



**DIYETSEL YAĞ MANİPÜLASYONU İLE
OLUŞTURULAN OBEZİTENİN BİR SONRAKİ
NESİL ÜZERİNDE ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ: ZEBRA BALIĞI MODELLEMESİ**

Medine TÜRKOĞLU

Yüksek Lisans Tezi

Nanobilim ve Nanomühendislik Anabilim Dalı

2020

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
NANOBİLİM ve NANOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DİYETSEL YAĞ MANİPÜLASYONU İLE OLUŞTURULAN OBEZİTENİN BİR
SONRAKİ NESİL ÜZERİNDE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ: ZEBRA BALIĞI
MODELLEMESİ**

(Investigation of the Effects of Obesity Created By Dietary Oil Manipulation on the Next
Generation: Zebra Fish Modeling)

Medine TÜRKOĞLU

Danışman: Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN

Erzurum
Haziran, 2020

KABUL VE ONAY TUTANAĞI

Medine Türkoğlu tarafından hazırlanan “Diyetsel Yağ Manipülasyonu İle Oluşturulan Obezitenin Bir Sonraki Nesil Üzerinde Etkilerinin İncelenmesi: Zebra Balığı Modellemesi” başlıklı çalışması 08 / 07 / 2020 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından Nanobilim ve Nanomühendislik Ana Bilim Dalı, Nanobilim ve Nanomühendislik Bilim Dalında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Hayrunnisa Nadaroğlu
Atatürk Üniversitesi
Danışman: Prof. Dr. Saltuk Buğrahan Ceyhun
Atatürk Üniversitesi
Jüri Üyesi: Dr. Öğr. Üyesi Mine Köktürk
Iğdır Üniversitesi

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Mehmet KARAKAN
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak Prof. Dr. Saltuk Buğrahan Ceyhun danışmanlığında sunulan “Diyetsel Yağ Manipülasyonu İle Oluşturulan Obezitenin Bir Sonraki Nesil Üzerinde Etkilerinin İncelenmesi: Zebra Balığı Modellemesi” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	9	30
Kaynak Özetleri	25	30
Materyal ve Yöntem	2	35
Bulgular	2	20
Tartışma	4	20
Tezin Geneli	8	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Medine Türkoğlu	Prof. Dr. Saltuk Buğrahan Ceyhun
08.07.2020	08.07.2020
İmza:	İmza:

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca; bilime her açıdan farklı bakış açısı kazanmamı sağlayan, tüm bilgilerini ve tecrübelerini en hassas şekilde paylaştan danışman hocam Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN' a teşekkürlerimi en içten sunuyorum,

Dr. Öğr. Üyesi Alper BARAN, Dr. Öğr. Üyesi Mine KÖKTÜRK ve tüm hocalarıma,

Laboratuvar çalışmam boyunca tüm işlemlerde bana yardımcı olan Ekrem Sulukan, Atena Ghosigharehaghaji ve Meryem Kankaynar'a,

Lisans eğitiminden beri her türlü problemimde ve sıkıntıda varlığını yanımda hissettiğim arkadaşlarım; Dyt. Zeynep Albay, Gıda Müh. Sevda Can, Ecz. Merve Bülbüller, Biyokimya Uzm. Hacer ERDEM, Dr. Nida OKUTUCU, Öğrt. Kübra ÇOŞKUN ve Uzm. Dyt. Meryem BASETEMUR'a,

Çalışmalarım ve hayatımın her aşamasında maddi ve manevi desteklerini her zaman hissettiğim başta babam Salih Türkoğlu, annem Nurten Türkoğlu ve tüm kardeşlerime,

Hayatı anlamamı sağlayan ve bakış açımı her zaman güzele yönlendiren; güzel görmenin güzel düşünmeye, güzel düşünmenin hayatı güzelleştireceğine olan inancını hep hissettiren sevgili nişanlım Şahin GENÇ'e,

Her dakikamı güzelleştiren, bu süre zarfındaki stresime, sıkıntıma her zaman katlanan tüm arkadaşlarıma sabır ve anlayışlarından dolayı teşekkür ederim.

Medine TÜRKOĞLU

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DİYETSEL YAĞ MANİPÜLASYONU İLE OLUŞTURULAN OBEZİTENİN BİR SONRAKİ NESİL ÜZERİNDE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ: ZEBRA BALIĞI MODELLEMESİ

Medine TÜRKOĞLU

Danışman: Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN

Amaç: Obezite, Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre önlenabilir ölüm nedenlerinin en başında gelen ikinci sağlık sorunudur. Obezite komplikasyonun tetikleyicisi olabilmektedir. Bu durum gelecek nesiller için daha da fazla sorun teşkil etmektedir. Amaç obezitenin moleküler ve bilişsel yolaklarını araştırmaktır.

Yöntem: Bu tez çalışmasında iki farklı diyetlerle (yüksek yağlı (YY), yüksek karbonhidratlı (YK)) beslenen zebra balıklarında diyetle bağlı obezite oluşturuldu. Obez zebra balıklarında anksiyete benzeri davranışlar, beyinde meydana gelen deformasyonlar, iştah ve lipit/karbonhidrat metabolizmasında görevli çeşitli genlerin gen ekspresyon seviyeleri incelenmiştir. Ayrıca obez balıklardan alınan yavrularda, obezitenin bir sonraki nesil üzerindeki etkileri davranışsal ve moleküle düzeyde incelenmiştir.

Bulgular: Elde edilen sonuçlara göre, YK diyetle beslenen balıklarda beden kitle indeksinin (BMI) YY diyetle beslenen balıklara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Obez zebra balıklarında YK diyetin anksiyolitik, YY diyetin ise anksiyojenik bir etki gösterdiği gözlenmiştir. Ayrıca beyin örneklerinden edilen immünohistokimyasal ve histopatoloji sonuçlarına göre YY diyetin daha fazla hasara neden olduğu tespit edilmiştir. İştah ve lipit/karbonhidrat metabolizmasında görevli çeşitli genlerin gen ekspresyon seviyelerinde diyet grupları arasında önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Yeni nesil analiz sonuçlarına göre, YY diyetin yavrularının vücutlarında önemli derecede yüksek yağ damlacıkları tespit edilmiştir. Larvalarda yapılan davranış testine göre YY diyetin yavrularında hareketin düştüğü, kalp atım ritminin önemli ölçüde değişmediği görülmüştür. Ayrıca kan akışının her iki diyetin larvalarında, kontrol grubuna göre önemli düzeyde düştüğü tespit edilmiştir. Larvalardaki gen ekspresyon seviyelerinin ebeveynlerinininkine benzer olduğu saptanmıştır.

Sonuç: Sonuç olarak beslenme profilinde yapılan değişiklikler; hem ebeveynin hem de yavrunun, obezitede önemli gen bölgelerinin ekspresyonunda farklılıklara sebep olmuş, bununla birlikte morfolojik, fizyolojik ve nöral parametrelerde bozulmalara neden olmuştur.

Anahtar Kelimeler: Obezite, yüksek yağlı diyet, yüksek karbonhidratlı diyet, iştah genleri, zebra balığı, davranış değişikliği, gen ekspresyonu

Temmuz 2020, 100 sayfa

ABSTRACT

MASTER THESIS

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF OBESITY CREATED BY DIETARY OIL MANIPULATION ON THE NEXT GENERATION: ZEBRA FISH MODELING

Medine TÜRKOĞLU

Supervisor: Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN

Purpose: Obesity, according to the data of the World Health Organization, is the second most important health problem that can be prevented. Obesity can be the trigger of the complication. This poses even more problems for future generations. The aim is to investigate the molecular and cognitive pathways of obesity.

Method: In this thesis, diet-related obesity was created in zebrafish that fed two different diets (high-fat (YY), high-carb (YK)). The gene expression levels of various genes involved in anxiety-like behavior, deformations in the brain, appetite and lipid / carbohydrate metabolism in obese zebrafish have been investigated. In addition, the effects of obesity on the next generation in the offspring from obese fish were investigated at the behavioral and molecular level.

Findings: According to the results obtained, body mass index (BMI) was found to be higher in fish fed with YK diet than fish fed with YY diet. In obese zebrafish, it has been observed that the YC diet has an anxiolytic and YY diet has an anxiogenic effect. In addition, according to the immunohistochemical and histopathology results obtained from brain samples, the YY diet was found to cause more damage. Significant differences were found between dietary groups at the gene expression levels of various genes involved in appetite and lipid / carbohydrate metabolism. According to the results of the new generation analysis, significantly higher fat droplets were detected in the body of the offspring of the YY diet. According to the behavioral test performed on the larvae, it was observed that the movement of the YY diet decreased, and the rhythm of the heart did not change significantly. In addition, it was found that the blood flow decreased significantly in the larvae of both diets compared to the control group. The gene expression levels in the larvae were found to be similar to that of the parents.

Results: As a result, changes in the nutritional profile; Both parent and offspring caused differences in the expression of important gene regions in obesity, however, they caused disruptions in morphological, physiological and neural parameters.

Keywords: Obesity, high-fat diet, high-carb diet, appetite genes, zebrafish, behavior change, gene expression

July 2020, 100 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
GİRİŞ.....	1
Obezite ve Epidemiyolojisi	2
Obezite ve diyabet.....	5
Obezite ve metabolik sendrom.....	5
Obezite ve karaciğer hastalıkları.....	6
Obezite ve solunum sistemi hastalıkları.....	6
Obezite ve kardiovasküler hastalıklar.	7
Obezite ve kanser.	7
Obezite ve psikolojik bozukluklar.	7
Obezite ve anksiyete.	8
Obezite ve tedavi yöntemleri.	8
Lipit Metabolizması	9
Leptin.	10
Ghrelin.....	12
Nöropeptit Y.	13
Lipit metabolizmasında görevli diğer genler.	15
Zebra Balığı İle Çalışmanın Avantajları	17
KAYNAK ÖZETLERİ.....	18
MATERYAL ve METOD	28
Balık Materyali.....	28
Deneyde Kullanılacak Balıkların Bakımı	28
Yüksek Yağlı ve Yüksek Karbonhidratlı Yem Formülasyonunun Hazırlanması.....	30

Besleme Öncesi ve Sonrası Kantitatif Ölçümlerin Yapılması(Kilo, Boy ölçümü).....	31
Deneyde Kullanılacak Balıklarda Gen Expresyon Analizi	31
Total RNA izolasyonu.....	32
cDNA sentezi.	32
Real-time PCR.	32
Primerlerin tasarımı.....	33
Deneyde Kullanılan (Yetişkin ve Larva) Balıklarda Davranış Testi	33
Deneyde Kullanılan Yetişkin Balıkların Organlarının Çıkarılması(Diseksiyon İşlemi) ..	34
Deneyde Kullanılan Yetişkin Zebra Balık Dokularında İmmünoflüoresan Boyama İşlemi.....	37
Deneyde Kullanılan Yetişkin Zebra Balık Dokularında Histopatoloji Tayini.....	38
Deneydeki Larvaların Fizyolojik ve Morfolojik Değerlendirmesi	38
Reaktif Oksijen Türevlerini CM-H2DCFDA İndikatörü İle Boyayarak Oksidatif Stresin Belirlenmesi	39
Apoptotik Hücrelerin Tayin Edilmesi.....	39
Vücuttaki Lipit Düzeyinin Görüntülenmesi (Nile-Red (C20-H18-N2-O2) Boyama)	39
Göz Boyutu, Kalp Atışı ve Kardiyak Aktivitenin Belirlenmesi	40
BULGULAR VE SONUÇLAR	41
Araştırma Boyunca Kullanılan Yetişkin Zebra Balıklarının Sonuçları	41
Balıkların kilo ve boy ölçüm sonuçları.	41
Araştırma boyunca kullanılan balıkların davranış testi sonuçları.	43
Araştırmada kullanılan balıkların histopatoloji sonuçları.	44
Araştırmada kullanılan balıkların immünofloüresans boyama sonuçları.....	45
Araştırmada kullanılan balıkların gen ekspresyon sonuçları.	46
Araştırmada Kullanılan Balıklardan Alınan Larvaların Sonuçları.....	47
Balık larvalarının morfolojik ve fizyolojik sonuçları.....	47
Reaktif oksijen türevlerini CM-H2DCFDA indikatörü ile oksidatif stresin belirlenmesinin sonuçları.	54
Apoptotik hücrelerin tayini sonuçları.....	54
Vücuttaki lipit düzeyinin görüntülenme (Nile-Red (C20-H18-N2-O2) boyama) sonuçları.	55
Göz boyutu, kalp atışı ve kardiyak aktivitenin sonuçları.	55
Zebra balığı larvalarında davranış testi sonuçları.	56
Zebra balığı larvalarında gen ekspresyon sonuçları.....	57
İstatistik Analiz	58

TARTIŞMA VE SONUÇ	60
KAYNAKLAR.....	71
EKLER	80
EK-1. E3 HAZIRLANIŞI	80
EK-2. PBS (PHOSPHATE BUFFERED SALİNE) (1X LİK)	81
EK-3. ARAŞTIRMADA KULLANILAN TÜM GEN BÖLGELERİNİN DİZİLİMİ..	82
ÖZGEÇMİŞ.....	83



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Türkiye’de Yapılmış Çalışmalar ve Karşılaştırmalı Obezite Sıklıkları (Satman, 2011)	2
Tablo 2. Kontrol Besleme Grubunun Başlangıç Boy-Kilo Ölçümü	41
Tablo 3. Yüksek Karbonhidratlı Besleme Grubunun Başlangıç Boy-Kilo Ölçümü.....	41
Tablo 4. Yüksek Yağlı Besleme Grubunun Başlangıç Boy-Kilo Ölçümü	42
Tablo 5. Kontrol Besleme Grubunun Bitiş Kilo-Boy Ölçümleri.....	42
Tablo 6. Yüksek Karbonhidratlı Besleme Grubunun Bitiş Kilo-Boy Ölçümleri	42
Tablo 7. Yüksek Yağlı Beslenme Grubunun Bitiş Kilo-Boy Ölçümü	43
Tablo 8. İmmünoflüoresan ve histopatolojik bulguların pozitiflik derecesi (yok (-), hafif (+), orta (++) , şiddetli (+++)).....	46
Tablo 9. Hayatta Kalma Oranı (hpf: fertilizasyon sonrası geçen süre).....	51
Tablo 10. Yumurtadan Çıkış Oranı (hpf: fertilizasyon sonrası geçen süre).	52
Tablo 11. Malformasyon Oranı.	52

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. WHO-NCD-RisC 2018 Türkiye obezite seyir grafiği	1
Şekil 2. Tüm dünyada obezitenin prevalansı yaşa ve cinsiyete göre	3
Şekil 3. NUTS1 bölgelerine göre erkek ve kadınlarda obezite sıklığı	4
Şekil 4. Obezitenin neden olduğu komplikasyonlar.....	5
Şekil 5. WHO' ya göre metabolik sendrom tanı kriterleri.	6
Şekil 6. Obezite tedavisinde kullanılan yöntemler.	9
Şekil 7. Leptin seviyesini düzenleyen faktörler.	10
Şekil 8. Zebra balığı embriyo gelişim evresi.....	17
Şekil 9. Zebra balığı kapalı devre sistemi.	29
Şekil 10. Çalışmamızda uyguladığımız besleme şeması.	30
Şekil 11 Hazırlanmış yem Formülasyonunun 100 gr göre içeriği, yem kompozisyonu ve kalori değerleri (HF: yüksek yağlı diyet, HC: yüksek karbonhidratlı diyet, SFD: standart pul yem).....	31
Şekil 12. Yetişkin zebra balıklarının davranış testinin yapıldığı ortam (A) ve Daniovision cihazı (B).....	34
Şekil 13. Zebra balıklarının anestezi sonrası kesin işlemleri.	34
Şekil 14. Yüksek yağlı diyet ile beslenen dişi zebra balıklarının doku örnekleri.	35
Şekil 15. Yüksek yağlı diyet ile beslenen erkek zebra balıklarının doku örnekleri.	35
Şekil 16. Düşük yağlı diyet ile beslenen dişi zebra balıklarının doku örnekleri.	36
Şekil 17. Düşük yağlı diyet ile beslenen erkek zebra balıklarının doku örnekleri.	36
Şekil 18. Danioscope yazılımı ile larva zebra balıklarının fizyolojik ve morfolojik parametrelerinin değerlendirme şekilleri.	40
Şekil 19 Araştırmada kullanılan balıkların BMI değişim grafiği (YY: Yüksek karbonhidrat diyeti, YF: yüksek yağ diyeti).....	43
Şekil 20. Yetişkin balıklarda yapılan davranış testinin sonuçları (YK: yüksek karbonhidrat, YF: yüksek yağ).....	44
Şekil 21. Tüm diyet gruplarının karaciğer dokusunun histolojik görünümü (YK: yüksek karbonhidrat, YF: yüksek yağ).....	45
Şekil 22. Tüm diyet gruplarının kalp dokusu histolojik görünümü (YK: yüksek karbonhidrat, YF: yüksek yağ).....	45

Şekil 23. Tüm grupların immünofloüresan görüntüleme sonuçları (YF: yüksek yağ, YK: yüksek karbonhidrat).....	46
Şekil 24. Araştırmada kullanılan balıkların hem cinsiyet ayırımına göre hem de toplu halde gen ekspresyon analizi (YK: yüksek karbonhidrat, YY: yüksek yağ, D; dişi zebra balığı, E; erkek zebra balığı).	47
Şekil 25. Zebra balığı embriyolarının 24. saat görüntüleri (Y.K: yüksek karbonhidratlı besleme grubu, Y.Y: yüksek yağlı besleme grubu, hpf: fertilizasyon sonrası geçen süre).....	48
Şekil 26. Zebra balığı embriyolarının 48. saat görüntüleri (Y.K: yüksek karbonhidratlı besleme grubu, Y.Y: yüksek yağlı besleme grubu, hpf: fertilizasyon sonrası geçen süre).....	48
Şekil 27. Kontrol grubu 72. saat larva fotoğrafları (hpf: fertilizasyon sonrası geçen süre).	49
Şekil 28. Yüksek karbonhidratlı diyet grubu 72. saat larva fotoğrafları (Y.K: yüksek karbonhidratlı, hpf: fertilizasyon sonrası geçen süre).	49
Şekil 29. Yüksek yağlı diyet besleme grubunun 72. saat larva fotoğrafları (Y.Y: yüksek yağlı, hpf: fertilizasyon sonrası geçen süre).....	50
Şekil 30. Kontrol grubu 96. saat larva fotoğrafları (hpf: fertilizasyon sonrası geçen süre).	50
Şekil 31. Yüksek karbonhidratlı diyet grubu 96. saat larva fotoğrafları (Y.K: yüksek karbonhidratlı, hpf: fertilizasyon sonrası geçen süre).	51
Şekil 32. Yüksek yağlı diyet grubu 96. saat larva fotoğrafları (Y.Y: yüksek yağlı, hpf: fertilizasyon sonrası geçen süre).	51
Şekil 33. Hayatta kalma (yaşam) Oranı (YK: yüksek karbonhidrat, YF: yüksek yağ).....	52
Şekil 34. Yumurtadan çıkış oranı (hpf: fertilizasyon sonrası geçen süre, YK: yüksek karbonhidrat, YF: yüksek yağ).....	53
Şekil 35. Vücut anormallikleri (PO: perikardiyak ödem, YS0: yumurta kesesi ödemi, OA: omurga anormalisi, KA: kuyruk anormalisi, YK: yüksek karbonhidratlı besleme grubu, YF: yüksek yağlı besleme grubu).	53
Şekil 36. CM-H2DCFDA indikatörü floüresan sonucu (YK: yüksek karbonhidrat, YF: yüksek yağ)i	54
Şekil 37. Larvalardaki Apoptotik hücre tayini flüoresan değerleri (YF: yüksek yağ, YK: yüksek karbonhidrat).....	54
Şekil 38. Nil Kırmızı ile boyanan grupların flüoresan görüntüsü (YY: yüksek yağlı, YK: yüksek karbonhidratlı).	55
Şekil 39. Larvaların gelişim dönemlerine göre boy uzunluğu ve göz çapı grafiği (Hpf: gelişim dönemleri saat bazında, YY: yüksek yağ, YK: yüksek karbonhidrat).....	55

Şekil 40. Larvalarda kalp dokunun oluşturduğu alanın ölçüm grafiği (YY: yüksek yağlı, YK: yüksek karbonhidratlı, Hpf: saat bazından gelişim zamanı).	56
Şekil 41. Farklı diyet ile beslenen gruplardan alınan larvaların kalp atış sayısı ve kan akış hızı değişim grafikleri (YK: yüksek karbonhidrat, YY: yüksek yağ).	56
Şekil 42. Larvaların karanlık ortamda, aydınlık ortamda ve toplam zamanda aldıkları mesafe ve thigmotaxis ölçümü(YY: yüksek yağ, YK: yüksek karbonhidrat).	57
Şekil 43. Farklı diyet programları ile beslenen zebra balıklarından alınan larvalarda gen ekspresyon analiz sonucu(YY: yüksek yağlı, YK: yüksek karbonhidratlı)	58
Şekil 44. Zebra balığı, insan ve farenin karşılaştırmalı embriyonik gelişim süreci (sant & timme-laragy, 2018).	65



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AgRP	Agouti İle İlişkili Protein
AO	Akridin Oranj
BMI	Beden Kitle İndeksi
BPM	Kalp Atım Sayısı
CNS	Merkezi Sinir Sistemi
dk	Dakika
DM	Diyabetes Mellitus
FABP	Yağ Asidi Bağlayıcı Protein
FASN	Yağ Asidi sentaz
FEV1	Zorlu Ekspiratuar Hacim
FVC	Zorlu Vital Kapasite
GH	Büyüme Hormonu
GHSR	Büyüme Hormonu Salgılatıcı Reseptör
Gr	Gram
IARC	Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
ICV	İntraserebral ventriküler
KBB	Kan Beyin Bariyeri
KVH	Kardiovasküler Hastalıklar
LC-HF	Düşük Karbonhidrat-Yüksek Yağ
LDL-C	Lipoprotein Kolesterol
LepR	Leptin Reseptörleri
LepRb	Leptin Reseptörünün Uzun İzofomu
LPL	Lipoprotein lipaz
lt	Litre
ml	mililitre
mm	milimetre
NAFLD	Alkolsüz Yağlı Karaciğer Hastalığı
NCD-RisC	Bulaşıcı Olmayan Hastalıklar Risk Faktörleri İşbirliği
ng	Nanogram
nm	Nanometre
NPY	Nöropeptit-Y

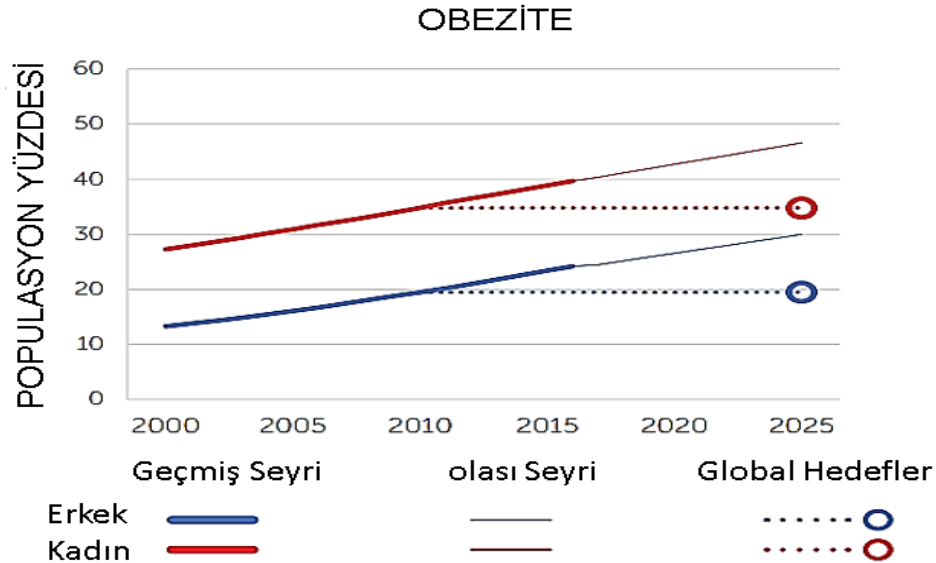
NUTS1	İstatistiki Bölge Birimleri Sınıflaması
PBS	Phosphate Buffered Saline
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
POMC	Protiomelanokortin
PPAR	Peroksizom Proliferatör İle Aktive Edilen Reseptörler
RNA	Ribo Nükleik Asit
ROS	Reaktif Oksijen Türevleri
sn	Saniye
T2DM	Tip 2 Diyabetes Mellitus
TURDEP	Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
Y.K	Yüksek Karbonhidrat Diyet ile Beslenen Grup
Y.Y	Yüksek Yağlı Diyet ile Beslenen Grup
µl	mikrolitre

GİRİŞ

Obezite; obezite, genellikle hafif, kronik, sistemik inflamasyonun eşlik ettiği aşırı yağ dokusu birikimi ile birlikte orantısız bir vücut ağırlığı olarak tanımlanır. Artan yağ birikimi; kalori alımı ve enerji harcaması arasındaki dengesizlikten kaynaklanır. Bu görüşe göre, obezite düşük fiziksel aktivitenin (yerleşik bir yaşam tarzı) ve yüksek enerji veren gıdaların bireyin gereksinimlerinin üzerinde tüketilmesinin sonucudur (González-Muniesa et al., 2017). Obezite ilk olarak 1948'de Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından bir hastalık olarak tanınmıştır (Adams & Cory, 1998).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) obezitenin, yayılma hızına bakarak bulunduğumuz yüzyıl ve sonrasında en önemli sağlık sorunu olacağını bildirir. WHO'ya göre, dünya genelinde 2016 yılında 1,9 milyar fazla kilolu ve 650 milyon obez yetişkin olduğu ihtimali çok yüksektir. Bulaşıcı Olmayan Hastalıklar Risk Faktörleri İşbirliği (Non Communicable Diseases Risk Factor Collaboration: NCD-RisC) Grubu'nun yaptığı tahminlere göre dünya genelinde yetişkin (18 yaş ve üzeri) nüfusta, yaşa göre oluşturulmuş obezite prevalansı, 1975 yılından 2017 yılına kadar neredeyse 3 kat artmıştır. Genellikle Avrupa ülkelerinde prevalansı artan obezitenin; 21 yüzyılda dünya genelinde ciddi bir artış göstermesi sağlık harcamalarının seyrini değiştirmiştir (Organization, 2018).

Bulaşıcı Olmayan Hastalıklar Risk Faktörleri İşbirliği (NCD-RisC)'nin Türkiye raporuna göre obezitenin olası seyri ve global hedefler grafiği Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. WHO-NCD-RisC 2018 Türkiye obezite seyir grafiği (Organization, 2018)

Obezite ve Epidemiyolojisi

Obezite ile ilgili yapılan epidemiyolojik çalışmalarda; yaş, cinsiyet, eğitim durumu, medeni hali, genetik yapısı, beslenme durumu, fiziksel aktivite hali, kötü alışkanlıklar gibi çeşitli faktörler obezitenin gelişiminde rol oynamaktadır (Satman, 2011).

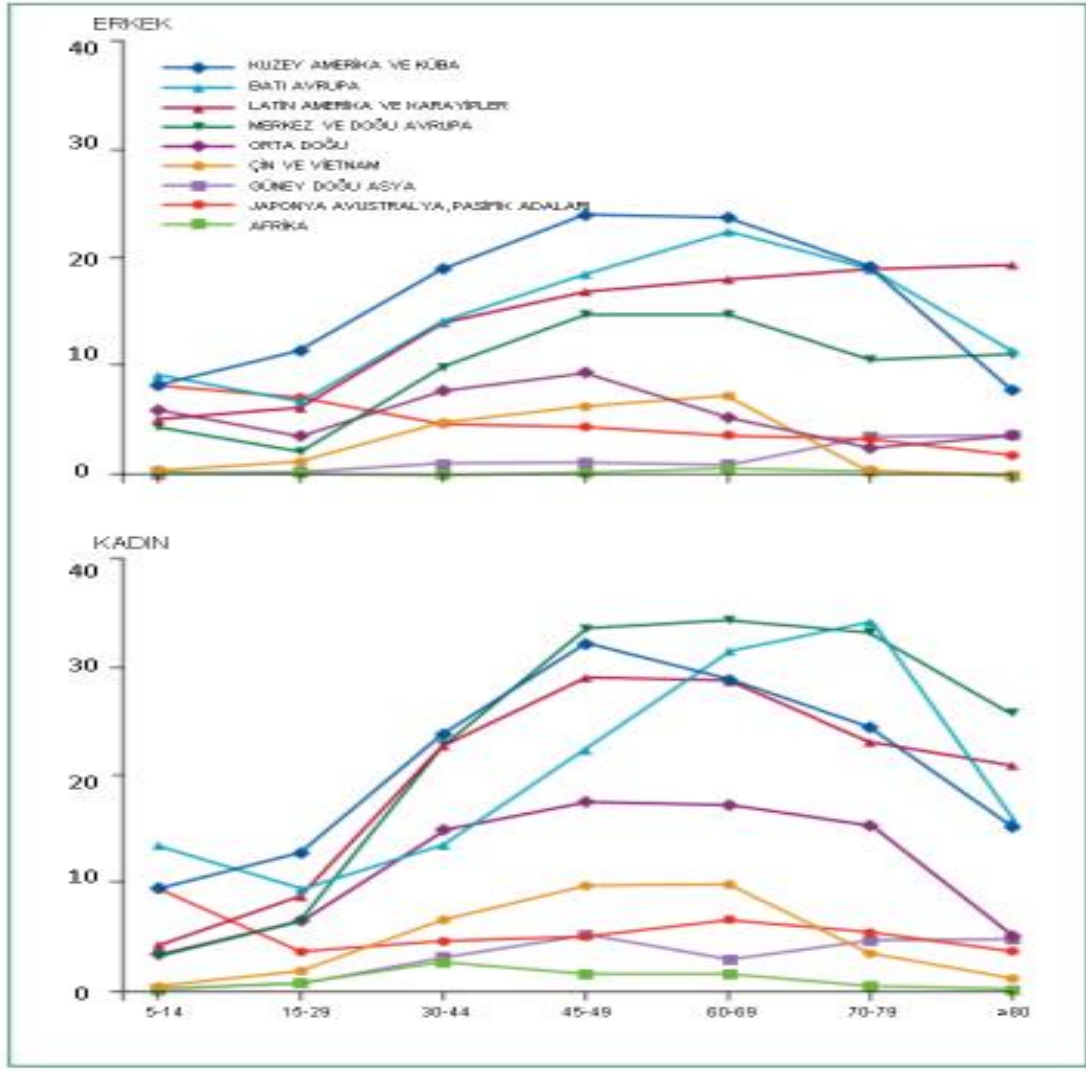
Ülkemizde obezite sıklığı yetişkinlerde belirgin şekilde yüksektir ve bu durum diğer ülkelerde olduğu gibi giderek artmaktadır. Türkiye’de yapılan; (Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması (TURDEP)), 1. çalışmasına (1997) göre 25 yaş üstü erkeklerde obezite sıklığı yüzde 12.8, kadınlarda yüzde 29.2’dir. 2010 yılında yapılan TURDEP-2 çalışmasında ise 20 yaş üstü erkeklerde obezite sıklığı yüzde 27.3, kadınlarda yüzde 44.2 olarak belirlenmiştir (Satman, 2011).

Türkiye’de yapılan araştırmalara göre kentsel bölgelerde kırsal bölgelere göre obezitenin daha sık görüldüğü belirlenmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Türkiye’de Yapılmış Çalışmalar ve Karşılaştırmalı Obezite Sıklıkları (Satman, 2011)

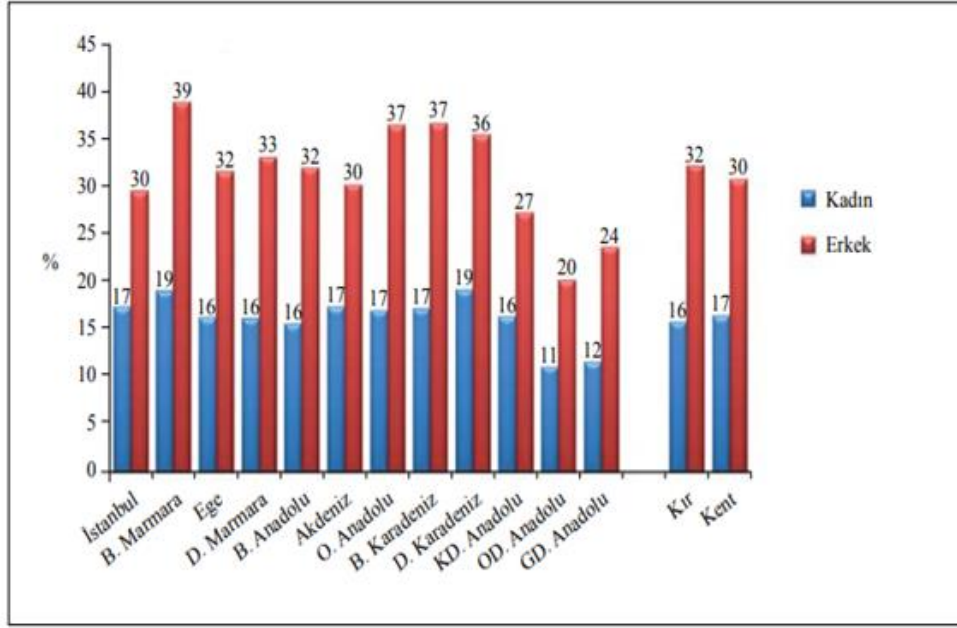
	TEKHARF	TURDEP 1(4)	Delibaş T. (11)	METSAR (10)	TURDEP 11(5)	TKrHRF Çalışması
Yaş grubu	≥ 20 yaş	≥ 20 yaş	≥ 18 yaş	≥ 20 yaş	≥ 20 yaş	≥ 15 yaş
Çalışma yılı ve özellikleri	1990 Türkiye’nin 7 bölgesindeki 32 kentsel ve 27 kırsal merkezde yapılmış. Örnek seçme yöntemi olasılıklı değil.	1997-1998 Kır-kent, bölge dağılımı dikkate alınarak örnek seçilmiş, 24788 kişi	1999-2000 Türkiye’yi temsil edeceği düşünülen altı kentten 3570 haneden, 8674 kişide yapılmış	2006 Kır-kent, bölge dağılımı dikkate alınarak seçilen 2110 erkek 2154 kadın da yapılmış	2010 15 ilden 540 merkezde, rasgele seçilip davet edilen 20 yaş ve üzerinde 26499 kişi katılmış	2011 81 ildeki her aile hekiminin 15 yaş üstü nüfusuna kayıtlı 2 kişi rasgele olarak örneklenmiş, 18444 kişi
Bulunan sıklık (kaba hız)	Erkek: %12.8, Kadın: %29.2	Erkek: % 13.2, Kadın: %32.9, Toplam: %22.3	Erkek: %7.8, Kadın: %22.1, Toplam: %15,6	Erkek: %20,6 Kadın: %39.9	Erkek: %25.6, Kadın: %41.7	Erkek: %16,2 Kadın: %31.1 Toplam: %24.1 Erkek: %17.9* Kadın: %34.0* Toplam: %26.4*

Obezitenin Dünya genelinde önemli bir hastalık olduğu Şekil 2’de tam anlamı ile gösterilmektedir. Şekil WHO’ nun ana analiz sonuçlarına göre düzenlenmiştir (dr. david w haslam 2005).



Şekil 2. Tüm dünyada obezitenin prevalansı yaşa ve cinsiyete göre (dr. david w haslam 2005)

Tüm NUTS1 (İstatistiki Bölge Birimleri Sınıflaması) bölgelerinde obezite frekansı kadınlarda erkeklere göre daha yüksektir. Batı Marmara, Batı Karadeniz, Doğu Karadeniz ve Orta Anadolu; kadınlarda obezitenin belirgin bir şekilde yüksek olduğu bölgelerdir. Erkeklerde obezitenin en düşük olduğu bölgeler; Ortadoğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu'dur ("Standards of Medical Care in Diabetes—2014," 2014) (Şekil 3).



Şekil 3. NUTS1 bölgelerine göre erkek ve kadınlarda obezite sıklığı ("Standards of Medical Care in Diabetes—2014," 2014).

Obezite; metabolik sendrom, tip2 diyabet, kandaki yüksek kan kolesterolü ve yüksek trigliserit düzeyi, kalp hastalıkları, yüksek tansiyon, ateroskleroz, kalp krizi ve felç, obstrüktif uyku apnesi, astım ve obezite hipoventilasyon sendromu gibi solunum sorunları, alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD), osteoartrit, safra kesesi rahatsızlığı, düşük özgüven veya depresyon gibi duygusal sağlık sorunları, kanser (yemek borusu, pankreas, kolon, rektum, böbrek, endometriyum, yumurtalıklar, safra kesesi, meme veya karaciğer gibi) ve daha fazla artırılabilir çeşitli komplikasyonlara neden olmaktadır (Services, 2019) (Şekil 4).



Şekil 4. Obezitenin neden olduğu komplikasyonlar.

Obezite ve diyabet.

Diabetes mellitus; hiperglisemi (tip 1 diyabet, tip 2 diyabet, gestasyonel diyabet, gençlerin olgunlukta başlayan diyabeti, ilaca bağlı diyabet, pankreas hasarına bağlı ikincil diyabet) ile karakterize edilen oldukça çeşitli bir metabolik bozukluk grubudur ("Standards of Medical Care in Diabetes—2014," 2014). Tip 2 diyabet yetişkinlerde teşhis edilen tüm diyabetik vakaların % 90'ını oluşturur ve tipik olarak çeşitli obezite derecelerinin varlığı ile ilişkilidir (Field et al., 2001). Çoğu ülkeyi kapsayan geniş ölçekli çalışmalar, obezitenin, insülin direnci ve tip 2 diyabet için en önemli ve bağımsız risk faktörü olduğunu göstermiştir (Chan, Rimm, Colditz, Stampfer, & Willett, 1994), (Wannamethee & Shaper, 1999).

Obezite ve metabolik sendrom.

Glikoz intoleransı, dislipidemi ve sık sık birlikte insülin direncinin etrafında dönerek kümelenen hipertansiyon gibi bir takım metabolik anormallikleri tanımlamak için "Sendrom X" terimi önerilmiştir (Reaven, 1988). Tüm bu bozukluklar ve bunlara ek olarak bağımsız kalp damar hastalıklarının olması, sendromun "ölümcül dördlü" olarak tanımlanmasına yol açar ve buda yüksek morbidite ve mortalite ile ilişkilendirilir (Zavaroni et al., 1994). WHO'ya göre Metabolik sendromun tanı kriterleri Şekil 5'de belirtilmiştir.

Diyabetes Mellitus(DM)
Bozulmuş Glikoz Toleransı
İnsulin Direnci

- bunlardan en az biri

Hipertansiyon
Dislipidemi
Abdominal Obezite

- bunların da en az 2 si

Şekil 5. WHO' ya göre metabolik sendrom tanı kriterleri.

Metabolik sendrom teşhisinde ortaya çıkan riske paralel olarak; yaş, cinsiyet, sigara, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-C) plazma seviyeleri ve diğer obezite gibi ek risk faktörlerinin vurgulanması önemlidir (Jarrett, 2005).

Obezite ve karaciğer hastalıkları.

Karaciğer yetişkinlerde bulunan en büyük organdır. Vücut ağırlığının %2-3'ünü oluşturur ve toplam oksijen tüketiminin %25-30' unu oluşturur. Normal hepatik fonksiyon, metabolik homeostazı korumak için önemlidir. Karbonhidrat, lipit ve protein metabolizmasını düzenlemek için karaciğer ve yağ dokusu arasında çapraz bir ilişki vardır (Fabbrini, Sullivan, & Klein, 2010). Obezite, karaciğerde ektopik yağ birikimi ve insülin direncinin yanı sıra, hiperinsülinemi ve hiperglisemiye de neden olabilir. Bu, karaciğer fonksiyonlarını bozabilir ve dolaşımdaki karaciğer enzim seviyelerinin yükselmesi ile steatozun lokal inflamasyona (steatohepatit), siroz, karaciğer yetmezliğine ve hatta karaciğer kanserine kadar uzanan bir anormallik yelpazesine yol açabilir (Qureshi & Abrams, 2007), (Rinella, 2015). Obezite ve karaciğer fonksiyon bozukluğu arasındaki ilişki bilimsel olarak; geçen yüzyılın ilk yarısından beri bildirilmiştir (Zelman, 1952).

Obezite ve solunum sistemi hastalıkları.

Karın ve göğüs duvarındaki artmış vücut ağırlığı ve yağ birikimi, solunum sistemi fizyolojisi üzerinde, özellikle de göğüs kafesi ve gövde üzerinde artan mekanik basınca bağlı olarak; solunum fonksiyonlarının bozulmasına yol açan önemli bir etkiye sahip olabilir (Sebastian, 2013). Obezitenin solunum fonksiyonu üzerindeki etkisi genellikle erkeklerde kadınlara göre daha fazladır. Bu duruma neden; cinsiyetler arasında yağ dağılımındaki farklılıklar gösterilir (Harik-Khan, Wise, & Fleg, 2001).

Obezite ve kardiovasküler hastalıklar.

Obezite; kalbin patofizyolojisine etki ederek kardiovasküler hastalıklarda risk faktörlerini artırır. Obeziteye hipertansiyonda eşlik ederse kalbin yapısı ve fonksiyonu üzerine olan etki çok daha şiddetli olur. Obezite ve hipertansiyonda özellikle bel/kalça oranı kan basıncı ile önemli korelasyon gösterir. Obeziteye eşlik eden çok sayıda dislipidemi tablosu kalp hastalıklarının gelişimine zemin hazırlar (Samur & Yıldız, 2008). Vücut yağ dağılımının, özellikle karın içi adipoz dokuda oluşan yağlanmanın, tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalık riskini artıran bir dizi (diyabetojenik, aterojenik, protrombotik ve inflamatuvar) metabolik anormallikler arasında önemli bir korelasyon olduğu bulunmuştur (Despres, 2006).

Obezite ve kanser.

Son yıllarda elde edilen kanıtlar, obezitenin ve obeziteye bağlı diyabetin, belirli kanser türlerinin görülme sıklığı ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Lauby-Secretan et al., 2016); (Park & Colditz, 2017). Aslında, aşırı yağlanma artık kanser için temel risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Böylece obezitenin oluşumu ve fiziksel aktivitenin düşmesi; kanser önleme için tütün kullanımıyla birlikte değiştirilebilecek en önemli risk faktörleri arasında kabul edilmektedir. IARC (Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı) çalışma grubunun meta analiz bulgularına ilişkin özel raporunda; aşırı vücut ağırlığının, özofagus (adenokarsinom), gastrik kardiyak, kolon ve rektum, karaciğer, safra kesesi, pankreas, meme (menopoz sonrası) ve korpus uteri kanserine neden olduğuna dair yeterli kanıt olduğu sonucu belirtilmiştir (Björge, Engeland, Tverdal, & Smith, 2008). Ayrıca, artmış BMI (beden kitle indeksi) ve kanser riski arasındaki ilişki aslında obezite süresinde önemli bir parametre olduğunu göstermektedir. Kadın sağlığı girişiminden elde edilen verilerde, uzun süreli aşırı kilo ya da obezite durumunda birkaç kanser türünün gelişme riskinin daha yüksek olduğunu ortaya koymaktadır. Örneğin, endometrial kanser riski; yetişkinlikte fazla kilonun süresindeki her 10 yıllık artış için % 17 oranında artmıştır (Kushner, 2014).

Obezite ve psikolojik bozukluklar.

Obez hastalarda psikiyatrik rahatsızlıkların daha yaygın görüldüğü bilinmektedir. Toplumun önemli bir kısmını ilgilendiren ciddi sosyal, psikolojik ve tıbbi sorunlar yaratabilen bir halk sağlığı sorunu olarak kabul edilen obezite, bazı araştırmacılar tarafından psikosomatik bir hastalık olarak da görülmektedir. Toplumun verdiği tepkiye karşı obez bireylerde anksiyete, depresyon, suçluluk duygusu, nefret vs gelişebilir. Epidemiyolojik çalışmalar da obezitenin tıknırcasına yeme bozukluğu, bipolar bozukluk, majör depresif bozukluk,

şizofreni ve diğer psikiyatrik bozuklukları olan kişilerde yüksek oranlarda eş tanı gösterdiği bulunmuştur (MERMİ).

Obezite ve anksiyete.

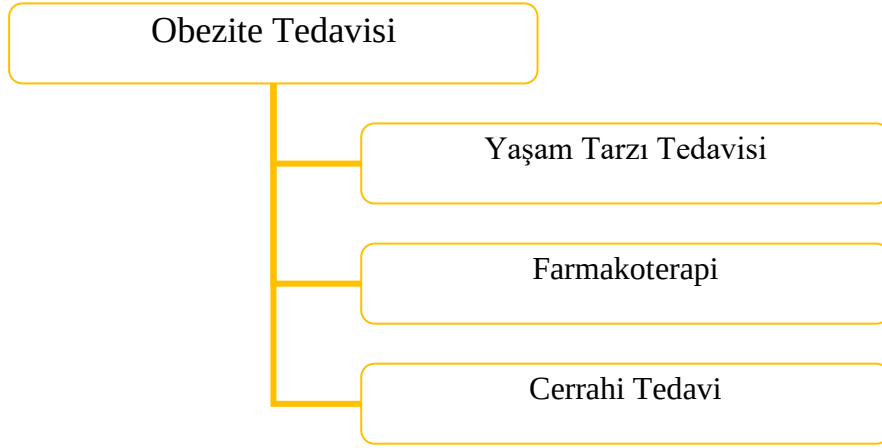
Anksiyete, psikiyatrik bozukluk sınıfında en sık görülen hastalıklardan biridir. Anksiyete bozuklukları arasında;

- Genel anksiyete bozukluğu,
- Seçici mutizm,
- Sosyal anksiyete bozukluğu,
- Panik atak,
- Madde ve ilaç kaynaklı anksiyete bozukluğu,
- Belirtilmemiş anksiyete bozukluğu,
- Spesifik fobi,
- Agorafobi

gibi bozuklukları içerir. Yapılan bazı çalışmalarda obezitenin yaşam boyu anksiyete bozukluklarında ki artışla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Obezite ve anksiyete arasındaki ilişkide cinsiyetler arasında farklılık değerlendirilmiş ve iki cinsiyette de pozitif ilişki bulunmuştur (Amiri & Behnezhad, 2019).

Obezite ve tedavi yöntemleri.

Obezitenin kronik bir tıbbi hastalık durumu olarak kabul edilmesi, kilo yönetimini sağlamak için üç aşamalı bir tedavi sürecini gerektirir. Temel olarak ilk aşama da, tüm hastalara diyet, fiziksel aktivite ve doğru beslenme davranışı edinmesi gibi kanıta dayalı yaşam tarzı yaklaşımlarını içeren tedaviler hakkında bilgi verilmelidir. İkinci aşamada, farmakoterapi olarak adlandırılan tedavi yöntemi uygulanmalıdır. Üçüncü adım ve son aşama olarak cerrahi tedavi, morbid obezitesi veya orta derecede obezitesi olan ve cerrahi olmayan yaklaşımlara cevap vermeyen komorbid durumlar ile komplike olan bireyler için, en etkili ve uzun süreli tedavi olduğu gösterilmiştir (Obert, Pearlman, Obert, & Chapin, 2017). Obezite tedavisinde kullanılan yöntemler Şekil 6'da belirtilmiştir.



Şekil 6. Obezite tedavisinde kullanılan yöntemler.

Obezite’de uygulanan popüler beslenme uygulamalarının; aralıklı oruç, paleolitik diyet, düşük yağlı diyetler, düşük karbonhidratlı diyetler, detoks diyet vb içeriğini daha da artırabilecek kadar genişletebiliriz (Joshi & Mohan, 2018),(Katz & Meller, 2014),(Kuchkuntla et al., 2019).

Lipit Metabolizması

Biyolojik anlamda önemli yağlar 4 gruptur:

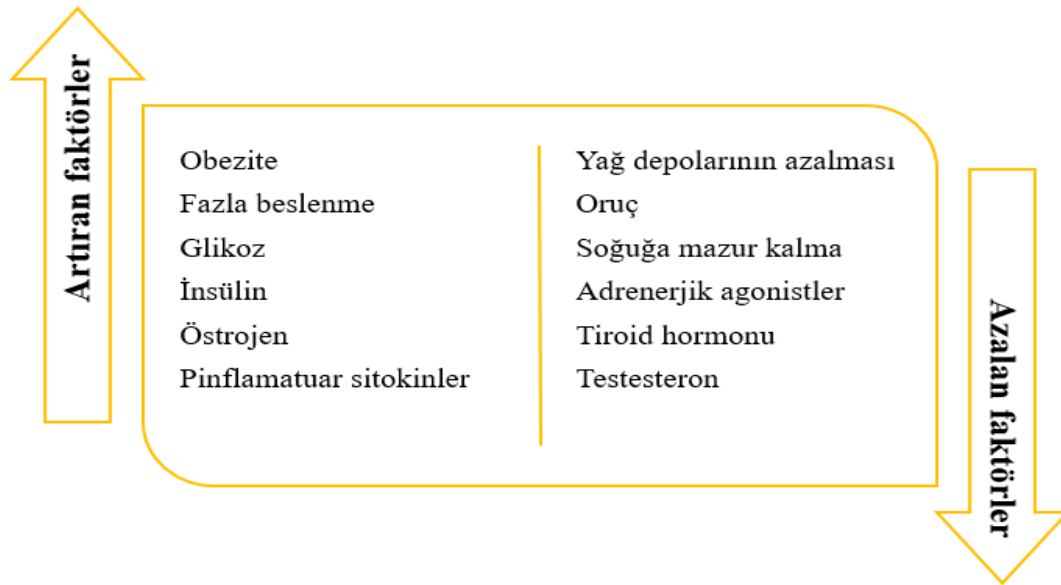
- Serbest yağ asitleri
- Trigliseritler
- Fosfolipitler
- Steroller (kolesterol)

Trigliseritlerin ve fosfolipitlerin temel lipit yapıları uzun zincirli hidrokarbon yapısında bulunan yağ asitleridir. Kolesterol yağ asidi içermediği halde sterol çekirdeği yağ asidi moleküllerinin belirli bölümlerinden sentezlenir bu nedenle lipitlerin birçok özelliğini taşır. Trigliseritler ayrıca çeşitli metabolik olaylara enerji sağlamak için kullanılır. Bazı lipitler (özellikle kolesterol, fosfolipitler ve azda olsa trigliseritler) insan vücudundaki tüm hücre zarlarının oluşumunda ve hücrenin fonksiyonlarının yerine getirilmesinde görev alır (Woods, Seeley, Porte, & Schwartz, 1998).

Obezite, enerji alımı ve enerji harcaması arasında değişen bir denge ile karakterize edilir. Enerji homeostazı, enerji dengesindeki kısa süreli dalgalanmaların yağ kütlesi üzerindeki etkisini en aza indiren, son derece gelişmiş ve önemli bir nörohumoral sistem ile gerçekleştirilir (C. A. B. and, Della-Fera, & Martin, 2000). Leptin , insülin, adiponektin ve katekolaminler dahil olmak üzere bir dizi hormon, gıda alımının düzenlenmesinden bağımsız olarak lipit metabolizmasını düzenler (Batterham et al., 2002),(Zhang et al., 1994).

Leptin.

1994'te konumsal klonlama ile keşfedilen Leptin, ağırlıklı olarak adipoz doku ile üretilen bir sitokindir, kan dolaşımına salınır ve vücut yağ kütlesi ile orantılı olarak kanda bulunur (Margetic, Gazzola, Pegg, & Hill, 2002). Leptin 167 aminoasitten oluşan protein yapılı bir hormondur. Vücutta beyaz adipoz doku, plasenta, meme bezi , yumurtalık , iskelet kası , mide, hipofiz bezi ve lenf dokusunda üretilir (Considine et al., 1996). Leptin miktarı doğrudan vücutta ki yağ miktarıyla orantılıdır, bu nedenle uzun vadeli enerji depolarının durumunu yansıtır. Leptin seviyeleri, açlık sırasında belirgin bir azalma ile kalori alımındaki değişikliklere bağlı olarak dalgalanmaktadır (Licinio et al., 1997). Leptin, sirkadiyen bir ritim göstererek pulsatil bir şekilde (öğleden sonra en düşük seviyelerde ve gece yarısında en yüksek seviyelerde) salgılanır (H.-S. Moon et al., 2013). Leptin seviyesini düzenleyen faktörler aşağıda Şekil 7 de belirtilmiştir (Kelesidis, Kelesidis, Chou, & Mantzoros, 2010).



Şekil 7. Leptin seviyesini düzenleyen faktörler.

Leptin, merkezi sinir sisteminde bulunan leptin reseptörlerine (LepR) bağlanarak çalışır. LepR' nin alternatif olarak dört izoformu insanlarda tanımlanmıştır. Leptin reseptörünün uzun izoformu (LepRb) , enerji homeostazını, nöroendokrin fonksiyonu düzenleyen ve ana leptin reseptörü olarak kabul edilir. Hipotalamus' da ve beynin diğer bölgelerinde yüksek oranda eksprese edilir. LepRb temel olarak gıda alımının baskılanmasından ve enerji harcamasının uyarılmasından sorumlu olsa da, LepRb' nin kısa izoformları; leptinin kan-beyin bariyeri boyunca taşınmasına aracılık ettiği düşünülmektedir (Bjørnbæk et al., 1998).

Obez bireyler, yağ dokusunda yüksek düzeyde leptin ekspresyonu sergiler ve dolaşımında leptin seviyeleri yüksek seyreder ve bu yüksek leptin seviyeleri, aşırı yağlanma seviyesini azaltarak leptin direncini gösterir. Ayrıca, eksojen leptin uygulamasının obez deneklerde vücut yağları üzerinde çok az etkisi vardır (Mantzoros & Flier, 2000). Leptin direncinin altında yatan mekanizmalar, hipotalamik ve diğer nöronlarında leptin sinyalinin bozulması, kan-beyin bariyeri boyunca leptin taşınımını, hipotalamik enflamasyonu, endoplazmik retikulum stresi ve otofajiyi içerebilir (Myers et al., 2012),(Jung & Kim, 2013).

Leptin, beyinde bir organizmanın yağlanma derecesini yansıtan bir adipokindir. Bu eylemi gerçekleştirmek için KBB (kan beyin bariyeri)' den belirli bir taşıyıcıdan geçmesi gerekir. İlk çalışmaların hemen ardından, yağlanma arttıkça, serum leptin düzeylerinin de artacağı ve bunun KBB taşıyıcı düzeyinde direnç gelişmesine yol açabileceği ileri sürülmüştür (Banks, DiPalma, & Farrell, 1999). Bu, daha az miktarda leptinin beyne ulaşacağı ve böylece vücut ağırlığının düzenlenmesi için sinyal yolunun aktivasyonunun azalmasına yol açacağı anlamına gelir. Birçok çalışma, obez farelerin *intracerebro-ventriküler* (ICV) 'e duyarlı olduğunu, ancak *subkutan* veya *intraperitoneal* (IP) Leptin uygulamasına duyarlı olmadığını göstermiştir (Schwartz, Peskind, Raskind, Boyko, & Porte, 1996), Leptin aktivitesinin azalması; KBB geçirgenliğindeki % 35 azalmadan kaynaklandığını göstermektedir (Halaas et al., 1997). Ayrıca, obez insanlarda beyin omurilik sıvısı / serum Leptin oranı 4-5 kat daha düşüktür (Caro et al., 1996). Bu veriler ışığında, Leptin' in beyne ulaşmasının azalması, obezitede Leptin direncinin kaynağını ve vücut ağırlığında daha fazla artış olduğunu göstermektedir. Şimdiye kadar, hangi mekanizmanın Leptin' in merkezi sinir sistemine erişimini sağladığı ve Leptin' in etkilerini daha da arttırdığı belli değildi (Faouzi et al., 2007).

Son 25 yıl boyunca, obezitede gözlendiği gibi Leptin direncinin, esasen özel taşıyıcılar vasıtasıyla, Leptin' in KBB'yi geçme kapasitesinin azalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Leptin direncinde yer alan mekanizmaların yanı sıra beyin sistemik dolaşımdan Leptin' i çektiği mekanizma da tam olarak anlaşılamamıştır (Izquierdo, Crujeiras, Casanueva, & Carreira, 2019).

Obezite ve insan sağlığı üzerindeki etkileri; Leptin keşfinden bu yana çok yüksek oranda artmıştır. Leptin, obeziteyi önleyici ve iştah bastırıcı özelliği olduğu kabul edilse de, bu hormona dayanan etkili bir obezite tedavisi geliştirilmemiştir. Bununla birlikte, obezite ve metabolizma kontrolü ile ilgili araştırmalar bu ilginç hormona odaklanmaya devam etmektedir, çünkü Leptin direncinin önlenmesi ve tedavisi, obezite tedavisinde en büyük zorluklardan birini temsil etmektedir. Bilimsel topluluk, farklı Leptin bazlı yaklaşımların bazı

başarılar gösterdiği deneysel hayvan modelleri geliştirmiştir, ancak bugüne kadar klinik olarak ilgili bir başvuru türetilmemiştir. Bu yaklaşımlardan bazıları, belki de çoğu, Leptin direncinin KBB'de bozulmuş Leptin taşınımından kaynaklandığı fikrine dayanmaktadır. Ancak, bu fikir henüz belli değildir. Bazı veriler, eğer doğruysa, gelecekte Leptin' in klinik uygulama üzerinde büyük bir etkisi olacağı kanısını savunur. Leptin' in aktif hale getirdiği yeni mekanizmalar ve yollar, Leptin' in etkinliğini ve güvenliğini artırabilecek yeni tekniklerin ve ilaç kombinasyonlarının geliştirilmesiyle birlikte sürekli değişmektedir. Bu yaklaşımlar, Leptin' in obezite için etkili bir tedavi olarak kullanılması umudunu yeniden oluşturur (Izquierdo et al., 2019).

Ghrelin.

1999'da, Masayasu Kojima, Kenji Kangawa ve arkadaşları, hipofiz bezinden salgılanan büyüme hormonu (GH) salınımını stimüle edebilen büyüme hormonu salgılatıcı reseptör için endojen ligand olarak *gastrointestinal* peptid hormonu Ghrelin'i keşfetti (Kojima et al., 1999). 2000 yılında, Mark Heiman ve Matthias Tschöp, Ghrelin'in beynin içinde gıda alımını, vücut ağırlığını, yağlanmayı ve glikoz metabolizmasını düzenlemek için hareket ettiğini keşfetti (Tschöp, Smiley, & Heiman, 2000). Sonraki yıllarda Ghrelin' in; bağırsak hareketliliği ve mide asidinin salgılanması, uyku modülasyonu, tat alma hissi ve ödül arama davranışı gibi çok sayıda merkezi ve periferik eylem, glikoz metabolizmasını düzenleme, kahverengi yağ termojenezini bastırma, stres ve kaygı modülasyonu, kas atrofisine karşı koruma, kardiovasküler gelişimdeki *vazodilatasyon* ve kardiyak kasılma gibi fonksiyonlarda görevleri belirlenmiştir (Müller et al., 2015).

Ghrelin, sistemik ve merkezi uygulama üzerine, adipoziteyi ve yiyecek alımını güçlü bir şekilde artıran tek dolaşım hormonudur (Tschöp et al., 2000). Ghrelin' in merkezi olarak verilmesiyle indüklenen artmış yağlanma, yağ asidi depolanmasını destekleyen anahtar enzimlerin uyarılmasını içerir; yağ oksidasyonundaki hızı sınırlayan genler azalır. Beyinde Ghrelin sisteminin adipoz doku üzerindeki bu etkilerine, yiyecek alımından veya enerji tüketiminden bağımsız olarak sempatik sinir sistemi aracılık eder (Theander-Carrillo et al., 2006).

Ghrelin' in glikoz ve enerji homeostazındaki rolüne ek olarak, son 15 yılda yapılan araştırmalar, Ghrelin' in öğrenme ve hafıza gibi farklı alanlarda fizyolojik fonksiyonlarını ortaya çıkarmıştır (Diano et al., 2006),(Kanoski, Fortin, Ricks, & Grill, 2013). Son zamanlarda yapılan farmakolojik müdahale denemeleri ayrıca, Ghrelin'in *nörodejeneratif*

hastalıklarda (örneğin, Parkinson hastalığı) *nöroprotektif* bir rol oynadığına işaret etmektedir (Andrews et al., 2009).

Ghrelin'in geniş işlevleri ile ilgili bir dizi çalışma bulunmaktadır. Ghrelin' in genetik olarak obez ob/ob farelerden silinmesi, vücut ağırlığını veya adipoziteyi etkilememiştir, ancak normal glukoz homeostazını restore etmiştir. Anti-diyabetik hedef olarak Ghrelin' e verilen dikkat ve bazı önemli çalışmalar, Ghrelin' in insülin direncini indüklediğini ve glikoz regülasyonunu etkileyebileceğini göstermiştir (I. Briggs & B. Andrews, 2011). Mideden Ghrelin salınımının endojen kalıplarına dönersek, açlık veya kalori kısıtlamasının ardından artan plazma Ghrelin düzeyi, enerji açığı koşulları altında Ghrelin için önemli bir rol öne sürdü. Nitekim bir dizi önemli çalışma, Ghrelin' in açlık sinyali gibi davrandığını göstermiştir (Mani & Zigman, 2017). Ghrelin; insülin duyarlılığını ayarlayarak, glikoz üretimini teşvik edip, kan glikozunu artıracak mekanizmaları harekete geçirerek, sağ kalımı arttırmanın yanı sıra yağlanmayı arttırmak, gıda alımını arttırmak, hücrel enerji kullanımını arttırmak ve gıda arayışını (tüketimini) sürdürmek gibi davranışları etkilemek için gelişmiştir. Dahası, bir başka önemli keşif, metabolik durumun, Ghrelin' in etki mekanizmasını etkilediği, negatif enerji dengesinin, Ghrelin' in etkisini arttırdığı, buna karşın pozitif enerji dengesinin (obezite), Ghrelin' in etkisini azalttığı görülmüştür (D. I. Briggs & Andrews, 2011),(Dana I. Briggs, Enriori, Lemus, Cowley, & Andrews, 2010), (Finger, Dinan, & Cryan, 2012).

Nöropeptit Y.

Nöropeptit Y (NPY), ilk olarak 1982 yılında Tatamoto ve Mutt tarafından keşfedildi (Tatamoto, Carlquist, & Mutt, 1982). Pankreatik polipeptit ailesine ait 36 amino asitli bir peptittir. Periferik sinir sisteminde de mevcut olmasına rağmen beyinde en bol bulunan peptidlerden biridir. Beyinde; korteks, hipokampus, arka beyin ve *hipotalamusta* bulunur. İkinci bölgede, kavisli (ARC) çekirdeğinin nöronları tarafından bol miktarda sentezlenir (Chronwall, 1985).

NPY' nin yaygın dağılımı, kardiyovasküler düzenleme, nöbet ve biliş, stres, nöroendokrin sistemlerin modülasyonu ve iştah regülasyonu gibi çeşitli biyolojik eylemlerle ilişkilidir (Thorsell & Heilig, 2002), (Zukowska, Pons, Lee, & Li, 2003). NPY' nin biyolojik etkilerine, Y1 – Y6 adlı altı reseptör aracılık eder. NPY, yüksek afiniteli Y1, Y2 ve Y5 reseptörlerine bağlandığından, enerji homeostazının düzenlenmesinden sorumlu NPY reseptör alt tiplerinin tanımlanması için birçok çalışma yapılmıştır. Alt tip seçici agonistlerin kullanılmasıyla, Y1 ve/veya Y5 reseptör alt tiplerinin NPY' nin neden olduğu enerji alımının düzenlenmesinden sorumlu olabileceği gösterilmiştir (Henry, Ghibaudi, Gao, & Hwa, 2005).

NPY, beyin fonksiyonundaki çoklu etkileri nedeniyle mikrobiyota-bağırsak-beyin ekseninde belirli rol oynayabilecek bir nörotransmitterdir. NPY' nin Y reseptörleri bağırsak, beyin ve beyin-bağırsak eksenini olmak üzere her seviyede ortaya çıkar. Bu peptidi eksprese eden ana sistemler enterik nöronlar, primer afferent nöronlar, beyin boyunca çeşitli nöronal yollar ve sempatik nöronlardır (Wettstein, Earley, & Junien, 1995).

NPY mikrobiyota-bağırsak-beyin eksenini üzerine farklı düzeylerde etki edebilir. Bunlar;

- Belirli bağırsak bakterilerinin canlılığını etkilemek,
- *Motilite*, sekresyon ve kan akışı gibi bağırsak fonksiyonlarını değiştirmek,
- Bağışıklık sisteminin aktivitesini düzenlemek,
- Periferik bağışıklık zorluğunun neden olduğu davranış bozukluklarına karşı vücudu korumak,
- Omurilik ve beyin sapında nosiseptif iletimi engellemek,
- Stresin beyin-bağırsak eksenindeki etkisinden korumak,
- Gıda alımını ve enerji homeostazını düzenlemek,
- Anksiyete ve ruh halinin interoseptör düzenlemesinde rol oynamak (Holzer & Farzi, 2014).

Nöropeptit Y (NPY), hipotalamus da etkili olan oreksijenik nöropeptitlerden biridir. Tam NPY gen sekansı en az dokuz türde tanımlanmıştır ve insan NPY geniyle sekans karşılaştırmaları, zebra balığı içinde, yine de nükleotit seviyesinde % 75' in üzerinde benzerlik gösteren, en az benzer ortolog ile dikkate değer bir evrimsel koruma derecesini doğrulamaktadır.

NPY salımı, beslenmenin başlamasından hemen önce artar ve gıda alımı devam ettikçe yavaş yavaş azalır. NPY ekspresyonundaki artışlar hiperfajik davranıştan önce gelir ve artan enerji yoksunluğu, enerji talebi ile doğrudan ilişkilidir (Mercer, Chee, & Colmers, 2011).

Başlangıçta beslenme davranışı üzerindeki etkileri nedeniyle not edilen NPY, metabolizma ve kaygı da dâhil olmak üzere diğer önemli fizyolojik süreçleri de düzenler. Ekzojen olarak uygulanan NPY' nin anksiyolitik benzeri etkisi, anksiyete paradigmaları kullanan çeşitli sıçan modelleri için tarif edilmiştir. NPY reseptörleri için agonistler ve antagonistler kullanılarak yapılan farmakolojik testler, Y1 reseptörünün NPY' nin anti-anksiyete etkilerine katılan en muhtemel aday olduğunu göstermiştir (Karl, Duffy, & Herzog, 2008).

Lipit metabolizmasında görevli diğer genler.

Vücudumuzda lipit metabolizmasının düzenlenmesinde görevli olan birçok gen bölgesi bulunmaktadır. Bunlardan bazılarına aşağıda değinilmiştir.

FABP (fatty-acid-binding protein); yağ asidi bağlayıcı protein olarak geçer. İnsan genomunda dokuz tane FABP protein kodlayan gen tanımlanmıştır. Bunlar; karaciğer, bağırsak, kalp, adipositler, epiderma, beyin, miyelin, testis olarak devam eder (Smathers & Petersen, 2011). FABP 11a geni; zebra balığında bulunan; insandaki FABP4 ve FABP5 genlerinin otoloğudur (ZDB-GENE-040912-132). İşlevi; yağ asidi alımını ve hücre içi taşınmasını düzenler (Chmurzyńska, 2006). Bunun dışında zebra balığında göz gelişimi üzerinde de etkisi olduğu bilinmektedir (ZDB-GENE-040912-132).

Peroksizom proliferatör ile aktive edilen reseptörler (PPAR' lar), nükleer reseptör süper ailesinin bir alt familyasını oluşturur. Çeşitli izoformları bulunmaktadır. Kemirgenler üzerinde yapılan ilk çalışmalardan beri çoğu çalışma çeşitli eikosanoidler ve prostaglandinler dâhil olmak üzere çok sayıda yağ asidi ve bunların türevlerinin, PPAR' ların ligandları olarak işlev gördüğü gösterilmiştir. Bu reseptörlerin besin seviyelerinin algılanmasında ve metabolizmalarının düzenlenmesinde merkezi bir rol oynadığı öne sürülmüştür. PPAR' lar lipit sensörleri ve lipit metabolizmasının düzenleyicileri olarak kritik bir fizyolojik rol oynar (J. B. and & Moller, 2002). PPAR' ların; PPAR α , PPAR β , PPAR γ olmak üzere üç izoformu vardır. Hormon sinyal yolu dâhil olmak üzere çeşitli işlemlerde rol oynadığı tahmin edilmektedir. Kolesterol depolanmada negatif yönlü rol alır. İnsanlarda Alzheimer hastalığında rol alan bu gen ek olarak koroner arter hastalığı, lipit metabolizma bozukluğu ve miyokart infarktüsü gibi çoğu hastalığın etki mekanizmasında bulunur (ZDB-GENE-041210-169).

Protiomelanokortin kısaca POMC; ön hipofiz başta olmak üzere, hipotalamus, beyin sapı ve orta beyindeki hipofizde salgılanan bir polipeptittir. Başlıca işlevi; iştahı düzenlemek, cinsel davranışta ve deride melatonin salgılanmasında görev alır (Varela & Horvath, 2012). Zebra balığında insandaki POMC' nin otoloğu POMCa bulunmaktadır. Zebra balığında strese karşı tepki vermede, hematopoietik kök hücre farklılaşmasının düzenlenmesinde rol alır (ZDB-GENE-030513-2).

Yağ asidi sentaz (FAS), insanlarda FASN geni tarafından kodlanan, yağ asidi sentezini katalize eden çok enzimli bir proteindir (Jayakumar et al., 1995). İşlevi; NADPH varlığında asetil-CoA ve malonil-CoA'dan palmitat sentezini katalize etmektir (synthase). FASN zebra

balığında karaciğerde ve erkek balık organizmasında rol oynamaktadır. Yağ asidi sentezinde görevlidir (ZDB-GENE-030131-7802).

Lipoprotein lipaz (LPL); pankreatik lipaz, hepatik lipaz ve endotelyal lipazı içeren lipaz gen ailesinin bir üyesidir; kalp, kas ve yağ parankimal hücrelerinden salgınır. Lpl dolaşımdaki şilomikronların ve çok düşük yoğunluklu lipoproteinlerin triaçilgliserol bileşeninin hidrolizini katalize eder. LPL'nin fonksiyonundaki bozulma ateroskleroz, şilomikronemi, obezite, Alzheimer hastalığı ve diyabet, insülin direnci ve enfeksiyon ile ilişkili dislipidemi dahil birçok patofizyolojik durumla ilişkili olduğu bulunmuştur. LPL geni, kalp, kas ve yağ dokusunda ifade edilen lipoprotein lipazı kodlar (Mead, Irvine, & Ramji, 2002). Zebra balığında Lpl; apolipoprotein bağlanma aktivitesine sahip olduğu tahmin edilmektedir. Karnitine yanıt olarak ve Alzheimer hastalığında rol oynar (ZDB-GENE-990415-139).

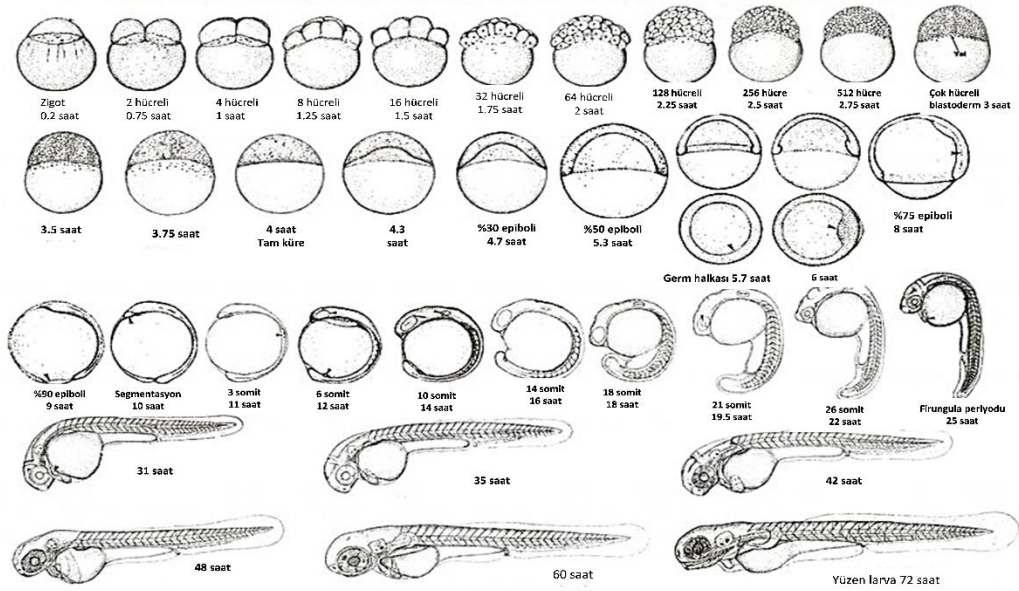
Agoti ile ilişkili peptit olarak da adlandırılan agouti ile ilişkili protein (AgRP), beyinde AgRP/NPY nöronu tarafından üretilen bir nöropeptittir. Sadece hipotalamusun kavisli çekirdeğinde bulunan Nöropeptit Y(NPY) içeren hücre gövdelerinde sentezlenir. AgRP; NPY ile birlikte ifade edilir ve iştahı artırır, metabolizma ve enerji harcamalarını azaltır. İnsanlarda agouti ile ilişkili peptit, AgRP geni tarafından kodlanır (Ollmann et al., 1997). AgRP' nin iştah uyarıcı etkileri, Leptin hormonu tarafından inhibe edilir ve Ghrelin hormonu tarafından aktive edilir. Ghrelin iştahını artırmak için NPY ve AGRP salgılanmasını uyaran NPY/AGRP nöronlar üzerindeki reseptörlere sahiptir. AgRP hücre içi salgı granüllerinde saklanır ve düzenlenmiş bir yol yoluyla salgılanır (Creemers et al., 2006). Zebra balığında AgRP geni; melanokortin reseptör bağlanma aktivitesi ve nöropeptid hormon aktivitesini sergiler. Gelişimsel büyümede, nöropeptit sinyal yolunda ve beslenmenin pozitif düzenlemesinde rol alır (ZDB-GENE-040817-1).

Bilimsel çalışmalar boyunca insandaki oluşumları algılayabilmek ve bu oluşumları örneklendirebilmek için model organizmalar kullanılır. Model organizmaların yararı, insanlardaki benzer süreçleri anlamamıza sundukları katkıdan dolayı daha iyi anlaşılmıştır. Bu organizmalar genellikle küçük, dayanıklı, bakılması kolay ve kısa hayat döngülerine sahiptir. Model organizma olarak kullanılan canlılardan bazılarına; zebra balığı, fare, meyve sineği hatta maya hücreleri sayılabilir (Weston). Zebra balığı bilimsel platformda önemli bir balık olup, genetik ve deneysel araştırmalarda omurgalı model organizma olarak sıklıkla kullanılmaktadır. İnsan genomu ile birçok homolog gene sahiptir. Zebra balığı embriyonik dönemde genetik kontrolü sağlayabilmek açısından da önem arz eder (Kayhan, Kaymak, Duruel, & Kızılkaya, 2018)

Zebra Balığı İle Çalışmanın Avantajları

Zebra balığı; kolay yetiştirilmesi, üreme potansiyelinin yüksek ve verimli olması, embriyonik dönem boyunca şeffaf olması, genetik yapısının insan ile uyumunun yüksek oranda olması gibi birçok nedenden dolayı pek çok genetik ve deneysel araştırmada omurgalı model organizma olarak tercih edilmektedir. Zebra balığının genomik model organizma olarak kullanılmasında en önemli faktörlerden biri de; özellikle embriyonik gelişimi sırasında genetik kontrolün kolay bir şekilde sağlanabilmesidir.

Zebra balığı yumurta oluşumunun dış döllenme ile olması çalışmalarda büyük önem sağlamaktadır. Tüm embriyonik gelişim süreci gözlemlenir. Bir diğer avantajı da tüm embriyonik gelişimini 5 gün içinde tamamlamasıdır bu da bilimsel çalışmalarda hızlı sonuç alınmasını sağlar. Zebra balığının gelişim evresi aşağıda gösterilmiştir (Kimmel, Ballard, Kimmel, Ullmann, & Schilling, 1995).



Şekil 8. Zebra balığı embriyonik gelişim süreci

KAYNAK ÖZETLERİ

Diyet ve ksenobiyotik bileşikler endokrin sinyalizasyonu ve lipid homeostazını değiştirerek obeziteye neden olabilir. Diyet, ilaçlar ve çevresel kirletici maddelerin tek başına veya birleşim halinde, canlı larvalarda beyaz adipoz doku dinamikleri üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla; Zebrafish obesogenic (ZO) testini kısa vadeli bir test yöntemi olarak tanımladık. ZO testi, *in vitro* ve kemirgen deneyleri arasındaki obezite araştırmalarında bir ara adımdır ve ayrıca çevresel toksik maddelerin suda yaşayan canlıların adipozitesi üzerindeki etkisini incelemek için de kullanılabilir. Adiposit lipid damlacıklarını ortaya çıkarmak için kullanılan Nil Kırmızısı floresan boya prosedürü, farmasötik veya toksikolojik tarama için uygundur. Bir çevresel obezojen olan tributiltin klorürün (TBT) çevreye duyarlı konsantrasyonunda işlenen larva, arka plandaki diyetin lipid bileşimine bakılmaksızın adipozitede belirgin bir artış sergilemiştir. Açlık durumunda adipoziteyi arttırdığı bilinen *rosiglitazon* veya TBT gibi eksojen bileşikler, obezojenik olarak sınıflandırıldı. Anti-obezojenik bileşikler, aç kalma durumunda yağlanma oranlarında bir düşüş sağladı. Adiposit lipid damlacığı büyüklüğü ve adipoziteyi uç noktaları olarak kullanan ZO testi, obezojenik ve anti-obezojenik bileşikler ve karışımlar için bir bütün organizma alternatif test tahlilidir; çevresel ve insan risk değerlendirmeleri için gerekli bilgileri sağlar (Tingaud-Sequeira, Ouadah, & Babin, 2011).

Beyaz yağ dokusu (AT), omurgalılarıdaki ana lipid biriktirme deposudur. Başlangıçta basit bir yağ deposu olarak kabul edilen AT, son zamanlarda enerji homeostazı ve zengin bir kök hücre kaynağı gibi süreçlerde yer alan endokrin bir organ olarak rol oynadığı kabul edilir. Adipogeneze olan ilgi, yalnızca insanlarda obezite, metabolik sendrom ve tip 2 diyabet prevalansı nedeniyle değil, aynı zamanda su ürünleri yetiştiriciliğinde bazı kültür balık türlerinin hem refahlarını hem de nihai ürün kalitelerini bozabilecek aşırı yağ birikimi nedeniyle artmıştır. Omurgalılar arasında adiposit gelişimi iyi korunmuştur ve bu koruma balıklarda çeşitli adipogenez modellerinin hızlı karakterizasyonunu kolaylaştırmıştır. Bu derleme, çiftlik balıklarının preadipositlerinin primer kültürlerine dayanan adipogenez araştırmalarının ana bulgularını sunmaktadır. Zebra balığı, adiposit balıklarının gelişiminin erken aşamalarını incelemek için mükemmel bir model olarak ortaya çıkmıştır. Bununla birlikte, daha büyük balık türleri, preadipositlerin visceral AT'den izolasyonu ve preadipositlerin *in vitro* olarak olgunlaşmış adipositler oluşturmak için farklılaştırıldığı

alışmalar daha uygundur. Farklılaştırılmış adipositler yüksek gliserol 3-fosfat (G3P) dehidrojenaz (GPDH) aktivitesine sahiptir. Balık adiposit gelişimini ve düzenlenmesini daha iyi anlamak için, farklı adipokinler, yağ asitleri, büyüme faktörleri ve PPAR agonistleri üzerinde çalışılmış; çalışma boyunca bu faktörleri ve çalışma düzenindeki dengesizliği etkileyen sorunlar hakkında bilgi verilmiştir. Bu derlemede zebra balığı; adiposit dokunun incelenmesi için güzel bir model organizma olduğu görülmektedir. Bununla birlikte zebra balığı adiposit dokuda önemli gelişmelere neden olan farklı gen bölgelerinin kodlanmasında yeteri derecede ekspresyonu sağlar. Yağ asidini bağlayan proteinler, yağ asidini taşıyıcı proteinler, adiponektin veya leptin gibi hormonların gen ekspresyonuna bakılması için en güzel organizmalardan biri olduğu görülmektedir. Bu çalışma aslında zebra balığının obezite oluşumu öncesi ve sonrasında insanlarla da aynı olduğunu kanıtlamaya çalışan bir çalışmadır (Salmerón, 2018).

Yağ açısından zengin diyetler sadece insanlarda obeziteye neden olmakla kalmaz, aynı zamanda hayvanlarda da obeziteye neden olur. Bu nedenle, obezite araştırmalarında yüksek yağ diyetine (özellikle kemirgenlerde) cevap olarak vücut yağını biriktiren hayvanlar sıklıkla kullanılmaktadır. Diyetteki yağın vücuttaki yağ birikimi üzerindeki etkisi, omurgalı lipit metabolizmasının mükemmel bir modeli olan zebra balığında tam olarak anlaşılmamıştır. Burada, diyet yağları ve obezite önleyici özelliklere sahip olan yeşil çay ekstraktının zebra balığının vücut yağ birikimi üzerindeki etkilerini araştırdık. Yetişkin zebra balığı dört diyet grubuna ayrıldı ve bazal diyet artı iki tür yağ içeren yüksek yağlı bir diyet veya bazal diyet artı karbonhidrat veya protein içeren az yağlı bir diyet olarak belirlenen diyetler 6 haftadan fazla bir sürede uygulandı. Bir başka yetişkin zebra balığı grubu %5 yeşil çay ekstresi takviyesi olsun veya olmasın, yüksek yağlı bir diyet ile beslendi. Yüksek yağlı diyetler ile beslenen zebra balığının vücut yağ (*visseral*, *subkutan* ve toplam yağ) hacmi ve vücut ağırlığı oranı (vücut yağ hacmi / vücut ağırlığı) düşük yağlı diyetler ile beslenen zebra balığının yaklaşık iki katı kadardır. İki yüksek yağ grubu arasında ve iki düşük yağ grubu arasında vücutta yağ birikimi açısından bir fark yoktu. Yeşil ay özü ilave edilmiş yüksek yağlı diyet, yeşil çay özü bulunmayan aynı diyet ile karşılaştırıldığında vücut ağırlığını, vücut yağ hacmini ve vücut yağ hacmi oranını önemli ölçüde bastırdı. 3-Hidroksiasil-koenzim A dehidrojenaz ve sitrat sentazın karaciğer ve iskelet kası içindeki aktivitesi, yeşil çay ekstraktı takviyesi yapılmış diyetle beslenenlerde, takviye yapılmamış diyet ile beslenenlere göre anlamlı şekilde daha yüksekti. Sonuçlarımız, protein veya karbonhidrat yerine yağ açısından zengin bir diyetin, zebra balıklarında, memelilerdekine benzer mekanizmalarla vücut yağ birikimini tetiklediğini göstermektedir. Sonuç olarak; zebra balığı, yüksek yağlı diyetlerin

neden olduğu obezite araştırmaları için iyi bir hayvan modeli olarak hizmet edebilir (Meguro, Hasumura, & Hase, 2015).

Diabetes mellitus, kardiyovasküler hastalıklar ve bazı kanser türlerinin gelişimi için önemli bir risk faktörü olan obezite, temelinde genetik ve epigenetik duyarlılığın (veya yatkınlığın) olduğu, genellikle gıdaya sınırsız erişim ve artan hareketsiz yaşam tarzı nedeniyle oluşan kronik pozitif enerji dengesinden kaynaklanmaktadır. Enerji homeostazisinin kontrolüne aracılık eden hümoral ve nöronal sistemler hakkındaki anlayışımız son yıllarda önemli ölçüde gelişmiştir. Bununla birlikte, büyük ölçüde leptin ve ghrelin gibi metabolik hormonların etkisine direnç gösteren mekanizmaların sınırlı bilgisi nedeniyle obezite yaygınlığını yavaşlatan etkili stratejiler geliştirme kabiliyetimiz engellenmiştir. Enerji homeostazının nöroendokrin kontrolü için çok önemli hormonlar olan leptin ve grelin'e direnç gelişimi, bir obezite özelliğidir. Geçtiğimiz birkaç yıl boyunca yapılan yoğun araştırmalar, leptin ve ghrelinin etkisini bozan hücresel yolları anlamada muazzam bir ilerleme sağlamıştır. Bu derlemede, leptin ve ghreline karşı direnci destekleyen moleküler mekanizmaları ve bunların obezitenin farmakolojik tedavisi için hedef olarak nasıl kullanılabileceğini tartışıyoruz (Cui, L pez, & Rahmouni, 2017).

Dünya nüfusunun üçte birinden fazlası aşırı kilolu veya obezdir ve bu kişilerde tip 2 diyabet gelişme olasılığı yüksektir. Bu salgını azaltmak için, daha güvenli ve daha etkili tedaviler acilen gereklidir. Bu, insanlarda yeni tedavileri keşfetmek, doğrulamak ve optimize etmek için hayvan modelleri kullanılması gerekmektedir. Tezg htan kaşığa geçişi iyileştirmek için araştırmacılar sadece uygun modeli seçmekle kalmamalı, aynı zamanda doğru sonuçları çıkarmalıdır. Bu derlemede, şu anda mevcut olan obezite ve diyabet hayvan modelleri hakkındaki temel bilgileri birleştirdik ve bu modellerin her birinin avantajlarını, dezavantajlarını ve uygulamalardaki önemli noktaları vurguladık (Kleinert et al., 2018).

Obezite önemli sağlık sorunlarına neden olan, vücutta aşırı yağ birikmesi olarak tanımlanır. Obezite bütün toplum ve yaş gruplarını etkileyen küresel bir problem haline gelmiştir. Gelişmiş ülkelerin yanı sıra gelişmekte olan ülkelerde yetişkin, genç ve çocuklar arasında obizite prevalansı artmaktadır. Obezite artışı, obeziteyle ilişkili hipertansiyon, diyabet, dislipidemi, obstruktif uyku apnesi, dejeneratif artrit ve kanser gibi morbid faktörlerin artmasına neden olur. Bu duruma eşlik eden faktörler obezite ve komplikasyonları ile ilgili sağlık harcamalarını her zaman arttırır (Jayawardena et al., 2016).

Aşırı vücut ağırlığı, dünya genelindeki hastalık yükünü artıran en önemli risk faktörleri arasında altıncı sıradadır. şu anda 1,1 milyar yetişkin nüfus ve çocukların % 10'u aşırı kilolu veya obez olarak sınıflandırılmaktadır. Ortalama yaşam beklentisi de bu durumda

azaldı. Obezitede başlıca görülen komplikasyonlar; kardiyovasküler hastalık, tip 2 diyabet ve birçok kanser türüdür. Karmaşık patolojik süreçler; çevresel ve genetik etkileşimleri yansıtır ve dezavantajlı topluluklardan gelen bireylerin, kısmen fetal ve postnatal baskılama nedeniyle varlıklı bireylerden daha büyük riskleri olduğu görülmektedir. Obezite, bir dizi ek hastalıkla beraber, altta yatan faktörleri tanımlamak ve tutarlı bir yönetime izin vermek için dikkatli bir klinik değerlendirmeyi gerektirir. Salgın, gıda alımını kontrol eden nörobiyolojik süreçlere rağmen pasif enerji tüketimi, önemli diyet değişiklikleri ile birlikte, fiziksel aktivitedeki ilerleyici seküler ve yaşa bağlı azalmaları yansıtır. Etkili uzun vadeli kilo kaybı, diyet kalitesi, enerji alımı ve aktivitedeki kalıcı değişikliklere bağlıdır (Haslam & James, 2005).

Küresel obezite salgınına önlemek için, yağ depolamayı düzenleyen gelişimsel, çevresel ve zihinsel faktörlerin iyi anlaşılmasını gerekir. Adipositler; yağ depolarının ana bölgeleri, enerji dengesi ve iltihap düzenleyicileri olarak hizmet ederler. Gelişmekte olan zebra balığı optik saydamlığı, adiposit biyolojisini düzenleyen mekanizmaları araştırmak için yeni fırsatlar sunar. Zebra balığı adipositlerini in vivo nötr lipit damlacıklarını Nil Kırmızısı ile etiketleyerek görselleştirmek için yöntemler geliştirdik. Sonuçlarımız nötr lipit damlacıklarının larva evrelerinde visceral adipositlerde biriktiğini ve zebra balığı büyüdükçe sayı ve dağılımda arttığını ortaya koymaktadır. Zebra balığı adipositlerinin hücre anatomisinin, memeli beyaz adipositlerine benzer olduğunu ve peroksizom-proliferatör aktiveleştirici reseptör γ ve yağ asidi bağlayıcı proteini 11a' yı, zebra balığı adiposit soyunun belirteçleri olarak tanımladığını gösterdik. Nötr lipit birikiminden önce adiposit gelişimini izleyerek, ilk visceral preadipositlerin eksojen beslenmenin başlamasından kısa bir süre sonra pankreas ile birlikte ortaya çıktığını görüyoruz. Zebra balığında adiposit gelişimi için dışsal beslenmenin gerekli olduğunu belirlendi. Bu sonuçlar zebra balığı ve memeli adipositleri arasındaki homolojileri ortaya koymakta ve zebra balığını adiposit araştırması için yeni bir model olarak kabul etmektedir (Flynn, Trent, & Rawls, 2009).

Obez bireyler, yağ dağılımına ve yağ dokusu (AT) fenotipine (hiperplazik ve hipertropik) bağlı olarak metabolik ve kardiyovasküler komplikasyonlar geliştirme riskinin oluşumunda farklılık gösterir. Bir obez bireyin metabolik olarak sağlıklı veya sağlıklı olup olmadığını belirleyen mekanizmalar açık değildir ve altta yatan patofizyolojik analizler gerekmektedir. Bu çalışma da, zebra balıklarının metabolik olarak sağlıklı ve metabolik olarak sağlıklı AT birikimini incelemek ve bir model olarak kullanılması için protokol oluşturulmayı amaçlanmaktadır. Zebra balığı; AB şusunun yetişkin erkek balıkları normal yağ diyeti (NFD) veya yüksek yağ diyeti (HF) ile 8 hafta boyunca aşırı beslenip obezite ile ilgili vücut ağırlığı, vücut kütle indeksi, kondisyon indeksi ve vücut yağ yüzdesi gibi parametreleri

karşılaştırıldı. Fizyolojik durumlarda beslenen zebra balıklarını kontrol etmek için; kan şekeri, plazma trigliserid ve kolesterol seviyelerini ölçerek ve zebra balığı karaciğerinde ektopik lipid birikimini değerlendirerek obeziteye bağlı metabolik değişikliklerin varlığı araştırıldı. Son olarak, visceral AT ve karaciğerde lipid metabolizması, iltihap ve fibrozis ile ilgili işaretli genlerinin gen anlatım seviyeleri belirlendi. 8 haftada NFD ve HF ile aşırı beslenmenin, vücut ağırlığında ve AT kütlesinde kontrole kıyasla anlamlı bir artışa yol açtığı bulundu. NFD ile beslenen zebra balığı aksine, HF ile aşırı beslenmiş zebra balığında; karaciğerde hiperglisemi ve ektopik lipid birikimi (lipit metabolizması), iltihaplanma ve fibrozis için işaretli genlerin ekspresyonundaki değişikliklerin olduğu görüldü. Özetle zebra balığı içerisinde metabolik olarak farklı obezite fenotiplerinin spesifik induksiyonu için bir yöntem geliştirildi. Sonuçlar zebra balığının metabolik olarak sağlıklı veya sağlıksız gelişiminde AT fenotipinin belirlenmesinde rol alan düzenleyici mekanizmayı incelemek için uygun bir modeli temsil ettiğini göstermektedir (Landgraf et al., 2017).

Yüksek obezite ve diyabet yaygınlığı, yüksek morbidite ve mortalite oranlarına yol açacaktır. Bu nedenle, bu metabolik bozuklukları tedavi etmek için ilaç arayışına yoğunlaşılmıştır. Mide türevi peptid Ghrelin, gıda alımını ve vücut ağırlığını düzenler. Son zamanlarda yapılan çalışma, Ghrelin'in glikoz metabolizmasını da kontrol ettiğini gösteriyor. Ek olarak, mevcut kanıtlar, Ghrelin davranışlarının çoğunun metabolik sendroma katkıda bulunabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, Ghrelin sinyal sistemi, obezite ve diyabet tedavisinde yeni ilaçların geliştirilmesi için umut verici bir hedeftir. Ghrelin sinyalizasyon sistemini bloke eden ajanlar özellikle faydalı hedefler olabilir. Bu derleme, obezite ve diyabeti daha iyi anlamak, önlemek ve tedavi etmek için Ghrelin' in potansiyelini ve sınırlamalarını özetlemektedir (Wiedmer, Nogueiras, Broglio, D'Alessio, & Tschöp, 2007).

Bugün ABD'de ilk 10 ölüm ve sakatlık sebebinin yedisi kronik hastalıklardır (örneğin, kanser ve diyabet). Bu koşulların çoğunun önlenmesi ve tedavisi için, obezite ile yakın ilişki ele alınmalıdır. Fazla kilolu veya obez olan kişiler, ABD nüfusunun üçte ikisinden fazlasını oluşturmaktadır. Bazı meslek örgütleri artık vücut kitle indeksi (BMI, kilogram cinsinden ağırlık, metre cinsinden yükseklik karesi ile bölünen ağırlık) olarak tanımlanan obeziteyi bir hastalık olarak sınıflandırmaktadır. Klinik ortamda, tek başına veya kronik bir hastalıkla birlikte aşırı kilonun, obezitenin yönetimi bu derlemenin odak noktasıdır (Heymsfield & Wadden, 2017).

Obezitede aşırı yağ birikimi çok faktörlü bir etiyolojiye sahiptir, ancak enerji alımı ve harcaması arasındaki dengesizliğin sonucu olarak kabul edilir. Özel halk sağlığı politikalarına ve obezite salgını ile mücadele etmek için bireysel tedavi çabalarına rağmen, dünya çapında 2

milyardan fazla insan aşırı kilolu veya obezdir. Merkezi sinir sistemi devresi, yakıt devri ve metabolizmasının yanı sıra yağ doku homeostazı, aşırı kilo alımı ve buna bağlı komorbiditeleri kavramak için önemlidir. Obezitenin, sağlıklı görünen bireylerde bile, yaşam kalitesi üzerinde derin bir etkisi vardır. Diyet, fiziksel aktivite veya egzersiz ve yaşam tarzı değişiklikleri, obezite tedavisinin temel taşlarıdır, ancak tıbbi tedavi ve bariatrik cerrahi önem kazanmaktadır. Aile öyküsü, yemek ortamı, kültürel tercihler, yiyeceğe olumsuz tepkiler, perinatal beslenme, önceki veya şimdiki hastalıklar ve fiziksel aktivite düzenleri, sağlık uzmanının obezite ile tedavi ederken göz önünde bulundurulması gereken konulardır. Klinisyenler ve diğer sağlık çalışanları, mevcut obezite salgınının önemli çevresel ve sosyoekonomik itici güçlerini ele almak için genellikle yetersiz donanıma sahiptir. Son olarak, epigenetik ve genetik faktörlerin yanı sıra “omik” teknolojilerden yararlanan metabolik yolların anlaşılması, hassas bir yaklaşımda obezite ile mücadelede çok önemli bir rol oynayabilir (González-Muniesa et al., 2017).

Obezite, genetik ve çevresel faktörlerden etkilenen çok faktörlü bir hastalıktır. Bu durumun altında yatan sinyal yollarını anlamamıza yardımcı olması için hayvan obezite modelleri gereklidir. Zebra balığı insanlarla birçok yapısal ve fonksiyonel benzerliğe sahiptir ve genetik bir obezite modeli de dahil olmak üzere çeşitli insan hastalıklarını modellemek için kullanılmıştır. Bu çalışmanın amacı diyetle indüklenen obezitede (DIO) bir zebra balığı modeli oluşturmaktır. Zebra balığı iki diyet grubuna ayrıldı. Bir grup zebra balığı, nispeten yüksek miktarda yağdan oluşan canlı bir av olan Artemia (60 mg kuru ağırlık / gün / balık) ile aşırı beslendi. Diğer zebra balığı grubu, enerji gereksinimlerini (5 mg kuru ağırlık / gün / balık) karşılamak için yeterli olan Artemia ile beslendi. Zebra balıkları, 8 hafta boyunca bu diyet protokolüne tabi tutuldu. Artemia ile aşırı beslenen zebra balığı kontrol zebra balığının aksine; vücut ağırlığı, vücut uzunluğu, hipertrigliseridemi ve hepatosteatoz karesine bölünerek hesaplanan artmış vücut kitle indeksi sergiledi. Zebra balıklarına 8 haftalık aşırı besleme döneminden sonra 2 hafta boyunca kalori kısıtlaması uygulandı. Artan vücut ağırlığı ve plazma trigliserit seviyesi, kalori kısıtlaması ile iyileştirildi. Ayrıca DIO zebra balıkları, DIO sıçanları, DIO fareleri ve obez insanlar arasında; visseral yağ dokusunun karşılaştırmalı transkriptom analizini gerçekleştirdik. Bu analiz obez zebra balığı ve memelilerin pıhtılaşma kaskad ve lipid metabolizması ile ilişkili ortak patofizyolojik yolları paylaştığını ortaya koymuştur. Memeli obezitesi ile ortak patofizyolojik yolları paylaşan bir zebra balığı DIO modeli oluşturduk. DIO zebra balığı, varsayılan farmakolojik hedefleri tanımlamak ve insan obezitesinin tedavisi için yeni ilaç keşiflerinde kullanılabilir (Oka et al., 2010).

Gelişimsel toksisite değerlendirmeleri genellikle yapısal sonuçlara odaklanır ve erken embriyonik dönemde ortaya çıkan ince metabolik farklılıkları göz ardı eder. Yanlış embriyonik beslenme; diyabet, obezite ve kardiyovasküler hastalık gibi daha sonraki yaşam hastalıklarına neden olabilir. İnsan embriyosu anneden plasenta ile besinleri alır. Burada, insan ve zebra balığı besin kesesinin biyolojisini karşılaştırıyoruz ve besin kesesi kusurlarının, bileşiminin ve kullanımının toksik aracılı pertürbasyon örneklerini gözden geçiriyoruz. Zebra balığı embriyoları, insan embriyoları gibi, besinsel bir ön bellek görevi gören çıkıntılı bir besin kesesine sahiptir. Anormal besin kesesi morfolojisi balık embriyo toksisite çalışmalarında yaygın bir niteleyici bulgudur. Kantitatif değerlendirme ve karakterizasyon embriyonik beslenme üzerindeki toksik etkilerin mekanik hedeflerini ortaya çıkarma fırsatı sunar. Zebra balığı ve besin kesesinin incelenmesi, erken embriyonik beslenmedeki toksik bozulmaları ortaya çıkarmak için mükemmel bir modeldir ve hastalığın gelişimsel kökenlerine ilişkin mekanik kavrayışları keşfetme potansiyeline sahiptir (Sant & Timme-Laragy, 2018).

Obezite salgınındaki artış ve metabolik sendromun patolojik sonuçları için artan endişe, obezite ile ilgili farmakoterapötiklerin geliştirilmesine büyük ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir. Bu tür terapötiklerin araştırılması, hayvan obezite modellerinin yavaş çalışmasıyla ciddi şekilde sınırlıdır. 96 oyuklu bir plakaya yerleştirilmeye uygun olan zebra balığı larvaları, küçük moleküllü incelemeler yapmak için en yüksek verim alınan omurgalı model organizmalardan biri olarak ortaya çıkmıştır. Yağ metabolizmasının toksik olmayan moleküler mekanizmasını görsel olarak tanımlamak için bir yöntem geliştirilmiştir. CD38'in silinmesi yoluyla artan nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) seviyelerinin, SIRT-1 bağımlı bir şekilde farelerde yüksek yağlı diyetle indüklenen obeziteyi önlediği gösterildiğinden, NAD' i zebra balığı için doğrudan uygulama olasılığını araştırdık. Zebra balığı larvaları, kardeşler arasında (döllenmeden 3 gün sonra, dpf) eşdeğer yağ içeriğinin gelişim aşamasından başlayarak ve 7 dpf' ye kadar günlük tazeleme ile devam eden, Nil kırmızısı içeren ortamda inkübe edildi. PPAR aktivatörleri, beta-adrenerjik agonistleri, SIRT-1 aktivatörleri ve nikotinik asit tedavisi, insandan zebra balığı larvalarına uzanan yağ metabolizması sinyal transdüksiyonunun yüksek derecede evrimsel korunması ile tutarlı olarak yağ, kolesterol ve gen ekspresyonunda öngörülen değişikliklere neden oldu. Yağ içeriğindeki tüm değişiklikler, canlı zebra balığı larvaları Nil kırmızısı floresan mikroskopisi kullanılarak görsel incelenebilir. Resveratrol tedavisi en büyük ve en tutarlı yağ içeriği kaybına neden olmuştur. Önemli bir şekilde, NAD' nin doğrudan uygulanması, zebra balığı içindeki yağ içeriğini azalttı. Lipid metabolizmasını düzenleyen sinyal iletim yollarının evrimsel olarak yüksek düzeyde korunmasından dolayı, zebra balığı, klinik obeziteyi tedavi etmek için moleküler

yaklaşımları veya farmakolojik hedef gen ürünlerini tanımlamakta yararlı olabilir. Sonuçlarımız, altta yatan hedef proteinin muhtemelen Sirtuin ailesi üyesi proteinleri içerdiği durumlarda NAD veya Resveratrol' ün uygulanmasında ümit verici potansiyeli desteklemektedir. Ayrıca veriler, yüksek yağlı obezite sıçangil modellerinde etkili ve toksik olmayan Resveratrol için yüksek konsantrasyonlu bir pencere olup olmadığını belirlemeye odaklanan gelecekteki çalışmaları desteklemektedir (Kevin S Jones et al., 2008).

Obezite ve metabolik sendromla ilişkili hastalıklar batı dünyası için önemli tıbbi zorluklar haline gelmektedir. Alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD), karaciğerdeki bu değişmiş durumların bir tezahürüdür ve iltihap, evrimine sıkıca bağlı bir faktör gibi görünmektedir. Bu çalışmada, hastalıkta karaciğer transkriptomik modülasyonunu analiz etmek ve obezitenin lipopolisakkarit (LPS) gibi akut bir enflamatuar uyarana karşı bağışıklık tepkisini nasıl etkilediğini belirlemek için zebra balığının (Danio rerio) 'da aşırı beslemeye dayalı diyetle indüklenen obezite yaklaşımını kullandık . Aşırı beslenen zebra balığı, obez bir fenotip geliştirdi, karaciğer steatozu belirtileri gösterdi. LPS' ye yanıt olarak, sağlıklı balıklar, memelilerde meydana gelenle karşılaştırılabilir tipik bir konakçı savunma reaksiyonu sergiledi, oysa LPS ile uyarılan ve uyarılmayan obez zebra balıklarının aynı istatistik düzeyinde karşılaştırılması sırasında önemli bir gen modülasyonu yoktu. Obez balıkların uyarılması, zaten hasar görmüş karaciğere iki kez vurur ve hastalığın evrimini anlamaya yardımcı olabilir. Son olarak, uyarılmış sağlıklı ve obez zebra balığı arasındaki diferansiyel gen aktivasyonunun karşılaştırılması, sağlıklı ve hastalıklı karaciğer arasındaki metabolik durumda beklenen farkı ortaya koydu. Diferansiyel olarak modüle edilen genler şu anda insanlarda NAFLD ile uyarılmış karaciğerde varsayılan yeni patolojik belirteçler olarak incelenmektedir (Forn-Cuni, Varela, Fernandez-Rodriguez, Figueras, & Novoa, 2015).

Periferik yağ dokuları tarafından salgılanan bir hormon olan Leptin, iştahı düzenler. Son zamanlarda, kanıtlar Leptin' in iştahı kontrol etmenin yanı sıra davranışsal tepkide de rol oynadığını göstermiştir. Bu çalışmada zebra balığı modelinde Leptin' in iştahsız davranışlar üzerindeki potansiyel işlevini inceledik. Transkripsiyon aktivatörü benzeri efektör nükleazının (TALEN) genom düzenleme aracını kullanarak, erken çeviri durağı oluşturmak için kodlama bölgesindeki 4 bp' yi silerek leptin a (lepa) genini başarıyla attık. Balıkları, obez, iyi iştah ve Agouti ile ilişkili peptit (AgRP) ve Ghrelin hormonlarının, yiyecek alımını kontrol etmede Leptin' in kanonik fonksiyonu ile tutarlı bir fenotip sergiler. Yeni tank, ayna ısırması, yırtıcıdan kaçınma, sosyal etkileşim, sığılma, sirkadiyen ritim ve renk tercihi deneyi dâhil olmak üzere çoklu davranış son nokta analizleriyle, lepa balıklarının hızlı yüzme, daha az donma süresi, hiperaktivite gösteren bir anksiyojenik fenotip

gösterdi. Biyokimyasal analizler kullanılarak beyindeki melatonin, norepinefrin, asetilkolin ve serotonin düzeylerinin lepa' da önemli ölçüde azaldığı bulunmuştur. Beyin ROS seviyesi yükseldi ve anti-oksidatif enzim katalaz seviyesi azaldı. Birlikte ele alındığında, işlev kaybı çoklu davranış son nokta testi ve biyokimyasal analiz gerçekleştirerek, zebra balığı ilk kez endişe, saldırganlık, korku ve sirkadiyen ritim davranışlarını modüle etmede lepa geninin kritik bir rolü için güçlü kanıtlar sağlandı (Audira et al., 2018).

Obezite ve diyabet artık küresel salgınlar olarak kabul edilmektedir. Diyabet prevalans oranları obezite oranlarına paralel olarak artmaktadır ve bu iki hastalık arasındaki güçlü bağlantı “diyabezite” olarak tanımlanmıştır. Fazla kilolu veya obezitenin sağlık riskleri arasında en başta Tip 2 diyabet (T2DM), koroner kalp hastalığı ve çok sayıda organ kanseri gelmektedir. Hem obezite hem de diyabet, genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimini içeren karmaşık hastalıklardır. Obezite ve diyabetin altında yatan patogenez iyi anlaşılmamıştır. Bununla birlikte farmakolojik ve cerrahi tedavi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Sonuç olarak, obezite ve / veya diyabet hayvan modellerinin kullanımı hem bu hastalıkların daha iyi anlaşılması hem de etkili tedavilerin tanımlanması ve geliştirilmesi için önemlidir. Zebra balığı, lipid metabolizması, yağ biyolojisi, pankreas yapısı ve glikoz homeostazındaki fonksiyonel koruma nedeniyle metabolik hastalıkları incelemek için çekici bir model organizmadır. Ayrıca, insanlarda obezite ve diyabet tedavisi ile ilişkili yeni hedeflerin belirlenmesi için de uygundur. Bu derlemede, metabolik hastalıkları modellemek için zebra balığı kullanan çalışmaları vurgulandı ve zebra balığı obezite ve diyabet ile ilişkili patolojileri incelemenin avantaj ve dezavantajlarını tartışıldı (Zang, Maddison, & Chen, 2018).

Viseral yağın artması, insan kemik sağlığını etkiler; kırılabilirliğe, mekanik güçte azaltmaya ve bozulmuş kemik matrisi mikro yapısı ve anormal kemik hücresi fonksiyonundan dolayı kırıklara artan eğilime neden olur. Yetişkin Danio rerio(zebra balığı) hem metabolik hastalıkları hem de kemik metabolizmasını incelemek için güçlü bir modeldir. Bu çalışmanın amacı, yüksek yağlı diyetle obez erişkin bir zebra balığı üretmek ve metabolik ve kemik dokusu etkilerini değerlendirmektir. Yüksek yağlı diyet ile beslenen balıklarda; balık kan glikozu ve insülin seviyelerinin değiştiği, insülin üretiminde bir başarısızlık olduğunu ortaya koymuştur. Adipokinlerin kan analizi, adiponektin ve leptin düzeylerinde insan ve diğer obezite hayvan modellerinde yaygın olarak önemli değişiklikler olduğunu ortaya koymuştur. Hiperglisemi durumundan türetilen ileri glikasyon son ürünlerinin (AGE'ler) de değiştiği bulunmuştur. Tüm bu değişiklikler bozulmuş kemik metabolizması ile ilişkilidir. Yüksek yağlı diyet balıklarının ölçekleri, yoğun osteoklastik tartata dirençli asit fosfataz

(TRAP) aktivitesi ile ilişkili kemik rezorpsiyon lakunaları gösterdi, oysa alkalın fosfataz (ALP) azaldı. Bu veriler, yağ metabolizmasındaki dengesizliğin, yetişkin zebra balığı ölçeklerinde osteoporoz benzeri bir fenotip üreten enerji metabolizmasını değiştirdiğini göstermektedir. Zebra balığı obezite modeli, obez hastalarda metabolik değişikliklerin moleküler mekanizmalarının in vivo olarak aydınlatılmasına katkıda bulunabilir (Carnovali, Luzi, Terruzzi, Banfi, & Mariotti, 2018).

Son zamanlarda, obez yetişkin zebra balığı, memeli obezitesine benzer patofizyolojik yollara sahip deneysel bir model olarak kabul edildi. Şu anda, balık obezitesinde veya değişen enerji dengesi durumunda leptin hakkında rapor bulunmamaktadır. Çalışmada Real-Time PCR kullanılarak, leptin ekspresyon seviyelerine bakıldı; leptin DIO zebra balığı bağırsağında kontrol grubu (CTRL) göre önemli ölçüde daha yüksek çıktı. Bağırsak kanalında leptin ve reseptör proteinlerinin varlığı, hem kontrol hem de DIO zebra balıklarında western blot analizi ile tespit edildi. Tek immünohistokimyasal boyama ile leptin ve leptin reseptörü immünoreaktif endokrin hücreleri, DIO veya kontrol zebra balığı içinde bağırsak sisteminde tanımlanmıştır. Ayrıca her iki grupta leptin immünopozitif enterik sinir sistemi elemanları gözlenmiştir. Çift immünohistokimyasal boyama ile leptin ve reseptörü, özellikle DIO zebra balıklarında renklendirildi. Bu nedenle, çalışmamız Leptin in enerji homeostazının kontrolüne olası bir katılımının araştırılmasında bir başlangıç noktasını temsil etmektedir (Mania et al., 2017).

Son yıllarda dünya genelinde yeme bozuklukları ve obezite sıklığı artmıştır. Obezitenin patofizyolojisi hala belirsizdir, ancak son kanıtlar obezitenin, beslenmeyi ve enerji homeostazını düzenleyen endokrin ve nöral faktörlerdeki değişikliklerle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Obezite de etkili terapötik ilaçlar geliştirmek için, ilgili nöronal devreler ve mekanizmalar hakkında daha kapsamlı bir bilgiye ihtiyaç vardır. Balıklar memeli modellerine göre çeşitli avantajlar sunar ve iştahın nöral ve endokrin regülasyonunda yer alan mekanizmalarda memelilere yakın benzerlik gösteren genetik ve fizyolojik homoloji paylaşırlar (Volkoff, 2019).

Çalışmamızdaki amaç, öncelikler farklı diyet uygulamaları ile zebra balıklarında obezite modeli oluşturmaktır. Farklı diyet uygulamalarının anksiyete ve benzeri davranışlar üzerine etkisini incelemek; iştah, lipit ve karbonhidrat metabolizması üzerine etkisi olan gen bölgelerinin ekspresyon analizine bakmaktır. Buna ek olarak oluşturulan obezite modellerinden alınan birinci nesil yavrularda iştah, lipit ve karbonhidrat metabolizması üzerine etkisi olan gen bölgelerinin ekspresyon analizine bakmak, bu yavrularda anksiyete ve benzeri davranışları incelemektir.

MATERYAL ve METOD

Balık Materyali

Anavatanı Güneydoğu Asya olan zebra balığı Sazangiller ailesine aittir. Taksonomik sınıflandırması;

- Phylum: Chordata
- Classis: Actinopterygii
- Ordo: Cypriniformes
- Familia: Cyprinidae
- Genus: Danio
- Species: Danio rerio şeklindedir (Detrich III, Westerfield, & Zon, 2016).

Zebra balığı ilk olarak 70'li yıllarda daha güzel görünümlü ve sağlıklı yavrular elde etmek için Oregon Üniversitesi (ABD) araştırmacıları tarafından ıslah edilmiştir. Sonraları özellikle moleküler biyolojide yeni ve teknolojik yöntemlerin gelişmesi ile birlikte toksikoloji çalışmalarında ideal bir model olmuştur.

Deneyde Kullanılacak Balıkların Bakımı

Çalışma boyunca kullandığımız zebra balıkları AB hattına ait balıklardan seçilmiştir. Öncelikle bu balıkların yeni akvaryuma alışma süreci (yaklaşık 2 ay kadar bir süre) beklenildi. Anaç olarak kullanılan bu balıklardan 03.05.2019 tarihinde yumurta alındı. Bu yumurta alım işlemi bir hafta boyunca her gün olacak şekilde tekrarlandı. Alınan yumurtalar ilk olarak döllenme durumuna göre mikroskop altında seçildi ve saf su ile 3 kez yıkandıktan sonra E3 solüsyonuna konuldu. 5 gün boyunca etüvde E3 solüsyonunda bekletildi. Etüv sıcaklığı 28°C olacak şekilde ayarlandı ve bu solüsyon her gün değiştirildi (Nüsslein-Volhard & Dahm, 2002). 15. Gününe kadar büyütülen zebra balığı larvaları zebra balığı kapalı devre sistemine alındı (Şekil 9).



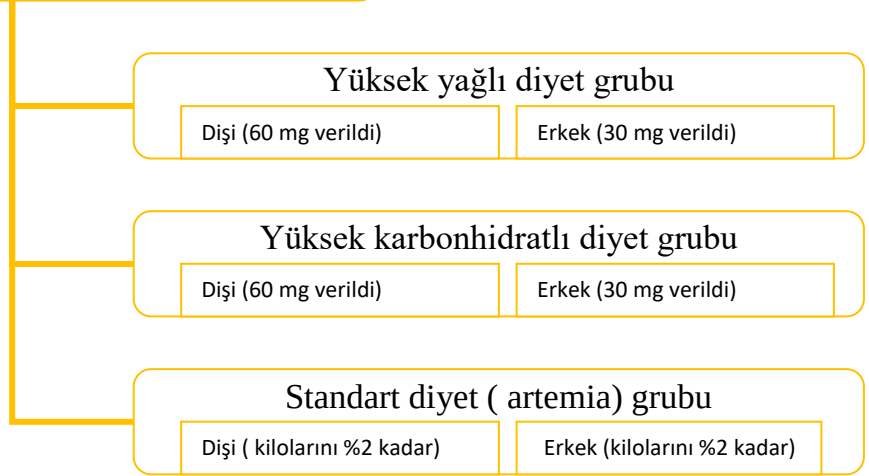
Şekil 9. Zebra balığı kapalı devre sistemi.

Yavrular yaklaşık olarak 7 günlük olduktan sonra sisteme alışma sürecine girildi. Yavruların besleme aşamaları:

0.-7. gün	→	Besin kesesinden beslendi. Herhangi bir şey verilmedi
7.-9. gün	→	Yumurta sarısı ile beslendi.
9. gün- 3. aya kadar	→	Hergün sabah ve akşam olmak üzere iki kez Artemia ile beslendi.

Artemia zebra balığı için kullanılan canlı yemdir. Bir gece önceden tuzlu suda bekletilir ve tamamen açılması ile zebra balığına verilir (Nüsslein-Volhard & Dahm, 2002)

3. aydan sonra balıklar 3 gruba ayrıldı. Her grup kendi içinde dişi ve erkek olmak üzere 2 gruba ayrıldı. 6 hafta besleme yapıldı. Günlük verilen yem miktarı tabloda belirtildi.



Şekil 10. Çalışmamızda uyguladığımız besleme şeması ve günlük verilen yem miktarları.

Yemleme boyunca Meguro ve arkadaşlarının önceden yapmış oldukları protokole göre yem hazırlandı ve yine aynı protokole göre günlük yemleme miktarı belirlendi. Her gün yemi alım miktarı kontrol edildi. Yemleme boyunca sistem 45 dakika kapatıldı ve tüm yemi almaları için zaman verildi (Meguro et al., 2015).

Yüksek Yağlı ve Yüksek Karbonhidratlı Yem Formülasyonunun Hazırlanması

Yem formülasyonu protokolde belirtilen karbonhidrat, protein, yağ ve diğer besin öğelerine göre uygun bir şekilde hazırlandı (Şekil 11)

İçeriği (% , w/w)		HF	HC
Balık unu		22,37	22,37
Tavuk unu		33,13	33,13
Soya protein konsantrasyonu		14,5	14,5
Kan unu		8	8
Vitamin karışımı		0,3	0,3
Mineral karışımı		0,1	0,1
Kolin		0,3	0,3
Metiyonin		0,15	0,15
Lizin		0,15	0,15
Ayçiçek yağı		20	-
Jelatinize edilmiş nişasta		-	20,9
CMC		1	0,1
Yaklaşık analizler (%)	SFD	HF	HC
Nem	5.80	9.49	7.16
Kül	11.30	11.03	10.69
Yağ	7.70	23.60	6.20
Toplam kalori			
Protein	44,7	75,4	72.8
Yağ	7,7	23,6	6,2
Karbonhidrat	47,6	1	21
Kcal/g diyet	527.09	655,82	561.44

Şekil 11 Hazırlanmış yem Formülasyonunun 100 gr göre içeriği, yem kompozisyonu ve kalori değerleri (HF: yüksek yağlı diyet, HC: yüksek karbonhidratlı diyet, SFD: standart pul yem).

Hazırlanan yem formülasyonu protokolde olduğu gibi günde iki kez (sabah-akşam) olacak şekilde 60 mg dişilere, 30 mg erkeklere verildi. Kontrol için çalışmada sadece pul yem kullanıldı ve miktarı da balıkların vücut ağırlıklarının %2 si olacak şekilde ayarlandı (Meguro et al., 2015).

Besleme Öncesi ve Sonrası Kantitatif Ölçümlerin Yapılması(Kilo, Boy ölçümü)

Araştırmada kullanılacak balıkların yemleme sürecine başlamadan boy ve kilo ölçümü yapıldı. Ölçüm de hassas terazi kullanıldı. 500 ml'lik behere su konuldu ve darası alındı. Balıklar teker teker içine konularak tartıldı. Tartım sonuçları kaydedildi. Şeffaf bir cetvel yardımıyla da boy ölçümleri yapıldı. Bu ölçüm sonuçları ile başlangıç ve bitiş BKİ (beden kitle indeksi)'leri hesaplandı. Bu işlem 1., 2.,4. ve 6 haftalarda yapıldı.

Deneyde Kullanılacak Balıklarda Gen Ekspresyon Analizi

Çalışmada ilgili genlerin ekspresyonlarını değerlendirmek amacıyla, anaç balıklardan ve bunlardan elde edilen larvalardan RNA izolasyonu yapıldı. RNA izolasyonu, anaç balıkların kas dokularından, larvalarda ise her grup için oluşturulan larva havuzundan (20 larva) 3 tekrerrür olacak şekilde yapıldı.

Gen ekspresyonunda öncelikle tüm gruplardan RNA izolasyonu yapıldı. Sonrasında cDNA oluşturuldu. Oluşan cDNA 'lardan Real-time PCR yöntemi ile analiz edildi.yapıldı.

Total RNA izolasyonu.

Real Time PCR da kullanmak için gerekli olan cDNA'ların oluşturulmasında ilk basamak RNA izolasyonudur. RNA izolasyon kitinin (EcoPURE Total RNA Kit) protokolüne göre işlemler gerçekleştirildi. Sonuç olarak elde edilen RNA' lar Nanodrop ND 1000 spektrofotometre ile konsantrasyonlar ve saflıklar belirlendi. Tüm RNA' lar -80°C de saklandı.

cDNA sentezi.

İzole edilen RNA'lerden eşit konsantrasyonlarda kullanarak, Roche Transcriptor First Strand cDNA Synthesis kit protokolüne uygun olarak cDNA sentezi gerçekleştirildi. Elde edilen cDNA örneklerinin bir kısmı Real Time PCR' da kullanılmak üzere 1/10 oranında seyreltildi ve kalan cDNA' lar -20°C'de saklandı.

Real-time PCR.

Real Time PCR için SYBR Green Master mix kullanıldı. Hedef gen olarak Tablo 3.3' de detayları verilen genler ve referans gen olarak GAPDH kullanıldı. Reaksiyon karışımı 10 µl olacak şekilde hazırlandı.

Real-time PCR döngüsü;

- 50 °C sıcaklıkta 2 dk
- 95 °C sıcaklıkta 10 dk

olacak şekilde 1 döngü tamamlanır.

- 95 °C 10 saniye
- 60 °C 1 dakika
- 70 °C 10 saniye

olacak şekilde 40 döngü tamamlanır.

Devamında erime eğrisi analizi için

- 65° C den 95° C ye kadar her 2 saniyede 0.5 ° C artacak şekilde denatürasyonm yapıldı.

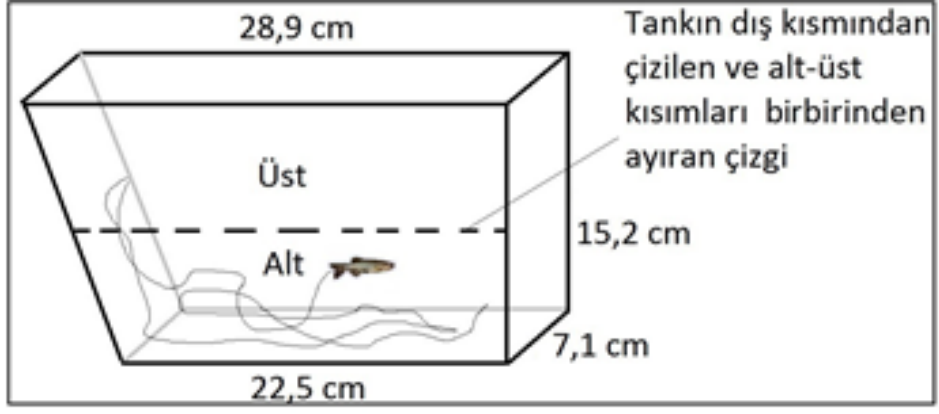
Primerlerin tasarımı.

Araştırmada kullanılacak primerlerin tasarımı için www.ncbi.nlm.nih.gov ve bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/primer3/ adreslerinden yararlanıldı. Bazı primerler de Mentor ve ark. yapmış olduğu çalışmadan alındı (Ekler Bölümünde Ek-3 te belirtilmiştir).

Deneyde Kullanılan (Yetişkin ve Larva) Balıklarda Davranış Testi

Yetişkin balıklar için anksiyete testi, dalma tank kullanılarak 6 dakika boyunca balığın hareketlerinin izlenmesi ve balığın lokomotor aktivitesinden gelen anksiyete ilişkili davranışlarının incelenmesi ile yapılmaktadır (Egan et al., 2009). Daha sonra EthoVision yazılımı üzerinden dalma tankının alt ve üst kısımları zon olarak belirlenecek ve hayvanın alt ve üst kısımda kaldığı süre, düzensiz hareketleri (balığın yüzme esnasında yönünün ve hızının keskin ve ani bir şekilde tekrar tekrar değişmesi), alt üst kısımlar arası geçişlerinin sayısı, durgunluğunun (solungaç ve gözler hariç balığın hareketlerinin bir saniye veya daha fazla süreyle tamamıyla durması) süresi ve sayısı gibi yüzme davranışları aynı yazılım üzerinden analiz edildi (Egan et al., 2009; Hamilton et al., 2017). Bahsi geçen hareketlerden alt kısımda fazla zaman geçirilmesi, en üst kısma ulaşması için geçen sürenin uzunluğu veya fazlaca gösterilen düzensiz hareketler gibi davranışlar yazılım üzerinden değerlendirilerek balıkların anksiyete düzeyleri hakkında yorumlar yapıldı (Cachat et al., 2011; Nguyen et al., 2014; Stewart et al., 2012)

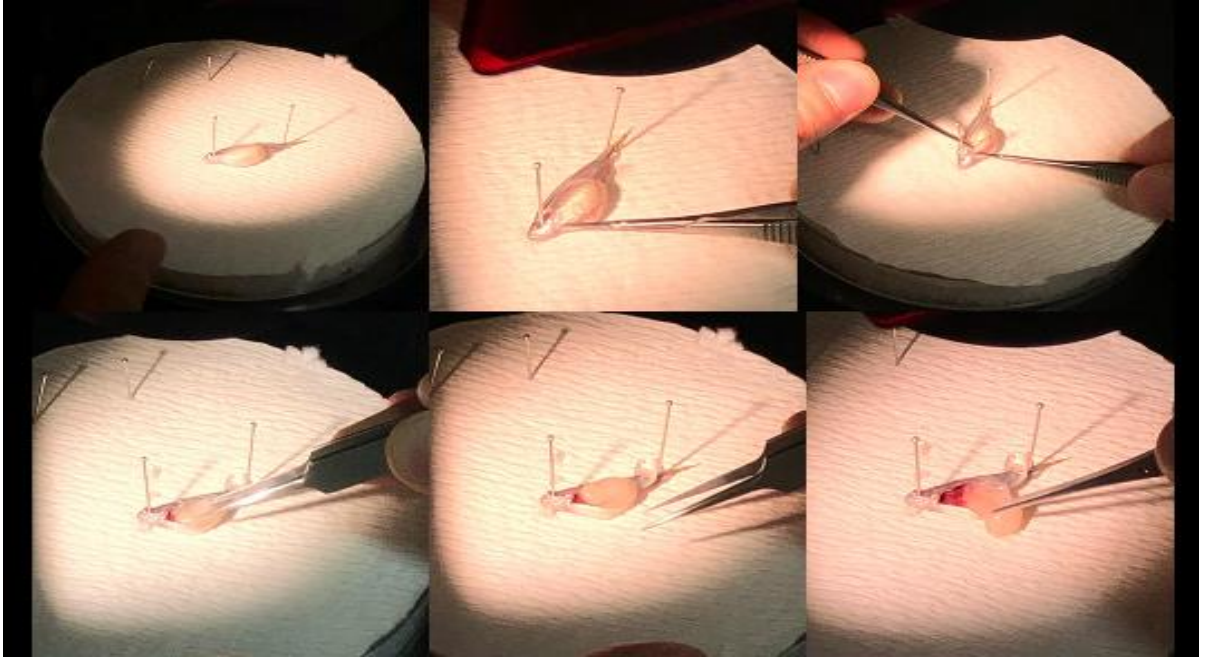
Larvalarda ise; 120. saate ulaşan larvalardan rastgele seçilen 24'er tanesi (3 tekerrürlü olmak üzere her grupta toplam 72 larva) içlerinde 1'er ml saf su bulunan 24'lük hücre kültürü kaplarına her kuyucukta 1 larva olacak şekilde yerleştirildi. Hazırlanan hücre kültürü kabı ısı kontrol ünitesi ile sıcaklığı 28.5 °C'ye ayarlanmış DanioVision zebra balığı larvası davranış sistemine yerleştirildi ve EthoVision yazılımı üzerinden larva hareketleri kayıt altına alındı (Liang et al., 2019; Massarsky et al., 2018; Wang et al., 2018; Zhou et al., 2019). Süre sonunda her periyota (karanlık ve/veya aydınlık) ait veriler ayrı ayrı olarak değerlendirildi ve 50 dakikalık süredeki her bir larvanın kat ettiği toplam mesafe ve ortalama hız değerleri SPSS 20.1 istatistik programında Tukey testine göre analiz edildi (Liang et al., 2019; Massarsky et al., 2018; Wang et al., 2018; Zhou et al., 2019)



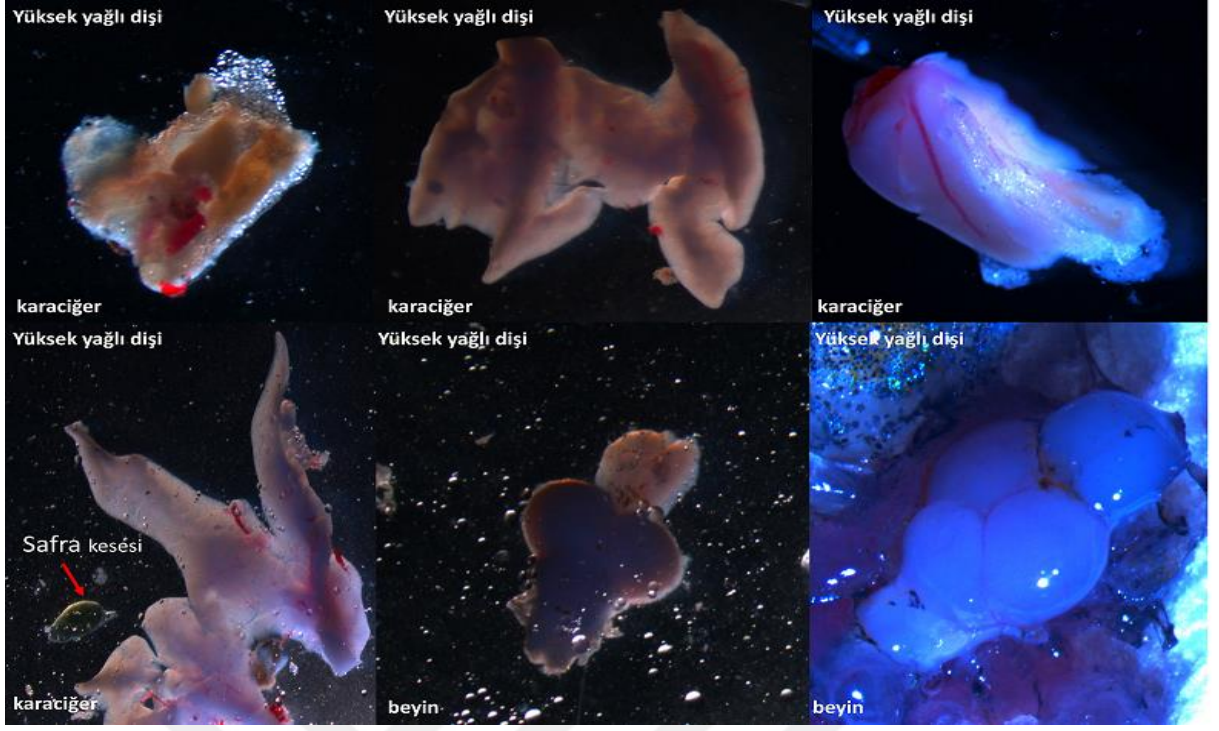
Şekil 12. Yetişkin zebra balıklarının davranış testinin yapıldığı ortam.

Deneyde Kullanılan Yetişkin Balıkların Organlarının Çıkarılması(Diseksiyon İşlemi)

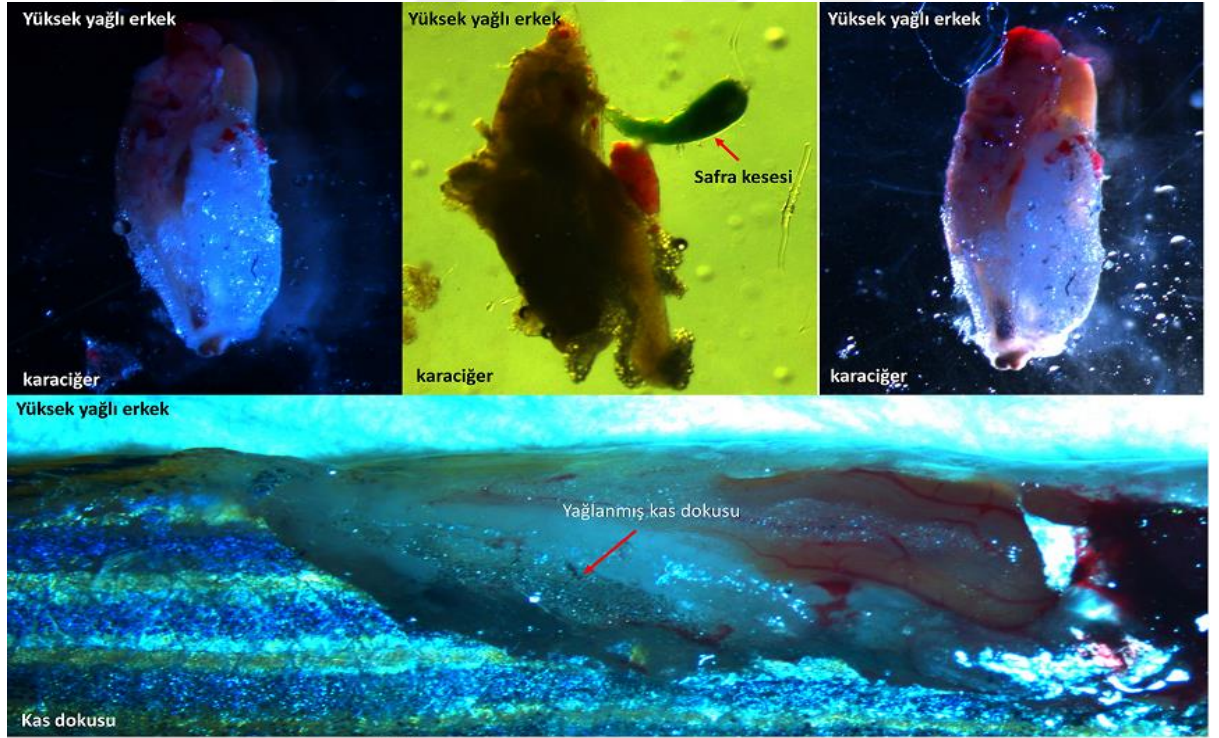
Tüm beslenme ve yavru alımı bittikten sonra deneyde kullanılan balıklar Tricaine ile anestezi uygulandı ve beyin, karaciğer, kalp dokuları diseksiyon işlemi ile alındı (Şekil 13). Alınan dokular paraformaldehid solüsyonuna konuldu. Kas dokusu ise gen ekspresyon analizleri için kullanıldı.



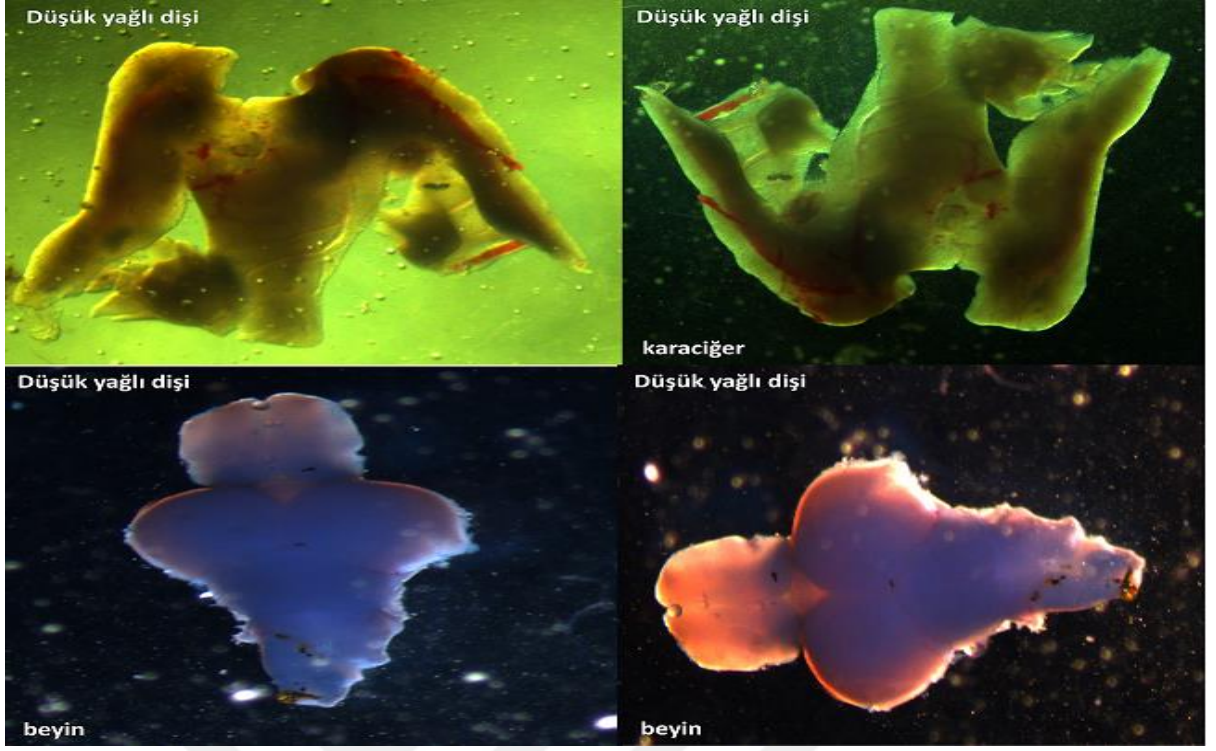
Şekil 13. Zebra balıklarının anestezi sonrası diseksiyon işlemleri.



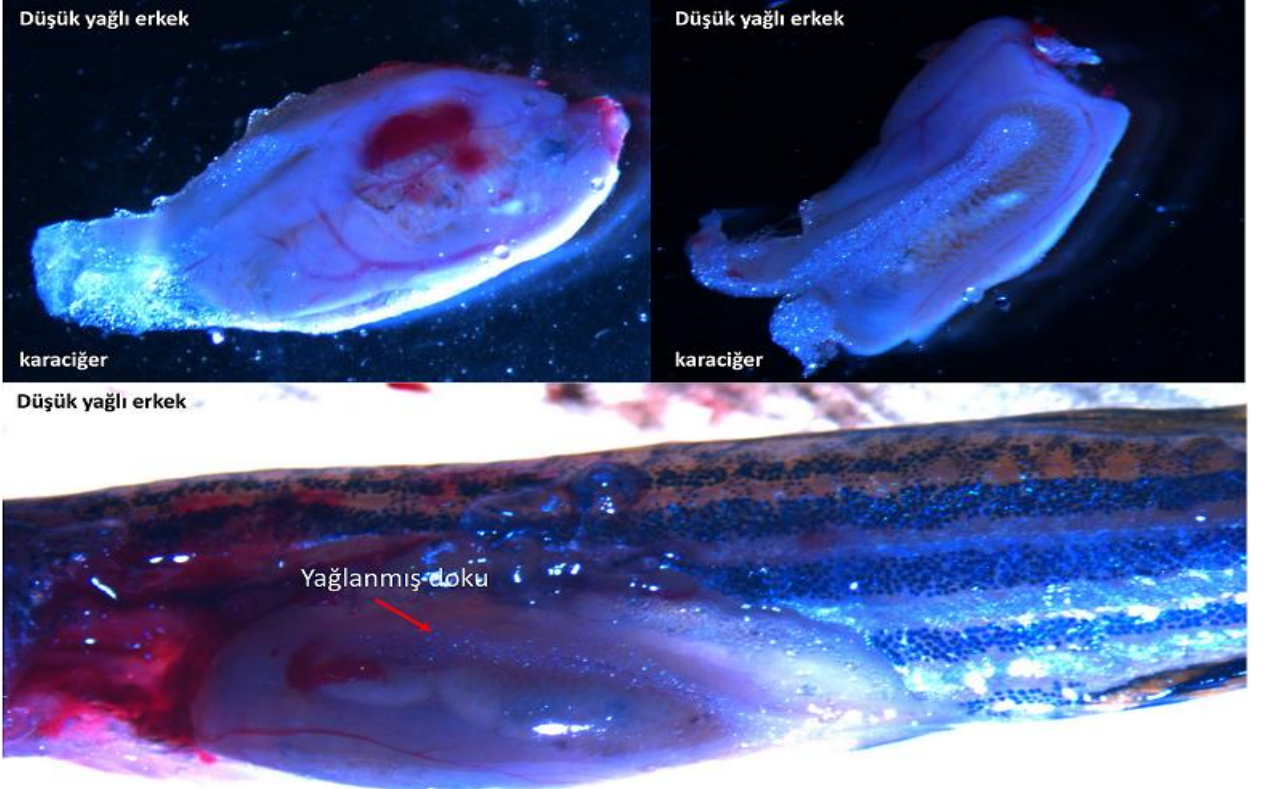
Şekil 14. Yüksek yağlı diyet ile beslenen dişi zebra balıklarının doku örnekleri.



Şekil 15. Yüksek yağlı diyet ile beslenen erkek zebra balıklarının doku örnekleri.



Şekil 16. Düşük yağlı diyet ile beslenen dişi zebra balıklarının doku örnekleri.



Şekil 17. Düşük yağlı diyet ile beslenen erkek zebra balıklarının doku örnekleri.

Deneyde Kullanılan Yetişkin Zebra Balık Dokularında İmmünoflüoresan Boyama İşlemi

Çalışma boyunca kullanılan tüm balıklarda beyin doku çıkarıldı. Çıkarılan dokular %4'lük paraformaldehit çözeltisinde 24 saat bekletildi. Alkol ile dehidrate edilen dokular ksilol ile temizlendi ve parafinlere bloklandı. Bu bloklar 4 µm boyutlarında kesitler alındı. Bloklama işleminde her doku kendi arasında sıralandı.

İmmünoflüoresan inceleme için yapılan aşamalar şöyledir:

1. Adhezivli (poly-L-Lysin) lamlara alınan tüm kesitler 57 °C deki etüvde 1 saat bekletildi.
2. Ksilol ve alkol serilerinden geçirilen tüm dokular, deparafinize ve dehidre edildi.
3. Tüm dokular distile suda 5 dk yıkandı.
4. %3'lük H₂O₂ solüsyonunda 10 dk bekletildi ve endojen peroksidaz inaktive edildi
5. Lamlar 3 kez PBS ile yıkandı.
6. Kesitler çekirdekdeki antijen maskelenmesini önlemek amacıyla antijen retrieval (sitrat buffer, ph+ 6.1) solüsyonu içerisinde, 5'er dakika süreyle 2 kez mikrodalga fırında ısıya maruz bırakıldı.
7. Mikrodalga fırından çıkarılarak ve 30 dk oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı.
8. Bu sürenin sonunda PBS ile 3 kez yıkanıp, kesitlerin etrafı kurularak hidrofobik kalemle (Pappen) ile çizildi.
9. Nonspesifik zemin boyanmasını önlemek için tüm primer ve sekonder antikorlarla uyumlu olan Protein blok ile 10 dk inkübasyona bırakıldı.
10. İnkübasyon sonunda doku kesitleri üzerinde kalan blok solüsyonunun fazlası döküldükten sonra yıkanma yapılmadan primer antikör (Monoklonal Antibody anti-bovine PI3 Cat No: BIO 290, BIOX Jemelle, Belgium.) damlatıldı.
11. Lamlar primer antikora uygun olarak 1 saat oda sıcaklığında bekletildi.
12. PBS ile 3 kez 5'er dakika yıkanıp, biotinize sekonder antikör ile oda sıcaklığında 10-30 dk. inkübe edildi.
13. PBS ile tekrar yıkanan kesitler, streptavidin-peroksidaz' da 10-30 dk bekletildikten sonra PBS ile aynı şekilde yıkandı.
14. Lamlara FITC, DAPI damlatıldı ve FITC 45 dk, DAPI ise 5 dk bekletildi.
15. Son olarak da sulandırılmış gliserol (9 gliserol,1 su) ile lam kapatılır (Belhan et al.).

Hazırlanan preparatlar lazer taramalı konfokal mikroskobu (ZEİSS LSM 710) ile incelendi.

Deneyde Kullanılan Yetişkin Zebra Balık Dokularında Histopatoloji Tayini

Çalışma boyunca kullanılan tüm balıklarda karaciğer, kalp çıkarıldı. Çıkarılan tüm dokular %4'lük paraformaldehit çözeltisinde 24 saat bekletildi. Alkol ile dehidrate edilen dokular ksilol ile temizlendi ve parafinlere bloklandı. Bu bloklar 4 µm boyutlarında kesitler alındı. Bloklama işleminde her doku kendi arasında sıralandı. Tüm dokular Hematoksilen-Eosin ile boyandı (Buesa, 2007).

Hematoksilen-eozin boyama aşaması şu şekildedir:

1. Ksilol-1, Ksilol-2 aşamalarında (20 dk) bekletilmiştir.
2. Sırasıyla %70-%80-%90-%100 alkol serisinden geçirilmiştir.
3. 5 dk distile suda bekletilen dokular hematoksin boyasının içine alınmıştır.
4. Hematoksin boyasında 1 dk bekletilen dokular asit alkol karışımına batırılıp çıkarılmıştır.
5. Dokular eozin solüsyonunda 1 dk bekletilmiştir.
6. Dokular sırasıyla %100-%90-%80-%70 alkol serisinden geçirilmiştir.
7. Boyama işlemi tamamlandıktan sonra lamlara entallen damlatılarak lamelle kapatılmıştır.

Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda (Olympus BX51) incelenmiştir (SAĞLAM, 2019).

Deneydeki Larvaların Fizyolojik ve Morfolojik Değerlendirmesi

Protokolde belirtildiği gibi 6 hafta boyunca beslenen balıklardan yumurta alındı. Yumurta alım süreci boyunca da Meguro ve ark. yapmış olduğu çalışmadaki besleme protokolüne aynen devam edildi. Toplamda üç kez tüm gruplardan yumurta alındı. Yumurta alımı Westerfield 2000' e göre yapıldı. Zebra balıkları için özel yumurtlama tanklarına 1 dişi 1 erkek olacak şekilde balıklar yerleştirildi. Araya engel konulan yumurtlama tanklarında bir gece bekletilen balıklar sabah ışıkların açılması ile engel kaldırıldı ve yaklaşık 45 dakika yine bekletildi. Sonrasında yumurtalar alındı. Bu yumurtalar da E3 solüsyonuna konuldu (E3 solüsyonu ekler bölümünde vardır.). 5 gün boyunca E3 solüsyonu hergün yenilendi. Yavruların yumurtadan çıkış, sağ kalım ve anormalileri 24 saat aralıklarla tek tek not edildi. Tüm anaçlardan toplamda yaklaşık 1500 yumurta alındı.

Anaçlardan alınan yumurtaların fizyolojik ve morfolojik özellikleri Danio-Vision cihazı Danioscope yazılımı ile değerlendirildi. Tüm değerlendirmeler balıkların aynı saatte ve aynı büyüklükte ışık mikroskobu (ZEİSS Discovery V12, GERMANY) ile çekilen video ve fotoğraflar ile yapıldı. Göz çevresi, larvalarda boy uzunluğu 24., 48., 72. Ve 96 saatlerde değerlendirildi. Kalp atışı ve kan akışı ise 96. saatte değerlendirildi.

Reaktif Oksijen Türevlerini CM-H2DCFDA İndikatörü İle Boyayarak Oksidatif Stresin Belirlenmesi

Yetişkin balıklardan alınan yavrular 96. saatinde CM-H2DCFDA (5-krometil-2', 7'-diklorodihidrofloresan diasetat asetil ester) indikatörü kullanılarak reaktif oksijen türevleri belirlendi. Bunun için her gruptan 5 tane larva alındı ve bu uygulama farklı larvalar ile 3 kez tekrarlandı, Alınan balıklar 24'lük hücre kültürü plaklarına konuldu. Önce larvalar 3 kez saf su ile yıkandı. Son yıkamada tüm su uzaklaştırıldı ve 2 µg/ml indikatör eklendi. Etüvde (28,5 °C) de 2 saat, karanlık ortamda inkübe edildi. 2 saat sonra larvalar tekrardan 3 kez saf sudan geçirildi. %3' lük metil selüloz ile lama konulan larvalardan flüoresan mikroskobu (Zeiss, Discovery V12, Germany) ile görüntü alındı (Baran, Köktürk, Atamanalp, & Ceyhun, 2018).

Apoptotik Hücrelerin Tayin Edilmesi

Canlı vücudunda programlanmış hücre ölümlerini belirlemek için organik bir bileşik olan Akridin Oranj (AO) kullanıldı. AO DNA ile bağlandığında, maksimum 502 nm' de (camgöbeği) ve maksimum emisyonu 525 nm' de (yeşil) flüoresan ışıma gösterir. AO RNA ile bağlandığında, maksimum uyarım 460 nm' de (mavi) ışıma verir. Sağlıklı hücrelerden geçemeyen AO boyası hasarlı hücrelerden geçebilmektedir. Çalışmada tüm gruplardan 96. saatte 5 tane larva alındı ve farklı larvalar kullanılarak 3 kez tekrarlandı. PBS ile 3-5 kez yıkandı. 24'lük hücre kültürü plaklarına konulan larvalardan son yıkamada tüm PBS çekildi ve 5 µg/ml AO boyası eklendi. 30 dk etüvde (28.5° C) karanlık ortamda inkübe edildi. Sonrasında tekrar PBS ile yıkandı, %3' lük metil selüloz ile lama konulan larvalardan flüoresan mikroskobu(Zeiss, Discovery V12, Germany) ile görüntü alındı (Sulukan et al., 2017).

Vücuttaki Lipit Düzeyinin Görüntülenmesi (Nile-Red (C20-H18-N2-O2) Boyama)

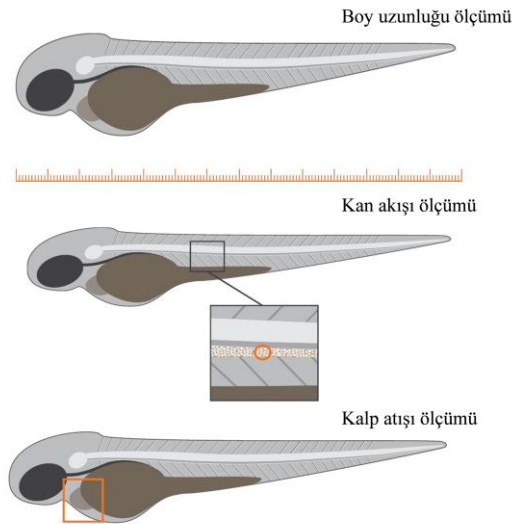
Nil kırmızısı C20-H18-N2-O2 (9-dietilamino-5H-benzo (a) fenoksazin-5-o) organik bir heterotetrasiklik bileşiktir. Nil kırmızısı, genellikle kırmızı floresan proteini ile paylaşılan uyarma ve emisyon dalga boylarına sahip floresans mikroskop kullanılarak kolayca görüntülenebilen bir membran boya olarak kullanılabilir. Hücre içi lipit damlacıklarını boyar.

Denemede tüm gruplardan 120. saatinde 5'er larva alındı ve 10 ng/ml C20-H18-N2-O2 ile bir gece inkübe edildi. Bu süre zarfında etüvde karanlık ortamda bulundurulur. Boyama işleminden sonra %3' lük metil selüloz ile lama konulan larvalardan flüoresan mikroskobu(Zeiss, Discovery V12, Germany) ile görüntü alındı (Kevin S. Jones et al., 2008).

Göz Boyutu, Kalp Atışı ve Kardiyak Aktivitenin Belirlenmesi

Farklı diyetler ile beslenen grupların larvalarında herhangi bir fizyolojik farklılık olup oluşmadığını anlamak için tüm gruplardan alınan balıkların; göz çapı, kalp atışı, perikardiyak alanı ve kardiyak aktivitesi ölçümü Daniovision cihazı Danioscope yazılımı ile yapıldı. Tüm gruplardan göz çevresi, boy uzunluğu ve perikardiyak alanın ölçümü için en az 40 larva aynı büyütme oranı ile ışık mikroskobunda fotoğraflandı. Kalp atışı ve kardiyak aktivitesi için her gruptan en az 20 larva da aynı pixelde (x90) büyütme ile ışık mikroskobu altında 30 sn videoları çekildi. Tüm sonuçlar Danioscope yazılımı kullanılarak belirlendi.

Danioscope yazılımı, zebra balıklarının embriyosunu ve larvasının; aktivitesini, kardiovasküler ölçümlerini, morfolojik parametrelerinin incelenmesini sağlayan bir yazılımdır. Şekil 18 de Danioscope yazılımında incelenecek arenaların belirlenmesi gösterilmiştir.



Şekil 18. Danioscope yazılımı ile larva zebra balıklarının fizyolojik ve morfolojik parametrelerinin değerlendirme şekilleri.

BULGULAR VE SONUÇLAR

Araştırma Boyunca Kullanılan Yetişkin Zebra Balıklarının Sonuçları

Balıkların kilo ve boy ölçüm sonuçları.

Balıkların yemleme süreci başlamadan, 1., 2., 4., ve 6. yani son hafta kilo ve boy ölçümleri yapıldı, BMI değerleri hesaplandı. Yemleme boyunca balıklarda ölüm yaşandığı için kalan balıklara göre ölçümler yapıldı. 3 farklı diyet grubu ve her grupta kendi içinde cinsiyet ayrımı yapılarak toplamda 6 farklı grupta 6 balık ile çalışmaya başlandı. Çalışma sonunda toplam 36 balıktan 31 balık hayatta kaldı.

Tablo 2. Kontrol Besleme Grubunun Başlangıç Boy-Kilo Ölçümü

Başlangıç Kilo		Başlangıç Boy	
Dişi	Erkek	Dişi	Erkek
0,632	0,625	2,3	2,4
0,625	0,578	2,7	2,6
0,648	0,589	2,9	2,7
0,702	0,624	2,8	2,3
0,69	0,569	2,6	2,5
0,684	0,582	2,5	2,5
0,632	0,625	2,3	2,4

Tablo 3. Yüksek Karbonhidratlı Besleme Grubunun Başlangıç Boy-Kilo Ölçümü

Başlangıç Kilo		Başlangıç Boy	
Dişi	Erkek	Dişi	Erkek
0,364	0,465	2,8	2,3
0,468	0,485	2,4	2,4
0,375	0,395	2,5	2,7
0,382	0,425	2,8	2,6
0,402	0,395	2,6	2,8
0,395	0,453	2,5	2,2
0,364	0,465	2,8	2,3

Tablo 4. Yüksek Yağlı Besleme Grubunun Başlangıç Boy-Kilo Ölçümü

Başlangıç Kilo		Başlangıç Boy	
Dişi	Erkek	Dişi	Erkek
0,375	0,364	2,1	2,1
0,48	0,292	2,3	2,5
0,456	0,385	2,7	2,7
0,482	0,315	2,6	2,2
0,456	0,345	2,5	2,1
0,503	0,367	2,4	2,3
0,375	0,364	2,1	2,1

Tablo 5. Kontrol Besleme Grubunun Bitiş Kilo-Boy Ölçümleri

Bitiş Kilo		Bitiş Boy	
Dişi	Erkek	Dişi	Erkek
0,49	0,528	2,3	2,7
0,68	0,590	2,7	2,5
0,525	0,628	2,8	3,0
0,51	0,702	2,6	2,6
	0,678		2,9
	0,635		2,4
	0,528		2,7

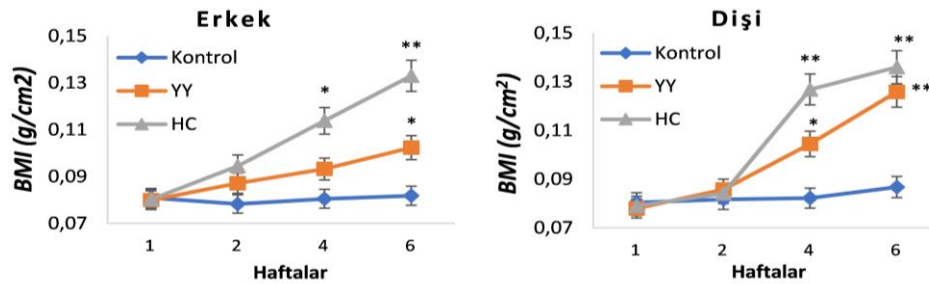
Tablo 6. Yüksek Karbonhidratlı Besleme Grubunun Bitiş Kilo-Boy Ölçümleri

Bitiş Kilo		Bitiş Boy	
Dişi	Erkek	Dişi	Erkek
0,7	0,593	2,7	2,7
0,804	0,628	2,4	2,4
0,745	0,704	2,5	2,5
0,705		2,9	
0,628		3,1	
0,635		2,7	
0,7		2,7	

Tablo 7. Yüksek Yağlı Beslenme Grubunun Bitiş Kilo-Boy Ölçümü

Bitiş Kilo		Bitiş Boy	
Dişi	Erkek	Dişi	Erkek
0,44	0,245	2,4	2,5
0,438	0,325	2,2	2,7
0,55	0,69	2,5	2,4
1,03	0,43	2,7	2,2
0,905	0,322	2,5	2,4
0,514	0,29	2,3	2,1
0,44	0,245	2,4	2,5

Sonuçları değerlendirdiğimizde boy uzunluğunda pek bir değişme olmamıştır. BKİ de ki değişimlerin nedeni kilodaki değişimdir. Standart yem ile beslenen grupta (kontrol) BKİ değerinde belirgin bir farklılık görülmemiştir. Yüksek karbonhidratlı yem ile beslenen balıklarda kilo alımı diğer gruplara göre daha fazladır. Bunun nedeni yemde kullanılan jelatinize olmayan nişasta olabilir. Yüksek yağlı yem ile beslenen grupta da BMI değeri artışı görülmüştür. Fakat cinsiyet ayırımına bakacak olursak yüksek yağ diyeti ile beslenen erkek zebra balıklarında ki BMI değişimi kontrol grubundan istatistiksel anlamda farklılık oluşturmamıştır. Buda yüksek yağ diyeti ile beslediğimiz erkek zebra balıklarının obez olmadığı anlamına gelebilir. Dişi zebra balıklarında bu durum söz konusu değildir. Sonuçlar grafiksel olarak da aşağıda gösterilmiştir (Şekil 19).

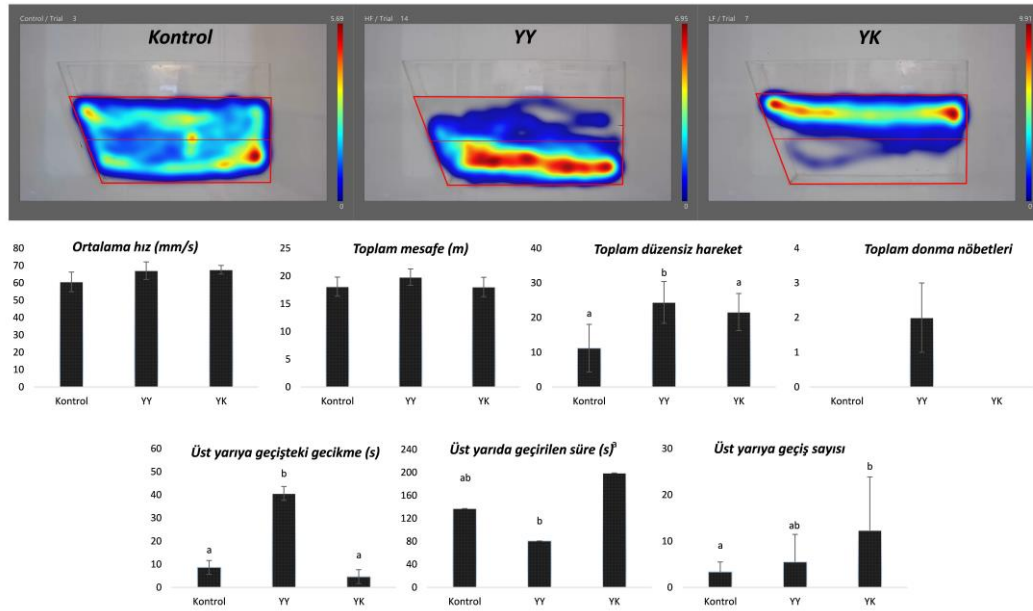


Şekil 19 Araştırmada kullanılan balıkların BMI değişim grafiği(YY: Yüksek karbonhidrat diyeti, YF: yüksek yağ diyeti).

Araştırma boyunca kullanılan balıkların davranış testi sonuçları.

Araştırma süresince kullanılan balıklar 6 haftalık yemleme süresi sonunda yeni tank dalma testine maruz bırakıldı. Danio-Vision cihazı Etho-vision yazılımı ile yapılan davranış testi her balığın tankta yüzme süresi net 6 dakika olacak şekilde ayarlandı. Sonuç olarak;

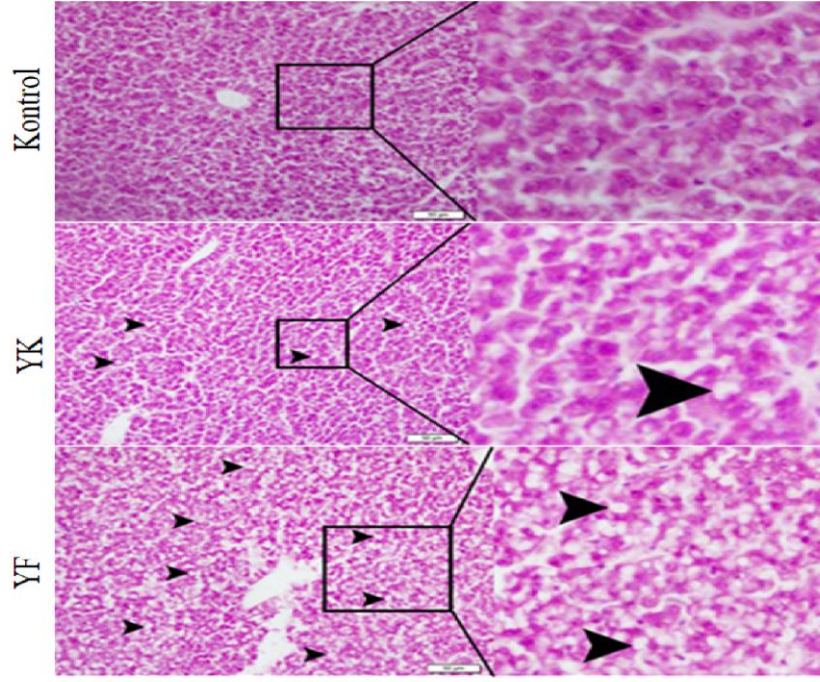
kontrol grubu balıkların yüzme testinde bir farklılık saptanmadı. Yüksek karbonhidrat diyetine maruz bırakılan balıkların yüzme testinde, tankın üst kısmında geçirilen vakit diğer kısımlarda geçirilen vakitten anlamlı olarak fazla bulundu. Yüksek yağ diyetine maruz bırakılan balıklar ise tankın alt kısmında daha fazla vakit geçirdi. Bu balıklar yüzme esnasında ani hareketler ve bir anda durma hareketleri sergiledi. Aslında yeni bir tanka konulan zebra balıkları ortamı tanımak için tankın içinde gezer. Yüksek yağlı diyet ile beslenen grupta görülen bu durum stres altındaki balıklarda gözlenen bir durumdur. Yani kontrol grubunun hareketleri normal hareketlerdir ve balığın kaygı ya da stres altında olmadığını göstermektedir. Fakat yüksek yağlı diyet grubunun hareketi; verilen yağın anksiyete ve benzeri davranışlara neden olduğu kanısına ulaştırabilir. Yüksek karbonhidratlı diyetinin ise yüksek yağlı diyetin tam aksine anksiyete ve benzeri davranışları azalttığı kanısını oluşturabilir (Şekil 20).



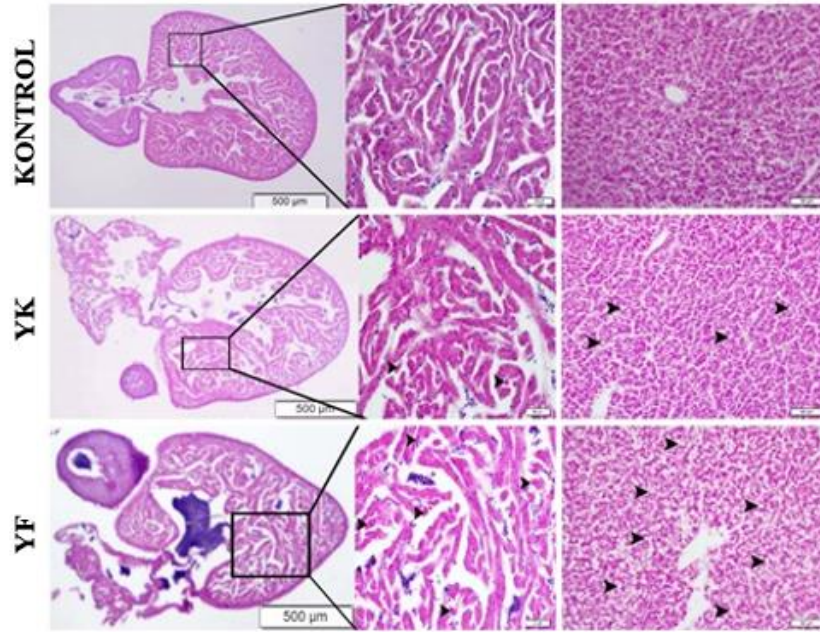
Şekil 20. Yetişkin balıklarda yapılan davranış testinin sonuçları (YK: yüksek karbonhidrat, YY: yüksek yağ).

Araştırmada kullanılan balıkların histopatoloji sonuçları.

Diseksiyon sonrası alınan karaciğer ve kalp dokusu gömülü parafin bloklardan 4 µm kalınlığında kesitler alınmış ve hematoxilen-eozin ile boyanmıştır. Işık mikroskobu altında tüm gruplara ait dokular incelenmiştir. Karaciğer dokusunda yüksek yağlı diyet ile beslenen grupta diğer gruplara göre nekrozis daha fazla saptanmıştır. Kalp dokusunda da bozulmalar saptanmıştır (Şekil 21, Şekil 22).



Şekil 21. Tüm diyet gruplarının karaciğer dokusunun histolojik görünümü (YK: yüksek karbonhidrat, YF: yüksek yağ).

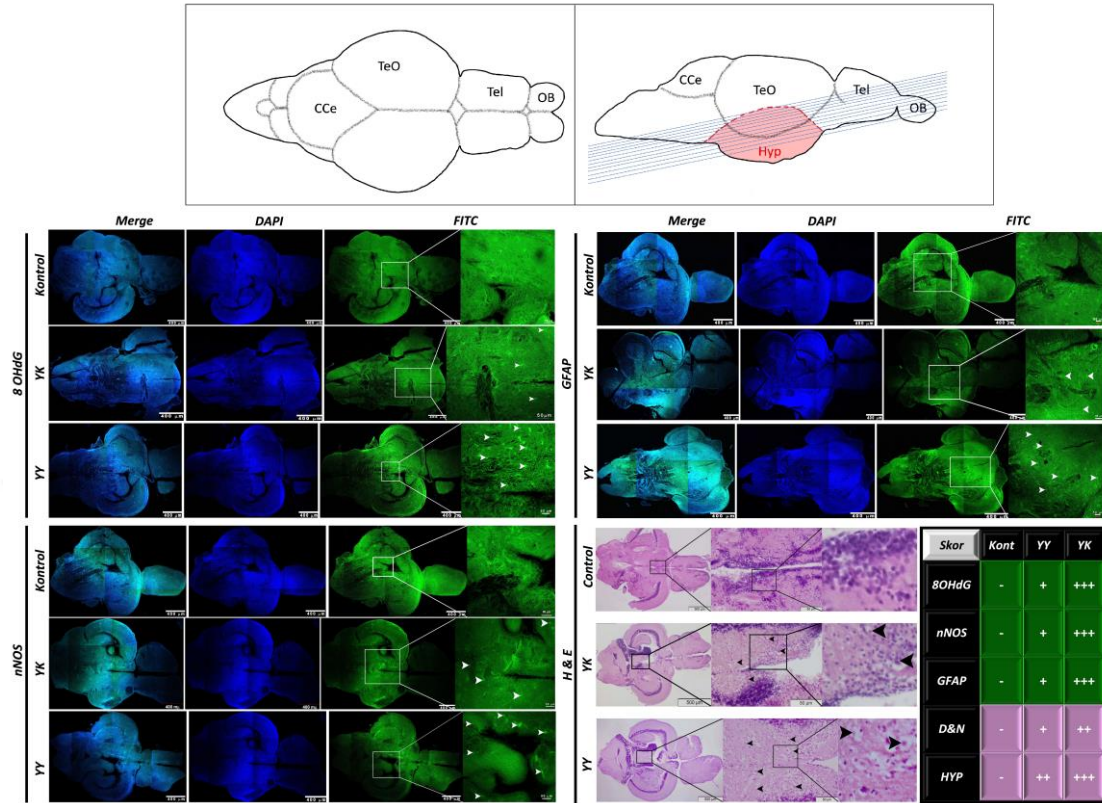


Şekil 22. Tüm diyet gruplarının kalp dokusu histolojik görünümü (YK: yüksek karbonhidrat, YF: yüksek yağ).

Araştırmada kullanılan balıkların immünofloüresans boyama sonuçları.

Diseksiyon sonrası tüm diyet gruplarından alınan beyin dokular parafine gömüldü ve her dokudan 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler GFAB, Nnos, 8OHdg ile boyandı. Boyama sonuçları lazer taramalı konfokal mikroskop altında incelendi. Yüksek yağlı

diyet ile beslenen grupta diğer gruplara göre tüm boyama gruplarında pozitiflik fazlaydı (Şekil 23- Tablo 8).



Şekil 23. Tüm grupların immünofloüresan görüntüleme sonuçları (YF: yüksek yağ, YK: yüksek karbonhidrat).

Tablo 8. İmmünofloüresan ve histopatolojik bulguların pozitiflik derecesi (yok (-), hafif (+), orta (++) , şiddetli (+++))

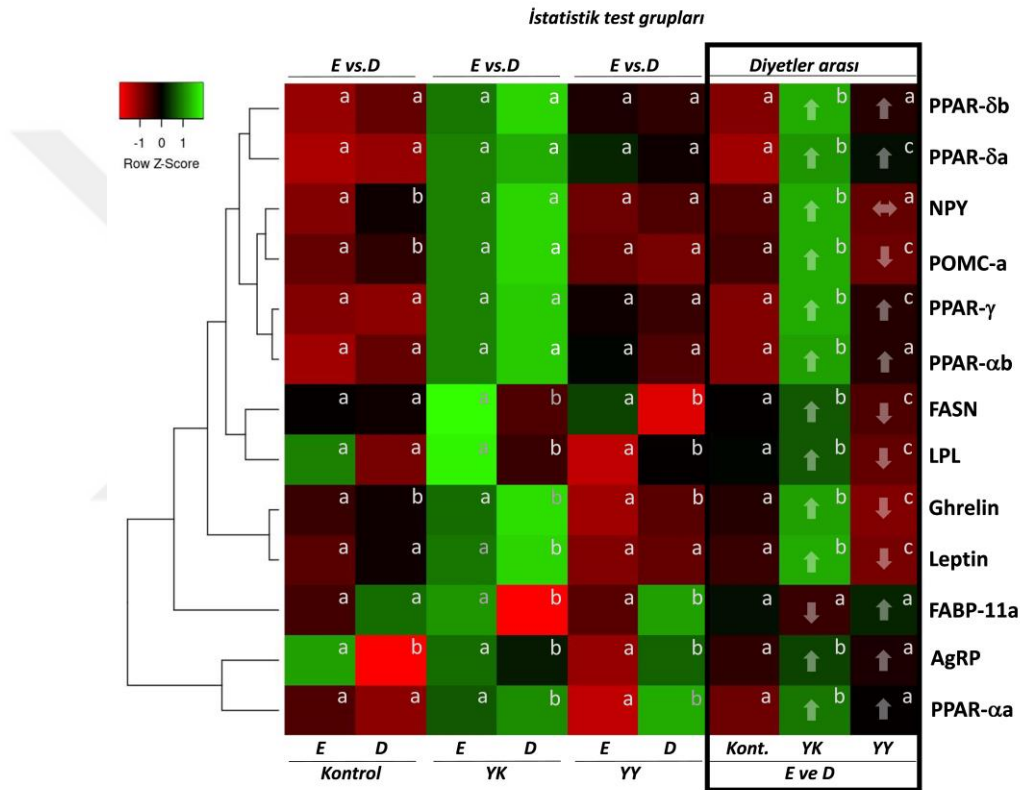
	Kontrol Grubu	Yüksek Karbonhidrat	Yüksek Yağ
8 OHdG	-	+	+++
nNOS	-	+	+++
GFAP	-	+	+++
D&N	-	+	++
HYP	-	++	+++

Araştırmada kullanılan balıkların gen ekspresyon sonuçları.

Yetişkin balıklardan alınan kas dokusunda Real-Time PCR yöntemi ile çalışmamızda bakacağımız gen bölgeleri ve hormonların ekspresyon analizi yapıldı. Elde edilen bulgular doğrultusunda; kontrol grubunda NPY, AgRP, Ghrelin ve POMC-a ekspresyon düzeyi cinsiyetler arasında istatistiksel anlamda farklılık oluştu. Yüksek karbonhidratlı diyet grubunda; FASN, LPL, Ghrelin, Leptin, FABP-11a, AgRP, PPAR- α genleri arasında

cinsiyetler arasında istatistiksel anlamda farklılık oluştu. Yüksek yağlı diyet grubunda ise; FASN, LPL, Ghrelin, FABP-11a, AgRP, PPAR- α genleri arasında cinsiyetler arasında istatistiksel anlamda farklılık oluştu.

Cinsiyet ayırımına bakılmaksızın gruplar arasındaki farklılıklara bakacak olursak; yüksek karbonhidratlı diyet ile beslenen grupta FABP-11a geni hariç diğer gen bölgelerinin ekspresyonu artmışken, yüksek yağ diyeti ile beslenen grupta NPY, POMC-a, FASN, LPL, Ghrelin, Leptin genlerinde ekspresyon azalmış ve diğer gen bölgelerde ise değişiklik olmamıştır (Şekil 24).

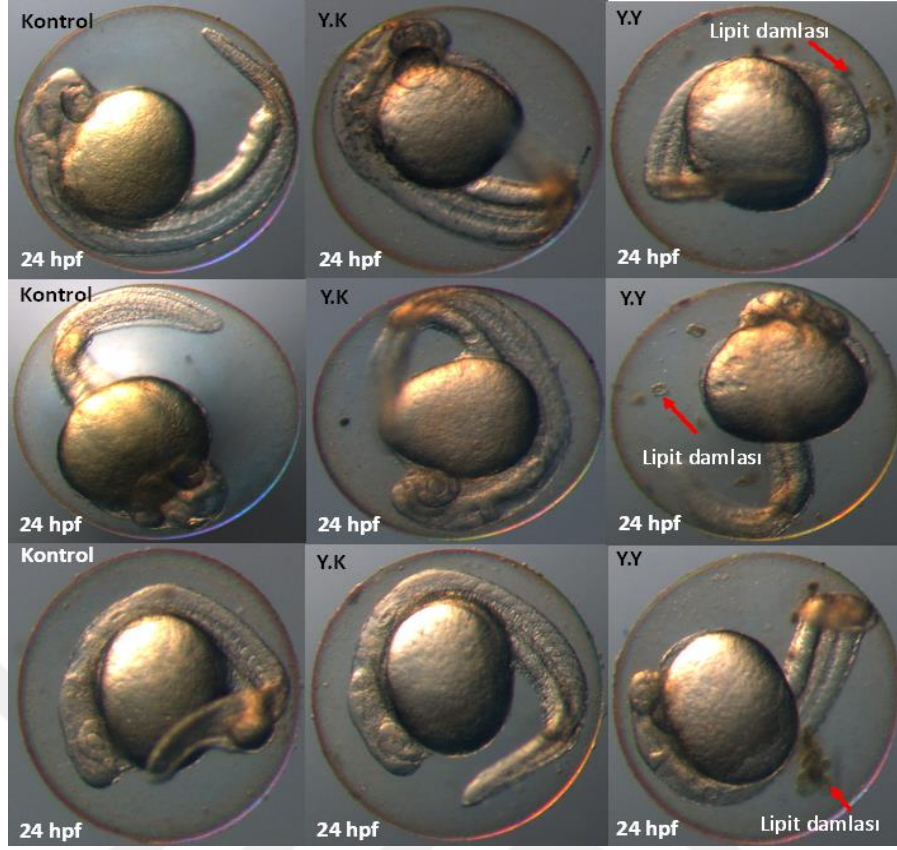


Şekil 24. Araştırmada kullanılan balıkların hem cinsiyet ayırımına göre hem de toplu halde gen ekspresyon analizi (YK: yüksek karbonhidrat, YY: yüksek yağ, D; dişi zebra balığı, E; erkek zebra balığı).

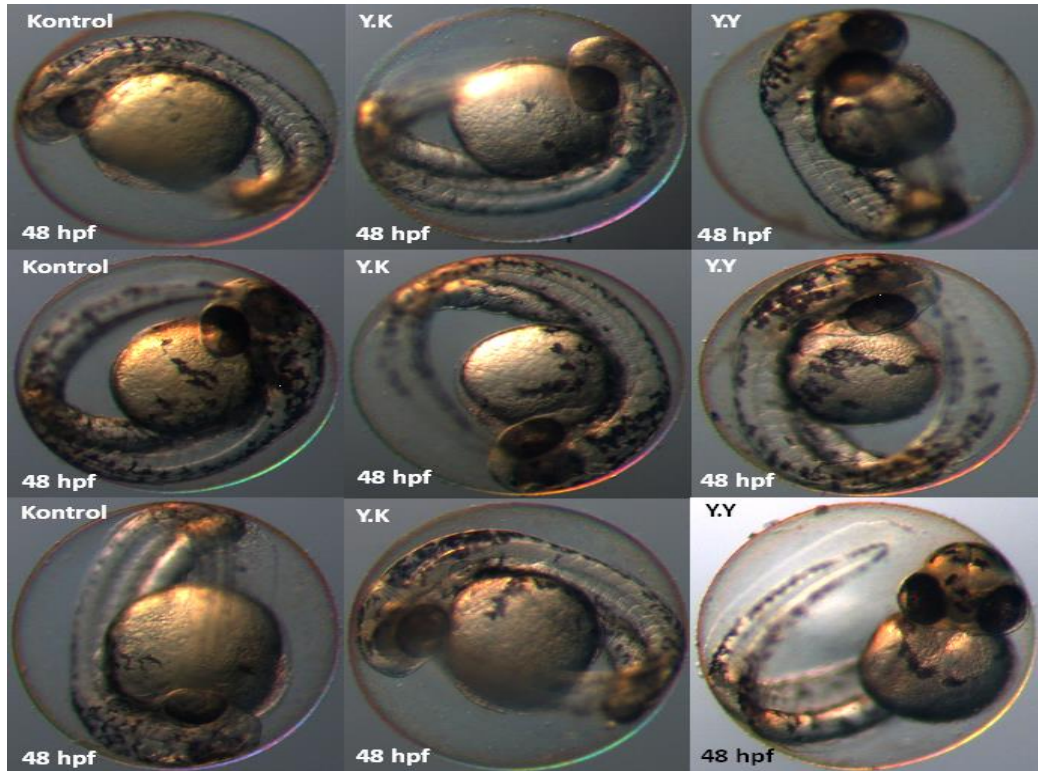
Araştırmada Kullanılan Balıklardan Alınan Larvaların Sonuçları

Balık larvalarının morfolojik ve fizyolojik sonuçları.

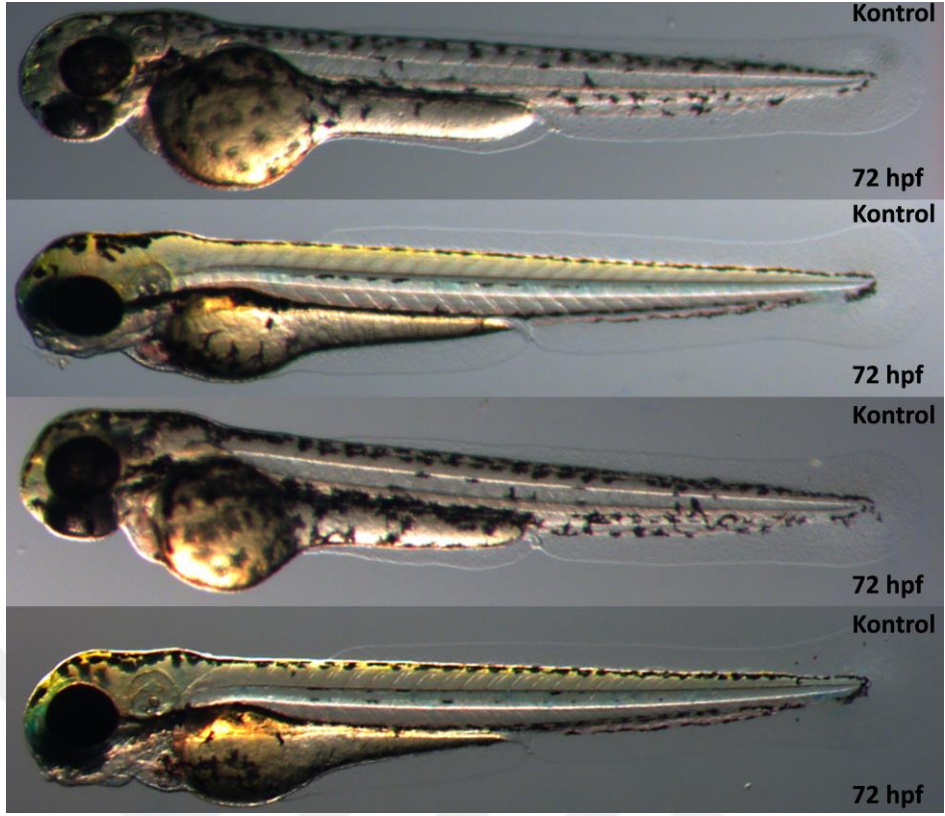
Deney hayvanlarından toplam 3 tekerrür yapılacak şekilde yumurta alındı. Alınan yumurtalar kendi gruplarına göre hiç bir şey uygulanmadan takibe alındı. 5 gün boyunca her gün yaşama oranı, yumurtadan çıkış oranı, malformasyonu kontrol edildi ve hergün bulundukları E3 solüsyonu değiştirildi. Alınan yumurtalar ilk günden 5. günlerine kadar hergün fotoğraflandı (24 hpf, 48 hpf, 72 hpf, 96 hpf) (Şekil 25-32 arası).



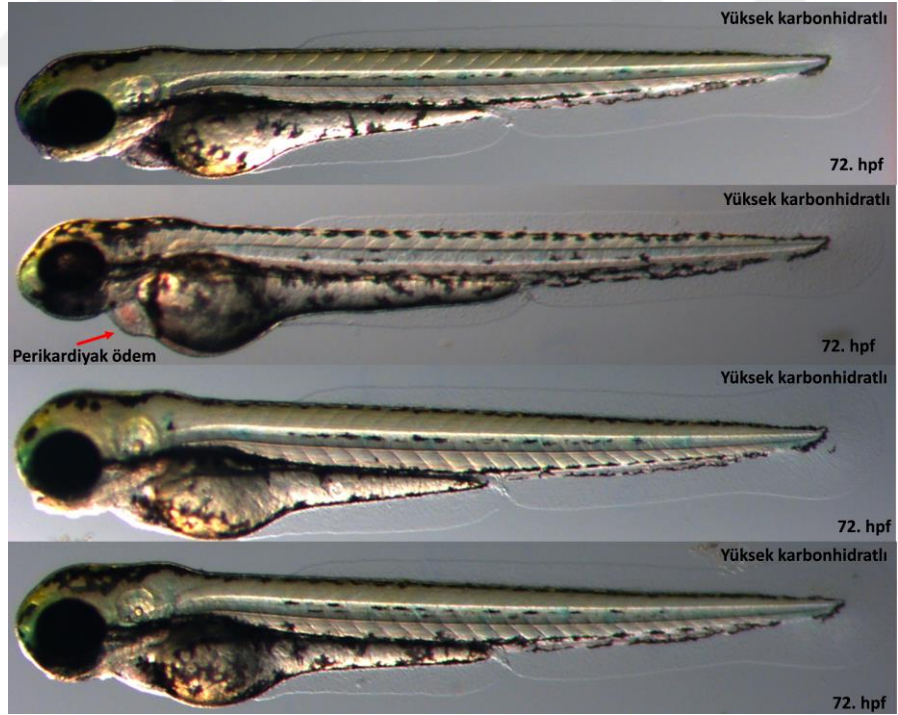
Şekil 25. Zebra balığı embriyolarının 24. saat görüntüleri (Y.K: yüksek karbonhidratlı besleme grubu, Y.Y: yüksek yağlı besleme grubu, hpf: fertilizasyon sonrası geçen süre).



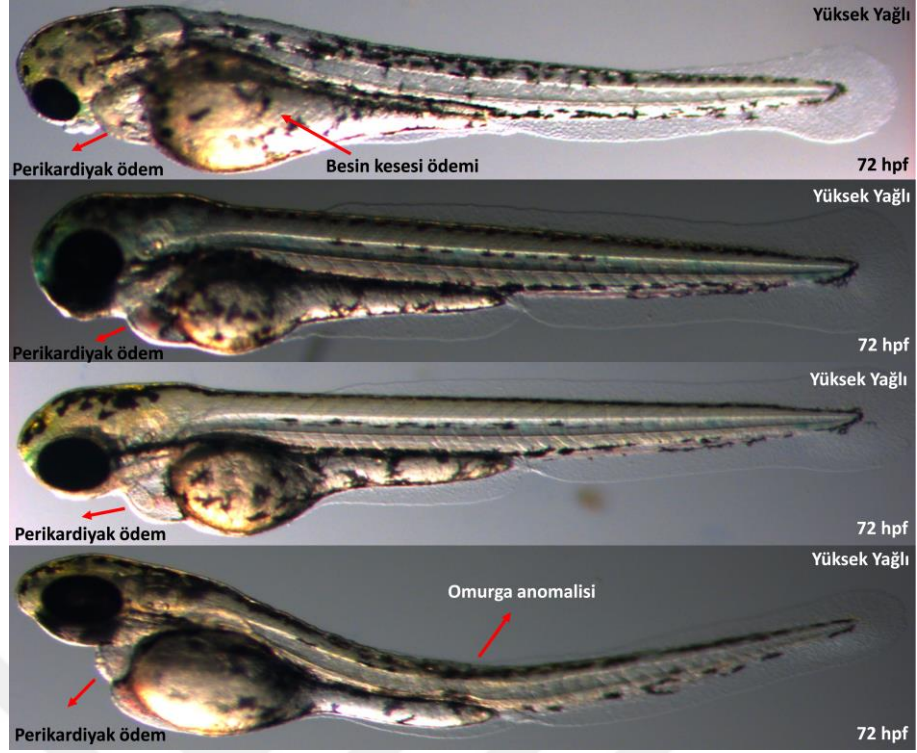
Şekil 26. Zebra balığı embriyolarının 48. saat görüntüleri (Y.K: yüksek karbonhidratlı besleme grubu, Y.Y: yüksek yağlı besleme grubu, hpf: fertilizasyon sonrası geçen süre).



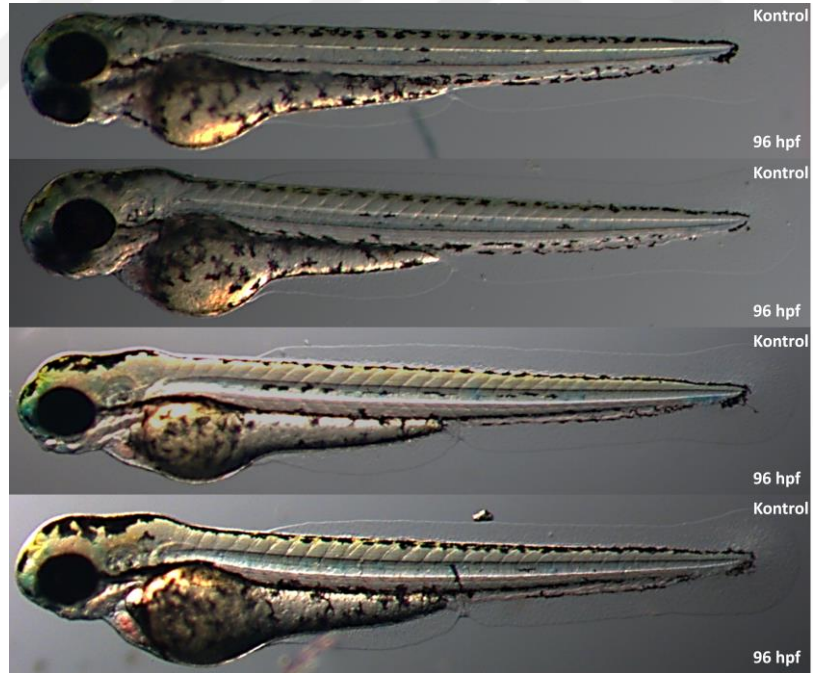
Şekil 27. Kontrol grubu 72. saat larva fotoğrafları (hpf: fertilizasyon sonrası geçen süre).



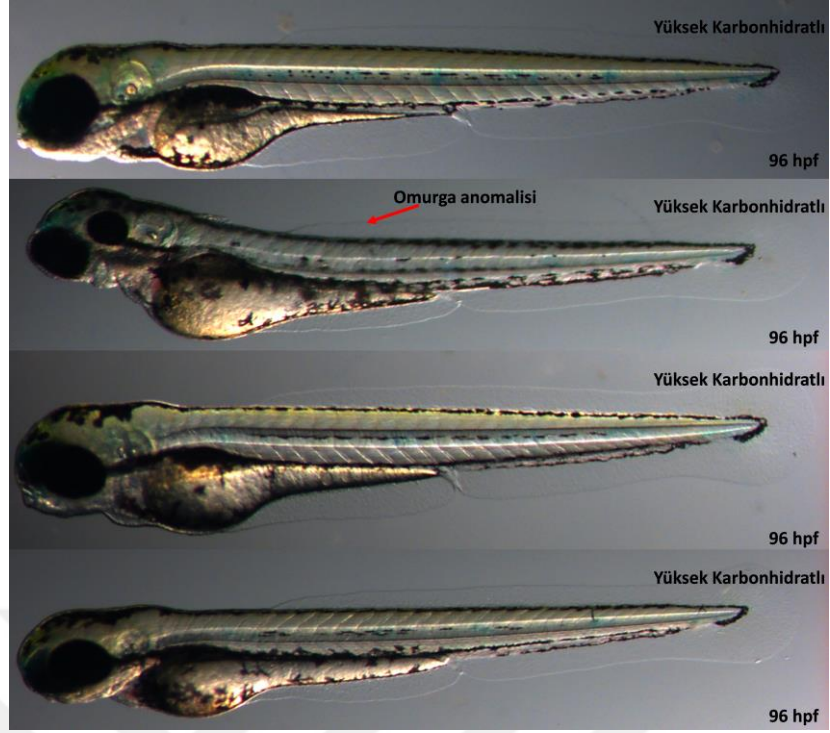
Şekil 28. Yüksek karbonhidratlı diyet grubu 72. saat larva fotoğrafları (Y.K: yüksek karbonhidratlı, hpf: fertilizasyon sonrası geçen süre).



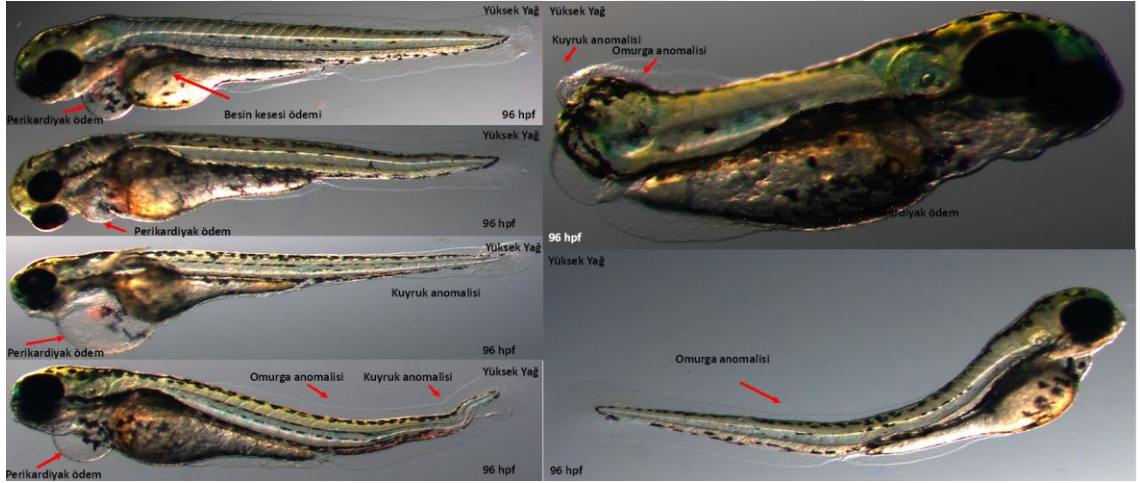
Şekil 29. Yüksek yağlı diyet besleme grubunun 72. saat larva fotoğrafları (Y.Y: yüksek yağlı, hpf: fertilizasyon sonrası geçen süre).



Şekil 30. Kontrol grubu 96. saat larva fotoğrafları (hpf: fertilizasyon sonrası geçen süre).



Şekil 31. Yüksek karbonhidratlı diyet grubu 96. saat larva fotoğrafları (Y.K: yüksek karbonhidratlı, hpf: fertilizasyon sonrası geçen süre).



Şekil 32. Yüksek yağlı diyet grubu 96. saat larva fotoğrafları (Y.Y: yüksek yağlı, hpf: fertilizasyon sonrası geçen süre).

Tablo 9. Hayatta Kalma Oranı (hpf: fertilizasyon sonrası geçen süre).

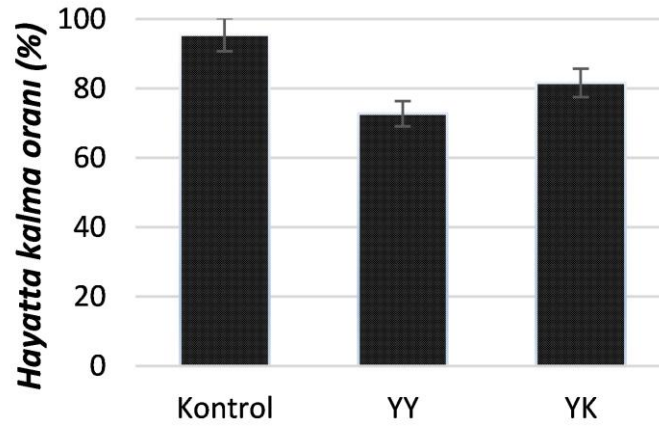
	Kontrol	Yüksek Yağlı	Yüksek Karbonhidratlı
0 hpf	100	100	100
24 hpf	96	72,9	83,3
48 hpf	95,5	72,4	83
72 hpf	95,5	72,2	82,2
96 hpf	95,5	72,2	81,6

Tablo 10. Yumurtadan Çıkış Oranı (hpf: fertilizasyon sonrası geçen süre).

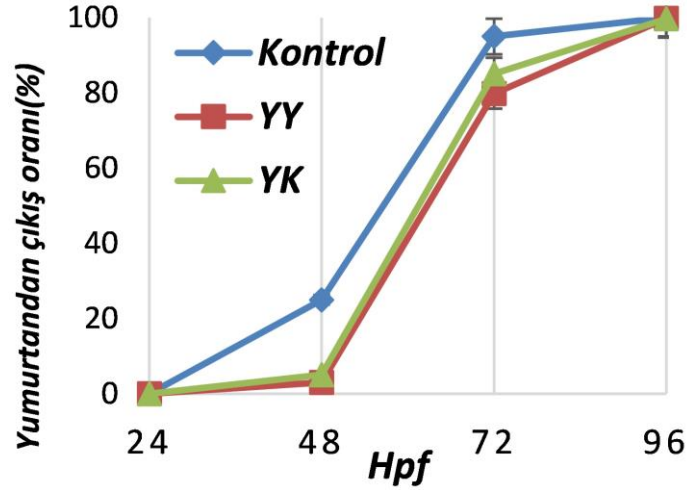
	Kontrol	Yüksek Yağlı	Yüksek Karbonhidratlı
0 hpf	0	0	0
24 hpf	0	0	0
48 hpf	0	0,3	0,4
72 hpf	59	79,8	85,1
96 hpf	100	99,8	99,7

Tablo 11. Malformasyon Oranı.

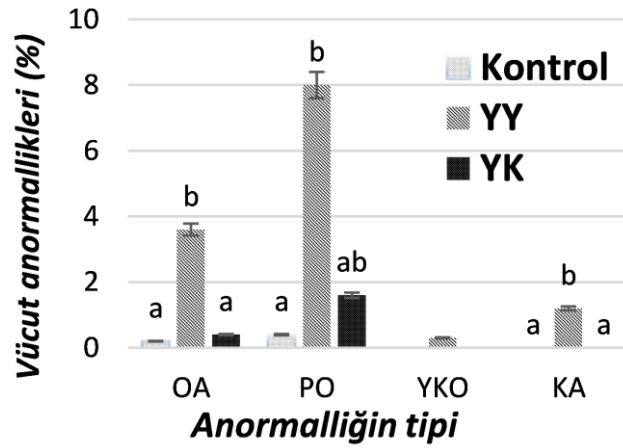
	Kontrol	Yüksek Yağlı	Yüksek Karbonhidratlı
Omurga Anomalisi	0,2	3,6	0,4
Perikardiyak Ödem	0,4	8	1,6
Besin kesesi Ödemi	0	0,3	0
Kuyruk Anomalisi	0	1,2	0



Şekil 33. Hayatta kalma (yaşam) Oranı (YK: yüksek karbonhidrat, YF: yüksek yağ)



Şekil 34. Yumurtadan çıkış oranı (hpf: fertilizasyon sonrası geçen süre, YK: yüksek karbonhidrat, YF: yüksek yağ).

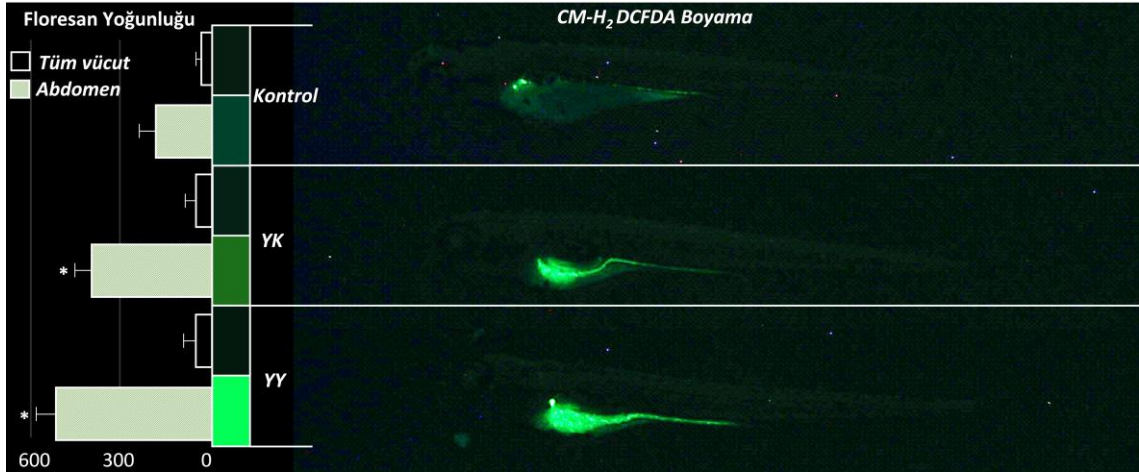


Şekil 35. Vücut anormallikleri (PO: perikardiyak ödem, YS0: yumurta kesesi ödemi, OA: omurga anormalisi, KA: kuyruk anormalisi, YK: yüksek karbonhidratlı besleme grubu, YF: yüksek yağlı besleme grubu).

Elde edilen veriler gösteriyor ki yemleme sürecinde bulunan balıklardan alınan yumurtalarda kontrol grubuna göre yaşama oranı yüksek yağlı beslenen grupta daha azdır. Tüm gruplara göre yüksek yağlı diyet beslenen grupta malformasyon oranı daha fazladır, yumurtadan çıkış oranı ise daha azdır. Yüksek karbonhidratlı diyet grubunda ise yine kontrol grubuna göre yumurtadan çıkış ve hayatta kalma oranları daha azdır. Malformasyon oranlarına bakacak olursak perikardiyak alan yüksek yağlı diyet ve yüksek karbonhidratlı diyetle istatistiksel benzerlik söz konusudur. Fakat diğer anormalliklerde kontrol grubu ile yüksek karbonhidratlı diyet grubu arasında istatistiksel anlamda farklılık görülmemiştir.

Reaktif oksijen türevlerini CM-H2DCFDA indikatörü ile oksidatif stresin belirlenmesinin sonuçları.

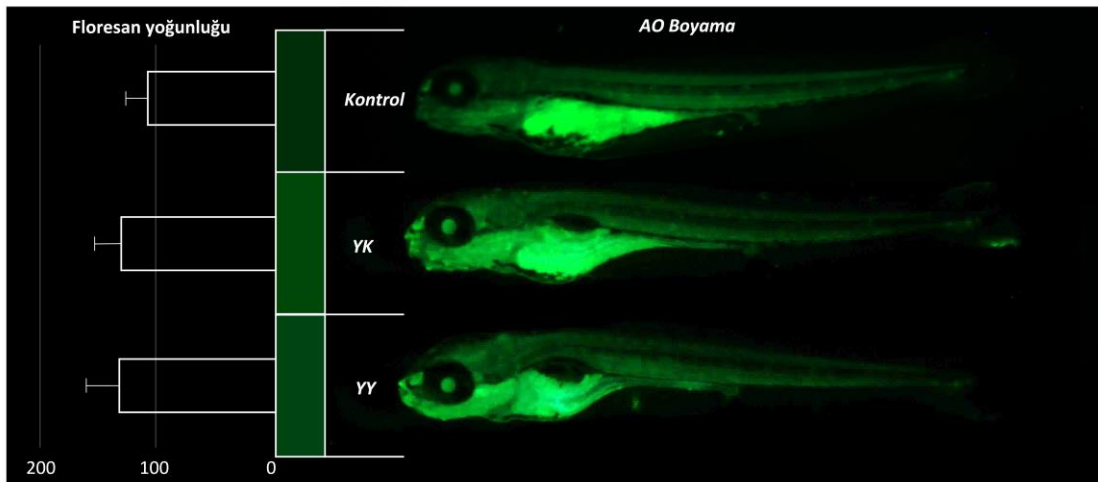
Araştırma yapılan gruplardan 96. saatte bulunan larvaların CM-H2DCFDA indikatörü ile indüklenmesi sonucu yüksek yağlı diyet ile beslenen gruplardan alınan larvalarda flüoresan yoğunluğu yüksek karbonhidratlı besleme grubu ve kontrol besleme grubuna göre daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bu durum yüksek yağlı bir diyet ile beslenen grubun diğer gruplara oranla daha fazla oksidatif stres oluşumuna neden olduğunu gösterebilir (Şekil 36).



Şekil 36. CM-H2DCFDA indikatörü floüresan sonucu (YK: yüksek karbonhidrat, YF: yüksek yağ)i

Apoptotik hücrelerin tayini sonuçları.

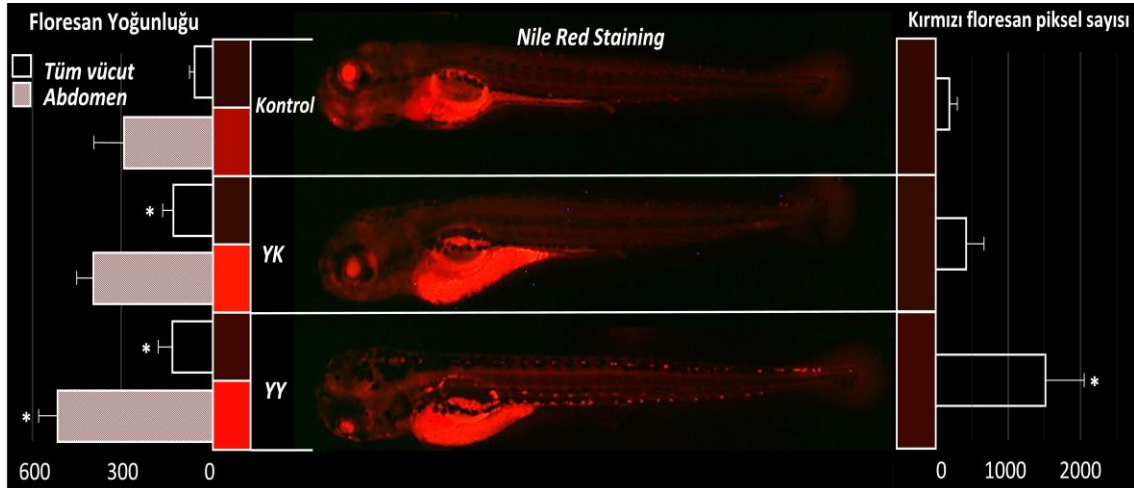
Apoptotik hücre tayini için kullanılan Akridin Oranj (AO) ile 96. saatte boyanan zebra balığı larvalarının tüm gruplarda istatistiksel anlamda bir farklılık bulunmamıştır. Bu durum farklı diyet uygulamalarının apoptozu tetiklemediği anlamına gelebilir (Şekil 37).



Şekil 37. Larvalardaki Apoptotik hücre tayini flüoresan değerleri (YF: yüksek yağ, YK: yüksek karbonhidrat).

Vücuttaki lipit düzeyinin görüntülenme (Nile-Red (C20-H18-N2-O2) boyama) sonuçları.

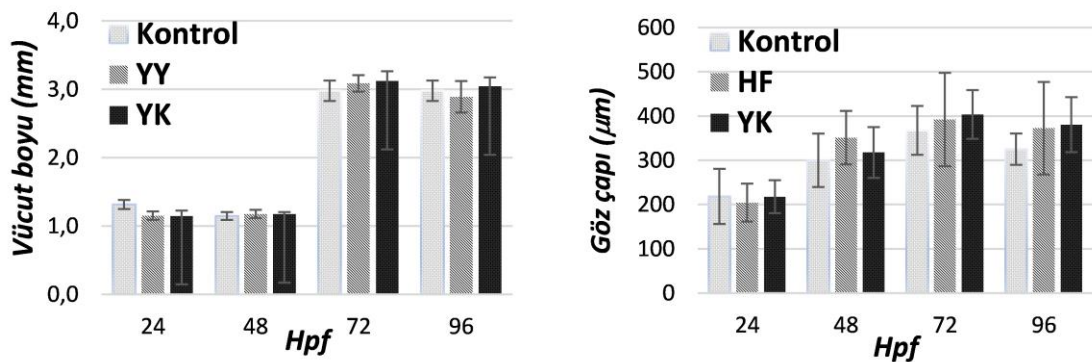
Nil kırmızısı ile vücutta oluşan lipit profilinin görüntülenmesi sonucunda kontrol diyeti ile beslenen grubun vücut yağ profili diğer gruplara göre en az bulunmuştur. Yüksek yağlı diyet ile beslenen gruptan alınan larvalarda daha fazla yağlanma görülmüştür. Bu durum yüksek yağlı diyet ile beslenen yetişkin zebra bliklarından alınan larvalarda doğuştan yağlanmayı tetiklediği kanısını oluşturur (Şekil 38).



Şekil 38. Nil Kırmızı ile boyanan grupların flüoresan görüntüsü (YY: yüksek yağlı, YK: yüksek karbonhidratlı).

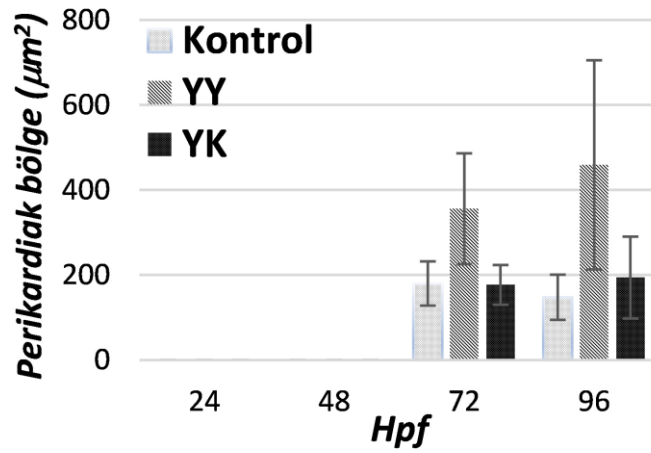
Göz boyutu, kalp atışı ve kardiyak aktivitenin sonuçları.

Daniovision cihazı Danioscope yazılımı ile analiz edilen balıkların göz boyutlarında belirgin farklılıklar gözlenmemiştir. Buna ek olarak perikardiyak alanda; yüksek yağlı diyet ile beslenen balıklardan alınan larvalarda anlamlı bir fazlalık bulunmuştur. Buda yüksek yağlı diyet ile beslenen gruplardan alınan larvalarda kalbin bulunduğu alanda ödem oluştuğunu gösterdi (Şekil 39).



Şekil 39. Larvaların gelişim dönemlerine göre boy uzunluğu ve göz çapı grafiği (Hpf: gelişim dönemleri saat bazında, YY: yüksek yağ, YK: yüksek karbonhidrat).

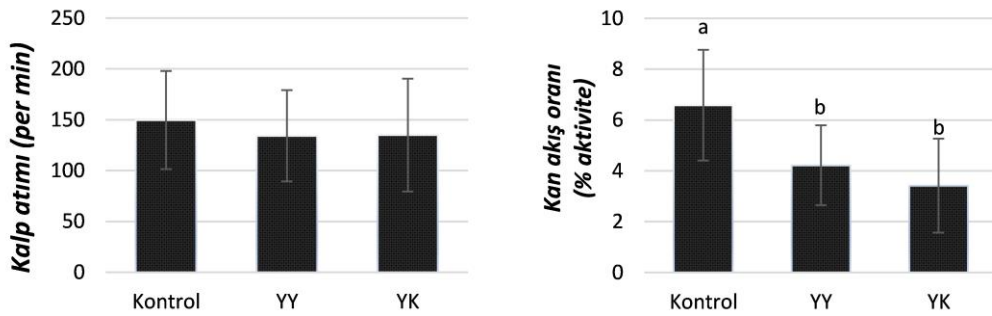
Her 24 saatte bir bakılan göz çapı ve boy uzunluğu; farklı diyetlerle beslenen gruplardan alınan larvalarda istatistiksel anlamda farklılık göstermedi (Şekil 40).



Şekil 40. Larvalarda kalp dokunun oluşturduğu alanın ölçüm grafiği (YY: yüksek yağlı, YK: yüksek karbonhidratlı, Hp: saat bazından gelişim zamanı).

Kan akış aktivitesine bakarsak; kontrol grubunda diğer gruplara göre istatistiksel anlamda farklılık vardır ve diğer gruplardan fazladır. Yüksek yağlı ve yüksek karbonhidratlı diyet grupları arasında anlamlı bir farklılık oluşmamıştır.

Kalp atış sayısında ise tüm gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir (Şekil 41).



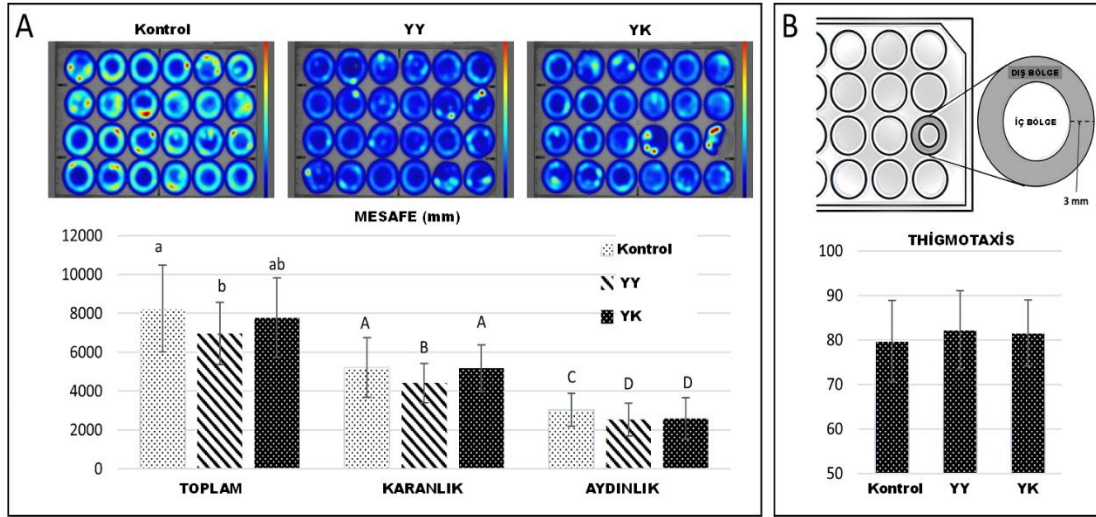
Şekil 41. Farklı diyet ile beslenen gruplardan alınan larvaların kalp atış sayısı ve kan akış hızı değişim grafikleri (YK: yüksek karbonhidrat, YY: yüksek yağ).

Zebra balığı larvalarında davranış testi sonuçları.

Çalışmamız boyunca tüm gruplardan aldığımız larvalar Etho-Vision yazılımı ile davranış testine maruz bırakıldı. Bu test boyunca larvalar izole ortamda tutuldu. Zebra balığı larvalarının aydınlık ortamda, karanlık ortamda, toplam sürede aldığı yol ve belirlenen bölgelerdeki toplam hareket mesafelerine bakıldı. Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Karanlık ortamda üç grubunda hareketi istatistiksel olarak farklı iken; aydınlık ortamda yüksek karbonhidrat diyet ile beslenen gruptan aldığımız larvalarla, yüksek yağlı diyet ile beslenen gruptan aldığımız larvalar istatistiksel olarak birbiriyle aynı; kontrol diyet ile beslenen gruptan aldığımız larvalardan farklıdırlar. Karanlık ortamda kontrol ve yüksek karbonhidrat diyeti ile beslenen gruplardaki larvalar daha fazla mesafe almıştır. Aydınlık ortamda ise yüksek yağlı ve yüksek karbonhidratlı diyet gruplarından alınan larvalar daha az mesafe almıştır (Şekil 42).

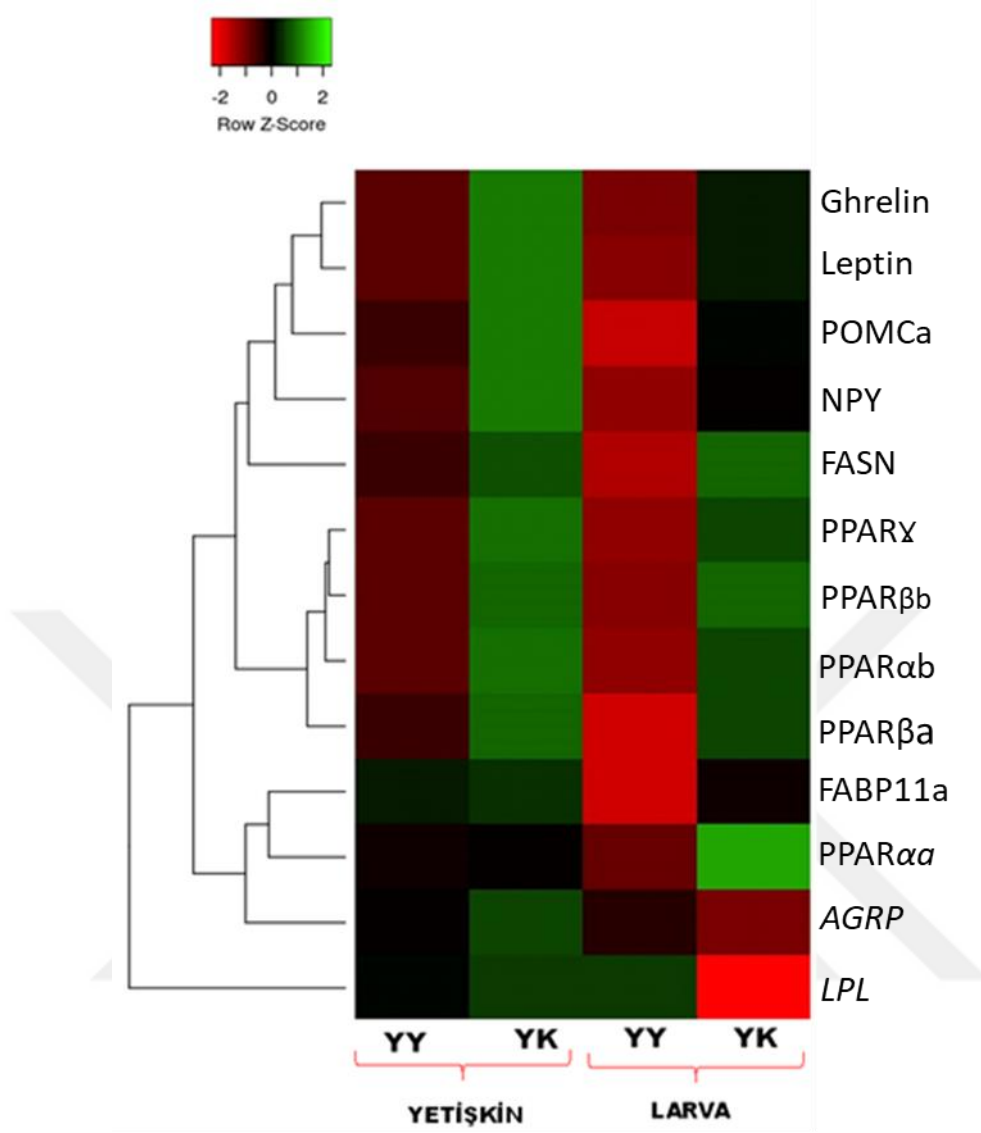
Thigmotaxis; herhangi bir organizmanın herhangi bir uyarana karşı, uzaklaşması veya yaklaşması olarak tarif edilir. Her üç grubunda *thigmotaxis* verileri istatistiksel olarak aynı çıkmıştır(Şekil 42).



Şekil 42. Larvaların karanlık ortamda, aydınlık ortamda ve toplam zamanda aldıkları mesafe ve thigmotaxis ölçümü(YY: yüksek yağ, YK: yüksek karbonhidrat)

Zebra balığı larvalarında gen ekspresyon sonuçları.

Her diyet grubundan alınan 20 larvadan toplam 3 tekerrür olacak şekilde gen ekspresyon analizi yapıldı. Yüksek yağ diyeti ile beslenen zebra balıklarından alınan larvalarda; Lpl gen bölgesinin ekspresyonu artarken diğer bölgelerin azalmış ve AgRP gen bölgesinin ise ekspresyonunda değişim oluşmamıştır. Yüksek karbonhidrat diyeti ile beslenen zebra balıklarından alınan larvalarda ise; FASN, PPAR gen ailesinin ekspresyonunda artış saptanmış; Ghrelin, Leptin, POMC-a, ve NPY ekspresyonunda ise değişim görülmemiştir (Şekil 43).



Şekil 43. Farklı diyet programları ile beslenen zebra balıklarından alınan larvalarda gen ekspresyon analiz sonucu(YY: yüksek yağlı, YK: yüksek karbonhidratlı)

İstatistik Analiz

Yemleme süreci öncesi ve sonrası balıkların boy, kilo ve boy-kilo indeksi (BKI) değerleri Microsoft Excel programı kullanılarak hesaplanmıştır. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir. İstatistik anlamlılık için $p < 0,05$ düzeyi anlamlı olarak belirlenmiştir. Buna ek olarak yemleme sonrası balıklardan alınan larvaların ölüm oranı, malformasyon ve larva çıkış oranları ile BKI değerleri SPSS programı (SPSS for Windows, version 20.0) kullanılarak istatistik analizler yapılmıştır($p < 0,05$).

Kalp atış hızı analizi Danio Vision programı ile sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak hesaplanmış ve istatistik analiz SPSS programı ile yapılmıştır. Gruplar arasındaki fark ANOVA varyans analizi ile belirlenmiş sonrasında DUNCAN testleri ile değerlendirilmiştir($p < 0,05$).

Larvalarda davranış testi sonuçları SSPS program ile anlamlandırıldı. Gruplar arasındaki fark ANOVA varyans analizi ile belirlendikten sonra DUCAN testi ile değerlendirilmiştir($p<0,05$).



TARTIŞMA VE SONUÇ

Farklı yağ yüzdeleri kullanılarak obezite modeli hazırlamak istediğimiz çalışmamızda öncelikle 5. ayında olan zebra balıkları kullanıldı. Bu balıkların anaçlardan alınıp 5. aya kadar tüm gelişimlerini ve beslenme düzenlerini aynı tutuldu. Zebra balığı obezite modeli için belirlenmiş bir beslenme protokolü bulunmamaktadır, birçok kaynak farklı diyet uygulamaları ile obezite modeli geliştirilmiştir (Faillaci et al., 2018). Çalışmamızda farklı yağ oranları ile oluşturulan yemlerle obezite modeli hazırlandı. Bunun için; balıklara 6 hafta boyunca Meguro ve ark. yapmış olduğu obezite modeline göre beslenme protokolü oluşturuldu (Meguro et al., 2015).

Yüksek yağlı diyet ile yüksek karbonhidratlı diyet formülasyonu, kontrol grubu için pul yem kullanıldı. 6 haftalık beslenme sonucunda kontrol grubunun (hem dişi hem de erkek) BKİ değerlerinde belirli bir farklılık gözlenmemiştir. Yüksek karbonhidratlı diyet ile beslenen grupta (hem dişi hem de erkek) anlamlı bir kilo artışı görüldü. Yüksek yağlı diyet grubunda ise dişilerde erkeklere oranla kilo artışı daha fazla bulunmuştur fakat başlangıca göre erkek balıklarda da dişi balıklarda da BKİ değerinde artış bulunmuştur. Yüksek karbonhidratlı diyet ile beslenen grupta yüksek yağlı diyet ile beslenen gruba göre daha fazla BKİ artışı mevcuttur. Bunun nedeninin hazırlamış olduğumuz yem Formülasyonunun incelenmesi ile açıklanmaktadır. Yüksek karbonhidrat diyeti hazırlanırken kullanılan jelatinize edilmiş nişasta vücutta kilo artışının en büyük olarak gösterilir. Yapılan çalışmalarda hızlı sindirilebilir nişasta ile beslenen farelerde vücut yağ kütlesinde hızlı bir artış gözlemlenmiştir (Aller, Abete, Astrup, Martinez, & Baak, 2011). Meguro ve ark. yapmış olduğu çalışmada yüksek yağlı diyet ve düşük yağlı diyet ile beslenen gruplarda cinsiyetler arasında bir farklılık bulunmamıştır. Yüksek yağlı diyet ile beslenen grupta kilo artışından çok vücut yağ hacminde artış olduğunu gözlemlenmiştir (Meguro et al., 2015).

Zebra balığı ile obezite modeli oluşturmaya çalışan Oka ve ark. nin yapmış olduğu çalışmada balıklar 8 hafta boyunca artemia ile beslendi. Sonuç olarak artmış BKİ indeksi, hipertrigliseridemi ve hepatosteatoz ile obezite modeli oluşturuldu. Bu çalışmanın sonucunda obez zebra balığı ve obez memelilerin ortak patofizyolojik yolları paylaştığını ortaya konuldu. Gıda alımını kontrol etmek için memelilerde olduğu gibi zebra balığında da çevresel ve merkezi(periferik, endokrin, metabolik) faktörler aynı şekildedir. Bu çalışma insan

obezitesinde farmakolojik hedeflerini tanımlamak için zebra balığının uygun bir model organizma olduğunu gösterir (Oka et al., 2010).

Obezitenin anksiyete ve depresyon gibi duygu durum bozuklukları olarak adlandırılan hastalıklara sebep olup olmadığını çalışmada incelendi. Çalışma boyunca kullanılan yem formülasyonlarının hangisinin obezite ve anksiyete arasındaki ilişkiyi pozitif yönde etkilediğini inceledik. Yapılan bir meta analiz sonucu genel olarak obezite ve anksiyete benzeri davranışlar arasında pozitif bir ilişki olduğu bunun da cinsiyet ayrımı gözetmeden her iki grupta da aynı ilişkinin devam ettiği saptanmıştır (Garipey, Nitka, & Schmitz, 2010). Çalışmamızda edindiğimiz bilgiler ve bulgular bu sonucu destekler niteliktedir.

Kemirgen modelline uygulanan yüksek yağlı diyetin öğrenme ve hafıza üzerine etkisinin incelendiği çalışmada; yüksek yağlı diyet ile bilişsel bozukluk arasında güçlü bir ilişki olduğu ve bunun maternal obezite ile çocuk üzerinde de aynı etki yaptığı bulunmuştur (Cordner & Tamashiro, 2015). Bizim çalışmamızda da zebra balığına uyguladığımız yağlı diyet hem maternal obezite sonucu yavruda hem de yetişkin balıklarda anksiyete benzeri davranışlar ile pozitif ilişkili olduğu bulunmuştur. Buda hamilelik boyunca yapılan yüksek yağlı bir diyetin doğacak çocuklar üzerinde psikolojik olarak negatif bir etki oluşturacağı kanıtını sağlayabilir.

Çalışma boyunca kullandığımız yem formülasyonları incelendiğinde; yüksek yağ diyeti oluşturulurken ayçiçeği yağı kullanılmıştır. Ayçiçek yağı doymuş ve doymamış yağ asit bileşiminden oluşur. Yağ asitleri analizi sonucunda doymamış yağ asitleri içerisinde en yüksek oranı %69,2 ile linoleik asit oluşturmuş bunu %20,3 ile oleik asit izlemiştir Doymuş yağ asitleri içerisinde ise %5,8 ile palmitik asit yer almaktadır (Karabaş, 2013). Batı tarzı beslenme gösteren genel bir popülasyon da ileriye dönük yapılan bir çalışmada linoleik yağ asidinin depresif duygu durum bozukluğu ile pozitif ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Wolfe, Ogbonna, Lim, Li, & Zhang, 2009). Yapılan farklı deneysel çalışmalar linoleik bakımdan zengin diyetle pro-enflamatuar sitokinler ile depresyon arasındaki ilişki açıklanmıştır (Li, Tong, & Li, 2020). Çeşitli çalışmalarda; linoleik asit açısından zenginleştirilmiş diyetler oksidatif stresi artırır. Oksidatif stres ise duygu durum bozukluklarının başlıca sebeplerinden biri olarak belirtilmiştir (Lau, Diem, Dreyfuss, & Van Duyne, 2003). Klinik öncesi ve klinik çalışmalar, linoleik asidin beyindeki iyi huylu bir yağ asidi olduğu varsayımlarını ortadan kaldırır. Aksine, fazla ve kronik olarak mevcut olduğunda, tavuklarda ataksiyi indükler, sıçanlarda nöroenflamasyonu teşvik eder ve yapmış olduğu başka bir çalışmada; linoleik asidin iskemiye bağlı beyin hasarına ve oksitlenmiş metabolitleri yoluyla nörotransmisyonun

düzenlenmesine müdahil olduğuna dair yeni kanıtlar sunar (Hennebelle et al., 2017). Farklı bir çalışmada; günlük beslenme programında yapılan değişiklik (w-6 yağ asidi miktarını azaltıp, w-3 yağ asidi miktarını artırmak) fiziksel ağrı ve psikolojik sıkıntılarda azalmayı sağlar. Diğer açıdan bakarsak w-6 yağ asidi yani limoleik asit açısından insanlarda anormal nörogelişim ile bağlantılı olduğu belirtilmiştir (Taha, 2020). Taha ve ark. zengin beslenme psikolojik sıkıntıları artıracağına dair kanıt sağlar (Ramsden et al., 2015).

Palmitik ve stearik asit doymuş yağ asididir. Doymamış yağ asitlerinden linoleik asit(omega-6) linolenik asit (omega-3) çoklu doymamış yağ asitlerini (pufa) oleik asit (omega-9) tekli doymamış yağ asidini oluşturur. Tabloya da baktığımızda ay çiçek yağı omega-6' dan zengin çoklu doymamış yağ asitleri(pufa) içerir. Obeziteye neden olan yağ profilini doymuş yağları oluşturur. Doymamış yağların alımı ise aslında obeziteye karşı bir etki oluşturur (Roger & Calder, 2018). Fakat zebra balığı gibi balık türleri çeşitli yolaklar ile aldığı doymamış yağ asitlerini doymuş yağ asidine çevirerek depolar (Arslan et al., 2016). Buda fazla miktarda alınan doymamış yağ asitlerinin de obeziteye neden olabileceğini gösterir.

Çalışma boyunca kullanılan zebra balıklarında farklı diyetlerin psikolojik etkisini incelemek için davranış testi yapıldı. Davranış testi sonucunda yüksek yağ diyeti ile beslenen grupta anksiyete, stres benzeri davranışlar gözlemlendi. Yüksek karbonhidrat diyeti ve kontrol diyetinde ise böyle bir farklılık saptanmadı. Hazırlanan yem içeriğine bakarak bu sonuç değerlendirilebilir. Çok fazla miktarda alınan yağ asidi profili sergilenen davranış bozukluğu profilini açıklamamaktadır. Doymamış yağ asidinin çok miktarda alınması anksiyete ve benzeri davranışların görülmesini desteklemiş olabilir. Farelerde yapılan bir çalışmada palmitik asit uygulaması uygulamadan yaklaşık 24 saat sonra farelerde; , hareket, gıda alımı, depresif benzeri davranış veya mekânsal hafızada bozulma olmadan anksiyete benzeri davranış sergilediği gözlemlenmiştir (M. L. Moon et al., 2014).

Sıçanlarda yapılan omega-3 ve omega-6 takviyesinin duygu durum bozuklukları üzerine etkisinin saptanmak istediği farklı bir çalışmada; omega-3 uygulamasının herhangi bir negatif etkisi saptanmamışken omega-6 uygulamasının ise anksiyete ve duygu durum bozukluğunu indüklediği tesbit edilmiştir (Song, Li, Leonard, & Horrobin, 2003). Çalışmada kullanılan ay çiçek yağı da omega-6 bakımından zengin bir yağ olduğundan çalışmamız literatürü destekledi diyebiliriz. Kesitsel oranda depresyon hastalığı üzerine yapılan çalışmalarda; omega-6 alımının yıllar boyunca giderek artması, depresyon ve benzeri hastalıkların artışında ki önemli bir belirteç olabilir (Berger et al., 2017). Klinikte yapılan

çalışmada majör depresif belirtiler gösteren bireylerde vücuda alınan omega-6 oranının fazla olduğu bulunmuştur ve sonuçlar değerlendirildiğinde omega-6 alımının fazla olması hem depresif hem de enflamatuvar hastalık riskini artırdığı görülmüştür (Kiecolt-Glaser et al., 2007).

Oleik asit ve linoleik asit açısından zengin diyetler ile beslenen kadınlarda yapılan bir inceleme sonucu iki yağ asidinin de fazla miktarda alımı menapoz öncesi kadınlarda depresif belirtiler pozitif çıkmıştır (Li et al., 2020). İnvitro olarak yapılan bir çalışmada çoklu doymamış yağ asitleri alımının artmasının, endotel hasarı ile ilişkili olabilecek oksidatif stresin artmasına neden olduğu saptanmıştır (Turpeinen, Basu, & Mutanen, 1998).

2016 yılında yine fareler üzerinde yapılan bir çalışmada; fareler yüksek karbonhidrat diyetine maruz bırakılır ve bu maruziyet sonrasında farelerde kontrol grubuna göre yağlanma çok fazladır ve yapılan davranış testleri sonucunda anksiyete ve depresif benzeri davranışların gelişimi görülmüştür. Fakat bizim çalışmamızda yüksek yağ ile beslenen grupta diğer gruba göre anksiyete ve stress gelişimi göstermiştir (Santos et al., 2018).

Yüksek karbonhidrat ve yüksek yağ diyeti ile ruh sağlığı üzerine yapılan çalışmaların çoğu kısa süreli etkileri değerlendirmiş ve bu etkilerin yüksek yağlı diyet ile yüksek karbonhidratlı diyet içinde pozitif veriler vermişlerdir. Hatta yüksek yağ diyetinin etkisinin daha iyi olduğunu savunmaktadır. Fakat randomize yapılan yüksek yağlı diyet ve yüksek karbonhidratlı diyetin ruh hali ve bilişsel işlevler üzerindeki uzun süreli etkilerinin değerlendirildiği bir çalışma 8 hafta gibi kısa bir sürede her iki diyetle de ruh halinde belirgin iyileşmeler bildirmiştir. Ancak bu durum uzun vadede (1 yıl) yüksek karbonhidrat diyetinde stabil kalmasına rağmen yüksek yağlı diyetle negatif geri dönüş vermiştir. Bunun nedeni içinde; yüksek karbonhidrat alımı serotonin sentezini artırabilirken, yağ ve protein alımı beyindeki serotonin konsantrasyonlarını azaltır. Beynin serotonenik fonksiyonları ile psikolojik işlevsellik, özellikle de depresyon ve anksiyete yönleri arasında bir bağlantı olduğunu gösteren çok sayıda çalışma vardır (Brinkworth, Buckley, Noakes, Clifton, & Wilson, 2009). Bizim yapmış olduğumuz çalışmada da yüksek yağ ile beslenen zebra balığı grubu yüksek karbonhidrat ile beslenen gruba göre yüzme testinde aşağıda bulunması anksiyete ve depresyon ile ilişkilidir ve bu durum yapılan çalışmayı desteklemektedir.

Oksidatif stres; artan serbest oksijen radikalleri ile karakterize olan nörodejeneratif bozuklukların patolojisinde önemli bir nedendir. 2019 yılında yapılan başka bir çalışmada zebra balıkları yüksek yağlı diyet ile beslenerek bilişsel fonksiyonları üzerine etkisine bakılmıştır. Sadece yapılan çalışmada doymuş yağ miktarından fazla olan bir beslenmenin

bilişsel fonksiyonları bozduğu insanda olduğu gibi zebra balığında da desteklenmiştir (Meguro, Hosoi, & Hasumura, 2019). Bizim çalışmamızda hazırlamış olduğumuz yüksek yağlı yem formülasyonu ay çiçeğinden zengin bir şekilde hazırlanması doymamış yağ miktarı bakımından zengin olduğunu göstermektedir. Fakat yapılan çalışmalarda çoklu doymamış yağ asitleri balıklar için temel besin olmasına rağmen yüksek miktarda alınmasının vücutta oksidatif stresi arttırdığı bulunmuştur (Betancor, Almada-Pagán, Sprague, Hernández, & Tocher, 2015). Oksidatif stresin depresyonu desteklediği en güncel çalışmalarda da mevcuttur (Maria Michel, Pulschen, & Thome, 2012). Çalışmamızda hazırladığımız yem doymamış yağ asidi içeriği bakımından zengin olması oksidatif stresi artırmış ve depresyonu tetiklemiş olabilir. Beyin dokusunun 8 OHdG anti bady ile boyaması sonucu yüksek yağlı diyet ile beslenen grupta oksidatif stress hasarı belirlenmiş bu durumda tezimizi desteklemektedir.

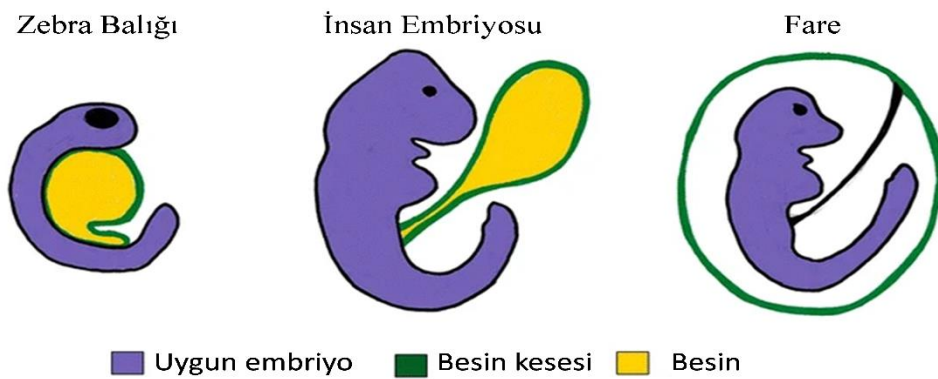
Tüm gruplara yapılan bir diğer immüno flöresan boyama olan nNOS ta nitrit oksitlerin yüksek yağ ile beslenen grupta diğer gruplara göre daha fazla olduğu gösterildi. nNOS un Sinaptik kavşaklarda retrograd iletişimin hafıza oluşumunda rol oynadığı varsayılmaktadır ve NOS inhibitörlerinin öğrenmeyi bozduğuna ve hayvan modellerinde amnezi ürettiğine dair kanıtlar olduğuna dair bilgi bulunmaktadır (Förstermann & Sessa, 2012). Bu durumda bizim çalışmamızda yüksek yağlı diyet ile beslenen gruptaki davranış bozukluğunu desteklemektedir.

Beyin dokuya yapılan başka bir immüno flöresan boyama olan GFAP beyin dokudaki bozulmuş astrositleri gösterir (Jacque et al., 1978). Astrositler ise beyinde glikoz yakıt rezervi olarak kullanılan glial hücrelerdir. Bunlar beyinde glikoz kıtlığı döneminde nöronların işlevinin devam etmesi için önceden depoladığı glikozu serbest bırakır (McDougal, Viard, Hermann, & Rogers, 2013). Bizim çalışmamızda yüksek yağlı diyet grubunda bu hücrelerin daha fazla bozulduğunu görmekteyiz. Bu durumda davranıştaki bozukluğu destekler nitelikte olabilir çünkü yapılan çalışmalarda nörogelişimsel bozukluklara (özellikle şizofreni ve otizm gibi) neden olduğuna dair kanıtlar bulunmaktadır (Sloan & Barres, 2014).

2010 yılında fareler üzerinde yapılan yüksek karbonhidrat ve yüksek yağ diyeti gibi beslenme protokolü sonucu denek hayvan grupları diyet kompozisyonundan bağımsız olarak aşırı kalori alımı sonucu vücut yağ birikimine neden olduğu bulunmuştur. Yapılan çalışmada karbonhidrat metabolizmasını ve yağ metabolizmasını etkileyen çeşitli genlerin (fasn, lpl, leptin, ppara) ekspressiyonunda artış bulunmuş bizim çalışmamızda da yüksek karbonhidrat ile beslenen zebra balıklarında bu genlerin ekspressiyonunda artış olmuştur ve çalışmamız bu durumu desteklemiştir (Shankar et al., 2010).

Leptin; adipoz doku tarafından sentezlenen ve salgılanan bir hormondur. Vücutta başlıca rolü hipotalamus üzerine negatif geri dönüşüm uygulayarak gıda alımını ve enerji metabolizmasını düzenlemektir. Merkezi sinir sistemi yoluyla başlıca; glikoz metabolizması, lipit metabolizması bağışıklık fonksiyonu, kemikler ve üreme dâhil olmak üzere çoğu eylemdeki fizyolojik reaksiyonların düzenler. Vücutta Leptin serum seviyesi vücuttaki yağ miktarı ile doğru orantılı olarak artar ve dişilerde erkeklerden daha yüksektir (Friedman, 1998). Çalışmamızda tüm gruplarda bakmış olduğumuz Leptin geninin (lep) ekspresyonu kontrol grubunda herhangi bir azalış veya artış sergilememiştir. Yüksek karbonhidratlı diyet ile beslenen dişi ve erkek zebra balıklarında ekspresyonu artışı görülmektedir. Yüksek yağlı diyet ile beslenen zebra balıklarında ise lep geninin ekspresyonu azalış göstermiştir. Balıklarda beslenme sonrası bakılan BKİ değerlerine göre ise dişilerde kontrol grubuna göre her iki grupta da artış saptanmıştır. Erkeklerin BKİ değerleri ise kontrol grubu ile yüksek yağlı yem ile beslenen grup aynı oranda artış gösterirken yüksek karbonhidrat ile beslenen grupta artış daha fazla saptanmıştır. Moleküler olarak bakarsak Leptin hormonu ekspresyon arttıkça daha fazla sentezleneceği için obez hayvanlarda ekspresyon artacaktır. Bu durum bizim yüksek karbonhidrat ile beslenen tüm gruplarda artmış adipozite ile desteklenirken yüksek yağ ile beslenen gruplarda; dişilerde artmış bir adipozite varken erkeklerde bu artış görülmemiştir.

Zebra balığının obezite ve diğer metabolik hastlıklarda uygun olduğunu gösteren bir diğer çalışma ise embriyonik gelişim sürecinin zebra balığı ile insan arasında çok benzerlik olmasından dolayı savunmaktadır (Sant & Timme-Laragy, 2018).



Şekil 44. Zebra balığı, insan ve farenin karşılaştırmalı embriyonik gelişim süreci (sant & timme-laragy, 2018).

Bizim çalışmamızda beslenme protokolünü uyguladığımız balıklardan yavru alındı ve her gruptan alınan yavru sayı olarak belirli bir çoğunluğu oluşturur. Bu balıklarda

yumurtadan çıkış, anormali ve ölüm parametreleri değerlendirildi. Buna ek olarak alınan yavrularda apoptotik hücre, oksidatif stres, vücut yağ kompozisyonu görüntülenmesi yapıldı. Moleküler olarak leptin, ghrelin, nöropeptit-y hormonlarının gen ekspresyonuna bakıldı. Beslenmenin vücutta bilişsel fonksiyonlar üzerinde etkisinin olup olmadığını anlamlandırabilmek için davranış testleri yapıldı. Bu testler depresyon, anksiyete ve öğrenme üzerindeki etkiyi ölçmemizi sağladı.

Çalışmamız da yüksek yağlı diyet grubundan alınan larvalarda perikardiyak alan diğer gruplara göre daha fazla genişlemiştir. Perikardiyak ödem diğer gruplardan alınan larvalara göre daha fazladır. Bu durumun nedeni maternal obezite olabilir. Literatüre bakıldığında zebra balığında maternal obezitenin bir nesil sonrasında dair bir çalışma bulunmamaktadır. Cedergren ve Källén'ın İsveç'te 6000'den fazla kadın üzerinde yapmış olduğu çalışmada; erken gebelikte görülen maternal obezite ile yavrulardaki konjenital kalp defekti arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur. Anne obezitesi ile yavrulardaki kardiovasküler defektler arasında gözlenen ilişki çeşitli açılardan önemlidir. Konjenital kardiovasküler kusurlar çocukluk döneminde morbidite ve mortalitenin artmasına neden olabilir ki bizim çalışmamızda da yüksek yağlı diyet ile beslenen gruptan alınan larvalarda hem yaşam oranının az olması hem de larvalarda görülen çeşitli malformasyonlar (omurga anomalisi, besin kesesi ödemi, kuyruk anomalisi vb) bu tezi desteklemektedir (Cedergren & Källén, 2003).

Yaptığımız çalışmada Daniovision programı ile aldığımız larvalarda gruplara göre kan akışı, kalp atış sayısı, göz boyutu ve boy uzunluğu ölçümleri yapıldı. Bu ölçümler sonucunda yüksek yağlı diyet ile beslenen gruplardan alınan larvalarda kan akışı ve kalp atım sayısı; her iki diyet grubuna göre anlamlı oranda azdır. Bunun nedeni Nile-red boya ile açıklanmış olabilir. Çünkü vücut yağ profilini görüntülemek için yapmış olduğumuz boyamada yüksek karbonhidrat diyet ile beslenen gruptan aldığımız larvalarda yağlanma oranı; yüksek yağlı diyet ile beslenen gruplardan aldığımız larvalara göre daha az bulunmuştur. Kontrol grubunda da yağlanma daha az bulunmuştur. Nile-red boyamada yüksek yağlı diyet ile beslenen grupta nokta lipid oranı daha fazladır. Bu durum yüksek yağlı diyet ile beslenen ebeveynlerin yavrudaki lipid oranını etkilediğini gösterebilir ve kalp fonksiyonlarında sıkıntılar oluşturabilir. Wang ve ark. koyunlar üzerinde yapmış olduğu çalışmada; koyunlarla oluşturulan maternal obezitenin, fetal yaşamdaki kardiovasküler değişikliklerin neonatal ve daha sonra postnatal hayata ne kadar devam ettiği ve yavruların kardiovasküler fonksiyonunu ne kadar değiştirdiğini belirlemeye çalışıldı ve alınan veriler pozitif korelasyon gösterdi (Wang et al., 2010). Wen ve ark. ise çalışmalarında; maternal obezite, maternal sigara

kullanımı, kronik hipertansiyon, preeklampsi gibi faktörlerin bulunduğu annelerin çocuklarında sistolik kan basıncı arasında ilişkinin pozitif olduğunu bildirmişlerdir fakat hala altta yatan mekanizma aydınlatılamamıştır (Wen, Triche, Hogan, Shenassa, & Buka, 2011)

Çalışmamızda tüm gruplardan alınan larvaların hepsinde göz çevresi ve boy uzunluğunda bir farklılık bulunmamıştır. Kan akış hızı ise kontrol diyeti ile beslenen larvalarda diğer gruplara göre daha fazla bulunmuştur. Yüksek yağlı diyet ile beslenen gruptan alınan larvalarda yüksek karbonhidrat diyet ile beslenen gruptan alınan larvalara göre daha fazla bulunmuştur.

Zebra balığı larvalarının yaşama oranına bakarsak; kontrol diyeti ile beslenen grubun larvalarında en fazla iken yüksek yağlı diyet ile beslenen grupta daha azdır. Yüksek yağlı diyet ile beslenen gruptan alınan larvaların yumurtalarında lipit damlacıkları görüntülendi ve bu damlacıklar ertesı gün mantar oluşumuna neden olarak larvanın ölmesine neden oldu diyebiliriz. Maternal obezitenin yumurta kalitesi üzerine olan etkisini araştıran Carrel ve ark. BKI ile embriyo kalitesi arasında anlamlı farklılıklar bulmuşlardır. Yaptıkları çalışmadan aldıkları veriler, folikül içi koryonik gonadotropi konsantrasyonunun BMI ile ters ilişkili olduğunu; embriyo kalitesinde ve gebelik oranında eş zamanlı bir düşüşle ilişkili olabileceğini göstermektedir. Bizim çalışmamızda da tüm gruplardan alınan yavru sayılarına baktığımızda en fazla yavruyu kontrol diyeti ile beslenen gruptan alırken en az yavruyu yüksek yağlı diyet ile beslenen gruptan aldık. Bu sonuçta literatürü destekler niteliktedir çünkü yumurtlama sayısı ve yumurta kalitesi en düşük olan grup yüksek yağlı diyet ile beslenen gruptu (Carrell et al., 2001).

Zebra balıklarının larvalarında baktığımız diğer bir parametrede yumurtadan çıkış oranıdır. Yumurtadan çıkış oranına saatler ile bakacak olursak; 48. saatini dolduran larvalarda en fazla çıkış kontrol grubunda iken en az çıkış yüksek karbonhidrat diyet ile beslenen gruptadır ve bu durum 72. saatini tamamlayan larvalarda da 96. saatini tamamlayan larvalarda da aynıdır.

Çalışmamızda 3 farklı diyet ile beslenen (yüksek yağlı diyet, yüksek karbonhidrat diyet, kontrol diyeti) tüm gruplardan yavru alındı. Bu yavruların vücut yağ profilini belirlemek için Nile- red ile boyandı ve yüksek yağlı diyet ile beslenen grupta diğer gruplara göre yağ profili daha fazla çıkmıştır. McCurdy ve arkadaşlarının farelerde yaptığı bir çalışmada maternal diyetin ve maternal obezitenin; yetişkin hastalığının fetal lipotoksiste gelişiminde kritik bir rol oynadığı bulunmuştur. Aynı çalışmada en dikkat çekici bulgulardan

biri yüksek yağlı diyet ile beslenen ebeveynlerden oluşan fetüsün NAFLD(alkolik olmayan karaciğer yağlanması) riskini önemli derecede artırdığıdır (McCurdy et al., 2009).

Çalışmamızda dikkat çeken bir diğer konu ise yüksek yağlı diyet ile beslenen gruplardan alınan larvalarda yağ profili notka lipit oranı olarak ciddi flöüresan ışıma vermiştir. Bunun nedeni yüksek yağlı beslenmenin kalp ve damar sisteminde yağlanmaya daha fazla neden olduğu savunulabilir ki bu durumu destekleyen bir diğer faktör ise yüksek yağlı diyet ile beslenen gruplardan alınan yavrularda kalp morfolojisinde bozulmalar (peri kardiyak ödem, kalp atım hızı tespit edilmiştir. Bu durum Rodríguez-González'un farelerde yaptığı bir çalışma ile desteklenmektedir. Bu çalışmaya göre obez bir annenin hamilelik sırasında yüksek yağlı bir diyetle maruz kalmanın fetüste" yağlı karaciğer" ürettiğini ve potansiyel olarak çocukları obezite, metabolik ve kardiovasküler rahatsızlıklara yatkın hale geldiğini gösterebilir (Rodríguez-González et al., 2019).

Maternal gebelik öncesi aşırı kilo ve obezitenin olduğu kişilerde fetüste daha yüksek bir oksidatif stres derecesi olduğu Gallardo ve ark. İnsanlar üzerinde klinik olarak yaptığı bir çalışmada belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda oksidatif stresi belirlemek için reaktif oksijen türevleri CM-H2DCFDA indikatörü ile boyanarak flöüresan ışımalara bakılmıştır. Yüksek yağlı diyet ile beslenen gruptan aldığımız larvalarda ışıma diğer gruplara göre daha fazla bulunmuştur. Kontrol diyetine maruz kalan larvalarda hiç yok denecek kadar az ışıma gözlenmiştir. Buda insanlar üzerinde yapılan çalışmayı destekler niteliktedir (Gallardo et al., 2015).

Apoptoz olayı aslında vücutta her zaman gerçekleşen bir durumdur. Vücut kendi içinde kontrollü ölüm gerçekleştirir fakat bu durumun fazla olması vücutta bazı hücrelerde DNA hasarı olduğunu göstermektedir. Bizim çalışmamızda apoptotik hücreleri boyamak için kullandığımız Akridin Oranj boyası; kontrol diyeti ile beslenen gruptan alınan larvalarda diğer gruplara göre en az flöüresans ışıma vermiştir. Yüksek yağlı diyet ile beslenen gruptan alınan larvalarda ise yüksek karbonhidratlı diyet ile beslenen grupta daha fazla bulunmuştur. Buda maternal obezitenin birinci nesilde oluşan hücrelerde DNA hasarına neden olabileceğini göstermekte diyebiliriz. Kuang ve ark. sıçanlarda yüksek sükroz diyeti ile obezite geliştirmiş ve bu sıçanlardan alınan yavrularda mekansal bilişte bozulma olduğunu göstermişlerdir aynı zamanda mekansal bilişteki açığın hipokampüsteki hücresel apoptoz ile ilişkili olabileceğini göstermişlerdir. Yüksek yağlı diyet ile yapılan obezitenin apoptoz üzerine olan etkisine dair bir çalışma yoktur fakat yüksek sükroz ile yapılan obezitenin apoptoz üzerine olan etkisi çalışmamızda da desteklenmiştir (Kuang et al., 2014).

Araştırmada kullanılan balıklardan alınan larvalarda gen ekspresyon analizi yapıldı ve sonuçlar hemen hemen ebeveynle aynı paralellikte artış ve azalış sergiledi. Cuthbert ve arkadaşlarının 2017 yılında yapmış oldukları bir çalışmada maternal yüksek yağlı ve yüksek fruktozlu diyetin birinci nesilde lipit metabolizma genlerinin ekspresyonu inceleme üzerine yapmış oldukları çalışma da; FASN geninin ekspresyon yüzdesi anneye göre yavru sıçanlarda daha fazla olduğu saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da aynı durum söz konusudur ve çalışmamız sonucu desteklemektedir (Cuthbert, Foster, & Ramdath, 2017). Aynı çalışmada NPY ekspresyonu ebeveyne göre yavru sıçanda düşerken bizim çalışmamızda yüksek karbonhidratlı beslenen grupta da sonuç literatürü desteklemiştir.

LPL gen ekspresyonu çalışmamızda yüksek yağ diyeti ile beslenen yetişkin balıklarda da normalken, bunlardan alınan larvalarda yüksek bulunmuştur. Yüksek karbonhidrat diyeti ile beslenen grupta ise yetişkin balıklara göre yavrularda LPL gen ekspresyonunda azalma gözlenmiştir. Wu ve ekibinin 2006 yılında yapmış çalışmada LPL geninin birinci nesil üzerinde yüksek yağlı diyet ile beslenenince ekspresyonda artış görülmüştür. Buda sonuçları destekler niteliktedir (Wu & Suzuki, 2006).

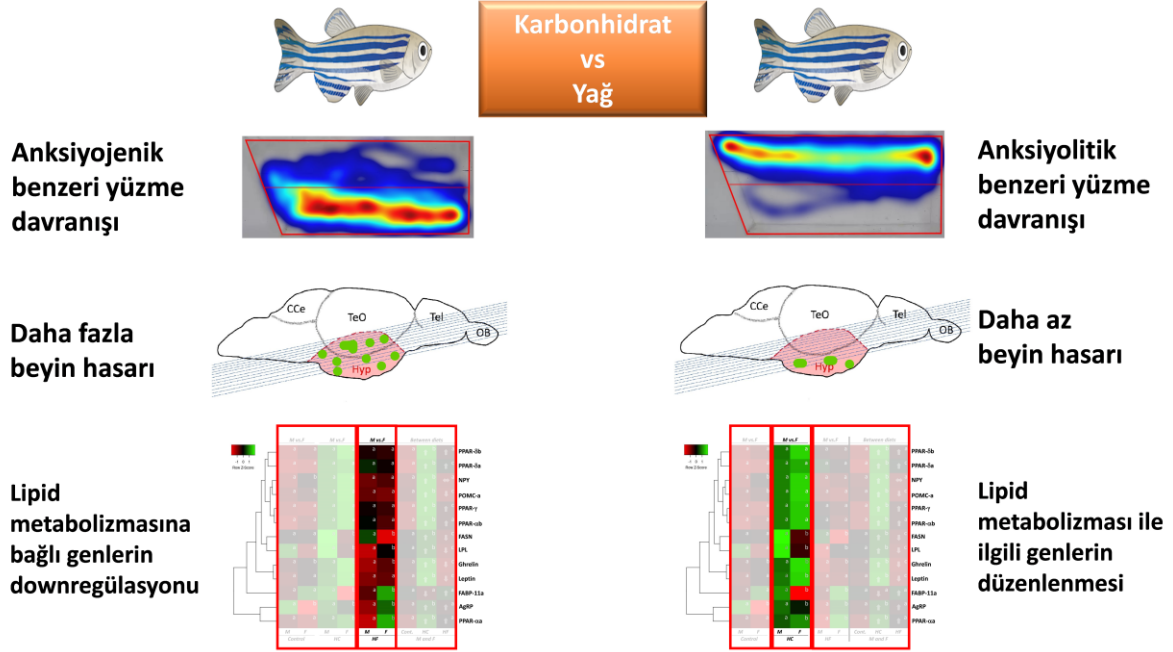
Çalışmamızda maternal obezitenin yetişkin zebra balıklarında lipit metabolizmasında görevli genler üzerine (fasn, ppar-gama, ppar- deltab, ppar-deltaa, ppar-alfaa) etkisi aynı paralellikte onlardan alınan larva zebra balıklarında da görülmüştür.

Kemirgen modellerinde yapılan çalışmalar, maternal yüksek yağ tüketiminin anksiyete ve benzeri davranışları artırdığı gözlenmiştir ki bizim çalışmamızda da bu sonuca varılmıştır. Perinatal dönemde maternal diyet, yavruların sosyal davranışlarını da etkiler. Çoklu doymamış yağ asitleri bakımından yüksek bir maternal diyetle maruz kalan sıçan yavruları, davetsiz misafirlere karşı artan saldırganlık göstermiştir (Sullivan, Nousen, Chamlou, & Grove, 2012).

Sonuç olarak farklı diyet uygulamaları ile oluşturduğumuz zebra balıklarında; bu uygulamalar doğrultusunda gıda alımındaki farklılıkların anksiyete ve benzeri davranışların tetiklenmesine yönelik anlamlı bir ilişki kurmaya çalıştık. Sonuçlarımız yüksek yağ ile beslenmenin zebra balıklarında kaygı durumunu artırdığını, yüksek karbonhidrat ile beslenmenin ise kaygı durumunu azalttığını göstermeye çalıştık. Ek olarak farklı diyetler ile beslenmenin birinci nesildeki etkilerinin nöral ve morfolojik anlamda açıklamaya çalıştık. Daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulan bir konu olan obezitenin psikolojik etkilerini açıklamaya çalıştık. Tüm çalışmanın özeti niteliğinde olabilecek şekli aşağıda belirttik

YY diyet ile oluşturulan obezite modeli

YK diyet ile oluşturulan obezite modeli



Şekil 45. Farklı diyet uygulamalarının zebra balıklarında oluşturduğu genetik, psikolojik ve morfolojik hasarlar

KAYNAKLAR

- Adams, J. M., & Cory, S. (1998). The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science*, 281(5381), 1322-1326.
- Aller, E. E., Abete, I., Astrup, A., Martinez, J. A., & Baak, M. A. v. (2011). Starches, sugars and obesity. *Nutrients*, 3(3), 341-369.
- Amiri, S., & Behnezhad, S. (2019). Obesity and anxiety symptoms: A systematic review and meta-analysis. *neuropsychiatrie*, 33(2), 72-89.
- and, C. A. B., Della-Fera, M. A., & Martin, R. J. (2000). Regulation of Metabolism and Body Fat Mass by Leptin. *Annual Review of Nutrition*, 20(1), 105-127. doi:10.1146/annurev.nutr.20.1.105
- and, J. B., & Moller, D. E. (2002). The Mechanisms of Action of PPARs. *Annual Review of Medicine*, 53(1), 409-435. doi:10.1146/annurev.med.53.082901.104018
- Andrews, Z. B., Erion, D., Beiler, R., Liu, Z.-W., Abizaid, A., Zigman, J., . . . Horvath, T. L. (2009). Ghrelin Promotes and Protects Nigrostriatal Dopamine Function via a UCP2-Dependent Mitochondrial Mechanism. *The Journal of Neuroscience*, 29(45), 14057-14065. doi:10.1523/jneurosci.3890-09.2009
- Arslan, M., Alaybasi, S., Altun, E., Gulen, S., Sirkecioglu, N., Atasever, A., . . . Aras, M. (2016). Changes in Lipids, Fatty Acids, Lipid Peroxidation and Antioxidant Defence System During the Early Development of Wild Brown Trout (*Salmo trutta*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 16(3), 703-714.
- Audira, G., Sarasamma, S., Chen, J.-R., Juniardi, S., Sampurna, B., Liang, S.-T., . . . Hsiao, C.-D. (2018). Zebrafish Mutants Carrying Leptin a (*lepa*) Gene Deficiency Display Obesity, Anxiety, Less Aggression and Fear, and Circadian Rhythm and Color Preference Dysregulation. *International journal of molecular sciences*, 19(12), 4038.
- Avila, C., Holloway, A. C., Hahn, M. K., Morrison, K. M., Restivo, M., Anglin, R., & Taylor, V. H. (2015). An Overview of Links Between Obesity and Mental Health. *Current Obesity Reports*, 4(3), 303-310. doi:10.1007/s13679-015-0164-9
- Banks, W. A., DiPalma, C. R., & Farrell, C. L. (1999). Impaired transport of leptin across the blood-brain barrier in obesity☆. *Peptides*, 20(11), 1341-1345. doi:[https://doi.org/10.1016/S0196-9781\(99\)00139-4](https://doi.org/10.1016/S0196-9781(99)00139-4)
- Baran, A., Köktürk, M., Atamanalp, M., & Ceyhun, S. B. (2018). Determination of developmental toxicity of zebrafish exposed to propyl gallate dosed lower than ADI (Acceptable Daily Intake). *Regulatory toxicology and pharmacology : RTP*, 94, 16-21. doi:10.1016/j.yrtph.2017.12.027
- Batterham, R. L., Cowley, M. A., Small, C. J., Herzog, H., Cohen, M. A., Dakin, C. L., . . . Bloom, S. R. (2002). Gut hormone PYY3-36 physiologically inhibits food intake. *Nature*, 418(6898), 650-654. doi:10.1038/nature00887
- Belhan, S., Yıldırım, S., Huyut, Z., Özdek, U., Oto, G., & Algül, S. Effects of curcumin on sperm quality, lipid profile, antioxidant activity and histopathological changes in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Andrologia*, n/a(n/a), e13584. doi:10.1111/and.13584
- Berger, M., Smesny, S., Kim, S., Davey, C., Rice, S., Sarnyai, Z., . . . McGorry, P. (2017). Omega-6 to omega-3 polyunsaturated fatty acid ratio and subsequent mood disorders in young people with at-risk mental states: a 7-year longitudinal study. *Translational psychiatry*, 7(8), e1220-e1220.

- Betancor, M., Almáida-Pagán, P., Sprague, M., Hernández, A., & Tocher, D. R. (2015). Roles of selenoprotein antioxidant protection in zebrafish, *Danio rerio*, subjected to dietary oxidative stress. *Fish physiology and biochemistry*, 41(3), 705-720.
- Bjørnbæk, C., Elmquist, J. K., Michl, P., Ahima, R. S., van Bueren, A., McCall, A. L., & Flier, J. S. (1998). Expression of Leptin Receptor Isoforms in Rat Brain Microvessels. *Endocrinology*, 139(8), 3485-3491. doi:10.1210/endo.139.8.6154
- Bjørge, T., Engeland, A., Tverdal, A., & Smith, G. D. (2008). Body mass index in adolescence in relation to cause-specific mortality: a follow-up of 230,000 Norwegian adolescents. *American journal of epidemiology*, 168(1), 30-37.
- Briggs, D. I., & Andrews, Z. B. (2011). Metabolic Status Regulates Ghrelin Function on Energy Homeostasis. *Neuroendocrinology*, 93(1), 48-57. doi:10.1159/000322589
- Briggs, D. I., Enriori, P. J., Lemus, M. B., Cowley, M. A., & Andrews, Z. B. (2010). Diet-Induced Obesity Causes Ghrelin Resistance in Arcuate NPY/AgRP Neurons. *Endocrinology*, 151(10), 4745-4755. doi:10.1210/en.2010-0556
- Brinkworth, G. D., Buckley, J. D., Noakes, M., Clifton, P. M., & Wilson, C. J. (2009). Long-term Effects of a Very Low-Carbohydrate Diet and a Low-Fat Diet on Mood and Cognitive Function. *Archives of Internal Medicine*, 169(20), 1873-1880. doi:10.1001/archinternmed.2009.329
- Buesa, R. J. (2007). Histology: a unique area of the medical laboratory. *Annals of diagnostic pathology*, 11(2), 137-141.
- Carnovali, M., Luzi, L., Terruzzi, I., Banfi, G., & Mariotti, M. (2018). Metabolic and bone effects of high-fat diet in adult zebrafish. *Endocrine*, 61(2), 317-326.
- Caro, J. F., Kolaczynski, J. W., Nyce, M. R., Ohannesian, J. P., Opentanova, I., Goldman, W. H., . . . Considine, R. V. (1996). Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. *the lancet*, 348(9021), 159-161. doi:[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(96\)03173-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(96)03173-X)
- Carrell, D. T., Jones, K. P., Peterson, C. M., Aoki, V., Emery, B. R., & Campbell, B. R. (2001). Body mass index is inversely related to intra-follicular HCG concentrations, embryo quality and IVF outcome. *Reproductive biomedicine online*, 3(2), 109-111.
- Cedergren, M. I., & Källén, B. A. (2003). Maternal obesity and infant heart defects. *Obesity research*, 11(9), 1065-1071.
- Chan, J. M., Rimm, E. B., Colditz, G. A., Stampfer, M. J., & Willett, W. C. (1994). Obesity, fat distribution, and weight gain as risk factors for clinical diabetes in men. *Diabetes Care*, 17(9), 961-969.
- Chmurzyńska, A. (2006). The multigene family of fatty acid-binding proteins (FABPs): Function, structure and polymorphism. *Journal of Applied Genetics*, 47(1), 39-48. doi:10.1007/BF03194597
- Chronwall, B. M. (1985). Anatomy and physiology of the neuroendocrine arcuate nucleus. *Peptides*, 6, 1-11. doi:[https://doi.org/10.1016/0196-9781\(85\)90128-7](https://doi.org/10.1016/0196-9781(85)90128-7)
- Considine, R. V., Sinha, M. K., Heiman, M. L., Kriauciunas, A., Stephens, T. W., Nyce, M. R., . . . Caro, J. F. (1996). Serum Immunoreactive-Leptin Concentrations in Normal-Weight and Obese Humans. *New England Journal of Medicine*, 334(5), 292-295. doi:10.1056/nejm199602013340503
- Cordner, Z. A., & Tamashiro, K. L. K. (2015). Effects of high-fat diet exposure on learning & memory. *Physiology & Behavior*, 152, 363-371. doi:<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.06.008>
- Creemers, J. W. M., Pritchard, L. E., Gyte, A., Le Rouzic, P., Meulemans, S., Wardlaw, S. L., . . . White, A. (2006). Agouti-Related Protein Is Posttranslationally Cleaved by Proprotein Convertase 1 to Generate Agouti-Related Protein (AGRP)83–132: Interaction between AGRP83–132 and Melanocortin Receptors Cannot Be Influenced by Syndecan-3. *Endocrinology*, 147(4), 1621-1631. doi:10.1210/en.2005-1373

- Cui, H., López, M., & Rahmouni, K. (2017). The cellular and molecular bases of leptin and ghrelin resistance in obesity. *Nature Reviews Endocrinology*, 13(6), 338-351. doi:10.1038/nrendo.2016.222
- Cuthbert, C. E., Foster, J. E., & Ramdath, D. D. (2017). A maternal high-fat, high-sucrose diet alters insulin sensitivity and expression of insulin signalling and lipid metabolism genes and proteins in male rat offspring: effect of folic acid supplementation. *British Journal of Nutrition*, 118(8), 580-588.
- Despres, J. (2006). Intra-abdominal obesity: an untreated risk factor for Type 2 diabetes and cardiovascular disease. *Journal of endocrinological investigation*, 29(3), 77.
- Detrich III, H. W., Westerfield, M., & Zon, L. (2016). *The Zebrafish: Cellular and Developmental Biology, Part B Developmental Biology*: Academic Press.
- Diano, S., Farr, S. A., Benoit, S. C., McNay, E. C., da Silva, I., Horvath, B., . . . Horvath, T. L. (2006). Ghrelin controls hippocampal spine synapse density and memory performance. *Nature Neuroscience*, 9(3), 381-388. doi:10.1038/nn1656
- dr. david w haslam , p. w. p. t. j. (2005). obesity. *the lancet*, 336(9492), 1197-1209. doi:10.1016/S0140-6736(05)67483-1
- Fabbrini, E., Sullivan, S., & Klein, S. (2010). Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: biochemical, metabolic, and clinical implications. *Hepatology*, 51(2), 679-689.
- Faillaci, F., Milosa, F., Critelli, R. M., Turola, E., Schepis, F., & Villa, E. (2018). Obese zebrafish: A small fish for a major human health condition. *Animal models and experimental medicine*, 1(4), 255-265. doi:10.1002/ame2.12042
- Faouzi, M., Leshan, R., Björnholm, M., Hennessey, T., Jones, J., & Münzberg, H. (2007). Differential Accessibility of Circulating Leptin to Individual Hypothalamic Sites. *Endocrinology*, 148(11), 5414-5423. doi:10.1210/en.2007-0655
- Field, A. E., Coakley, E. H., Must, A., Spadano, J. L., Laird, N., Dietz, W. H., . . . Colditz, G. A. (2001). Impact of overweight on the risk of developing common chronic diseases during a 10-year period. *Archives of internal medicine*, 161(13), 1581-1586.
- Finger, B. C., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2012). Diet-induced obesity blunts the behavioural effects of ghrelin: studies in a mouse-progressive ratio task. *Psychopharmacology*, 220(1), 173-181. doi:10.1007/s00213-011-2468-0
- Flynn, E. J., 3rd, Trent, C. M., & Rawls, J. F. (2009). Ontogeny and nutritional control of adipogenesis in zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Lipid Research*, 50(8), 1641-1652. doi:10.1194/jlr.M800590-JLR200
- Forn-Cuni, G., Varela, M., Fernandez-Rodriguez, C. M., Figueras, A., & Novoa, B. (2015). Liver immune responses to inflammatory stimuli in a diet-induced obesity model of zebrafish. *J Endocrinol*, 224(2), 159-170.
- Förstermann, U., & Sessa, W. C. (2012). Nitric oxide synthases: regulation and function. *European heart journal*, 33(7), 829-837d. doi:10.1093/eurheartj/ehr304
- Friedman, J. M. (1998). Leptin, Leptin Receptors, and the Control of Body Weight. *Nutrition Reviews*, 56(suppl_1), S38-S46. doi:10.1111/j.1753-4887.1998.tb01685.x
- Gallardo, J. M., Gómez-López, J., Medina-Bravo, P., Juárez-Sánchez, F., Contreras-Ramos, A., Galicia-Esquivel, M., . . . Klünder-Klünder, M. (2015). Maternal obesity increases oxidative stress in the newborn. *Obesity*, 23(8), 1650-1654.
- Gariépy, G., Nitka, D., & Schmitz, N. (2010). The association between obesity and anxiety disorders in the population: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Obesity*, 34(3), 407-419. doi:10.1038/ijo.2009.252
- González-Muniesa, P., Martínez-González, M.-A., Hu, F. B., Després, J.-P., Matsuzawa, Y., Loos, R. J. F., . . . Martínez, J. A. (2017). Obesity. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1), 17034. doi:10.1038/nrdp.2017.34
- Halaas, J. L., Boozer, C., Blair-West, J., Fidathusein, N., Denton, D. A., & Friedman, J. M. (1997). Physiological response to long-term peripheral and central leptin infusion in

- lean and obese mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(16), 8878-8883. doi:10.1073/pnas.94.16.8878
- Harik-Khan, R. I., Wise, R. A., & Fleg, J. L. (2001). The effect of gender on the relationship between body fat distribution and lung function. *Journal of clinical epidemiology*, 54(4), 399-406.
- Haslam, D. W., & James, W. P. T. (2005). Obesity. *the lancet*, 366(9492), 1197-1209. doi:[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67483-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67483-1)
- Hennebelle, M., Zhang, Z., Metherel, A. H., Kitson, A. P., Otoki, Y., Richardson, C. E., . . . Zhang, L. (2017). Linoleic acid participates in the response to ischemic brain injury through oxidized metabolites that regulate neurotransmission. *Scientific reports*, 7(1), 1-14.
- Henry, M., Ghibaudi, L., Gao, J., & Hwa, J. J. (2005). Energy Metabolic Profile of Mice after Chronic Activation of Central NPY Y1, Y2, or Y5 Receptors**. *Obesity Research*, 13(1), 36-47. doi:10.1038/oby.2005.6
- Heymsfield, S. B., & Wadden, T. A. (2017). Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity. *New England Journal of Medicine*, 376(3), 254-266. doi:10.1056/NEJMr1514009
- Holzer, P., & Farzi, A. (2014). Neuropeptides and the Microbiota-Gut-Brain Axis. In M. Lyte & J. F. Cryan (Eds.), *Microbial Endocrinology: The Microbiota-Gut-Brain Axis in Health and Disease* (pp. 195-219). New York, NY: Springer New York.
- I. Briggs, D., & B. Andrews, Z. (2011). A Recent Update on the Role of Ghrelin in Glucose Homeostasis. *Current Diabetes Reviews*, 7(3), 201-207. doi:10.2174/157339911795843140
- Izquierdo, A. G., Crujeiras, A. B., Casanueva, F. F., & Carreira, M. C. (2019). Leptin, Obesity, and Leptin Resistance: Where Are We 25 Years Later? *Nutrients*, 11(11), 2704. Retrieved from <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/11/2704>
- Jacque, C. M., Vinner, C., Kujas, M., Raoul, M., Racadot, J., & Baumann, N. A. (1978). Determination of glial fibrillary acidic protein (GFAP) in human brain tumors. *Journal of the Neurological Sciences*, 35(1), 147-155. doi:10.1016/0022-510X(78)90107-7
- Jarrett, R. (2005). The metabolic syndrome. *the lancet*, 366(9501), 1922.
- Jayakumar, A., Tai, M. H., Huang, W. Y., al-Feel, W., Hsu, M., Abu-Elheiga, L., . . . Wakil, S. J. (1995). Human fatty acid synthase: properties and molecular cloning. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(19), 8695-8699. doi:10.1073/pnas.92.19.8695
- Jayawardena, R., Punchihewa, P., Ranathunga, I., Lokunarangoda, N., Pathirana, A. K., & Santharaj, W. S. (2016). Body weight perception among Sri Lankan cardiac patients. *BMC obesity*, 3, 32-32. doi:10.1186/s40608-016-0113-5
- Jones, K. S., Alimov, A. P., Rilo, H. L., Jandacek, R. J., Woollett, L. A., & Penberthy, W. T. (2008). A high throughput live transparent animal bioassay to identify non-toxic small molecules or genes that regulate vertebrate fat metabolism for obesity drug development. *Nutrition & metabolism*, 5, 23-23. doi:10.1186/1743-7075-5-23
- Jones, K. S., Alimov, A. P., Rilo, H. L., Jandacek, R. J., Woollett, L. A., & Penberthy, W. T. (2008). A high throughput live transparent animal bioassay to identify non-toxic small molecules or genes that regulate vertebrate fat metabolism for obesity drug development. *Nutrition & metabolism*, 5(1), 23.
- Joshi, S., & Mohan, V. (2018). Pros & cons of some popular extreme weight-loss diets. *The Indian journal of medical research*, 148(5), 642.
- Jung, C. H., & Kim, M.-S. (2013). Molecular mechanisms of central leptin resistance in obesity. *Archives of Pharmacal Research*, 36(2), 201-207. doi:10.1007/s12272-013-0020-y

- Kanoski, S. E., Fortin, S. M., Ricks, K. M., & Grill, H. J. (2013). Ghrelin Signaling in the Ventral Hippocampus Stimulates Learned and Motivational Aspects of Feeding via PI3K-Akt Signaling. *Biological Psychiatry*, 73(9), 915-923. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.07.002>
- Karabaş, H. (2013). AYÇİÇEK YAĞI BİYODİZELİNİN ESTER DÖNÜŞÜM ORANI ÜZERİNE ETKİLİ OLAN PARAMETRELERİN OPTİMİZASYONU. *Journal of Adnan Menderes University, Agricultural Faculty*, 10(1).
- Karl, T., Duffy, L., & Herzog, H. (2008). Behavioural profile of a new mouse model for NPY deficiency. *European Journal of Neuroscience*, 28(1), 173-180. doi:10.1111/j.1460-9568.2008.06306.x
- Katz, D., & Meller, S. (2014). Can we say what diet is best for health? *Annual review of public health*, 35, 83-103.
- Kayhan, F., Kaymak, G., Duruel, H. E. E., & Kızılkaya, Ş. T. (2018). Biyolojik Araştırmalarda Zebra Balığının (Danio rerio Hamilton, 1822) Kullanılması ve Önemi. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 7(2), 38-45.
- Kelesidis, T., Kelesidis, I., Chou, S., & Mantzoros, C. S. (2010). Narrative review: the role of leptin in human physiology: emerging clinical applications. *Ann Intern Med*, 152(2), 93-100. doi:10.7326/0003-4819-152-2-201001190-00008
- Kiecolt-Glaser, J. K., Belury, M. A., Porter, K., Beversdorf, D., Lemeshow, S., & Glaser, R. (2007). Depressive symptoms, n-6: n-3 fatty acids, and inflammation in older adults. *Psychosomatic medicine*, 69(3), 217.
- Kimmel, C. B., Ballard, W. W., Kimmel, S. R., Ullmann, B., & Schilling, T. F. (1995). Stages of embryonic development of the zebrafish. *Developmental Dynamics*, 203(3), 253-310. doi:10.1002/aja.1002030302
- Kleinert, M., Clemmensen, C., Hofmann, S. M., Moore, M. C., Renner, S., Woods, S. C., . . . Tschöp, M. H. (2018). Animal models of obesity and diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology*, 14(3), 140-162. doi:10.1038/nrendo.2017.161
- Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., Nakazato, M., Matsuo, H., & Kangawa, K. (1999). Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*, 402(6762), 656-660. doi:10.1038/45230
- Kuang, H., Sun, M., Lv, J., Li, J., Wu, C., Chen, N., . . . Liu, Z. (2014). Hippocampal apoptosis involved in learning deficits in the offspring exposed to maternal high sucrose diets. *The Journal of nutritional biochemistry*, 25(9), 985-990.
- Kuchkuntla, A. R., Shah, M., Velapati, S., Gershuni, V. M., Rajjo, T., Nanda, S., . . . Mundi, M. S. (2019). Ketogenic Diet: an Endocrinologist Perspective. *Current nutrition reports*, 8(4), 402-410.
- Kushner, R. F. (2014). Weight loss strategies for treatment of obesity. *Progress in cardiovascular diseases*, 56(4), 465-472.
- Landgraf, K., Schuster, S., Meusel, A., Garten, A., Riemer, T., Schleinitz, D., . . . Körner, A. (2017). Short-term overfeeding of zebrafish with normal or high-fat diet as a model for the development of metabolically healthy versus unhealthy obesity. *BMC physiology*, 17(1), 4-4. doi:10.1186/s12899-017-0031-x
- Lau, C.-K., Diem, M. D., Dreyfuss, G., & Van Duyne, G. D. (2003). Structure of the Y14-Magoh core of the exon junction complex. *Current Biology*, 13(11), 933-941.
- Lauby-Secretan, B., Scoccianti, C., Loomis, D., Grosse, Y., Bianchini, F., & Straif, K. (2016). Body fatness and cancer—viewpoint of the IARC Working Group. *New England Journal of Medicine*, 375(8), 794-798.
- Li, D., Tong, Y., & Li, Y. (2020). Associations between dietary oleic acid and linoleic acid and depressive symptoms in perimenopausal women: The Study of Women's Health Across the Nation. *Nutrition*, 71, 110602.

- Licinio, J., Mantzoros, C., Negrão, A. B., Cizza, G., Wong, M.-L., Bongiorno, P. B., . . . Gold, P. W. (1997). Human leptin levels are pulsatile and inversely related to pituitary–adrenal function. *Nature Medicine*, 3(5), 575-579. doi:10.1038/nm0597-575
- Mani, B. K., & Zigman, J. M. (2017). Ghrelin as a Survival Hormone. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 28(12), 843-854. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tem.2017.10.001>
- Mania, M., Maruccio, L., Russo, F., Abbate, F., Castaldo, L., D'Angelo, L., . . . Madrigano, M. (2017). Expression and distribution of leptin and its receptors in the digestive tract of DIO (diet-induced obese) zebrafish. *Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger*, 212, 37-47.
- Mantzoros, C. S., & Flier, J. S. (2000). Leptin as a Therapeutic Agent—Trials and Tribulations. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 85(11), 4000-4002. doi:10.1210/jcem.85.11.7062
- Margetic, S., Gazzola, C., Pegg, G. G., & Hill, R. A. (2002). Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. *International Journal of Obesity*, 26(11), 1407-1433. doi:10.1038/sj.ijo.0802142
- Maria Michel, T., Pulschen, D., & Thome, J. (2012). The role of oxidative stress in depressive disorders. *Current pharmaceutical design*, 18(36), 5890-5899.
- McCurdy, C. E., Bishop, J. M., Williams, S. M., Grayson, B. E., Smith, M. S., Friedman, J. E., & Grove, K. L. (2009). Maternal high-fat diet triggers lipotoxicity in the fetal livers of nonhuman primates. *The Journal of clinical investigation*, 119(2), 323-335.
- McDougal, D. H., Viard, E., Hermann, G. E., & Rogers, R. C. (2013). Astrocytes in the hindbrain detect glucoprivation and regulate gastric motility. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical*, 175(1), 61-69. doi:10.1016/j.autneu.2012.12.006
- Mead, J. R., Irvine, S. A., & Ramji, D. P. (2002). Lipoprotein lipase: structure, function, regulation, and role in disease. *Journal of Molecular Medicine*, 80(12), 753-769. doi:10.1007/s00109-002-0384-9
- Meguro, S., Hasumura, T., & Hase, T. (2015). Body Fat Accumulation in Zebrafish Is Induced by a Diet Rich in Fat and Reduced by Supplementation with Green Tea Extract. *PLOS ONE*, 10(3), e0120142. doi:10.1371/journal.pone.0120142
- Meguro, S., Hosoi, S., & Hasumura, T. (2019). High-fat diet impairs cognitive function of zebrafish. *Scientific Reports*, 9(1), 17063. doi:10.1038/s41598-019-53634-z
- Mercer, R. E., Chee, M. J. S., & Colmers, W. F. (2011). The role of NPY in hypothalamic mediated food intake. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 32(4), 398-415. doi:<https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2011.06.001>
- MERMİ, O. Obezite ve Psikiyatri.
- Moon, H.-S., Dalamaga, M., Kim, S.-Y., Polyzos, S. A., Hamnvik, O.-P., Magkos, F., . . . Mantzoros, C. S. (2013). Leptin's Role in Lipodystrophic and Nonlipodystrophic Insulin-Resistant and Diabetic Individuals. *Endocrine Reviews*, 34(3), 377-412. doi:10.1210/er.2012-1053
- Moon, M. L., Joesting, J. J., Lawson, M. A., Chiu, G. S., Blevins, N. A., Kwakwa, K. A., & Freund, G. G. (2014). The saturated fatty acid, palmitic acid, induces anxiety-like behavior in mice. *Metabolism*, 63(9), 1131-1140.
- Müller, T. D., Nogueiras, R., Andermann, M. L., Andrews, Z. B., Anker, S. D., Argente, J., . . . Tschöp, M. H. (2015). Ghrelin. *Molecular Metabolism*, 4(6), 437-460. doi:<https://doi.org/10.1016/j.molmet.2015.03.005>
- Myers, M. G., Jr., Heymsfield, S. B., Haft, C., Kahn, B. B., Laughlin, M., Leibel, R. L., . . . Yanovski, J. A. (2012). Challenges and opportunities of defining clinical leptin resistance. *Cell Metab*, 15(2), 150-156. doi:10.1016/j.cmet.2012.01.002
- Nüsslein-Volhard, C., & Dahm, R. (2002). *Zebrafish : a practical approach*. Oxford: Oxford University Press.

- Obert, J., Pearlman, M., Obert, L., & Chapin, S. (2017). Popular weight loss strategies: a review of four weight loss techniques. *Current gastroenterology reports*, 19(12), 61.
- Oka, T., Nishimura, Y., Zang, L., Hirano, M., Shimada, Y., Wang, Z., . . . Tanaka, T. (2010). Diet-induced obesity in zebrafish shares common pathophysiological pathways with mammalian obesity. *BMC physiology*, 10(1), 21.
- Ollmann, M. M., Wilson, B. D., Yang, Y.-K., Kerns, J. A., Chen, Y., Gantz, I., & Barsh, G. S. (1997). Antagonism of Central Melanocortin Receptors in Vitro and in Vivo by Agouti-Related Protein. *Science*, 278(5335), 135-138. doi:10.1126/science.278.5335.135
- Organization, W. H. (2018). NONCOMMUNICABLE DISEASES COUNTRY PROFILES 2018. *World Health Organization*(September 2018), 223.
- Park, Y., & Colditz, G. A. (2017). Fresh evidence links adiposity with multiple cancers. In: British Medical Journal Publishing Group.
- Qureshi, K., & Abrams, G. A. (2007). Metabolic liver disease of obesity and role of adipose tissue in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *World journal of gastroenterology: WJG*, 13(26), 3540.
- Ramsden, C. E., Faurot, K. R., Zamora, D., Palsson, O. S., MacIntosh, B. A., Gaylord, S., . . . Davis, J. M. (2015). Targeted alterations in dietary n-3 and n-6 fatty acids improve life functioning and reduce psychological distress among chronic headache patients: secondary analysis of a randomized trial. *Pain*, 156(4), 587.
- Reaven, G. M. (1988). Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, 37(12), 1595-1607.
- Rinella, M. E. (2015). Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review. *Jama*, 313(22), 2263-2273.
- Rodríguez-González, G. L., Reyes-Castro, L. A., Bautista, C. J., Beltrán, A. A., Ibáñez, C. A., Vega, C. C., . . . Nathanielsz, P. W. (2019). Maternal obesity accelerates rat offspring metabolic ageing in a sex-dependent manner. *The Journal of physiology*, 597(23), 5549-5563.
- Rogero, M. M., & Calder, P. C. (2018). Obesity, inflammation, toll-like receptor 4 and fatty acids. *Nutrients*, 10(4), 432.
- SAĞLAM, D. Y. S. (2019). *Koyun pnömonilerinde parainfluenza 3 (PI3) virüs varlığının immünohistokimyasal yöntemle araştırılması*.
- Salmerón, C. (2018). Adipogenesis in fish. *The Journal of Experimental Biology*, 221(Suppl 1), jeb161588. doi:10.1242/jeb.161588
- Samur, G., & Yıldız, E. (2008). OBEZİTE VE KARDİYOVASKÜLER HASTALIKLAR/HİPERTANSİYON. *Sağlık Bakanlığı Yayın*.
- Sant, K. E., & Timme-Laragy, A. R. (2018). Zebrafish as a model for toxicological perturbation of yolk and nutrition in the early embryo. *Current environmental health reports*, 5(1), 125-133.
- Santos, C. J., Ferreira, A. V. M., Oliveira, A. L., Oliveira, M. C., Gomes, J. S., & Aguiar, D. C. (2018). Carbohydrate-enriched diet predispose to anxiety and depression-like behavior after stress in mice. *Nutritional Neuroscience*, 21(1), 33-39. doi:10.1080/1028415X.2016.1213529
- Satman, İ. (2011). TURDEP (Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans) Çalışma Grubu. *TURDEP-II Sonuçları, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi*.
- Schwartz, M. W., Peskind, E., Raskind, M., Boyko, E. J., & Porte, D. (1996). Cerebrospinal fluid leptin levels: Relationship to plasma levels and to adiposity in humans. *Nature Medicine*, 2(5), 589-593. doi:10.1038/nm0596-589
- Sebastian, J. C. (2013). Respiratory physiology and pulmonary complications in obesity. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 27(2), 157-161.

- Services, U. S. D. o. H. H. (2019). Overweight and Obesity. Retrieved from <https://www.nhlbi.nih.gov/health-topics/overweight-and-obesity>
- Shankar, K., Harrell, A., Kang, P., Singhal, R., Ronis, M. J., & Badger, T. M. (2010). Carbohydrate-responsive gene expression in the adipose tissue of rats. *Endocrinology*, 151(1), 153-164.
- Sloan, S. A., & Barres, B. A. (2014). Mechanisms of astrocyte development and their contributions to neurodevelopmental disorders. *Current opinion in neurobiology*, 27, 75-81.
- Smathers, R. L., & Petersen, D. R. (2011). The human fatty acid-binding protein family: Evolutionary divergences and functions. *Human Genomics*, 5(3), 170. doi:10.1186/1479-7364-5-3-170
- Song, C., Li, X., Leonard, B. E., & Horrobin, D. F. (2003). Effects of dietary n-3 or n-6 fatty acids on interleukin-1 β -induced anxiety, stress, and inflammatory responses in rats. *Journal of Lipid Research*, 44(10), 1984-1991. doi:10.1194/jlr.M300217-JLR200
- Standards of Medical Care in Diabetes—2014. (2014). *Diabetes Care*, 37(Supplement 1), S14-S80. doi:10.2337/dc14-S014
- Sullivan, E. L., Nousen, E. K., Chamblou, K. A., & Grove, K. L. (2012). The Impact of Maternal High-Fat Diet Consumption on Neural Development and Behavior of Offspring. *International journal of obesity supplements*, 2(Suppl 2), S7-S13. doi:10.1038/ijosup.2012.15
- Sulukan, E., Köktürk, M., Ceylan, H., Beydemir, Ş., Işık, M., Atamanalp, M., & Ceyhun, S. B. (2017). An approach to clarify the effect mechanism of glyphosate on body malformations during embryonic development of zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 180, 77-85. doi:<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.04.018>
- synthase, F. f. a. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>
- Taha, A. Y. (2020). Linoleic acid—good or bad for the brain? *npj Science of Food*, 4(1), 1-6.
- Tatemoto, K., Carlquist, M., & Mutt, V. (1982). Neuropeptide Y—a novel brain peptide with structural similarities to peptide YY and pancreatic polypeptide. *Nature*, 296(5858), 659-660. doi:10.1038/296659a0
- Theander-Carrillo, C., Wiedmer, P., Cettour-Rose, P., Nogueiras, R., Perez-Tilve, D., Pfluger, P., . . . Rohner-Jeanrenaud, F. (2006). Ghrelin action in the brain controls adipocyte metabolism. *The Journal of Clinical Investigation*, 116(7), 1983-1993. doi:10.1172/JCI25811
- Thorsell, A., & Heilig, M. (2002). Diverse functions of neuropeptide Y revealed using genetically modified animals. *Neuropeptides*, 36(2), 182-193. doi:<https://doi.org/10.1054/npep.2002.0897>
- Tingaud-Sequeira, A., Ouadah, N., & Babin, P. J. (2011). Zebrafish obesogenic test: a tool for screening molecules that target adiposity. *Journal of Lipid Research*, 52(9), 1765-1772. doi:10.1194/jlr.D017012
- Tschöp, M., Smiley, D. L., & Heiman, M. L. (2000). Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*, 407(6806), 908-913. doi:10.1038/35038090
- Turpeinen, A., Basu, S., & Mutanen, M. (1998). A high linoleic acid diet increases oxidative stress in vivo and affects nitric oxide metabolism in humans. *Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids*, 59(3), 229-233.
- Varela, L., & Horvath, T. L. (2012). Leptin and insulin pathways in POMC and AgRP neurons that modulate energy balance and glucose homeostasis. *EMBO reports*, 13(12), 1079-1086. doi:10.1038/embor.2012.174
- Volkoff, H. (2019). Fish as models for understanding the vertebrate endocrine regulation of feeding and weight. *Molecular and cellular endocrinology*.
- Wang, J., Ma, H., Tong, C., Zhang, H., Lawlis, G. B., Li, Y., . . . Ford, S. P. (2010). Overnutrition and maternal obesity in sheep pregnancy alter the JNK-IRS-1 signaling

- cascades and cardiac function in the fetal heart. *The FASEB Journal*, 24(6), 2066-2076.
- Wannamethee, S. G., & Shaper, A. G. (1999). Weight change and duration of overweight and obesity in the incidence of type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 22(8), 1266-1272.
- Wen, X., Triche, E. W., Hogan, J. W., Shenassa, E. D., & Buka, S. L. (2011). Prenatal factors for childhood blood pressure mediated by intrauterine and/or childhood growth? *Pediatrics*, 127(3), e713-e721.
- Weston, L. Model organizmadan tibbi ilerlemelere.
- Wettstein, J. G., Earley, B., & Junien, J. L. (1995). Central nervous system pharmacology of neuropeptide Y. *Pharmacology & Therapeutics*, 65(3), 397-414.
doi:[https://doi.org/10.1016/0163-7258\(95\)98598-K](https://doi.org/10.1016/0163-7258(95)98598-K)
- Wiedmer, P., Nogueiras, R., Broglio, F., D'Alessio, D., & Tschöp, M. H. (2007). Ghrelin, obesity and diabetes. *Nature Clinical Practice Endocrinology & Metabolism*, 3(10), 705-712. doi:10.1038/ncpendmet0625
- Wolfe, A. R., Ogbonna, E. M., Lim, S., Li, Y., & Zhang, J. (2009). Dietary linoleic and oleic fatty acids in relation to severe depressed mood: 10 years follow-up of a national cohort. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 33(6), 972-977.
- Woods, S. C., Seeley, R. J., Porte, D., & Schwartz, M. W. (1998). Signals That Regulate Food Intake and Energy Homeostasis. *Science*, 280(5368), 1378-1383.
doi:10.1126/science.280.5368.1378
- Wu, Q., & Suzuki, M. (2006). Parental obesity and overweight affect the body-fat accumulation in the offspring: the possible effect of a high-fat diet through epigenetic inheritance. *Obesity reviews*, 7(2), 201-208.
- Zang, L., Maddison, L. A., & Chen, W. (2018). Zebrafish as a model for obesity and diabetes. *Frontiers in cell and developmental biology*, 6.
- Zavaroni, I., Bonini, L., Fantuzzi, M., Dall'Aglio, E., Passeri, M., & Reaven, G. (1994). Hyperinsulinaemia, obesity, and syndrome X. *Journal of internal medicine*, 235(1), 51-56.
- ZDB-GENE-030131-7802. Retrieved from <https://zfin.org/>
- ZDB-GENE-030513-2. Retrieved from <https://zfin.org/>
- ZDB-GENE-040817-1. Retrieved from <https://zfin.org/>
- ZDB-GENE-040912-132. Retrieved from <https://zfin.org/>
- ZDB-GENE-041210-169. Retrieved from <https://zfin.org/>
- ZDB-GENE-990415-139. Retrieved from <https://zfin.org/>
- Zelman, S. (1952). The liver in obesity. *AMA archives of internal medicine*, 90(2), 141-156.
- Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., & Friedman, J. M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372(6505), 425-432. doi:10.1038/372425a0
- Zukowska, Z., Pons, J., Lee, E. W., & Li, L. (2003). Neuropeptide Y: a new mediator linking sympathetic nerves, blood vessels and immune system? *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 81(2), 89-94. doi:10.1139/y03-006

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Medine TÜRKOĞLU
Doğum tarihi:	10 Temmuz 1992
Doğum Yeri:	Erzurum
Uyruğu:	T.C.
Adres:	Atatürk Üniversitesi Akvaryum Balıkları Uygulama ve Araştırma Merkezi
Tel:	05457234483
E-mail:	dytmedine25@yahoo.com
Eğitim	
Lise:	Erzurum Atatürk Lisesi
Lisans:	Gümüşhane Üniversitesi- Sağlık Bilimleri Fakültesi
Yüksek lisans:	Atatürk Üniversitesi
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	Orta