. 2012;6(6):573-84.
180. Serhan CN, Arita M, Hong S, Gotlinger K. Resolvins, docosatrienes, and neuroprotectins, novel omega-3-derived mediators, and their endogenous aspirin-triggered epimers. *Lipids*. 2004;39(11):1125-32.
181. Meesapyodsuk D, Qiu X. The front-end desaturase: structure, function, evolution and biotechnological use. *Lipids*. 2012;47(3):227-37.
182. Lorente-Cebrián S, Costa AG, Navas-Carretero S, Zabala M, Martínez JA, Moreno-Aliaga MJ. Role of omega-3 fatty acids in obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular diseases: a review of the evidence. *J Physiol Biochem*. 2013;69(3):633-51.
183. Gleissman H, Johnsen JI, Kogner P. Omega-3 fatty acids in cancer, the protectors of good and the killers of evil? *Exp Cell Res*. 2010;316(8):1365-73.
184. Nakamura MT, Nara TY. Structure, function, and dietary regulation of $\Delta 6$, $\Delta 5$ and $\Delta 9$ desaturases. *Annu Rev Nutr*. 2004;24:345-76.
185. Kröger J, Zietemann V, Enzenbach C, Weikert C, Jansen EH, Döring F, et al. Erythrocyte membrane phospholipid fatty acids, desaturase activity, and dietary fatty acids in relation to risk of type 2 diabetes in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition–Potsdam Study. *Am J Clin Nutr*. 2011;93:127-42.

186. Sala-Vila A, Miles E, Calder P. Fatty acid composition abnormalities in atopic disease: evidence explored and role in the disease process examined. *Clin Exp Allergy*. 2008;38(9):1432-50.
187. Mohaibes RJ, Fiol-deRoque MA, Torres M, Ordinas M, López DJ, Castro JA, et al. The hydroxylated form of docosahexaenoic acid (DHA-H) modifies the brain lipid composition in a model of Alzheimer's disease, improving behavioral motor function and survival. *Biochim Biophys Acta*. 2017;1859:1596-1603.
188. Torres M, Price SL, Fiol-deRoque MA, Marcilla-Etxenike A, Ahyayauch H, Barceló-Coblijn G, et al. Membrane lipid modifications and therapeutic effects mediated by hydroxydocosahexaenoic acid on Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1838(6):1680-92.
189. Corsetto PA, Montorfano G, Zava S, Jovenitti IE, Cremona A, Berra B, et al. Effects of n-3 PUFAs on breast cancer cells through their incorporation in plasma membrane. *Lipids Health Dis*. 2011;10(1):73.
190. Namazi G, Asa P, Movahedian A, Sarrafzadegan N, Sadeghi M, Pourfarzam M. Investigation of membrane fatty acid profiles in erythrocytes of patients with stable coronary artery disease. *J Clin Lipidol*. 2016;10(4):930-6.
191. Tosi F, Sartori F, Guarini P, Olivieri O, Martinelli N. Delta-5 and delta-6 desaturases: crucial enzymes in polyunsaturated fatty acid-related pathways with pleiotropic influences in health and disease. *Adv Exp Med Biol*. 2014;824:61-81.
192. López-Vicario C, González-Pérez A, Rius B, Morán-Salvador E, García-Alonso V, Lozano JJ, et al. Molecular interplay between $\Delta 5/\Delta 6$ desaturases and long-chain fatty acids in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Gut*. 2014;63(2):344-55.
193. Simopoulos AP. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2008;233(6):674-88.
194. Nestel P, Clifton P, Colquhoun D, Noakes M, Mori TA, Sullivan D, et al. Indications for omega-3 long chain polyunsaturated fatty acid in the prevention and treatment of cardiovascular disease. *Heart Lung Circ*. 2015;24(8):769-79.
195. Miller PE, Van Elswyk M, Alexander DD. Long-chain omega-3 fatty acids eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid and blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Hypertens*. 2014;27(7):885-96.
196. Wen Y, Dai J, Gao Q. Effects of Omega-3 fatty acid on major cardiovascular events and mortality in patients with coronary heart disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2014;24(5):470-5.
197. Bernstein AM, Ding EL, Willett WC, Rimm EB. A Meta-Analysis Shows That Docosahexaenoic Acid from Algal Oil Reduces Serum Triglycerides and Increases HDL-Cholesterol and LDL-Cholesterol in Persons without Coronary Heart Disease—3. *J Nutr*. 2011;142(1):99-104.

198. Tavazzi L, Maggioni AP, Marchioli R, Barlera S, Franzosi MG, Latini R, et al. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids in patients with chronic heart failure (the GISSI-HF trial): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet*. 2008;372(9645):1223-30.
199. Jacobson TA. Role of n-3 fatty acids in the treatment of hypertriglyceridemia and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*. 2008;87(6):1981S-90S.
200. Pirillo A, Catapano AL. Omega-3 polyunsaturated fatty acids in the treatment of atherogenic dyslipidemia. *Atheroscler Suppl*. 2013;14(2):237-42.
201. Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation*. 2002;106(21):2747-57.
202. Lichtenstein AH, Appel LJ, Brands M, Carnethon M, Daniels S, Franch HA, et al. Diet and lifestyle recommendations revision 2006. *Circulation*. 2006;114(1):82-96.
203. González-Pérez A, Horrillo R, Ferré N, Gronert K, Dong B, Morán-Salvador E, et al. Obesity-induced insulin resistance and hepatic steatosis are alleviated by ω -3 fatty acids: a role for resolvins and protectins. *FASEB J*. 2009;23(6):1946-57.
204. Kalupahana NS, Claycombe K, Newman SJ, Stewart T, Siriwardhana N, Matthan N, et al. Eicosapentaenoic acid prevents and reverses insulin resistance in high-fat diet-induced obese mice via modulation of adipose tissue inflammation. *J Nutr*. 2010;140(11):1915-22.
205. Wang L, Folsom AR, Zheng Z-J, Pankow JS, Eckfeldt JH, Investigators AS. Plasma fatty acid composition and incidence of diabetes in middle-aged adults: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Clin Nutr*. 2003;78(1):91-8.
206. Mostad IL, Bjerve KS, Bjorgaas MR, Lydersen S, Grill V. Effects of n-3 fatty acids in subjects with type 2 diabetes: reduction of insulin sensitivity and time-dependent alteration from carbohydrate to fat oxidation. *Am J Clin Nutr*. 2006;84(3):540-50.
207. Hartweg J, Perera R, Montori VM, Dinneen SF, Neil AH, Farmer AJ. Omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) for type 2 diabetes mellitus. *The Cochrane Database Syst Rev*. 2008;23(1):CD003205.
208. Kaushik M, Mozaffarian D, Spiegelman D, Manson JE, Willett WC, Hu FB. Long-chain omega-3 fatty acids, fish intake, and the risk of type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr*. 2009;90:613-20.
209. Nanri A, Mizoue T, Noda M, Takahashi Y, Matsushita Y, Poudel-Tandukar K, et al. Fish intake and type 2 diabetes in Japanese men and women: the Japan Public Health Center-based Prospective Study. *Am J Clin Nutr*. 2011;94:884-91.
210. Rylander C, Sandanger TM, Engeset D, Lund E. Consumption of lean fish reduces the risk of type 2 diabetes mellitus: a prospective population based cohort study of Norwegian women. *PloS one*. 2014;9(2):89845.

211. Marushka L, Batal M, Sharp D, Schwartz H, Ing A, Fediuk K, et al. Fish consumption is inversely associated with type 2 diabetes in Manitoba First Nations communities. *FACETS*. 2017;2(2):795-818.
212. Chen C, Yang Y, Yu X, Hu S, Shao S. Association between omega-3 fatty acids consumption and the risk of type 2 diabetes: A meta-analysis of cohort studies. *J Diabetes Investig*. 2017;8(4):480-88.
213. Parker HM, Johnson NA, Burdon CA, Cohn JS, O'Connor HT, George J. Omega-3 supplementation and non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *J Hepatol*. 2012;56(4):944-51.
214. Phillips G, Barton A. Diet Therapies for the Treatment of Non-alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD): A Systematic Style Review. *EJNFS*. 2014;4(3):189-190.
215. Sasazuki S, Inoue M, Iwasaki M, Sawada N, Shimazu T, Yamaji T, et al. Intake of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids and development of colorectal cancer by subsite: Japan Public Health Center-based prospective study. *Int J Cancer*. 2011;129(7):1718-29.
216. Sawada N, Inoue M, Iwasaki M, Sasazuki S, Shimazu T, Yamaji T, et al. Consumption of n-3 fatty acids and fish reduces risk of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2012;142(7):1468-75.
217. Huang Q, Wen J, Chen G, Ge M, Gao Y, Ye X, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids inhibited tumor growth via preventing the decrease of genomic DNA methylation in colorectal cancer rats. *Nutr Cancer*. 2016;68(1):113-9.
218. Barbalho SM, de Alvares Goulart R, Quesada K, Bechara MD, de Carvalho Ade C. Inflammatory bowel disease: can omega-3 fatty acids really help? *Ann Gastrol*. 2016;29(1):37-43.
219. Grosso G, Galvano F, Marventano S, Malaguarnera M, Bucolo C, Drago F, et al. Omega-3 fatty acids and depression: scientific evidence and biological mechanisms. *Oxid Med Cell Longev*. 2014;2014.
220. Chen AT, Chibnall JT, Nasrallah HA. A meta-analysis of placebo-controlled trials of omega-3 fatty acid augmentation in schizophrenia: Possible stage-specific effects. *Ann Clin Psychiatry*. 2016;27(4):289-96.
221. Königs A, Kiliaan AJ. Critical appraisal of omega-3 fatty acids in attention-deficit/hyperactivity disorder treatment. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2016;12:1869.
222. Wu S, Ding Y, Wu F, Li R, Hou J, Mao P. Omega-3 fatty acids intake and risks of dementia and Alzheimer's disease: A meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev*. 2015;48:1-9.
223. Mazahery H, Stonehouse W, Delshad M, Kruger MC, Conlon CA, Beck KL, et al. Relationship between Long Chain n-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Autism Spectrum Disorder: Systematic Review and Meta-Analysis of Case-Control and Randomised Controlled Trials. *Nutrients*. 2017;9(2):155.

224. Institute of Medicine. Dietary reference intakes: the essential guide to nutrient requirements. Washington: National Academies Press; 2006.
225. Bantle JP, Wylie-Rosett J, Albright AL, Apovian CM, Clark NG, Franz MJ, et al. Nutrition recommendations and interventions for diabetes: a position statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 2008;31:61-78.
226. Kris-Etherton PM, Innis S, American DA. Position of the American Dietetic Association and Dietitians of Canada: Dietary fatty acids. *J Am Diet Assoc*. 2007;107(9):1599-611.
227. Amine E, Baba N, Belhadj M, Deurenberg-Yap M, Djazayeri A, Forrestre T, et al. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. World Health Organization Technical Report Series. 2003(916).
228. Tetens I. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to EPA, DHA, DPA and maintenance of normal blood pressure (ID 502), maintenance of normal HDL-cholesterol concentrations (ID 515), maintenance of normal (fasting) blood concentrations of triglycerides (ID 517), maintenance of normal LDL-cholesterol concentrations (ID 528, 698) and maintenance of joints (ID 503, 505, 507, 511, 518, 524, 526, 535, 537) pursuant to Article 13 (1) of Regulation (EC) No 1924/2006: EFSA-Q-2008-1289, EFSA-Q-2008-1290, EFSA-Q-2008-1292, EFSA-Q-2008-1294, EFSA-Q-2008-1298, EFSA-Q-2008-1302, EFSA-Q-2008-1304, EFSA-Q-2008-1305, EFSA-Q-2008-1311, EFSA-Q-2008-1313, EFSA-Q-2008-1315, EFSA-Q-2008-1322, EFSA-Q-2008-1324, EFSA-Q-2008-1485. 2009.
229. Noeman SA, Hamooda HE, Baalash AA. Biochemical study of oxidative stress markers in the liver, kidney and heart of high fat diet induced obesity in rats. *Diabetol Metab Syndr*. 2011;3(1):17.
230. Coşkun ADE, Keven MC, İdil NS, Yaşar L. Polikistik Over Sendromlu Adolesanlarda Serum Adiponektin Düzeyleri ile Klinik, Metabolik ve Hormonal Belirteçlerin İlişkisi. *Medical Journal of Bakirkoy*. 2013;9(2).
231. Handjieva-Darlenska T, Boyadjieva N. The effect of high-fat diet on plasma ghrelin and leptin levels in rats. *J Physiol Biochem*. 2009;65(2):157-64.
232. Folch J, Lees M, Sloane-Stanley G. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem*. 1957;226(1):497-509.
233. Metcalfe L, Schmitz AA, Pelka J. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Anal Chem*. 1966;38(3):514-5.
234. Merino DM, Johnston H, Clarke S, Roke K, Nielsen D, Badawi A, et al. Polymorphisms in FADS1 and FADS2 alter desaturase activity in young Caucasian and Asian adults. *Mol Genet Metab*. 2011;103(2):171-8.
235. Günel T. Gen Anlatımının Kantitatif Analizi. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*. 2007;27(5):763-7.
236. Alpar R. Spor, sağlık ve eğitim bilimlerinden örneklerle uygulamalı istatistik ve geçerlik-güvenirlilik. Ankara: Detay Yayıncılık; 2010.

237. Yang G, Lee J, Lee S, Kwak D, Choe W, Kang I, et al. Krill oil supplementation improves dyslipidemia and lowers body weight in mice fed a high-fat diet through activation of AMP-activated protein kinase. *J Med Food*. 2016;19(12):1120-9.
238. Beglinger C, Degen L. Fat in the intestine as a regulator of appetite—role of CCK. *Physiol Behav*. 2004;83(4):617-21.
239. Camilleri M. Peripheral mechanisms in appetite regulation. *Gastroenterology*. 2015;148(6):1219-33.
240. Adam CL, Gratz SW, Peinado DI, Thomson LM, Garden KE, Williams PA, et al. Effects of dietary fibre (Pectin) and/or increased protein (Casein or Pea) on satiety, body weight, adiposity and caecal fermentation in high fat diet-induced obese rats. *PloS one*. 2016;11(5):e0155871.
241. Hariri N, Thibault L. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutr Res Rev*. 2010;23(2):270-99.
242. Fromme T, Klingenspor M. Uncoupling protein 1 expression and high-fat diets. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2011;300(1):R1-R8.
243. Poudyal H, Panchal SK, Ward LC, Brown L. Effects of ALA, EPA and DHA in high-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome in rats. *J Nutr Biochem*. 2013;24(6):1041-52.
244. Hao Q, Lillefosse HH, Fjære E, Myrmel LS, Midtbø LK, Jarlsby RH, et al. High-glycemic index carbohydrates abrogate the antiobesity effect of fish oil in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2012;302(9):E1097-E1112.
245. Bjørndal B, Vik R, Brattelid T, Vigerust NF, Burri L, Bohov P, et al. Krill powder increases liver lipid catabolism and reduces glucose mobilization in tumor necrosis factor- α transgenic mice fed a high-fat diet. *Metabolism*. 2012;61(10):1461-72.
246. Neschen S, Morino K, Dong J, Wang-Fischer Y, Cline GW, Romanelli AJ, et al. n-3 Fatty acids preserve insulin sensitivity in vivo in a peroxisome proliferator-activated receptor- α -dependent manner. *Diabetes*. 2007;56(4):1034-41.
247. Raclot T, Groscolas R, Langin D, Ferre P. Site-specific regulation of gene expression by n-3 polyunsaturated fatty acids in rat white adipose tissues. *J Lipid Res*. 1997;38(10):1963-72.
248. Murata M, Kaji H, Takahashi Y, Iida K, Mizuno I, Okimura Y, et al. Stimulation by eicosapentaenoic acids of leptin mRNA expression and its secretion in mouse 3T3-L1 adipocytes in vitro. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000;270(2):343-8.
249. Reseland JE, Haugen F, Hollung K, Solvoll K, Halvorsen B, Brude IR, et al. Reduction of leptin gene expression by dietary polyunsaturated fatty acids. *J Lipid Res*. 2001;42(5):743-50.
250. Peyron-Caso E, Taverna M, Guerre-Millo M, Véronèse A, Pacher N, Slama G, et al. Dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids up-regulate plasma leptin in insulin-resistant rats. *J Nutr*. 2002;132(8):2235-40.

251. Rossi AS, Lombardo YB, Lacorte J-M, Chicco AG, Rouault C, Slama G, et al. Dietary fish oil positively regulates plasma leptin and adiponectin levels in sucrose-fed, insulin-resistant rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2005;289(2):R486-R94.
252. Mikami N, Hosokawa M, Miyashita K. Dietary Combination of Fish Oil and Taurine Decreases Fat Accumulation and Ameliorates Blood Glucose Levels in Type 2 Diabetic/Obese KK-Ay Mice. *J Food Sci.* 2012;77(6).
253. Huerta AE, Navas-Carretero S, Prieto-Hontoria PL, Martínez JA, Moreno-Aliaga MJ. Effects of α -lipoic acid and eicosapentaenoic acid in overweight and obese women during weight loss. *Obesity.* 2015;23(2):313-21.
254. Ding WJ, Wang Y. Regulation of adipokines by polyunsaturated fatty acids in a rat model of non-alcoholic steatohepatitis. *Arch Iran Med.* 2014;17(8):563.
255. Burghardt PR, Kemmerer ES, Buck BJ, Osetek AJ, Yan C, Koch LG, et al. Dietary n-3: n-6 fatty acid ratios differentially influence hormonal signature in a rodent model of metabolic syndrome relative to healthy controls. *Nutr Metab (Lond).* 2010;7(1):53.
256. Beck B, Richey S. Differential long-term dietary regulation of adipokines, ghrelin, or corticosterone: impact on adiposity. *J Endocrinol.* 2008;196(1):171-9.
257. Morán-Salvador E, López-Parra M, García-Alonso V, Titos E, Martínez-Clemente M, González-Pérez A, et al. Role for PPAR γ in obesity-induced hepatic steatosis as determined by hepatocyte- and macrophage-specific conditional knockouts. *FASEB J.* 2011;25(8):2538-50.
258. Gómez-Lechón MJ, Donato MT, Martínez-Romero A, Jiménez N, Castell JV, O'Connor J-E. A human hepatocellular in vitro model to investigate steatosis. *Chem Biol Interact.* 2007;165(2):106-16.
259. Araya J, Rodrigo R, Videla LA, Thielemann L, Orellana M, Pettinelli P, et al. Increase in long-chain polyunsaturated fatty acid n-6/n-3 ratio in relation to hepatic steatosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Sci (Lond).* 2004;106(6):635-43.
260. Cho HP, Nakamura MT, Clarke SD. Cloning, expression, and nutritional regulation of the mammalian Δ -6 desaturase. *J Biol Chem.* 1999;274(1):471-7.
261. Cho HP, Nakamura M, Clarke SD. Cloning, expression, and fatty acid regulation of the human Δ -5 desaturase. *J Biol Chem.* 1999;274(52):37335-9.
262. Arbo I, Halle C, Malik D, Brattbakk H-R, Johansen B. Insulin induces fatty acid desaturase expression in human monocytes. *Scand J Clin Lab Invest.* 2011;71(4):330-9.
263. Cohn JS, Wat E, Kamili A, Tandy S. Dietary phospholipids, hepatic lipid metabolism and cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol.* 2008;19(3):257-62.
264. Jia Y, Kim JY, Jun HJ, Kim SJ, Lee JH, Hoang MH, et al. The natural carotenoid astaxanthin, a PPAR- α agonist and PPAR- γ antagonist, reduces

- hepatic lipid accumulation by rewiring the transcriptome in lipid-loaded hepatocytes. *Mol Nutr Food Res*. 2012;56(6):878-88.
265. Ni Y, Nagashimada M, Zhuge F, Zhan L, Nagata N, Tsutsui A, et al. Astaxanthin prevents and reverses diet-induced insulin resistance and steatohepatitis in mice: A comparison with vitamin E. *Sci Rep*. 2015;5:17192.
266. Wang Y, Botolin D, Xu J, Christian B, Mitchell E, Jayaprakasam B, et al. Regulation of hepatic fatty acid elongase and desaturase expression in diabetes and obesity. *J Lipid Res*. 2006;47(9):2028-41.
267. Moreno-Aliaga MJ, Lorente-Cebrián S, Martínez JA. Regulation of adipokine secretion by n-3 fatty acids. *Proc Nutr Soc*. 2010;69(3):324-32.



8. EKLER

EK 1: Etik Kurul İzini



Kobay DeneY Hayvanları Laboratuvarı Sanayi ve Ticaret A.Ş
I.O.S.B 21. Cd. 520. Sk. No:2/2 Yenimahalle ANKARA
Tel & Fax: 0 (312) 394 70 94
www.kobay.com.tr

KOBAY DHL A.Ş. YEREL ETİK KURULU BAŞVURU ONAYI		
BAŞVURU BİLGİLERİ	Protokol Numarası	226
	Protokol Adı	Krill veya Balık Yağı Verilen Sıçanlarda Obeziteye ve Lipit Gen Ekspresyonuna İlişkin Bazı Parametrelerin İncelenmesi
	Başvuru Tarihi	24.02.2017
	Sorumlu Araştırmacı Adı-Unvanı	Mevra Aydın Çil
	Sorumlu Araştırmacı Çalıştığı Kurum	Erzurum Atatürk Üniversitesi
	Yardımcı Araştırmacılar	
KARAR BİLGİLERİ	Onay Numarası	226
	Onay Tarihi	27.04.2017
	Onaylanan Hayvan Türü ve Sayısı	Wistar Albino Rat 42 adet
	Onay Bilgileri	Proje amaç, gerekece, yaklaşım ve yöntem yönünden incelenmiş ve çalışmanın gerçekleştirilmesinde Etik sakınca bulunmadığına karar verilmiştir.
KOBAY DHL A.Ş. YEREL ETİK KURUL ÜYELERİ	Etik Kurul Başkanı Veteriner Hekim A. Begüm BUĞDAYCI AÇIKKOL	
	Etik Kurul Üyesi Veteriner Hekim Salih SALAR	
	Etik Kurul Üyesi Doç.Dr M.Orhan ULUDAĞ	
	Etik Kurul Üyesi Dr Buğra Adil BUYRUKÇU	
	Etik Kurul Üyesi Dr Can KOŞAL	
	Etik Kurul Üyesi Veteriner Hekim Ergun KARAGENÇ	
	Etik Kurul Üyesi Veteriner Sağlık Teknikeri Ulaş SAÇINTI	
	Etik Kurul Üyesi Turgut ALTUN	
	Etik Kurul Üyesi Oğuz GÜRAY	

EK 2: Krill Yağı Analiz Raporu



CERTIFICATE OF ANALYSIS
 01-503-18
 VERSION 2.0
 07-03-2018
 SUPERBA 2
 PAGE 1 OF 2

IDENTIFICATION:

- Product name: Superba™ 2
- Product number: 62030000
- Batch number: G137/003/A16
- Harvesting position: 60°00S 58°37W
- Manufacturing date: May 16, 2016
- Expiry date: May 14, 2018
- Country of origin: Manufactured at Aker BioMarine Manufacturing LLC in Houston, Texas, US
- Environmental: The environmental data for this batch is reported on the document "Environmental Reporting Sheet".

ANALYTICAL SPECIFICATION:

PARAMETER	METHOD	ACTUAL VALUE	LIMITS	UNIT
Appearance	Visual	Dark Red viscous oil	Dark Red viscous oil	
Identification	Gas Chromatography (FAME)	Conforms	Conforms	
Viscosity at 38°C	Rotational Viscometer	228	≤900	mPa.s
TMA+TMAO	Conway	<1	Report Value	mgN/100g
Salts	ICP / Ion Selective Electrode (ISE)	<0.1	<0.2	g/100g
LIPID COMPOSITION				
Total phospholipids	³¹ P-NMR	45	≥40	g/100g
Phosphatidylcholine ²	³¹ P-NMR	43	≥30	g/100g
Choline	³¹ P-NMR	6	≥ 5	g/100g
FATTY ACID PROFILE				
Total omega-3 fatty acids	Internal method ANA-2014-07 ¹	24.3	≥22.0	g/100g
- C 20:5 n-3 (EPA)	Internal method ANA-2014-07 ¹	12.2	≥12.0	g/100g
- C 22:6 n-3 (DHA)	Internal method ANA-2014-07 ¹	7.1	≥5.5	g/100g
Total omega-6 fatty acids	Internal method ANA-2014-07 ¹	1	≤3	g/100g
EPA and DHA bound to PL	Gas Chromatography (FAME)	13	≥11	g/100g
STABILITY INDEX				
Peroxide value	AOCS Cd 8-53	<1	≤2	mEq peroxide/kg
ANTIOXIDANTS				
Astaxanthin	FCC / USP-NF (UV)	254	≥100	µg/g
Astaxanthin esterification (00) ³	CQ-MO-490 (HPLC)	Conforms	Conforms	
WATER AND ETHANOL				
Water	Karl Fischer	<1	≤2	g/100g
Water activity at 25°C	Moisture probe	0.2	≤0.5	
Ethanol content	Gas Chromatography	1	≤2	g/100g
MICROBIOLOGY				
Total plate count	AOAC 980.12	<10	<1000	cfu/g
Mould and Yeast	FDA-BAM, 7 th ed.	<10	<100	cfu/g
E.Coli	AOAC 991.14	Negative	Negative	In 1g sample
Coliform bacteria, 37°C	AOAC 991.14	<10	<10	cfu/g
Salmonella negative (PCR)	AOAC-R1100201	Negative	Negative	In 25g sample

- 1) Based on USP FCCB Appendix VII (2013) (based on AOCS Ce 1b-66 and AM-ABM-015 (in-house method of V&A)
- 2) Phosphatidylcholine value quoted includes Lysophosphatidylcholine
- 3) Three batches tested annually to assure continued compliance

AKER BIOMARINE ANTARCTICAS
 Oslo, Norway | PO Box 106 13 77, Lørenskog, Norway
 Tel: +47 22 00 00 | Fax: +47 22 12 01 10 | www.akerbio.com

9. ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı ve Soyadı	Mevra Aydın Çil
Doğum yeri ve tarihi	Erzurum, 04/10/1985
Uyruğu	T.C
İletişim adresi	Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Erzurum
Telefon	05055778759

II- Eğitim

Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beslenme ve Diyetetik Doktora Programı	2013-2018
Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Diyetetik Yüksek Lisans	2010-2013
Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Lisans	2004-2008

III- Mesleki deneyim

Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Araştırma görevlisi	2010-
Erzurum Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Diyetisyen	2009-2010
Erzurum Atatürk Üniversitesi Araştırma Hastanesi, Diyetisyen	2008-2009

IV- Bilimsel Faaliyetler

Yayınlar
Vañçelik S, Çankaya CH, Serttaş M, Tunçel K, Arıkan D, Küçükođlu S, Tüfekçi F, Özkan H, Aydın M , Baran G. Erzurum İli, 7-11 Yaş Okul Çocuklarında Obezitenin Önlenmesine Yönelik Yapılan Girişimlerin Etkinliğinin Değerlendirilmesi. Türkiye Klinikleri J Pediatr. 2013;22(2):70-77.
Uyar MF, Dikmen D, Kızıl M, Tengilimoğlu M, Aydın M , Hamurcu E, Beyhan Y. Bir Üniversite Hastanesinin Ortopedi Servisine Yatan Hastaların Toplu Beslenme Hizmetlerinden Memnuniyet Durumlarının Belirlenmesi. Beslenme ve Diyet Dergisi. 2011; 39(1-2):21-27.
Çil MA . Böbrek Transplantasyonu Sonrası Beslenme Tedavisi. Sağlıkla Hemşirelik Dergisi. 2015; 16 (1):52-53
Çil MA , Dokuz B, Arslan C. Liver Cirrhosis and Nutrition Therapy. Journal of Anatolia Nursing and Health Sciences. 2017; 20(3):225-229.
Bildiriler
Çil MA , Samur GE, Çelebioğlu A, Gül MA, Dorman E. Maternal serum ve anne sütünün leptin ve ghrelin düzeyleri arasındaki ilişkinin araştırılması. IX. Uluslararası Beslenme ve Diyetetik Kongresi 2-5 Nisan 2014 Ankara.
Çil MA , Samur GE. Üniversite öğrencilerinin kahvaltı yapma durumu ile beden kütle indeksleri arasındaki ilişkinin araştırılması. IX. Uluslararası Beslenme ve Diyetetik Kongresi 2-5 Nisan 2014 Ankara.
Demir A, Çil MA , Çakmak A. Impacts of Garlic's Organosulfur Compounds on Health. 7th International Conference and Exhibition on Nutraceuticals and Functional Foods 14-17 Ekim 2014 İstanbul.
Demir A, Çil MA . Polyphenols and Drug Interaction. 7th International Conference and Exhibition on Nutraceuticals and Functional Foods 14-17 Ekim 2014 İstanbul.
Çil MA . Karaciğer Sirozu ve Beslenme Tedavisi . 15. Ulusal Hemşirelik Kongresi,

10-12 Eylül 2015 Erzurum.
Cil MA , Gokalp K, Yayla A. Vitamin D and Psychological Status in Dialysis Patient. 39th ESPEN Congress, 9-12 th September 2017 The Hague - Netherlands
Cil MA , Gokalp K, Yayla A, Tan M. Relationship Between Nutrition and Psychological Status in Dialysis Patient. 39th ESPEN Congress, 9-12 th September 2017 The Hague - Netherlands
Cil MA , Samur GE, Gül MA. Maternal Serum and Breast Milk Hormones and Weight Gain in Infancy. 39th ESPEN Congress, 9-12 th September 2017 The Hague - Netherlands
Kitap Bölümleri
Atatürk Üniversitesi Açık Öğretim Fakültesi Çocuk Beslenmesi Dersi “Besin Hazırlama, Saklama ve Sunumu Değerlendirme – I” bölümü yazarlığı
Atatürk Üniversitesi Açık Öğretim Fakültesi Çocuk Beslenmesi Dersi “Besin Hazırlama, Saklama ve Sunumu Değerlendirme – II” bölümü yazarlığı
Burslar/Ödüller
Tübitak 2211-Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı
IX. Uluslararası Beslenme ve Diyetetik Kongresi poster bildiri birincilik ödülü
Projeler
Erzurum İli 7-11 Yaş Okul Çocuklarında Sağlıklı Beslenme Alışkanlıklarının Kazandırılması ve Obezitenin Önlenmesi. Araştırmacı, Koç Vakfı Projesi 2011.
Anne Sütü ve Maternal Serum Leptin ve Ghrelin Düzeyi ile Anneye ve Bebeğe Ait Bazı Antropometrik Veriler ve Beslenme Durumu Arasındaki İlişkinin Araştırılması. Atatürk Üniversitesi, BAP 2011-2013.
Hemodiyaliz ve SADP Hastalarının Beslenme, Malnutrisyon ve Psikolojik Durumlarının Belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi, BAP 2011-2013.
Kongre ve Sempozyumlar
I. Ulusal Beslenme ve Diyetetik Öğrenci Kongresi

VI. Uluslararası Beslenme ve Diyetetik Kongresi
VII. Uluslararası Beslenme ve Diyetetik Kongresi
IX. Uluslararası Beslenme ve Diyetetik Kongresi
7th International Conference and Exhibition on Nutraceuticals and Functional Foods
15. Ulusal Hemşirelik Kongresi
Spor ve Beslenme Sempozyumu
II. Ulusal Beslenme ve Diyetetik Öğrenci Kongresi
39th ESPEN Congress