

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

**LAURİK ASİT VE RESVERATROL ALIMININ FARELERDE  
DİYETLE İNDÜKLENEN NÖROİNFLAMASYON, CD36  
DÜZEYİ VE KOGNİTİF DAVRANIŞLAR ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Uzm. Dyt. Betül KİŞİOĞLU HALİS**

**Beslenme ve Diyetetik Programı  
DOKTORA TEZİ**

**ANKARA**

**2023**



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

**LAURİK ASİT VE RESVERATROL ALIMININ FARELERDE  
DİYETLE İNDÜKLENEN NÖROİNFLAMASYON, CD36  
DÜZEYİ VE KOGNİTİF DAVRANIŞLAR ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Uzm. Dyt. Betül KİŞİOĞLU HALİS**

**Beslenme ve Diyetetik Programı  
DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Aslı AKYOL MUTLU**

**ANKARA  
2023**

**ONAY SAYFASI****LAURİK ASİT VE RESVERATROL ALIMININ FARELERDE DİYETLE İNDÜKLENEN  
NÖROİNFLAMASYON, CD36 DÜZEYİ VE KOGNİTİF DAVRANIŞLAR ÜZERİNE ETKİLERİ****Öğrenci: Betül KİŞİOĞLU HALİS****Danışman: Prof. Dr. Aslı AKYOL MUTLU**

Bu tez çalışması 26.07.2023 tarihinde jürimiz tarafından “Beslenme ve Diyetetik Programı” nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

<b>Jüri Başkanı:</b>	<i>Prof. Dr. Alev KESER</i>	<i>(imza)</i>
	<i>Ankara Üniversitesi</i>	
<b>Üye:</b>	<i>Prof. Dr. Aylin AYZ</i>	<i>(imza)</i>
	<i>Hacettepe Üniversitesi</i>	
<b>Üye:</b>	<i>Prof. Dr. Zehra BÜYÜKTUNCER DEMİREL</i>	<i>(imza)</i>
	<i>Hacettepe Üniversitesi</i>	
<b>Üye:</b>	<i>Doç. Dr. İlyas ONBAŞILAR</i>	<i>(imza)</i>
	<i>Hacettepe Üniversitesi</i>	
<b>Üye:</b>	<i>Dr. Öğr. Üyesi Z. Begüm KALYONCU ATASOY</i>	<i>(imza)</i>
	<i>İstanbul Aydın Üniversitesi</i>	

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

*Prof. Dr. Müge YEMİŞÇİ ÖZKAN*

**Enstitü Müdürü**

## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

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

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

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan **“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”** kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- o Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. <sup>(1)</sup>
- o Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 6 ay ertelenmiştir. <sup>(2)</sup>
- o Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir.

11/08/2023

(imza)

Uzm. Dyt. Betül Kişioğlu Halis

1 “Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

- (1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.
- (2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.
- (3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, tezin yapıldığı kurum tarafından verilir\*. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, ilgili kurum ve kuruluşun önerisi ile enstitü veya fakültenin uygun görüşü üzerine üniversite yönetim kurulu tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir. Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

\* Tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.

## ETİK BEYAN

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

*(imza)*

Uzm. Dyt. Betül Kışioğlu Halis

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince iyi bir bilim insanı olarak yetişebilmem için bilgisi, tecrübesi ve manevi desteği ile ihtiyaç duyduğum her anımda yanımda olan değerli danışmanım Prof. Dr. Aslı AKYOL MUTLU'ya,

Yüksek lisans eğitimim başta olmak üzere doktora eğitimimin başlangıcında yanımda olan ve birlikte çalışmaktan onur duyduğum değerli eski danışmanım Prof. Dr. Reyhan NERGİZ ÜNAL'a,

Tez İzleme Komitesi'nde yer alan ve süreç boyunca çalışmama değerli katkılarını sunan, laboratuvar süreçlerinde yardımcı olan Doç. Dr. İlyas ONBAŞILAR ve Prof. Dr. Alev KESER'e,

Çalışmamın gen analizlerinin yürütülmesinde destek olan Samet ECE ve DİAGEN ekibine, histolojik analizlerinin yürütülmesinde destek olan Doç. Dr. Derya KARABULUT'a,

Tezimin laboratuvar süreçlerinde yardımlarını esirgemeyen, beni hep motive eden ve birlikte çalışmaktan keyif aldığım çalışma arkadaşlarım Uzm. Dyt. Elif ULUĞ, Dr. Öğr. Üyesi Funda TAMER, Uzm. Dyt. Yücel BÜYÜKDERE, Dr. Öğr. Üyesi Armağan Aytuğ YÜRÜK'e,

Bu süreçte bana manevi olarak destek olan ve beni her zaman motive eden çalışma arkadaşlarım Uzm. Dyt. Gülsüm Gizem TOPAL, Dr. Dyt. Sümeyra SEVİM, Uzm. Dyt. Öznur AYDIN, Uzm. Dyt. Hande Gül ULUSOY GEZER'e,

Her koşulda yanımda olan canım ailem, sevgili eşim Haldun HALİS, canım annem Ayşe Serap KİŞİOĞLU, canım babam Yasin KİŞİOĞLU ve canım kardeşim Merve KİŞİOĞLU'na,

Ailem gibi gördüğüm ve hayatımın her anını benimle paylaşan canım arkadaşlarım Sinem MEYDAN ve Deniz KAYA'ya

Teşekkürlerimi sunarım.

**Uzm. Dyt. Betül KİŞİOĞLU HALİS**

## ÖZET

### **Kişioğlu Halis, B., Laurik Asit ve Resveratrol Alımının Farelerde Diyetle İndüklenen Nöroinflamasyon, CD36 Düzeyi ve Kognitif Davranışlar Üzerine Etkileri, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme ve Diyetetik Programı Doktora Tezi, Ankara, 2023.**

Bu çalışmanın amacı, laurik asit ve resveratrol alımının farelerde yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet ile indüklenen nöroinflamasyon, anksiyete ve öğrenme ile ilişkili bazı davranışlar üzerine etkilerini incelemek ve ilişkili mekanizmalarda CD36'nın olası rolünü saptamaktır. C57BL/6 orjinli (8 haftalık, erkek, n=31) fare çalışmaya dahil edilerek 4 gruba ayrılmıştır, 6 hafta boyunca diyet müdahalesi uygulanmıştır. Kontrol grubu (n=8) standart kemirgen yemi (%10 kkal yağ) ve sade içme suyu ile beslenmiştir. Diğer üç grup yüksek yağlı yem (%60 kkal yağ) ve fruktozlu içme suyu (%5 w/v fruktoz) ile beslenmiştir (HFFD). İkinci grup yalnızca HFFD (n=8) diyetini alırken, üçüncü ve dördüncü gruba HFFD'ye ilave olarak oral gavaj ile resveratrol (7,5 mg/kg, HFFD-RSV, n=7) veya laurik asit (750 mg/kg, HFFD-LA, n=8) verilmiştir. Müdahale sonunda plazma, beyin dokularında inflamatuvar belirteçler, yağ asidi translokaz proteini (CD36) düzeyi, karaciğer dokusu histopatolojisi, hayvan karkaslarında vücut su, protein ve yağ oranları incelenmiştir. Günlük diyetle ortalama enerji alımları HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarında kontrol grubundan daha yüksek bulunmuştur (p<0,05). HFFD grubunun toplam vücut ağırlığı artışı ortalaması kontrol grubundan yüksektir (p<0,05). HFFD-RSV grubunun toplam vücut ağırlığı artışı ortalaması HFFD grubundan düşüktür (p<0,05). HFFD grubunun toplam vücut yağ oranı kontrol grubunun yüksektir (p<0,05). HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarının toplam vücut yağ oranları HFFD grubundan düşüktür (p<0,05). HFFD anksiyete benzeri davranışlara yol açarken HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarında anksiyete benzeri davranışlar gözlenmemiştir (p<0,05). HFFD-LA öğrenme ve belleği ölçen testte diğer diyet gruplarından daha yüksek diskriminasyon oranı göstermiştir (p<0,05). HFFD grubunun beyin ve plazma glial fibriler asidik protein (GFAP) ve CD36 seviyeleri kontrol grubundan yüksek bulunmuştur (p<0,05). HFFD-RSV grubunda beyin GFAP, CD36 ve plazma CD36 seviyelerini HFFD grubundan düşük bulunmuştur (p<0,05). HFFD-LA grubunda beyin GFAP, CD36 ve plazma GFAP seviyelerini HFFD grubundan düşük bulunmuştur (p<0,05). HFFD grubunun beyin IL-6, MCP-1, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  seviyeleri kontrol grubundan yüksek bulunmuştur (p<0,05). HFFD-RSV grubunda beyin IL-6, MCP-1, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  seviyeleri HFFD grubundan düşük; IL-10 seviyeleri yüksek bulunmuştur (p<0,05). HFFD-LA grubunda beyin MCP-1, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  seviyeleri HFFD grubundan düşük, IL-10 seviyeleri yüksek bulunmuştur (p<0,05). HFFD grubunun plazma IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-12p70 seviyeleri kontrol grubundan yüksek, IL-10 seviyeleri düşük bulunmuştur (p<0,05). HFFD-RSV grubunda plazma IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-12p70 seviyeleri HFFD grubundan düşük bulunmuştur (p<0,05). HFFD-LA grubunda beyin IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-12p70 seviyeleri HFFD grubundan düşük, IL-10 seviyeleri yüksek bulunmuştur (p<0,05). HFFD karaciğerde hepatosit dejenerasyonu ve mikrovessiküler steatoza neden olmuştur (p<0,05). HFFD-RSV ve HFFD-LA karaciğerde HFFD ile indüklenen hepatosit dejenerasyonu ve/veya mikrovessiküler steatozu azaltmıştır (p<0,05). Sonuç olarak bu çalışmada resveratrol ve laurik asit eklenmesi HFFD ile indüklenen obezite, nöroinflamasyon, sistemik inflamasyon, anksiyete benzeri davranış, hepatosit dejenerasyonu ve mikrovessiküler steatozu azaltmıştır. Laurik asit kognitif performans üzerinde olumlu etkiler göstermiştir. CD36 diyet ve nöroinflamasyon için potansiyel bir biyobelirteç olabilir. Yeterli ve dengeli bir diyet modelinde resveratrol ve laurik asit kaynaklarına yer verilmesinin nöroinflamasyon ile ilişkili sağlık parametrelerini olumlu yönde geliştirebileceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Nöroinflamasyon, yüksek yağlı diyet, fruktoz, laurik asit, resveratrol, CD36



## ABSTRACT

**Kişioğlu Halis, B., The Effects of Lauric Acid and Resveratrol Intake on Diet Induced Neuroinflammation, CD36 Levels and Cognitive Behaviors of Mice, Hacettepe University Graduate School of Health Sciences Program of Nutrition and Dietetics Doctor of Philosophy Thesis, Ankara, 2023.** The aim of this study was to examine the effects of lauric acid and resveratrol intake on high fat high fructose-induced neuroinflammation, anxiety and learning-related behaviors in mice and to determine the possible role of CD36 in these mechanisms. C57BL/6 (8 weeks old, male, n=31) mice were included in the study and divided into 4 groups. The control group was fed with standard rodent chow (10% kcal fat) and plain drinking water. The other three groups were fed high-fat feed (60% kcal fat) and fructose containing drinking water (5% w/v fructose) (HFFD). The second group only received HFFD (n=8) while in addition to HFFD, the third and fourth groups were given resveratrol (7,5 mg/kg, HFFD-RSV, n=7) or lauric acid (750 mg/kg, HFFD-LA, n=8) by oral gavage. At the end of the intervention (6 weeks), inflammatory markers in plasma and brain tissues, CD36 levels, histopathology of the liver, body water, protein and fat ratios in animal carcasses were examined. Average energy intake with daily diet was higher in the HFFD, HFFD-RSV and HFFD-LA groups than the control group ( $p<0,05$ ). The mean total body weight gain of the HFFD group was higher than the control group ( $p<0,05$ ). The mean total body weight gain of the HFFD-RSV group was lower than the HFFD group ( $p<0,05$ ). Total body fat ratio of the HFFD group was higher than that of the control group ( $p<0,05$ ). Total body fat ratios of the HFFD-RSV and HFFD-LA groups were lower than the HFFD group ( $p<0,05$ ). HFFD elicited anxiety-like behaviors, while HFFD-RSV and HFFD-LA demonstrated improved anxiety-like behaviors ( $p<0,05$ ). HFFD-LA led to a higher discrimination index than the other diet groups in the test measuring recognition memory ( $p<0,05$ ). Brain and plasma GFAP and CD36 levels of the HFFD group were higher than the control group ( $p<0,05$ ). Brain GFAP, CD36 and plasma CD36 levels were lower in the HFFD-RSV group than the HFFD group ( $p<0,05$ ). Brain GFAP, CD36 and plasma GFAP levels were lower in the HFFD-LA group than the HFFD group ( $p<0,05$ ). Brain IL-6, MCP-1, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  levels of the HFFD group were higher than the control group ( $p<0,05$ ). Brain IL-6, MCP-1, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  levels were lower and IL-10 levels were higher in the HFFD-RSV group than the HFFD group ( $p<0,05$ ). Brain MCP-1, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  levels were lower and IL-10 levels were higher in the HFFD-LA group than the HFFD group ( $p<0,05$ ). Plasma IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-12p70 levels were higher and IL-10 levels were lower of the HFFD group than the control group ( $p<0,05$ ). Plasma IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-12p70 levels were lower in the HFFD-RSV group than the HFFD group ( $p<0,05$ ). Brain IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-12p70 levels were lower and IL-10 levels were higher in the HFFD-LA group than the HFFD group ( $p<0,05$ ). HFFD caused hepatocyte degeneration and microvesicular steatosis in the liver ( $p<0,05$ ). HFFD-RSV and HFFD-LA reduced HFFD-induced hepatocyte degeneration and/or microvesicular steatosis in the liver ( $p<0,05$ ). In conclusion, this study showed that supplementation of resveratrol and lauric acid reduced HFFD-induced obesity, neuroinflammation, systemic inflammation, anxiety-like behavior, hepatocyte degeneration, and microvesicular steatosis. Lauric acid has shown positive effects on cognitive performance. CD36 might be a potential biomarker for diet and neuroinflammation. The addition of dietary resveratrol and lauric acid sources in an adequate and balanced dietary pattern may improve health parameters associated with neuroinflammation.

**Key Words:** Neuroinflammation, high fat diet, fructose, lauric acid, resveratrol, CD36

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xiii
ŞEKİLLER	xv
TABLolar	xvii
<b>1. GİRİŞ</b>	1
1.1. Kuramsal Yaklaşımlar	1
1.2. Amaç ve Varsayımlar	4
1.3. Hipotezler	4
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	5
2.1. Nörolojik Bozukluklarda Yaygın Bir Tehdit: Nöroinflamasyon	5
2.2. Nöroinflamasyon ve Beslenme	10
2.2.1. Yağlar ve Yağ Asitleri	13
2.2.2. Fruktoz	25
2.2.3. Polifenoller	26
2.2.4. Besin Öğelerinin Sinerjistik Etkisi	31
2.3. Nöroinflamasyon ve CD36	33
2.4. Kemirgenlerde Uygulanan Davranış Testleri ve Beslenme ile İlişkileri	36
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	40
3.1. Çalışma Yeri, Zamanı, Tasarımı ve Örneklem Seçimi	40
3.2. Hayvanların Temini ve Diyet Müdahalesi	41
3.2.1. Hayvanların Temini ve Bakımı	41
3.2.2. Uygulanan Diyet Müdahalesi	41
3.2.3. Gavaj Solüsyonlarının Hazırlanması	45
3.3. Hayvanlara Uygulanan Davranış Testleri	46
3.3.1. Açık Alan Testi (AAT)	47

3.3.2. Yeni Nesne Tanıma Testi (YNTT)	48
3.3.3. Baskılanmış Beslenme Testi (BBT)	49
3.4. Anestezi, Kan Alma, Doku Toplama ve Ötanazi	50
3.4.1. Anestezi	50
3.4.2. Kan Alma ve Ötanazi	50
3.4.3. Organların Diseksiyonu	50
3.5. Karkaslarda Toplam Vücut Yağı ve Proteini Analizleri	51
3.5.1. Soxhlet Yöntemi ile Toplam Vücut Yağı Analizi	52
3.5.2. Kjeldahl Yöntemi ile Toplam Vücut Proteini Analizi	53
3.6. Plazma ve Beyin Dokularında Flow/Akış Sitometrisi ile İnflamasyonda Görevli Bazı Moleküllerin Düzeylerinin Belirlenmesi	54
3.6.1. Beyin Dokusu Örneklerinin Hazırlanması	54
3.6.2. Beyin Dokusu Örneklerinde Protein Miktar Tayini	55
3.6.3. İnflamasyonda Görevli Bazı Moleküllerin Analizi	55
3.7. Plazma ve Beyin Dokularında CD36 Analizi	56
3.8. Plazma ve Beyin Dokularında GFAP Analizi	57
3.9. İnflamasyonda Görevli Bazı Proteinlerin Gen Ekspresyonu Analizi	57
3.9.1. Nükleik Asit Ekstraksiyon İşlemi	58
3.9.2. Nükleik Asit Miktar Tayini	58
3.9.3. Reverse Transcriptase (cDNA) İşlemi	58
3.9.4. Gen Ekspresyon Primer Tasarım ve Bağlanma Sıcaklıkları	59
3.9.5. Gerçek Zamanlı qPCR mRNA Analizi	60
3.10. Beyin ve Karaciğer Dokularının Histopatolojik İncelemesi	60
3.10.1. Doku Örneklerinin Hazırlanması	60
3.10.2. Beyin Dokusunun İmmünohistokimyasal Boyanması	60
3.10.3. Karaciğer Dokusunun Histopatolojik İncelemesi	61
3.11. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	61
<b>4. BULGULAR</b>	63
4.1. Yem ve Su Tüketimleri, Enerji Alımları ve Vücut Ağırlıklarına İlişkin Bulgular	63
4.2. Organ Ağırlıkları ve Vücut Kompozisyonuna İlişkin Bulgular	76
4.3. Davranış Testlerine İlişkin Bulgular	79

4.3.1. Açık Alan Testi (AAT) Bulguları	79
4.3.2. Yeni Nesne Tanıma Testi (YNTT) Bulguları	86
4.3.3. Baskılanmış Beslenme Testi (BBT) Bulguları	89
4.4. Beyin Dokusunda Nöroinflamasyona İlişkin Bulgular	94
4.4.1. Beyin Dokusunda GFAP ve CD36 Düzeyi	94
4.4.2. Beyin Dokusunda Nöroinflamatuvar Belirteçler	96
4.4.3. Beyin Dokusunda Nöronflamasyonla İlişkili Gen Analizleri	99
4.4.4. Beyin Dokusunda Nöronflamasyonla İlişkili İmmünohistokimyasal Boyanma Bulgular	100
4.5. Plazmada İnflamasyona İlişkin Bulgular	102
4.5.1. Plazmada GFAP ve CD36 Düzeyi	102
4.5.2. Plazmada İnflamatuvar Belirteçler	104
4.6. Karaciğer Dokusunda Histopatolojik Bulgular	106
4.7. GFAP ve CD36 ile İlgili Korelasyonlar	109
<b>5. TARTIŞMA</b>	115
5.1. Yem ve Su Tüketimleri, Enerji Alımları ve Vücut Ağırlıklarına İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi	115
5.2. Organ Ağırlıkları ve Vücut Kompozisyonuna İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi	119
5.3. Davranış Testlerine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi	120
5.3.1. Açık Alan Testi (AAT) Bulguları	120
5.3.2. Yeni Nesne Tanıma Testi (YNTT) Bulguları	124
5.3.3. Baskılanmış Beslenme Testi (BBT) Bulguları	127
5.4. Beyin Dokusunda Nöroinflamasyona İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi	128
5.4.1. Beyin Dokusunda GFAP ve CD36 Düzeyi	128
5.4.2. Beyin Dokusunda Nöroinflamatuvar Sitokinler	132
5.5. Plazmada İnflamasyona İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi	134
5.5.1. Plazmada GFAP ve CD36 Düzeyi	134
5.5.2. Plazmada İnflamatuvar Sitokinler	135
5.6. Karaciğer Dokusunda Histolojik Kimyasal Bulguların Değerlendirilmesi	137
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	142
6.1. Sonuçlar	142

6.2. Öneriler	143
<b>7. KAYNAKLAR</b>	145
<b>8. EKLER</b>	168
EK-1: Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı	
EK-2: Tez Çalışması Orjinallik Raporu	
EK-3: Dijital Makbuz	
<b>9. ÖZGEÇMİŞ</b>	171

## SİMGELER ve KISALTMALAR

<b>AAT</b>	Açık Alan Testi
<b>APP</b>	Amiloid Öncü Proteini
<b>A<math>\beta</math></b>	Amiloid- $\beta$
<b>BBT</b>	Baskılanmış Beslenme Testi
<b>BDNF</b>	Beyin Aracılı Nörotrofik Faktör
<b>CD36</b>	Yağ Asidi Translokaz Proteini
<b>CRP</b>	C-Reaktif Protein
<b>DAMP</b>	Hasar Tanıma Reseptörleri
<b>DIO</b>	Diyet ile İndüklenen Obezite
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik Asit
<b>GFAP</b>	Glial Fibriler Asidik Protein
<b>HFD</b>	Yüksek Yağlı Diyet
<b>HFFD</b>	Yüksek Yağlı Yüksek Fruktozlu Diyet
<b>HFFD-LA</b>	Laurik Asit Eklenmiş Yüksek Yağlı Yüksek Fruktozlu Diyet
<b>HFFD-RSV</b>	Resveratrol Eklenmiş Yüksek Yağlı Yüksek Fruktozlu Diyet
<b>Iba-1</b>	İyonize Kalsiyum Bağlayıcı Adaptör Molekülü 1
<b>IFN</b>	İnterferon
<b>IL</b>	İnterlökin
<b>KBB</b>	Kan Beyin Bariyeri
<b>LCFA</b>	Uzun Zincirli Yağ Asitleri
<b>LCT</b>	Uzun Zincirli Trigliserit
<b>Lp(a)</b>	Lipopotein(a)
<b>MCFA</b>	Orta Zincirli Yağ Asitleri
<b>MCP-1</b>	Monosit Kemoatraktan Protein-1
<b>MCT</b>	Orta Zincirli Trigliserit
<b>mRNA</b>	Mesajcı Ribonükleik Asit
<b>MSS</b>	Merkezi Sinir Sistemi
<b>MUFA</b>	Tekli Doymamış Yağ Asitleri
<b>NF-<math>\kappa</math>B</b>	Nükleer Faktör $\kappa$ -B
<b>NO</b>	Nitrik Oksit
<b>oxLDL</b>	Okside Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

<b>PAMP</b>	Pattern Tanıma Reseptörleri
<b>PUFA</b>	Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
<b>ROS</b>	Reaktif Oksijen Türleri
<b>SFA</b>	Doymuş Yağ Asitleri
<b>SIRT1</b>	Sirtuin 1
<b>TAG</b>	Trigliserit
<b>TLR</b>	Toll-benzeri Reseptör
<b>TNF</b>	Tümör Nekrosis Faktör
<b>VCO</b>	Natürel Sızma Hindistan Cevizi Yağı
<b>YNTT</b>	Yeni Nesne Tanıma Testi

## ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Laurik asitin olası metabolizması.	22
2.2. Resveratrolün olası metabolizması.	28
3.1. Çalışmanın düzeni.	43
3.2. Diyetin enerjisinin makro besin ögelerine göre oranları.	45
3.2. Günlük müdahalelerin zamanı.	47
3.3. Farelerin açık alan testi (AAT) görüntüleri.	48
3.4. Farelerin yeni nesne tanıma testi (YNTT) görüntüleri.	49
3.5. Farelerin baskılanmış beslenme testi (BBT) görüntüleri.	49
4.1. Farelerin yem tüketimlerinin çalışma süresince değişimleri.	64
4.2. Farelerin su tüketimlerinin çalışma süresince değişimleri.	66
4.3. Farelerin enerji alımlarının çalışma süresince değişimleri.	67
4.4. Diyetle alınan enerjinin makro besin ögelerine göre oranlarının ortalaması.	68
4.5. Farelerin yem ve su tüketimlerinin toplam enerji alımına katkı oranlarının ortalaması.	71
4.6. Farelerin yem ve su tüketimlerinin toplam karbonhidrat alımına katkı oranlarının ortalaması.	71
4.7. Farelerin vücut ağırlığının çalışma süresince değişimleri.	72
4.8. Toplam vücut ağırlığı artışının değerlerinin ortalaması.	75
4.9. Yaş ağırlık vücut kompozisyonları dağılımları.	78
4.10. Açık alan testinin dışkılama sayılarının ortalaması.	79
4.11. Açık alan testinin hareketli ve hareketsiz geçirilen zamanların ortalaması.	80
4.12. Açık alan testinin hareketsiz epizotlarının ortalaması.	81
4.13. Açık alan testinin merkez alana, kenar alana ve köşe alanlara giriş sayılarının ortalaması.	82
4.14. Açık alan testinde her diyet grubundaki hareketin iz görüntüleri ve ısı haritalarının ortalamaları.	83
4.15. Açık alan testinin merkezden ayrılma sürelerinin ortalaması.	84
4.16. Açık alan testinin toplam gezilen mesafelerin ortalaması.	85
4.17. Açık alan testinin lokomotor aktivite değerlerinin ortalaması.	86
4.18. Yeni nesne tanıma testinin dışkılama sayılarının ortalaması.	87
4.19. Yeni nesne tanıma testinin diskriminasyon oranlarının ortalaması.	88
4.20. Yeni nesne tanıma testinde kısa süreli test aşamasında her diyet grubundaki hareketin temsili iz görüntüleri.	89



4.21. Yeni nesne tanıma testinde uzun süreli test aşamasında her diyet grubundaki hareketin temsili iz görüntüleri.	89
4.22. Baskılanmış beslenme testinden önceki ağırlıkların ortalaması.	90
4.23. Baskılanmış beslenme testinden sonraki ağırlıkların ortalaması.	91
4.24. Baskılanmış beslenme testinin ağırlık kayıplarının ortalaması.	92
4.25. Baskılanmış beslenme testinin su tüketim değerlerinin ortalaması.	93
4.26. Baskılanmış beslenme testinin besine yaklaşma ve yeme latansı değerlerinin ortalaması.	94
4.27. Beyin GFAP konsantrasyonlarının gruplara göre ortalaması.	95
4.28. Beyin CD36 konsantrasyonlarının gruplara göre ortalaması.	96
4.29. Beyin nöroinflamatuvar belirteçlerin konsantrasyonlarının gruplara göre ortalaması.	98
4.30. Beyin dokusunda qRT-PCR rölatif TNF- $\alpha$ mRNA ekspresyonlarının gruplara göre ortalaması.	99
4.31. Beyin dokusunda qRT-PCR rölatif IL-6 mRNA ekspresyonlarının gruplara göre ortalaması.	100
4.32. Beyin dokusunda IL-6 immunoreaktivitesine ait kesit görüntüleri.	101
4.33. Plazma GFAP konsantrasyonlarının gruplara göre ortalaması.	102
4.34. Plazma CD36 konsantrasyonlarının gruplara göre ortalaması..	104
4.35. Plazma inflamatuvar belirteçlerin konsantrasyonlarının gruplara göre ortalaması.	105
4.36. Karaciğer dokusunda hematoksilen-eozin boyamaya ait kesit görüntüleri.	108

## TABLOLAR

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
<b>3.1.</b> Diyet müdahalesi sırasında farelerin yem, su ve gavaj içerikleri.	44
<b>3.2.</b> Kullanılan primerlerin özellikleri.	59
<b>4.1.</b> Farelerin diyet gruplarına göre yem ve su tüketimi, enerji ve besin ögesi alımları.	65
<b>4.2.</b> Farelerin diyet gruplarına göre vücut ağırlığı değişimleri.	74
<b>4.3.</b> Farelerin diyet gruplarına göre antropometrik ölçümleri.	75
<b>4.4.</b> Farelerin diyet gruplarına göre müdahalesi sonrası organ ağırlıkları.	77
<b>4.5.</b> Farelerin diyet gruplarına göre vücut kompozisyonları.	78
<b>4.6.</b> Farelerin diyet gruplarına göre açık alan testi ölçümleri.	80
<b>4.7.</b> Farelerin diyet gruplarına göre yeni nesne tanıma testi diskriminasyon oranları.	88
<b>4.8.</b> Farelerin diyet gruplarına göre baskılanmış beslenme testi ölçümleri.	90
<b>4.9.</b> Beyinde nöroinflamasyon ile ilişkili parametrelerin diyet gruplarına göre ortalama değerleri.	95
<b>4.10.</b> Beyinde nöroinflamatuvar belirteçlerin konsantrasyonlarının diyet gruplarına göre ortalama değerleri.	98
<b>4.11.</b> Beyin dokusu IL-6 immunoreaktivitesinin diyet gruplarına göre ortalama değerleri.	101
<b>4.12.</b> Plazmada inflamasyon ile ilişkili parametrelerin diyet gruplarına göre ortalama değerleri.	103
<b>4.13.</b> Plazmada inflamatuvar belirteçlerin diyet gruplarına göre ortalama değerleri.	106
<b>4.14.</b> Diyet gruplarına ait hepatosit dejenerasyonu, mikroveziküler steatozis, lobüler ve portal alan inflamatuvar hücre infiltrasyonuna değerleri.	109
<b>4.15.</b> Farelerin plazma ve beyin GFAP ve CD36 düzeyleri arasındaki korelasyon.	110
<b>4.16.</b> Farelerin plazma ve beyin GFAP ve CD36 düzeyleri ile antropometrik ölçümler ve vücut kompozisyonu arasındaki korelasyon.	111
<b>4.17.</b> Farelerin plazma ve beyin GFAP ve CD36 düzeyleri ile plazma inflamatuvar belirteçler arasındaki korelasyon.	112
<b>4.18.</b> Farelerin plazma ve beyin GFAP ve CD36 düzeyleri ile beyin inflamatuvar belirteçler arasındaki korelasyon.	113
<b>4.19.</b> Farelerin plazma ve beyin GFAP ve CD36 düzeyleri ile davranış testleri parametreleri arasındaki korelasyon.	114

## 1. GİRİŞ

### 1.1. Kuramsal Yaklaşımlar

Nörodejeneratif hastalıklar dünya genelinde milyonlarca insanı etkilemektedir (1, 2). Alzheimer hastalığı en yaygın nörodejeneratif hastalıklardan biridir (3) ve Amerikan Sağlık Enstitüsü (NIH) verilerine göre Amerika Birleşik Devletleri'nde bu hastalığa sahip 6,2 milyon insan bulunmaktadır (2). Türk Nöroloji Derneği'ne göre Türkiye'de yaklaşık 300.000 Alzheimer hastası bulunmaktadır (4). Alzheimer hastalığı geri döndürülemez nörodejeneratif bir hastalıktır ve dünya genelinde demans vakalarının %60-70'ini oluşturmaktadır (1). Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre demans ile yaşayan insan sayısı 55 milyondur (5). Yaşlı nüfusun artışıyla gelecekte nörodejeneratif hastalıkların artacağı öngörülmektedir (4).

Nörodejeneratif hastalıklar, merkezi sinir sistemi veya periferik sinir sisteminin yapısı ve fonksiyonunda ilerleyen dejenerasyonla karakterizedir (3). Nörodejeneratif hastalıkların yaygın histopatolojik özelliği nöron kaybı ve hastalığa özgü proteinlerin birikimidir (6). Nöroloji alanında nöroinflamasyonun önemi her geçen gün artmaktadır ve nörodejeneratif hastalıklar gibi inflamatuvar olmayan hastalıkların patolojisinde de tanımlanmaktadır (7). Şiddetli ve uzun süren nöroinflamasyonun beyin dokusunda oluşturabileceği hasarların aydınlatılması ve mekanizmaların keşfedilmesi nöroinflamasyon ile ilişkili hastalıkların önlenmesi için gereklidir (8).

Nörodejeneratif hastalıklarda demansın en büyük nedeninin Alzheimer hastalığı olması nedeniyle de bu hastalık sıklıkla incelenmektedir (6). Alzheimer hastalığının tedavisi günümüzde çoğunlukla semptomlarını hafifleten inhibitörleri içermektedir ve yoğun miktarda yapılan araştırmalara rağmen önleyici veya tedavi edici bir ilaç yoktur (9, 10). Bütün bu gerçekler günümüzde Alzheimer hastalığının önlenmesi ve tedavisi için alternatif stratejilerin araştırılmasına yol açmıştır (9). İlgili çalışmalar nörodejeneratif hastalıklara karşı beslenme müdahaleleri üzerinde yoğunlaşmaktadır (6, 10, 11). Beslenmenin nörodejeneratif hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde önemli bir müdahale olduğunu gösteren güçlü kanıtlar vardır (6, 10). Bunun yanında bu hastalıkların patolojisinin ilerlemesini engelleyecek nöro-terapötik ajanlar konusunda halen yeterli düzeyde kanıt bulunmamaktadır (6, 9).

Son yüzyılda insan yaşam tarzı ve beslenmesi dramatik bir şekilde değişmiştir, günümüzde yüksek yağlı ve yüksek şekerli diyetlerin tüketimi oldukça yaygındır (12). Klinik öncesi çalışmalarda yüksek yağlı diyet (5, 13) ve yüksek fruktozlu diyet (14, 15) ile nöroinflamasyonun indüklendiği gösterilerek çeşitli sitokinlerin ekspresyonları ve beyinde bulunan glial hücrelerin yüzey reseptörleri sıklıkla incelenmektedir. Son yıllarda yüksek yağlı ve yüksek fruktozlu diyetlerin beraber kullanımını ile insan diyetlerine (ör. batı tarzı diyet, kafeterya diyeti) benzerlik sağlamak hedeflenmektedir (5). Yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyetlerin de nöroinflamasyonu indükleyebileceği gösterilirken (16) nöroinflamasyonla ilişkili kesin bir diyet modeli tanımlanmamıştır. Buna karşın nöroinflamasyonu azalttığı gösterilen diyet polifenolleri arasında resveratrol yer almaktadır (17). Toksisitesi düşük ve tolere edilebilirliği yüksek (18) olan resveratrolün nöroinflamasyon üzerinde etkisi sıklıkla çalışılmış olsa da resveratrol diyetin içerisindeki farklı fonksiyonel besin bileşenleri ile karşılaştırılmamıştır.

Son yıllarda nörodejeneratif hastalıklara karşı koruyuculuğu araştırılan bir diğer besin de hindistan cevizi yağıdır (19-21). Hindistan cevizi yağı hindistan cevizi ağacının (*Cocos nucifera* L.) meyvesinden elde edilmektedir ve geleneksel olarak sağlıklı beslenme, tedavi ve kozmetik alanlarında uzun süredir kullanılmaktadır (9, 22, 23). Diyetle alınan hindistan cevizi yağının anti-bakteriyel, anti-oksidan, kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu, anti-diyabetik, anti-dermatofitik, immünmodulator gibi birçok etkisi bulunmuştur (23, 24). Artan kanıtlar hindistan cevizi yağının besin takviyesi olarak kullanılmasının potansiyel sağlık yararı oluşturabileceği fikrini desteklemektedir (24).

Hindistan cevizi yağının potansiyel sağlık yararları içeriğinde bulunan orta zincirli yağ asitlerine (MCFA) ve özellikle laurik aside dayandırılmaktadır (24, 25). Hindistan cevizi yağının %45-53'ünü oluşturan laurik asidin (9, 26, 27) metabolizmasının aydınlatılması yönünde yürütülen çalışmalar devam etmektedir. Laurik asidin (12:0) orta zincirli yağ asidi veya uzun zincirli yağ asidi (LCFA) olduğu ve metabolizması oldukça fazla çalışmada tartışılmaktadır (9, 28). Laurik asidin anti-inflamatuvar (24, 29) ve pro-inflamatuvar (30, 31) etkileri gösterilirken nöroinflamasyonu azaltabileceği de (29) çalışmalarda gösterilmektedir. Laurik asit ile ilgili çalışmalar sınırlı olmasının yanında mekanizması netleşmemiştir.

Metabolik hastalıkların genellikle immün sistemde bir disregülasyon ile ilişkili olarak ortaya çıktığı immunometabolizma tanımı son 10 yıl içerisinde literatüre girmiştir (32). İmmün hücre aktivasyonunda görevli olabilecek bir molekül olarak cluster of differentiation 36 (CD36) immunometabolizmada dikkat çeken bir molekül olarak değerlendirilmektedir (32). Birçok hücrenin yüzeyinde eksprese edilen CD36 çok geniş bir hücre dışı ligand profiline sahiptir (32) ve inflamatuvar yanıtta görev almaktadır (33). Özellikle aterotrombotik hastalıklarda mekanizmaları araştırılan CD36'nın (33) sinyalizasyonu, son yıllarda nörodejeneratif hastalıklarda (34) ve nöroinflamasyonda (35) araştırılmasına yol açmıştır. CD36 ekspresyonu regülasyonu hücre tiplerine göre (36), fizyolojik duruma (37) ve diyet içeriğine göre (38, 39) değişmektedir. Diyetin içeriğinde bulunan besin öğelerinin CD36 aracılığıyla nöroinflamasyona etkilerinin keşfedilmesi nörodejeneratif hastalıklarda tıbbi beslenme tedavilerine yeni bir bakış açısı getirebilecektir.

Kemirgenlerde davranış ve kognisyonun değerlendirilmesi için kullanılan testler nörodejeneratif hastalıkları inceleyen çalışmaları desteklemektedir (40). Diyet müdahaleleri kemirgenlerde çeşitli davranış ve kognisyon testlerini etkileyerek beslenmenin beyin ve nörodejenerasyona etkisini öne sürmektedir (11). Bu nedenle, son yıllarda bu davranış testlerini kullanan beslenme müdahale çalışmalarının sayıları gittikçe artmaktadır (11). Çalışmalardan elde edilen bulgulara göre davranış testlerinin sonuçları nöroinflamasyon mekanizmaları ile ilişkili olabilmektedir (41, 42).

Nöroinflamatuvar süreçlerin; nöronların sağlıklı, fizyolojik sinaptik iletimden işlev bozukluğuna geçişi modüle ettiği düşünülmektedir. Bu nedenle terapötik müdahalelerin nöroinflamasyonu hedeflemesi gerekmektedir (8). Beslenmenin nörodejeneratif hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde değiştirilebilir bir risk faktörü olması (10, 11) besin öğelerinin nöroinflamasyon mekanizmalarında tanımlanmasının önemini vurgulamaktadır. Özellikle çeşitli besin öğelerinin birlikte araştırıldığı çalışmalar ile farklı hücre tipleri, aktivasyon durumları ve pro ve anti-inflamatuvar moleküllerin dalgalanan dengeleri içerisinde inflamasyonun karmaşık doğasına karşı terapötik bir strateji geliştirilmesini kolaylaştırabilmektedir (8, 43).

## 1.2. Amaç ve Varsayımlar

Son yıllarda nöroloji alanında nöroinflamasyonun önemi giderek daha da açık bir şekilde gözlenebilmektedir. Diyetle yüksek yağ ve fruktoz alımının nöroinflamasyonu indüklediği gösterilirken polifenollerin nöroinflamasyonu azalttığı bildirilmiştir. Nöroinflamasyona etkisi sıkça araştırılan polifenollerden biri olan resveratrolün anti-inflamatuvar etkilerine dair bulgular bulunmaktadır. Buna karşın, nörodejeneratif hastalıklarda araştırılan hindistan cevizi yağının temel yağ asidi olan laurik asidin nöroinflamasyona etkisini inceleyen çalışmalar sınırlıdır, diyetle alımını inceleyen çalışma ise bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı, laurik asit ve resveratrol alımının farelerde yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyetle indüklenen nöroinflamasyon, anksiyete ve öğrenme ile ilişkili bazı davranışlar üzerine etkilerini incelemek ve bu yolda CD36'nın olası rolünü saptamaktır.

## 1.3. Hipotezler

Bu araştırmanın köken aldığı hipotezler aşağıda belirtilmiştir;

- 1- Yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet (HFFD) plazma ve beyin dokusunda glial fibriler asidik protein (GFAP) düzeyini artırır.
- 2- HFFD plazma ve beyin dokusunda pro-inflamatuvar belirteçleri artırır ve anti-inflamatuvar belirteçleri azaltır.
- 3- HFFD plazma ve beyin dokusunda yağ asidi translokaz proteini (CD36) aracılığıyla nöroinflamasyonu indükler.
- 4- HFFD anksiyete, öğrenme ve bellek ile ilişkili bazı davranışları etkiler.
- 5- HFFD'ye laurik asit veya resveratrol ilavesi plazma ve beyin dokusunda GFAP düzeyini azaltır.
- 6- HFFD'ye laurik asit veya resveratrol ilavesi plazma ve beyin dokusunda pro-inflamatuvar belirteçleri azaltır ve anti-inflamatuvar belirteçleri artırır.
- 7- HFFD'ye laurik asit veya resveratrol ilavesi plazma ve beyin dokusunda CD36 aracılığıyla nöroinflamasyonu azaltır.
- 8- HFFD'ye laurik asit veya resveratrol ilavesi anksiyete, öğrenme ve bellek ile ilişkili bazı davranışları iyileştirir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Nörolojik Bozukluklarda Yaygın Bir Tehdit: Nöroinflamasyon

Nörodejeneratif hastalıklar, merkezi sinir sistemi (MSS) veya periferel sinir sisteminin yapısı ve fonksiyonunda ilerleyen dejenerasyonla karakterize heterojen bir grup hastalıktır. En yaygın nörodejeneratif hastalıklardan biri Alzheimer hastalığıdır (3). Alzheimer hastalığından ölümler 2000 yılından 2019 yılına kadar %145 artmıştır (5). Türkiye’de yaklaşık üç yüz bin insanın Alzheimer hastalığına sahip olduğu düşünülmektedir ve bu sayının gelecekte yaşlı nüfusun artışıyla artması öngörülmektedir (4). Alzheimer hastalığı geri döndürülemez nörodejeneratif bir hastalıktır ve dünya genelinde demans vakalarının %60-70’ini oluşturmaktadır (1). Dünya Sağlık Örgütü’nün verilerine göre yedinci önde gelen ölüm nedeni olan demans ile yaşayan insan sayısı 55 milyondur. Yaşlı insanlar arasında engelliliğin ve bağımlılığın başlıca nedenlerinden biri olan demans, yalnızca demansla yaşayan insanlar için değil, aynı zamanda bakım sağlayıcıları, aileleri ve genel olarak toplum için fiziksel, psikolojik, sosyal ve ekonomik etkilere yol açmaktadır (5).

Alzheimer hastalığına sahip hastalarda bellek ve kognitif (bilişsel) fonksiyonun aşamalı olarak kaybı söz konusudur (44). Alzheimer hastalığının beyindeki patolojik özelliği amiloid- $\beta$  ( $A\beta$ ) plakları ve anormal tau düğümüdür (10, 44). Son yıllarda yapılan çalışmalar,  $A\beta$  birikiminin yanında başka patolojik süreçlerin Alzheimer hastalığı patolojisine katkıda bulunduğunu göstermektedir. Diğer bir nörodejeneratif hastalık olan multiple skleroz patofizyolojisi ile Alzheimer hastalarında görülen inflamatuvar belirteçlerin yüksek seviyelerde seyrettiği keşfedilmiştir. Bununla beraber Alzheimer hastalığı ile ilişkili genlerin doğal immün sistem ve inflamasyon ile ilişkisi, nöroinflamasyonun etkinliğine işaret etmektedir (8, 44).

İnflamasyon doğal immün sistemin vücudu korumak ve savunmak için verdiği yanıttır. İnflamasyona yol açan tehditler aseptik (doku hasarı) veya septik (bakteriyel veya viral tehdit) olabilir. Bu tehditlere karşı oluşan inflamasyon, birçok hücre çeşidi ve sinyalizasyon molekülünün mobilizasyonu ve birbiri ile etkileşimi sonucunda ortaya çıkan hem lokal hem de sistemik yanıtlardır. İnflamatuvar yanıtı açan hücreler lökositler ve endotel hücreleridir. Lökositler, mononükleer fagositik sistem (kemik iliği, lenf nodu ve dalak) tarafından üretilen, fagositoz ile antijen üretimi gibi

fonksiyonlarını göstermek için dokuların içine nüfuz edebilen hücrelerdir. Sinyal molekülleri ise nitrik oksit (NO), prostaglandinler, plazmadaki kompleks proteinler, sitokinler gibi küçük moleküllerdir. Hızlı ve kısa süreli olan bu immün yanıt (doğal immün yanıt) adaptif immün yanıtından (T ve B lenfositleri) ayrılmaktadır (8, 45).

Nöroinflamasyon, MSS'nin immün yanıtını tanımlamak için kullanılan bir terimdir ve periferik inflamasyondan özellikle ilgili hücreler (mikroglia ve astrositler) başta olmak üzere farklılık gösterir (8, 44). Nörodejeneratif hastalıklarda görülen nöroinflamasyonun birçok kökeni olabilir, bunlar arasında immün sistemin yaşlanması, adipoz doku ve intestinal sistem bozuklukları bulunmaktadır (10, 46). Bazı araştırmacılar nöroinflamasyonun düşük seviyede sistemik inflamasyon ile ilişkili olduğunu bildirmiştir. Sistemik pro-inflamasyon-aracılı moleküller kan-beyin bariyerinde (KBB) bozukluk oluşturarak beyine geçebilmektedir ve kronik nöroinflamasyona katkıda bulunmaktadır (10).

Endotel dokunun çok yüksek derecede özelleşmiş bir formu olan KBB'nin MSS ile periferik immün sistemi birbirinden tamamen ayırdığı önceden düşünülmektedir. Günümüzde ise KBB'nin periferik inflamasyondan türemiş pro-inflamatuvar belirteçlere geçirgen olduğu bilinirken aynı zamanda bu belirteçlerin akışı ve geçişi için uyarıcı görev üstlenerek beyine lökosit migrasyonuna izin verebildiği bilinmektedir (8). Diğer bir ifade ile, periferik inflamasyon KBB, glial hücreler ve nöronları da içeren nöroinflamatuvar bir yanıtı tetikleyebilir (8, 43, 44). Bu nöroinflamatuvar yanıt sinaptik bozulma ve nöron ölümü ile sonuçlanarak beyinde birçok hastalığın patogenezi şiddetlendirebilmektedir (8).

Moleküllerin taşınmasında görevli olan KBB olarak bilinen endotel doku periferik inflamasyonun nasıl uzun süreli ve yıkıcı nöroinflamasyona neden olabileceğini gösteren araştırmaların hedef dokularından biridir. Geçmiş yıllarda inflamatuvar sitokinler ve diğer proteinlerin başlangıçta kandan beyine giremeyecek kadar büyük olduğu düşünülmüş olsa da son yirmi yılda bu sitokinlerin taşınımını sağlayan birçok mekanizma keşfedilmiştir (8). KBB'nin aktif taşıma sistemlerinin, tümör nekrosis faktör (TNF) ve interlökin (IL) gibi sitokinlerin beyine geçişini kolaylaştırdığı gözlemlenmiştir. TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  ve diğer sitokinlerin de KBB'nin bütünlüğü üzerinde olumsuz yönde etkileri olduğu ve bu nedenle KBB'nin daha



geçirgen hale gelmesine ve lökositlerin beyine girişine olanak tanıdığı gösterilmektedir (8).

Enfeksiyon, travma, iskemik ve toksinler gibi çeşitli patolojik tehditlere karşı MSS’de görülen nöroinflamasyon; IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-18 ve TNF gibi pro-inflamatuvar sitokinler, kemokinler, prostaglandinler ve NO gibi küçük molekül mesajcıların ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi ile karakterizedir. Bu süreçte görev alan doğal immün sistem hücreleri mikroglia ve astrositlerdir ancak kapiller endotel hücreleri ile KBB’den gelen kan hücreleri de nöroinflamasyona katkı sağlar (44).

MSS’nin yerleşik makrofajları olan mikroglia hücreleri doğal immün sistemin myeloid kökenli hücreleridir ve nöroinflamasyon sürecinde çok önemli bir rol oynar (8, 44). Farklı regülatör ağlara adaptasyon ve sinaptik gelişimde önemli rolleri sayesinde mikroglia aktivitesinin yaşam boyunca MSS gelişimi, olgunlaşması ve yaşlanmasıyla senkronize olduğu düşünülmektedir. Dallanmış mikroglia hücrelerinin MSS’de adenosin trifosfat gibi hasar sinyallerini sürekli taradığı ve hasar bölgelerinde mikroglial yanıtı gösterdiği görülmektedir. Endojen veya eksojen patolojik tehditler karşısında mikroglia yüzey reseptörleri hasar tanıma reseptörleri (DAMP) ve pattern tanıma reseptörleri (PAMP) patojenleri, hücre yıkımı veya anormal proteinleri (A $\beta$  türleri) tanıyarak mikroglial yanıt oluşturmaktadır (44, 47).

Akut inflamasyondan sitokinlere ve diğer sinyal moleküllerine yanıt olarak mikroglia, dallanmış, aktif olmayan bir durumdan aktif bir fagositik duruma dönüşür ve bu süreçte pro-inflamatuvar belirteçleri serbest bırakır (8, 43). Aktive mikroglia hücreleri patojenleri (endojen veya eksojen) pinositoz, fagositoz veya reseptör aracılı endositoz ile degrade etmeye çalışarak nöroinflamatuvar süreçleri başlatan genleri aktive ederler (43, 44). Bu süreçler immün tehdit elimine edildikten sonra genellikle sona ermektedir ancak yaşlı beyinlerde mikroglia, fonksiyonel bozukluklara sahiptir ve devamlı aktivasyona karşı eğilimlidir (44). Kronik nöroinflamasyonda bu hücreler uzun vadede nörodejenerasyona katkıda bulunan sitokinleri ve nörotoksik molekülleri serbest bırakarak uzun süreler boyunca aktif kalabilirler (8). Bu durum nörodejeneratif hastalıkların patogeneze yol açabilmektedir (8, 44).

Mikrogliaların A $\beta$  türlerini tanımak için kullandığı reseptörler genellikle pattern tanıma reseptörleridir. Toll-benzeri reseptörlerini (TLR) içeren bu grupta aynı zamanda CD36 gibi scavenger reseptörleri de bulunmaktadır. Bu reseptörlerin

moleküler yolakları aktive ederek mikroglialarda fenotip değişikliğine yol açtığı görülmektedir. A $\beta$ 'nin CD36 reseptörü tarafından tanınmasının mikroglia da fagositik değişikliklere aracılık ettiği gözlenmiştir (44).

Astrositler MSS'nin yapı taşı olan özelleşmiş glial hücrelerdir (8, 44). Astrositler, KBB, endotel hücreler ve sinaptik fonksiyonu düzenlemede önemli görevler üstlenir (8, 44). Bunlar serebral kan akışını regüle etmek, sıvı ve nörotransmitter homeostazını korumak, sinaps oluşumunu indüklemek, sinapslar için metabolik ve nörotrofik destek olmaktır. Bunun yanında astrositler glimfatik sistem olarak bilinen MSS'de özel perivasküler kanallar oluşturarak amiloid ve tau ürünleri gibi potansiyel nörotoksik atım ürünlerini elimine ederler (44).

Astrositler mekanik yaralanma, iskemi ve anormal protein agregatları gibi patolojik tehditlere karşı nöroinflamatuvar sürecin bir parçası olan reaktif gliosis ile yanıt verirler (44, 47). Uyarıldığında TNF- $\alpha$  gibi pro-inflamatuvar sinyal moleküllerini serbest bırakırlar (8). Yaygın olarak kullanılan aktive astrosit tanımı hipertrofik süreçler ve GFAP'nin yukarı yönde regülasyonunu içeren aktive edilmiş astrositleri tanımlar ancak, bu hücre popülasyonunda da çeşitlilik gözlenebilir (44, 47). Astrositlerin amiloid plaklara doğru göç ettiği ve onları degrade ettiği çalışmalarda görülürken bazı astrosit fenotiplerinin fazla  $\gamma$ -aminobütirik asit (GABA) ve glutamat üreterek bellekte bozukluğa ve sinaptik kayba yol açabileceği gösterilmektedir. Reaktif astrositlerin erken dönemde oluşan amiloid plakların gelişimine öncü olduğu bile gösterilmektedir. Ek olarak, astrositler mikroglia ile yakın çalışarak hastalık durumlarında mikrogliaların ürettiği toksik etkileri düzenleyebilmektedir (44, 47).

Mikroglia çok daha fazla inflamatuvar sitokin salınımı gösterse de glial yanıt, demansta görülen nörodejenerasyonun gelişiminde daha etkili olabilmektedir. KBB endotel hücreleri, glia hücreleri ve nöronlar arasında dinamik bir iletişim olduğu tespit edilmiştir ve bir hücre tipinden gelen nöroinflamatuvar yanıtın diğerini doğrudan etkilemesi muhtemeldir (8). Nöroinflamasyon çalışmalarının önerdiğine göre mikroglia, astrositler ve nöronlar nörodejenerasyonu desteklemek için senkronize çalışmaktadır. A $\beta$ , astrositlerde nükleer faktör  $\kappa$ -B (NF- $\kappa$ B) yolağını aktive ederek kompleman salınımının artmasına yol açar ki bu da nöronları ve mikrogliaları uyararak nöronal disfonksiyon ve mikroglia aktivasyonuna yol açmaktadır. Buna karşıt olarak aktive olmuş mikroglia nörotoksik astrositlerin sitokin salınımını arttırmaktadır. Bu

hücreler arasında gerçekleşen iletişim, bozulmuş ve kendi kendini büyüten nöroinflamatuvar yanıtı açmaktadır ve nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde görülmektedir (44). Alzheimer hastalığında semptomlar başlamadan önce hiperaktif durumda olan mikrogliaların A $\beta$  plakları çevresinde biriktiği gözlenmiştir (48, 49).

Sitokinler, nöroinflamasyona aracılık eden, artmasına veya azalmasına neden olan hücre sinyal proteinleridir. IL-1 ve TNF gibi pro-inflamatuvar sitokinler, patolojik inflamasyonda ve hastalığın hızlanmasında bütünleyici bir rol oynar (8, 43, 47). Bunun aksine, IL-4 ve IL-10 olmak üzere birçok sitokin de anti-inflamatuvar etkinlik gösterir (8). Bununla birlikte, bir sinyal molekülünün etkileri, MSS içindeki konumuna ve hastalık durumunda farklılık gösterebileceğinden dolayı pro- ve anti-inflamatuvar ayrımlar spesifik sitokinlere atfedilmemelidir (8).

Pro-inflamatuvar sitokinlerin salınımı sinaptik disfonksiyon, nöron hücre ölümü ve nöroenezin inhibisyonuna yol açabilir (43, 44). IL-1 $\beta$  prostaglandin E2 üretimini arttırarak sinaptik kaybı indüklemektedir, TNF ise TNF reseptör 1 aracılığıyla NF- $\kappa$ B yolağı ile nöron hücre ölümüne yol açmaktadır (43, 44). Yüksek TNF- $\alpha$  ise doğrudan kognitif bozulmaya katkıda bulunur (8, 43). IL-4, IL-10, IL-11, IL-1 reseptör antagonistleri gibi anti-inflamatuvar sitokinler de nöroinflamatuvar süreçlerde üretilerek nöroinflamasyonun ilerlemesini önleyen karmaşık mekanizmaların bir parçası olarak yer alabilir (43, 44). Bazal sitokin seviyelerinin faydalı olduğu, ancak konsantrasyonlardaki bir artış veya azalmanın zararlı etkileri olabileceğini düşünülmektedir (8, 43).

Çalışmalar, Alzheimer hastalarının kanlarında, beyin omurilik sıvılarında ve beyinlerinde IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-18, IFN- $\gamma$ , TNF- $\gamma$ , transforme edici büyüme faktörü- $\beta$  olmak üzere birçok pro-inflamatuvar sitokini bildirmektedir (44, 50, 51). Ancak, çalışmaların arasındaki metodolojik farklılıklar ve sistemik inflamasyon tarafından da etkilenen sitokinlerin salınımı nöroinflamasyonda temel olarak görevli olan sitokinlerin belirlenmesini zorlaştırmaktadır (44, 50). Güncel çalışmaların çoğu GFAP başta olmak üzere yeni glial aktivasyon parametreleri üzerinde durmaktadır. Bir meta-analize göre Alzheimer hastalarında bazı glial aktivasyon parametreleri yüksek bulunmuştur (44, 52, 53). Plazma GFAP'nin A $\beta$  patolojisi ile ilişkili erken bir biyogösterge olabileceği A $\beta$ -pozitif hasta grubunda yüksek plazma GFAP seviyeleri ile desteklenmiştir (54).

Sonuç olarak, günümüzde var olan kanıtlara göre nöroinflamasyon, uzun bir sürede nörodejeneratif hastalıklara yol açarak veya bu hastalıkları şiddetlendirerek demans gibi kronik durumların gelişiminin çok erken evresinde merkezi bir rol alabilmektedir (8). Nörodejeneratif hastalıklar söz konusu iken nöroinflamasyon kronik bir süreç olmaya yatkındır ve kendisini çözümlenebilmekte başarısız kalarak hastalıkların hayati bir yöneticisi olmaktadır (43, 44).

Nöroinflamasyon mekanizmalarının karmaşıklığı, farklı yönlerden önleyici ve terapötik yaklaşımların kombinasyonlarının etkili olabileceğini düşündürmektedir (8). Demans ile ilgili araştırmalar kognitif bozukluğun tedavisi ve önlenmesi için farmakolojik müdahalelere yoğunlaşmıştır ancak günümüzde semptomlar üzerinde orta derecede etki gösteren ve hastalık ilerleyişinde etki göstermeyen kolinesteraz inhibitörleri ve memantin kullanılmaktadır. Yaşa bağlı nörodejeneratif hastalıkların başlangıcını önlemek ve aynı zamanda sağlıklı bir bütün olarak geliştirebilecek en temel yaklaşım yeterli ve dengeli beslenmedir (11).

## 2.2. Nöroinflamasyon ve Beslenme

Enerji kısıtlaması, aralıklı açlık, makro besin öğelerinin modülasyonu gibi beslenme müdahalelerinin insan ömrünü ve sağlığını iyileştirdiği gösterilmekle birlikte (11) sağlıklı beslenmenin nörodejeneratif hastalıklar için önemli bir müdahale olduğunu gösteren güçlü kanıtlar vardır (10). Nörodejeneratif hastalıkların önlenmesinde sağlıklı beslenme stratejilerinin tüm popülasyon için ulaşılabilir olma, reçete edilmiş ilaç tedavilerine göre daha az ekonomik yük ve yan etkiye sahip olma gibi birçok avantajı vardır (11). Tüm bu faktörlere rağmen nörodejeneratif hastalıklarda değerlendirilebilecek beslenme müdahalelerine yönelik kanıta dayalı veriler oldukça sınırlıdır (11).

Kognitif fonksiyon, bellek, duygu durum olmak üzere beyin fonksiyonları ve genel olarak ruh sağlığı üzerinde besin öğelerinin çok önemli rolleri vardır (10). Besin öğelerinin yetersizliği durumlarında beyin fonksiyonlarında bozukluklar ve bu yetersizliğin devamında nöropsikiyatrik bozukluklar gözlenebilir (10). Karbonhidrat ve karbonhidratlar aracılığıyla kan glikozu regülasyonu, protein ve aminoasitleri ve yağ asitleri; öğrenme, bellek vb. birçok beyin fonksiyonu üzerinde düzenleyici fonksiyonlara sahiptir (55). Hastalıkların gelişimini önleyen, geciktiren veya

semptomlarını hafifleten epigenetik özellikler de dahil olmak üzere birçok antioksidan ve/veya anti-inflamatuvar besin ve besin ögesi bulunmaktadır (10, 55). Polifenollerin ve polifenollerden zengin besinlerin de nöronal/glial sinyal yolları, serbest radikallerin süpürülmesi, metallerin şelatlanması, anti-oksidan enzim ve proteinlerin yukarı yönde regüle olması ile ilişkili sinaps plastisitesi ve nöron hasar onarımı gibi beyinde gerçekleşen birçok süreçte aktivite gösterebildikleri bilinmektedir (10).

Beslenme ile ilişkili birçok kronik hastalıkla ilişkisi araştırılan ve beyin sağlığına etkileri incelenen temel diyet türlerinden biri batı tarzı diyetdir (46, 51). Batı tarzı diyeti genellikle batı toplumları için geçerli olan, ultra-işlenmiş yemeye hazır besinlerden oluşan ve basit karbonhidrat, tuz, yağ [özellikle doymuş yağ asitleri (SFA) ve kolesterol] içeriği yüksek bir diyetdir. Bu diyet modeli aynı zamanda tam tahıl, posa, tekli doymamış yağ asitlerinden (MUFA) ve çoklu doymamış yağ asitlerinden (PUFA) özellikle anti-inflamatuvar omega-3,6,9 yağ asitlerinden sınırlıdır (46). Batı tarzı beslenmenin beyinde Alzheimer hastalığının patofizyolojik özelliklerini indükleyebildiği veya arttırabildiği düşünülmektedir. Hayvan ve insan çalışmalarında batı tarzı diyetle beraber kognitif performans, öğrenme ve bellekte bozukluklar gösterilmiştir (46). Batı tarzı diyetler nöroinflamasyonu tetikleyerek duygusal ve kognitif davranışı hem insanlarda hem de hayvanlarda bozmaktadır (14).

Batı tarzı beslenmenin veya yüksek yağlı diyetlerin nörodejeneratif hastalıklara yol açma mekanizmaları arasında obezite ve adipoz doku inflamasyonunun yanı sıra gelişebilen metabolik sendrom, mikrobiyom-aracılı inflamasyon, bağırsak-beyin aksının bozulması ve alkolik olmayan karaciğer yağlanması da bulunmaktadır (46, 51). Bütün bu başlıkların çalışmalarda ayrı olarak değerlendirilmesi mekanizmaların netleşmesi açısından önemlidir.

Batı tarzı diyetle indüklenen obezitenin orta düzeyde kognitif bozukluk ve Alzheimer hastalığı gelişimine katkı sağladığı düşünülmektedir (46). Obezite, kognitif bozukluk ve Alzheimer hastalığı gelişimi riskini yetişkinlik ve orta yaş süreçlerinde 6 kat arttırabilmektedir. Obez bireylerde azalmış kortikal ve hipokampal volüm, artmış beyin atrofisi, bellek testleri ve diğer çeşitli kognitif fonksiyon testlerinde azalmış performans gözlenmektedir (46, 56). Obezite ve Alzheimer hastalığı arasındaki moleküler mekanizmalar henüz netleşmemiştir ve güncel çalışmalarda araştırılmaktadır. Obezitede adipoz dokudan salınarak sistemik inflamasyona yol açan

faktörlerden bazıları TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , indüklenebilen nitrik oksit sentaz (iNOS), C-reaktif protein (CRP), hücre içi adhezyon molekülü (ICAM), monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) gibi pro-inflamatuvar sitokinlerdir. Bu kronik inflamatuvar durum birçok immün hücrenin aktivasyonuna yol açabilmektedir (46, 57). Bunun yanında batı tarzı beslenme KBB geçirgenliğinde bozulmaya yol açarak da nörodejeneratif hastalıkların gelişimine yol açabilmektedir (57).

Batı tarzı beslenmenin araştırıldığı çalışmalarda sıklıkla kullanılan yüksek yağlı diyet (HFD) ile farelerde hipokampusta A $\beta$  seviyesi artmıştır, hipokampal nörogenez ile kognitif fonksiyonlar azalmıştır (46). Batı tarzı diyet ile görülen sinaptik plastisitede düşme ve sinaptik plastisitede görevli proteinlerin seviyelerinde azalma fruktozdan zengin diyetle beslenen farelerde de gösterilmiştir (46). Hipokampus fonksiyonlarında görülen önemli değişikliklerden sorumlu tutulan besin öğeleri yağlar ve şekerlerdir (46, 58). Hipokampusa bağlı öğrenme ve belleği test eden davranış testlerinde bozukluklar hem kısa hem de uzun dönem sadece yüksek SFA veya sükroz içeren veya her ikisini de (SFA ve sükroz) içeren diyetler ile gösterilmiştir. Diyetle fazla miktarda doymuş yağ ve basit şeker alımının Alzheimer hastalığı için çevresel bir risk faktörü olduğu bilinmektedir (46, 59).

Nörodejeneratif hastalıklara karşı koruyucu olduğu gösterilen besin öğeleri arasında polifenoller dikkat çekmektedir. Polifenollerin ve diğer fitokimyasalların beyin sağlığı üzerine etkileri her geçen gün gelişmekte olan bir araştırma konusudur (55). Büyük kapsamlı prospektif çalışmalar diyetle toplam veya spesifik polifenol alımını kognitif fonksiyon ile ilişkili bulmuştur (60-62). Polifenollerle kıyaslandığında nörodejeneratif hastalıklarda özellikle Alzheimer hastalığı için terapötik etkileri son yıllarda araştırılan bir diğer besin ise hindistan cevizi yağıdır (27).

Alzheimer hastalığı ile ilgili verilere göre hastalığın asemptomatik aşaması daha uzun süreli olmaktadır. Semptom gelişiminden 10-20 yıl öncesinde Alzheimer hastalığının başladığı düşünülmektedir (46). Dolayısıyla, nörodejeneratif hastalıkların önlenmesinde diyet önemli ve değiştirilebilir bir risk faktörü olarak gündemdedir. Diyet içeriğinin ve besin öğelerinin nörodejeneratif hastalıkların altında yatan nöroinflamasyona etkilerinin tanımlanabilmesi için çalışmalara ihtiyaç vardır.

### 2.2.1. Yağlar ve Yağ Asitleri

#### Yüksek Yağlı Diyet

Batı tarzı beslenme ve beyin sağlığına etkilerini inceleyen hayvan modeli çalışmalarında batı tarzı beslenme bileşenlerinin ve yüzdelerinin tek bir seçeneği yoktur. Diyetler yaygın olarak %35-60 yağ içermekle birlikte yüksek oranda SFA, eklenmiş basit şeker ve kolesterol içermektedir (46). Nöroinflamasyonu indükleyen diyet modelleri arasında HFD, yüksek fruktozlu diyet veya HFFD diyetler sıklıkla incelenmektedir.

Yağ içeriği yüksek diyetler yaşa bağlı kognitif düşüş ve demans gelişimine katkıda bulunmaktadır (17). HFD'nin beyin fonksiyonlarına negatif yöndeki etkisi kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar (ör. ateroskleroz) (17) veya periferel inflamasyon (25) aracılığıyla olsa da beyin dokusuna direk etkisi olduğu da düşünülmektedir. Literatüre göre HFD sadece karaciğer, adipoz doku, iskelet kası gibi periferel organlarda inflamasyon gelişimine yol açmamakta, aynı zamanda nöroinflamasyona da neden olmaktadır (25, 51). Literatürdeki çalışmalar ile HFD alımıyla nöroinflamasyona (63, 64) ve azalan nörogenез ve nöroplastisiteye (17, 64) işaret edilmektedir. HFD ile indüklenen nöroinflamasyon besin alımı ve enerji harcamasını regüle eden belirgin nöron popülasyonu sebebiyle genellikle hipotalamusta sıkça çalışılmıştır (5).

HFD birçok mekanizma ile nöroinflamasyona yol açmaktadır. Perifer kaynaklı pro-inflamatuvar sitokinlerin KBB'yi geçmesi ve devamında nöron fonksiyonu ve hasarı bu mekanizmalardan biridir (51). HFD ile indüklenen nöroinflamasyonda mikroglia hücreleri önemli bir role sahiptir, klinik öncesi çalışmalarda HFD mikroglia aktivitesinde hızlı bir artış ile ilişkili bulunmuştur (13). HFD ile beslenen farelerde hipotalamusta mikroglia sayısında (Iba-1) artış ve astrosit aktivitesinde (GFAP) artış görülmüştür. Mikroglia ve astrosit yanıtlarının diyet tedavisinin süresi boyunca arttığı gözlenmektedir (13).

HFD aktive olmuş mikroglia ile astrosit ile beraber hipokampusa yüksek seviyede pro-inflamatuvar sitokine yol açmaktadır (51). Birçok çalışmada HFD alımı ile hipokampus, neokorteks ve hipotalamusta TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  gibi çeşitli sitokinlerin artan ekspresyonu gösterilmiştir (51, 65). HFD ile beslenen kemirgenlerde

enfarktüs olan beyin hemisferinde (iskemik inme hayvan modeli) yüksek seviyelerde IL-6 ve MCP-1 (63), hipokampusta azalan beyin aracılı nörotrofik faktör (BDNF) (17, 64), hem beyin korteksinde hem de sinaptosomal fraksiyonda inflamatuvar belirteçlerde (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) artış görülmüştür (64). Artan NF- $\kappa$ B sinyalizasyonu ve inflamatuvar belirteçler (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) ile beraber artan glial aktivasyon (astrogliosis ve mikrogliosis) hipokampusta HFD'ye bağlı olarak görülmüştür (5). Bu sitokinler beyinde çeşitli reseptörlere bağlanarak nörodejenerasyon gelişimine sebep olmaktadır (51).

HFD'ye maruziyetin, artmış periferel ve merkezi nöroinflamasyon ile yakından ilişkisi iyice tanımlanmıştır (13). Hayvan modellerinde HFD alımı ile oluşan nöroinflamasyonun vücut ağırlığı artışı ve periferel inflamasyondan önce gelişebileceği düşünülmektedir (13). Kısa-dönem HFD alımı (3, 7, 10 gün) ile hipokampusta artan inflamatuvar sinyalizasyon gösterilmiştir ancak mekanizmalar netleşmemiştir (65). Farelerde kısa-dönem HFD alımı (3 gün) ile hem nöronlar hem de mikroglialar yüksek seviyede inflamatuvar ve apoptotik genleri eksprese etmektedir (65). İnflamatuvar yanıtların periferel dokulara göre beyin bölgesinde HFD'ye bağlı olarak hızlıca gelişebildiği düşünülmektedir (13). Kemirgen çalışmalarına göre HFD'ye maruziyette hipotalamusta nöroinflamasyon her gün indüklenmektedir (13). Bu süreç adipozite ve periferel inflamasyonun artışından önce oluşmaktadır ve bu da hipotalamusta görülen insülin direnci gelişimi için vücut ağırlığı artışının gerekli olmadığını göstermektedir (13). Bütün bu sonuçlara göre HFD'yi takiben hipotalamusta görülen nöroinflamasyon, insülin reseptör fonksiyonunda ve metabolik değişikliklerde hem merkezi hem de periferel bozuklukların temel bir etmenidir (5).

HFD (3 gün) ile indüklenen nöroinflamasyonun davranışta bozukluğa (12) ve kognitif disfonksiyona (66) yol açabileceği gösterilmiştir. İnsan çalışmalarına göre kısa dönem HFD (7 gün, 4 hafta) alımı bile bozulmuş dikkat ve görsel bellek ile ilişkili bulunmuştur (51). HFD (12 hafta) ile beslenen sıçanlarda hipokampusta pro-inflamatuvar sitokinlerde (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) artış ve sükroz testine göre depresyon-benzeri fenotip gözlenmiştir ancak bu değişikliklerin obeziteye bağlı olarak gerçekleşebildiği de görülmektedir (67). Bu nedenle ilgili çalışmalarda obezitenin etkilerinin ayrılması önemli bir yaklaşımdır.



HFD (3 gün, 4 hafta, 8 hafta, 24 hafta) ile nöroinflamasyonun indüklenebileceği gösterilmiştir (12, 25, 51) ancak son yıllarda yapılan çalışmalar diyet yağlarının farklı metabolik etkilerini de gündeme getirmiştir (46). PUFA'dan zengin diyetler kognitif sağlığı geliştirmektedir (17, 51) ancak, kemirgenlere verilen HFD'ler MUFA ve PUFA'yı çok az miktarda içerirken genel olarak yüksek miktarda SFA'yı içermektedir (51). Özellikle SFA'dan zengin HFD'ler pro-inflamatuvar durumu tetiklerken MUFA'dan zengin HFD'ler insülin duyarlılığını arttırabilmektedir (46). Doymamış yağ asitlerinden zengin diyetlere göre SFA'dan zengin diyetlerin daha obezogenik olduğu bildirilmiştir (51). Bunun yanında, SFA'dan zengin diyetler kognitif bozulma ve Alzheimer hastalığı gelişimi ile ilişkili bulunmuştur (51) dolayısıyla, Alzheimer hastalığı gelişimi için bir risk faktörü olduğu düşünülmektedir (65). SFA'dan zengin bir diyet farelerde kısa-dönemde hipokampusta inflamatuvar sinyallerde (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  vb. protein seviyelerinde artış) bir aktivasyona yol açmıştır (65).

Doymuş yağlardan zengin diyetlerin metabolik hastalıklara yol açtığı uzun yıllardır bilinmektedir (51). Doymuş yağ asidi kaynağı farklı olan HFD'lerin (8 hafta) indüklediği inflamasyon değişikliği gösterebilmektedir. Sıçanlara verilen orta seviyede yağlı diyetlerin (%32 enerji yağ) tereyağı alan grupta beyin glial aktivasyon belirteçlerindeki (IL-6 ve nükleer faktör-IL-6) yukarı yönde regülasyon en yüksek seviyede gözlenirken hindistan cevizi yağı alan grupta hipotalmik TNF mRNA seviyelerinde ve hipotalmik Iba-1 mRNA seviyelerinde artış gözlenmiş, GFAP'de değişiklik gözlenmemiştir (25). Farklı yağ kaynağına sahip HFD'lerin inflamatuvar belirteçler üzerindeki farklılıklarının sebebi yağ asitlerine dayandırılmaktadır ve hindistan cevizi yağının temel anti-inflamatuvar bileşeninin laurik asit olduğu düşünülmektedir (25). Malezya'da yetişkin bireylere palm, hindistan cevizi yağı veya sızma zeytinyağı (%30 enerji yağ) ile hazırlanmış diyetler uyguladıktan sonra (5 hafta) plazma TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve IL-8, CRP, IFN- $\gamma$  seviyeleri diyetler arasında farklılık göstermemiştir. Bunun yanında, hindistan cevizi yağı diyeti palm yağı veya zeytinyağından farklı olarak postprandiyal lipoprotein(a) (Lp(a))'yı azaltmıştır. Doymuş LCFA tüketiminin (ör. 18:0 ve 16:0) Lp(a)'yı yükselttiği, hindistan cevizi yağında bulunan kısa zincirli yağ asitleri ve MCFA tüketiminin ise Lp(a)'yı düşürdüğü öne sürülmektedir (68).

Farklı doymuş yağ içeriğine sahip diyetlerin nöroinflamasyon ve mekânsal (spatial) belleğe etkisini inceleyen bir çalışmada erkek sıçanlara verilen HFD, domuz yağı veya hindistan cevizi yağından oluşmaktadır. Domuz yağı ile oluşturulmuş HFD, mekânsal (spatial) bellek testinde düşük performans, hipokampus ve prefrontal korteksteki nöroinflamatuvar belirteçlerde (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B) artış gösterirken, hindistan cevizi yağı ile oluşturulmuş HFD nöroinflamasyona yol açmamıştır. Kısa dönem (3 gün) HFD'ye maruziyet nöroinflamasyon aracılığıyla anksiyete benzeri davranışlara yol açabilmektedir ancak yağın türü önem taşımaktadır (12) ve yağ asitlerinin farklı mekanizmalara etkili olduğu düşünülmektedir.

### **Hindistan Cevizi Yağı**

Nörodejeneratif hastalıkların en yaygını olan Alzheimer hastalığının patogeneğinde glukoz metabolizmasında disregülasyon görülmektedir. Beyin dokusunun temel enerji kaynağı glukoz olsa da ikinci enerji kaynağı keton cisimcikleridir (69). Bu nedenle, daha hızlı keton cisimcikleri üretimine yol açabilecek ketojenik diyetler ve orta zincirli trigliserit (MCT) kaynaklarının etkisi bu hastalıkların tedavisinde araştırılmaktadır. Burada hindistan cevizi yağı yüksek MCT içeriği ile dikkat çekmektedir. Yeterli ve dengeli bir diyetin içerisinde artan keton cisimcikleri seviyelerinin Alzheimer hastalığı ve diğer nörodejeneratif hastalıklarda görülen bozulmuş glikoz metabolizmasına alternatif bir enerji kaynağı sağlayabileceği düşünülmektedir (9, 23). Diyetle alınan hindistan cevizi yağının anti-bakteriyel, anti-oksidan, kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu, anti-diyabetik, anti-dermatofitik, immünmodulatör gibi birçok etkisi bulunmuştur (23, 24). Artan kanıtlar hindistan cevizi yağının besin takviyesi olarak kullanılmasının potansiyel sağlık yararı oluşturabileceği fikrini desteklemektedir (24).

Hindistan cevizi yağı hindistan cevizi ağacının (*Cocos nucifera* L.) meyvesinden elde edilir ve yüzyıllar boyunca geleneksel olarak sağlıklı beslenme, tedavi edici ve kozmetik sebeplerle kullanılmıştır (9, 22, 23). Hindistan cevizi ağacı *Arecaceae* (palm) ailesine ait olmasına rağmen botanik olarak bir sert kabuklu yemiş veya meyve yerine zeytinsi yemiş olarak kabul edilmektedir (22). Hindistan, Sri Lanka, Malezya ve Filipinler gibi özellikle tropik bölgelerde en çok tercih edilen pişirme yağıdır (9, 22, 23). Hindistan cevizi yağı ekstraksiyonundaki kimyasal

uygulamalar oldukça değişkenlik göstermektedir (9, 27). Islak işleme yöntemine göre ekstraksiyon yüksek sıcaklık ( $\leq 60-80^{\circ}\text{C}$ ) ve kimyasallar kullanılarak taze ekstrakte edilmiş hindistan cevizi sütünden elde edilen yağdır (9, 26). Buna karşın geleneksel hindistan cevizi yağı kurutulmuş hindistan cevizinden (dry copra) rafinasyon, ağartma, deodorizasyon kullanılarak elde edilmektedir ve bu süreçlerde rafinasyonda yüksek sıcaklık ve kimyasallar yer almaktadır (9, 23). Hindistan cevizi yağının oksidasyon ve polimeriazasyon reaksiyonlarına dirençli olması pişirme için elverişli olmasına yol açmaktadır ancak, düşük dumanlanma noktası sebebiyle sadece az yağda kızartmada 1 kez kullanılmaya uygundur (22). Hindistan cevizi yağında bulunan polifenoller, tokotrienoller, skualen, tokoferoller, fitosteroller gibi biyolojik aktif bileşenlerinin korunumu için ekstraksiyon yöntemlerinde sıcaklığın kontrolü önemlidir (9, 23, 26).

Islak işleme yöntemleri ile elde edilen natürel sızma hindistan cevizi yağı (VCO) doğal, kimyasal olarak rafine edilmiş ve insanların tüketimi için güvenli bulunmuştur. Pişirme yağı olarak kullanımının dışında VCO aynı zamanda fonksiyonel besin olarak düşünülmektedir (23, 27). VCO'nun yüksek fenolik içeriğine bağlı anti-oksidan özellikleri dikkat çekmektedir (9). Geleneksel yöntemlerle elde edilen hindistan cevizi yağı yüksek miktarda hidrojen peroksitleri bulundurmaktadır (9). Hindistan cevizi yağında bulunan fenolik asitlerin anti-inflamatuvar, anti-hepatosteatotik, anti-oksidan ve kemokoruyucu (sağlıklı hücreleri anti-kanser ilaçlarına karşı koruyucu) etkileri olabileceği gösterilmiştir (26). VCO'nun toplam fenolik içeriği ( $\sim 7-30$  mg gallik asit eşdeğeri/100 g yağ) rafine edilmiş hindistan cevizi yağından ( $\sim 6$  mg gallik asit eşdeğeri/100 g yağ) yüksektir (27). Islak ve kuru işleme yöntemleri hindistan cevizi yağının fenolik bileşik içeriğini büyük ölçüde etkilemektedir (26). Anti-oksidan aktivite gösteren hindistan cevizi yağında ferulik asit, p-kumarik asit, kafeik asit ve kateşin olduğu bildirilmiştir (26, 27).

Hindistan cevizi yağının yağ asit ve trigliserit (TAG) içeriği kendine özgüdür (9, 23). LCFA'dan ( $\geq C14:0$ ) zengin diğer bitkisel yağlardan (palm yağı hariç) ve hayvansal yağdan farklıdır (9, 23). MCFA'nın %60'ından fazlası sn-1 ya da sn-3 pozisyonlarında bulunur. Bu pozisyonları nedeniyle LCFA'ya göre daha hızlı bir emilime uğrarlar. Hindistan cevizi yağı, palm yağından farklı bir TAG kompozisyonuna sahiptir ve bu nedenle metabolizmaları da farklılık gösterir (9). Hindistan cevizi yağında bulunan dominant TAG'ların stereoözgüllüğü C12:0-C12:0-

C12:0, C10:0-C12:0-C12:0, C10:0-C12:0-C14:0 (9, 23, 26) iken palm yağında C12:0-C12:0-C12:0, C14:0-C18:0-C12:0, C18:0-C12:0-C18:0 şeklinde rapor edilmiştir (9). VCO, işlenmemiş hindistan cevizi yağı ve rafine hindistan cevizi yağı yağ asidi profili açısından farklılık göstermiş ve VCO'nun en fazla laurik asit (%48-53) içerdiği bulunmuştur (22, 29).

Hindistan cevizi yağı, MUFA ve PUFA'yı çok az miktarda içererek çoğunlukla SFA'dan oluşmaktadır (>%90) (9, 22, 26, 27). Yağ asit profili %92 SFA, %6 MUFA, %2 PUFA şeklindedir (9, 26, 27). Hindistan cevizi yağı 82,4 g doymuş yağ asidi/100 g içermektedir ve bu oran hayvansal kaynaklı doymuş yağlar olan domuz yağı ve tereyağından yüksektir (22). Hindistan cevizi yağının %45-53'ünü laurik asit oluşturmaktadır (9, 26, 27). Konsantrasyona göre laurik asitten sonra gelen yağ asitleri ise miristik asit (C14:0), palmitik asit (C16:0) ve diğer yağ asitleridir (oleik asit, kaprik asit, kaprilik asit, stearik asit) (9, 26, 27).

Hindistan cevizi yağının MCT içeriği yaklaşık %65 olarak bildirilmektedir (22). Karbon zinciri uzunluğu ve doymamışlık yağ asitlerinin insan vücudunda metabolizmasını belirleyen faktörlerdir (27). Hindistan cevizi yağında bulunan MCT'ler lipaz ile hidrolize uğrayacak MCFA'yı açığa çıkarır (9, 23). MCFA diyet TAG'den lingual lipaz ile kısmen hidroliz olur ve pankreatik lipaz ile ise tamamen sindirilir (27). Bu nedenle MCFA (8,3 kkal/g) LCFA'ya (9,2 kkal/g) göre %10 daha az enerji sağlar (27). Dolayısıyla, hindistan cevizi yağının metabolizması diyetteki diğer yağlardan oldukça farklıdır (27).

Klinik çalışmalara göre emilen MCFA'nın 2/3 ü portal ven aracılığıyla karaciğere gelmektedir, 1/3 ü ise şilomikronlar ile lenfatik sisteme geçmektedir (9, 23, 27). Çoğu zaman C14, C16, C18 yağ asitlerinin neredeyse tamamı şilomikronlara paketlenmektedir. Lenfatik sirkülasyona geçen MCFA'nın konsantrasyonu emilen MCT, diyetin geri kalanı ve diyetin devam süresine göre değişmektedir. LCFA'nın mitokondriyel membranı geçmesi için gerekli olan karnitin, laurik asit de dahil olmak üzere MCFA için gerekli değildir, pasif difüzyon ile mitokondriyel membranı geçerler (9, 23, 27). Karaciğer dokusunda mitokondri içerisinde MCFA keton cisimciklerine metabolize olur ve keton cisimcikleri diğer dokularda (beyin, kalp, kas) enerji elde etmek için kullanılmak üzere sirkülasyona geçer (9, 27). MCT'den elde edilen keton

cisimciği olan D- $\beta$ -3hidroksibüturat ve hindistan cevizi yağında bulunan kaprilik asidin (C8:0) KBB'yi geçtiği gösterilmiştir (27).

Batı toplumunda medya tarafından tüketimi sıklıkla gündeme getirilen ve tüketiminin arttığı gözlenen hindistan cevizi yağının (22) son yıllarda olası sağlık yararları artan düzeyde çalışmada incelenmektedir. Birçok çalışma hindistan cevizi yağı ya da hindistan cevizi yağı türevlerinin kognitif performansı iyileştirebileceğini göstermektedir. Alzheimer hastalarında yapılan bir çalışmada oral VCO (20 g/gün) alımı kognitif performansı pozitif bir şekilde etkilemiştir (19). Hindistan cevizi yağından zenginleştirilmiş (40 mL/gün) Akdeniz diyeti (%15 protein, %55 CHO, %30 yağ) episodik, temporal oryantasyonda ve semantik bellekte iyileşmeler göstermiştir (20). Bir hücre kültürü çalışmasında insan hücrelerine hindistan cevizi yağı muamelesi amiloid öncü proteini (APP) ( $A\beta$  proteinlerinin sekresyonunu sağlayan) ekspresyonunu düşürmüştür ve amiloid peptitlerinin sekresyonunu azaltmıştır (21). Bu bulgular, özellikle Alzheimer hastalığı pozitif aile geçmişiyle sahip kişilerde yaşamın erken evresinde Alzheimer hastalığının başlangıcını geciktirme veya önlemede hindistan cevizi yağının kullanımını araştırmaya yönlendirmektedir (21).

Son yıllarda hindistan cevizi yağının nöroinflamasyona etkisi kemirgenlerde incelemektedir. Hem VCO hem de işlenmemiş hindistan cevizi yağı, rafine hindistan cevizi yağına göre daha iyi bir mitokondriyal sağlık, daha az ROS üretimi, daha düşük düzeyde oksidatif stres ve inflamatuvar gen (IL-6, TNF- $\alpha$ , iNOS) ekspresyonu göstermiştir (29). VCO (5 ml/kg, 2,5 hafta) ile beslenen kemirgenlerde nöroinflamasyondaki azalma IL-10'un yukarı yönde regülasyonu, IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ 'nın aşağı yönde regülasyonu (70), serebral TNF- $\alpha$  ve IL-6 seviyelerinde azalma ile gösterilmiştir (71). Dolayısıyla, VCO ve/veya hindistan cevizi yağının hücrel redoks dengesini koruyarak (29) ve nöroinflamasyonu azaltarak (29, 70, 71) nöral sağlığı koruyabileceği gösterilmektedir.

Kemirgen diyetinde VCO alımı lipopolisakkarit sonrasında bozulan mekânsal (spatial) belleği iyileştirmiştir, malondialdehit, NO, COX-2, iNOS, seviyelerini azaltmıştır (70), anti-kanser ilacı (metotreksat)-indüklü serebral nörotoksisteye karşı koruyuculuk göstermiştir (71). Bu bulgulara karşın yüksek yağlı diyetin (%45 enerji yağ) içerisinde alınan hidrojenize hindistan cevizi yağı, YNTT'ye göre diskriminasyon oranını kontrol grubuna göre azaltmıştır, immünohistokimyasal boyamaya göre  $A\beta$

plak sayısını arttırmıştır, APP protein seviyesi arttırmıştır (72). Kognitif fonksiyonda iyileşmeler davranış testleri sonuçları ile desteklenerek VCO'nun antioksidan enzim aktivitelerinde artış ile oksidatif stresi ve lipit peroksidasyonunu azaltarak bellekte iyileşmelere yol açtığı gösterilmektedir (73). Ancak, hindistan cevizi yağının ekstraksiyon yönteminin metabolizması için oldukça önemli olduğu vurgulanmaktadır (72).

Hindistan cevizi yağının lipit profilini iyileştirmesi (27) veya keton cisimcikleri üretimi (9, 27) aracılığıyla da Alzheimer hastalığı riskini azaltabileceği gösterilmektedir. Hindistan cevizi yağı içeriğindeki MCT ile artan plazma/serum keton cisimcikleri (ör. hidroksibütirat) konsantrasyonunun, Alzheimer hastalığında görülen insülin direncine karşı yararlı olabileceği ve beyin dokusu için alternatif bir enerji kaynağı oluşturabileceği üzerinde durulmaktadır (20). Kognitif fonksiyonda iyileşmeler cinsiyete ve hastalığın şiddetine göre değişebilmektedir (20). Ek olarak, hindistan cevizi yağı tüketiminin hiperlipidemi ve ateroskleroz oluşturabileceğini gösteren deneysel çalışmalar da bulunmaktadır (27). Buna karşın, bazı çalışmalar hindistan cevizi yağı alımı ile lipit profilinde yıkıcı etkiler göstermemiştir (19), ıslak işleme metotları ile elde edilen VCO serum lipit profilinde (total kolesterol, TAG, LDL-kolesterol seviyelerini düşürme ile HDL-kolesterol seviyelerini yükseltme) olumlu yönde etkiler göstermektedir (9). Özellikle yüksek miktarda hindistan cevizi tüketen toplumlarda hiperlipidemi ve kalp hastalıklarının yaygın olmaması da dikkat çekmektedir (27).

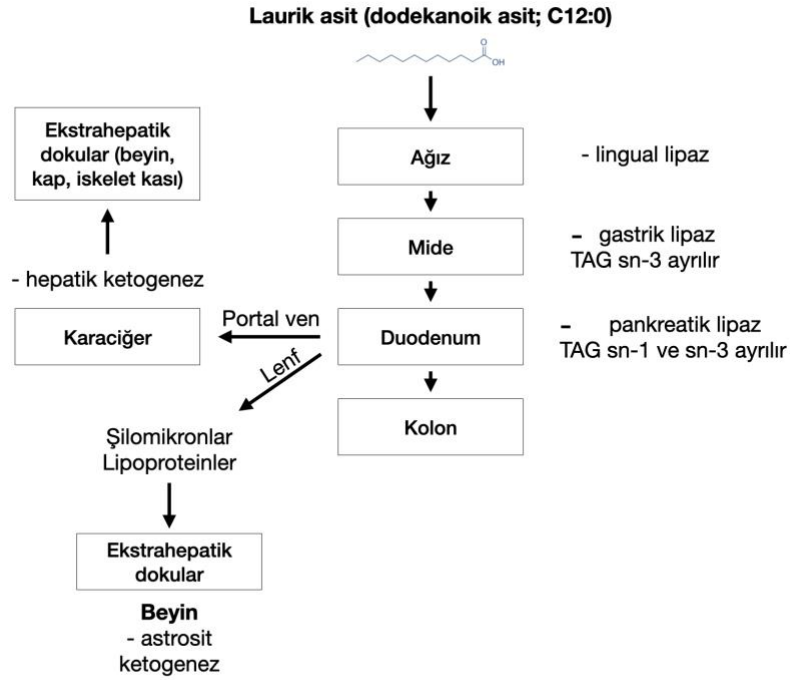
Yüksek doymuş yağ içeriği sebebiyle hindistan cevizi yağının tüketimine şüphe ile yaklaşılmaktadır (26, 27). Birçok sağlık otoritesi düzenli hindistan cevizi yağı tüketimine karşı dikkat edilmesi gerektiğini vurgulamaktadır (9, 26). Hindistan cevizi yağını içeren çalışmalar incelendiğinde diğer cis formda doymamış yağ kaynakları olan bitkisel yağlara kıyasla TC ve LDL-C'yi arttırdığı gösterilmiştir (74). Bunun yanında, Alzheimer hastalığı için koruyucu olduğu bilinen düşük yağ içeriğine sahip diyetler ve Akdeniz diyetine karşı hindistan cevizi yağı tüketimini önermek bazı araştırmacılar tarafından kabul görmemektedir (27). Doymuş yağdan zengin diyetin demans ile ilişkili olduğu da gösterilmektedir ancak, hastalıklarla ilişkili gösterilen SFA genellikle LCFA'dır (9). Hindistan cevizi yağında bulunan SFA'nın büyük bir çoğunluğunu ise MCFA oluşturmaktadır (~%60) (9, 27). Bunlar arasında kaprilik asit

(C8:0), kaprik asit (C10:0), laurik asit (C12:0) bulunmaktadır (9, 22). Dolayısıyla hindistan cevizi yağı, içeriğinde potansiyel sağlık yararı olduğu gösterilen MCT, MCFA, polifenoller gibi besin ögeleri ve bileşenlerinin sindirim, emilim ve metabolizmadaki etkilerinin araştırılması oldukça önemlidir (27). SFA'ların metabolizmada farklı etkilerinin araştırılması gerekmektedir (9).

### **Laurik Asit**

Hindistan cevizi yağının potansiyel sağlık yararları içeriğinde bulunan MCFA'ya dayandırılmaktadır (24). Bu MCFA, aracılığıyla karaciğerde üretilen keton cisimcikleri ile beraber KBB'yi geçebilmektedir (24). MCFA'ların enerji kaynağı olmasının dışında sinyal molekülü olarak işlev görebildikleri dikkat çekmektedir (24), ancak MSS fonksiyonları üzerindeki etkileri anlaşılmamıştır (24, 27). Hindistan cevizi yağının %45-53'ünü oluşturan laurik asidin (9, 26, 27) metabolizmasının aydınlatılması üzerinde çalışmalar devam etmektedir.

Laurik asidin (12:0) MCFA veya LCFA olup olmadığı ve metabolizması oldukça fazla çalışmada tartışılmaktadır (9, 28). Laurik asit düşük çözünürlüğü ve intestinal emilimi sebebiyle daha çok LCFA gibi davranmaktadır ve yaklaşık %70'i şilomikronlar ile sirkülasyona katılmaktadır (22). Buna karşın, laurik asit MCFA özellikleri göstermemesine rağmen sindirim ve metabolizması palmitik asit gibi LCFA yerine kaprik asit gibi MCFA'ya benzediği düşünülmektedir (9). Portal ven aracılığıyla yağ asitlerinin taşınmasını inceleyen bir çalışmaya (hayvan) göre laurik asidin %72'si, miristik asidin %58'i, palmitik asidin %41'i ve stearik asidin %28'i lenfatik yolağı atlamaktadır (75). Laurik asidin MCT metabolizmasını takip ederek lenfatik sistemi bypass etmeye eğilim gösterdiği ve yağ asitlerinin portal ven geçişine katıldığı (23), zincir uzunluğu >12C olan yağ asitlerinin lenfatik sisteme girme eğiliminin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (75). Bir hayvan çalışmasına göre sirkülasyonda laurik asidin palmitik aside göre daha hızlı metabolize olduğu gösterilmiştir (76). Laurik asidin olası metabolizması Şekil 2.1.'de verilmiştir.



**Şekil 2.1.** Laurik asitin olası metabolizması.

Laurik asit ve nöroinflamasyon ile ilgili çalışmalar kısıtlıdır, hücre kültürü çalışmaları yapılmıştır. Laurik asit doza bağlı etkinlik göstererek IC50 dozunda hem oksidatif stres genlerini hem de inflamatuvar genleri (IL-6, TNF- $\alpha$ , iNOS) aşağı yönde regüle etmiştir. Bu sonuçlar laurik asidin nöroinflamasyonu inhibe ettiğini ve yeterli anti-oksidan etki göstererek hücreleri koruduğunu göstermektedir (29). Laurik asidin lipopolisakkarit ile aktive olmuş mikroglia hücrelerinde NO üretimini azaltarak, ROS seviyelerini hafifleterek ve lipopolisakkarit ile indüklenen pro-inflamatuvar sitokinlerden IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 üretimini azaltarak nöroinflamasyonu azalttığı gösterilmektedir (24). Nöroinflamasyonu azalmasının keton cisimcikleri üretimi ile ilişkili olmadığı ve mikroglialarda fagositik aktiviteyi bir yağ asidi reseptörü (GPR40) aracılığıyla arttırdığı gösterilmektedir (24). *In vitro* çalışmalarda anti-oksidan etkinliği gösterilen laurik asidin (77) hem hücresel redoks durumunu regüle ederek hem de transkripsiyonel düzeyde sitokin ve inflamatuvar yanıtı etki ederek nöroinflamasyonu azaltabileceği gösterilmektedir (29). Başka bir hücre kültürü çalışmasında, A $\beta$  ile mikroglia hücrelerinde artan fagositozun laurik asit ile tamamen bloke edildiği gösterilerek laurik asidin bu etkilerinin Alzheimer hastalarında nöronlara karşı koruyucu olabileceği önerilmektedir (24).



Diyetle hindistan cevizi yağı alımı laurik asit gibi yağ asitleri içeriği nedeniyle kanda yüksek seviyede SFA'ya yol açmaktadır (24). Plazmada yüksek seviyelerde bulunan SFA'nın reaktif gliosis ve beyinde inflamasyona neden olabileceği ve nörolojik bozuklukların gelişimine katkıda bulunabileceği gösterilmektedir (30). Palmitik asit ve stearik asidin mikrogliya aktivasyonuna yol açtığı gösterilmiştir (78). Astrositlerin laurik asit ve stearik asit gibi SFA ile uyarılması sonucunda TNF- $\alpha$  ve IL-6 seviyelerinde artışlar gösterilmiştir ve bu bulgular palmitik asit bulgularıyla benzerdir (30). Laurik asit makrofaj kültürlerinde inflamasyonu indüklemiştir (31). Bir hücre kültürü çalışmasına göre T hücrelerinin laurik asit ile muamelesinden sonra Th1'den patojenik bir tip olan Th17'ye hücre farklılaşması gerçekleşmiştir ancak bu çalışmada bu farklılaşmaya etki eden bir diğer faktör ise NaCl'dür. Hücre kültüründe bulunan sitokin seviyelerinin de ölçüldüğü bu çalışmada laurik asidin NaCl muamelesine ilave edilmesi pro-inflamatuvar bir sitokin olan IL-17 ekspresyonunu arttırıcı etki göstermiştir, IFN- $\gamma$ 'yı ise hem laurik asit tek başına hem de NaCl ile birlikte arttırmıştır (79).

Çalışmalar SFA'nın MSS üzerinde TLR aktivasyonuna sebep olduğunu göstermektedir (78). Hücrelerin ve dokuların SFA'ya yanıtlarının TLR4, TLR2, TLR1 veya TLR6 ekspresyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir. TLR'ler aracılığıyla indüklenen inflamatuvar yanıtlar diyet yağ asitlerine göre modüle edilmektedir (80, 81). Laurik asidin TLR4 aracılığıyla inflamatuvar yanıtı tetiklediği (82) ve bu inflamatuvar yanıtı lipopolisakkarit benzeri bir şekilde modüle ettiği gösterilmiştir (82, 83). Bir hücre çalışmasına göre sodyum lauratın pattern tanıma reseptörleri (PAMPs) sinyal yollarını aktive ettiği ve pro-inflamatuvar yanıtı TLR4 ile aktive ettiği gösterilmiştir (84). Yine bir hücre kültürü çalışmasında (makrofajlar) laurik asidin TLR2 ve TLR4'ü aktive ettiği gösterilmiştir (80).

Laurik asit ile gerçekleşen TLR4 aktivasyonu için CD14 ve MD2 moleküllerinin gerekli olduğu gösterilmiştir (CD14-TLR4-MD2). Bu bulgular, SFA'nın CD14-TLR4-MD2 kompleksi ile tanınarak inflamatuvar yanıtı başlatabileceğini göstermektedir (82). Laurik asidin potansiyel etkilerinden birinin lipit raftlarını değiştirmesi olabileceği düşünülmektedir (24). Laurik asidin TLR4'ün lipit raftlarına dimerizasyonu ve toplanmasını indüklediği ancak lipit raft olmayan fraksiyonlarda dimerizasyonun gözlenmediği gösterilmiştir (85). TLR4

dimerizasyonunun NADPh oksidaz bağımlı ROS üretimi ile modüle ediliyor olabileceği gösterilerek, yağ asitlerinin TLR-aracılı sinyal yollarını ve devamında gelen inflamatuvar yanıtta aracılık etmesine yeni bir mekanizma sunulmaktadır (85).

SFA'nın inflamasyona yol açma mekanizmalarını inceleyen bir hücre kültürü çalışmasında nöronların laurik asit ile inkübasyonu sonunda TNF- $\alpha$ 'da yukarı yönde regülasyon gözükmemesine rağmen IL-6 aşağı yönde regüle olmuştur (86). Bu sonuçlara göre SFA'ların inflamasyonu aynı şekilde indüklemeyebileceği düşünülmektedir (86). Özellikle SFA'nın gösterdiği pro-inflamatuvar etkiler zincir uzunluğuna bağlı olabilirken daha çok hücre içi nöronal metabolizmasına bağlı olabileceği bildirilmektedir (86). Yağ asitlerinin karbon zincir uzunluğunun metabolik olarak önemi vurgulanmaktadır, özellikle zincir uzunluğunun 12'den 14'e çıkması değişim basamağı olarak kabul edilmektedir (29). Doymuş MCFA olan laurik asidin doymuş LCFA olan palmitik aside göre  $\beta$ -oksidasyona eğiliminin daha yüksek gösterilmiştir (86, 87).  $\beta$ -oksidasyona daha yatkın yağ asitlerinin lipotoksisiteye yol açma ve pro-inflamatuvar sitokinleri eksprese etme olasılığının daha düşük olabileceği düşünülmektedir (86).

Karbon zincir uzunluğunun (29, 51, 86) yanında doymamışlık derecesi ve çift bağların pozisyonunun konfigürasyonu yağ asitlerinin metabolizmasını belirlemektedir (51). Yağ asitlerinin modüle ettiği sinyal yolları ve ekspresyonlarını değiştirdiği hedef genleri farklılık göstermektedir. Diyetteki yağ kaynaklarının kronik ve akut inflamatuvar hastalıkların gelişimini nasıl modifiye ettiğini öğrenebilmek için yağ asitlerinin sinyal yollarının tanımlanması gerekmektedir (88). Son yıllarda bulunan kanıtlara göre birçok yağ asidi plazma membranının üzerinde lokalize olan GPR'lere direk etki ederek biyolojik aktivitesini modüle etmektedir (24). GPR40/FFAR1'nin laurik asit için plazma membran reseptörü olduğu gösterilmiştir (89). Dolayısıyla, yağ asitleri metabolizmasında CD36 gibi yağ asit translokasyon proteinlerinin incelenmesi gereklidir.

Sonuç olarak, laurik asidin inflamasyona etkileri açıkça anlaşılmamıştır, çalışmalardan elde edilen bulgular çeşitlilik göstermektedir. Çalışmalarda görülen farklı etkilerin sebepleri bilinmemektedir ve yağ asitlerinin sinyal yolları detaylı olarak incelenmelidir. Laurik asit ve nöroinflamasyon ile ilgili çalışmaların sınırlı

olması ve *in vivo* çalışmaların bulunmaması bu çalışmanın özgün yanını ortaya koymaktadır.

### 2.2.2. Fruktoz

Son iki yüzyılda şiddetli bir şekilde artan fruktoz tüketiminin sebebinin, endüstriyel besinler ve içeceklerle sükröz ve yüksek fruktozlu mısır şurubu tüketiminin artması olduğu düşünülmektedir (12, 90). Yüksek miktarda şeker ve fruktoz-eklenmiş içecek tüketimi batı tarzı diyetin bir parçası olarak gözlenmektedir (90, 91). Fruktozun diğer besin öğeleri ile fazla enerji alımına yol açarak obezite gelişiminde rol aldığı gösterilmektedir. Bunun yanında yüksek fruktoz tüketiminin hepatik de novo lipogenezi ve VLDL TAG sekresyonu ile intrahepatik yağ konsantrasyonunu arttırdığı gösterilmektedir. Kısa dönemde fruktoz alımının bile metabolik düzensizliklere yol açabileceği düşünülmektedir (90).

Son on yılda fruktoz tüketimin beyin dokusuna etkileri araştırılmaktadır. Uzun süreli ve yüksek miktarda fruktoz tüketiminin kemirgenlerde hipokampal nörogenezde azalmaya, ileri glikasyon son ürünlerinin artışına, reaktif gliosisde artışa ve hipokampusta bozulmuş mitokondriyel aktiviteye yol açtığı gösterilmektedir (90, 92). İlave olarak yüksek fruktozlu diyet hipotalmik astrogliosis ve nöroinflamasyon ile ilişkili bulunmuştur. Tüm bu mekanizmalar nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde gösterilmektedir (90).

Diyetle fruktoz alımının nöroinflamasyonu indükleyebileceği çalışmalarda gösterilmektedir. Kemirgenlere verilen yüksek fruktozlu diyetler sonucunda hipokampusta nöroinflamatuvar yanıt (14, 15), reaktif gliosis ve nöron kaybı (14), hipokampusta yüksek TNF- $\alpha$  (14, 15, 90, 93), IL-1 $\beta$  (14, 15, 93, 94), IL-6 (14, 15, 93, 94), MCP-1 (93), GFAP (90) mRNA veya protein seviyeleri (14), serum/plazmada yüksek IL-1 $\beta$  (93, 95), TNF- $\alpha$  (90, 93, 95, 96), IL-6 (93, 95) seviyeleri, hipotalamus ve hipokampusta artan kompleman ekspresyonu (96), hipokampus dahil beyin dokusunun farklı bölümlerinde artan Iba-1 (15, 93) ve GFAP (14, 15, 93) pozitif hücreler sayıları gözlenmiştir. Bu çalışmalara göre diyetle fruktoz alımı nöroinflamasyonu ve hipokampusta mikroglia aktivasyonunu indüklemektedir (93).

Kemirgenler üzerinde yapılan çalışmalar incelendiğinde şeker içeriği yüksek diyetlerin yaşa bağlı kognitif düşüş ve demans gelişimine katkıda bulunduğu

görülmektedir (17). Diyetle yüksek şeker alımı hipokampusta BDNF'yi azaltarak nörogenez ve nöroplastisiteyi etkilemektedir. Yüksek fruktoz tüketimi hipokampusta nörogenezde azalma ve bozulmuş mekânsal (spatial) bellek ile ilişkili bulunmuştur (17). Kemirgenler üzerinde yapılan çalışmalarda yüksek fruktozlu diyet alımı ile depresyon benzeri davranış artmıştır (96), kognitif fonksiyonu ölçen testte tanıma indeksi azalmıştır (97) ve çeşitli davranış testleri verilerine göre hipokampus-bağımlı mekânsal (spatial) öğrenme ve bellekte bozukluklar görülmüştür (94). Çalışmalardan elde edilen bulgulara göre kronik fruktoz tüketimi ile kognitif bozukluk meydana gelmektedir (94, 97). Fruktoz alımının yüksek enerji alımından bağımsız olarak kognitif bozukluklara yol açtığı gözlenirken (97) altında yatan mekanizmanın nöroinflamasyon olabileceği gösterilmektedir (94). Yüksek fruktoz içeren diyetlerin sistemik inflamasyon ve metabolik sendrom aracılığıyla da nörodejenerasyona ve Alzheimer hastalığına yol açtığı düşünülmektedir (46). Fruktoz tüketiminin azaltılması diyet ile indüklenen nöroinflamasyon ve nörolojik hastalıkların önlenmesinde oldukça önemlidir (90).

### 2.2.3. Polifenoller

Polifenoller birçok bitki çeşidinde bulunan bir grup fitokimyasaldır. Son yıllarda polifenoller hem meyve ve sebzelerin sağlık yararı oluşturan biyoaktif bileşenleri olarak hem de besin takviyesi olarak potansiyel sağlık yararı ile artan düzeyde dikkat çekmektedir (17, 98). Anti-oksidan ve anti-inflamatuar özelliklerinin yanında polifenoller ve polifenollerden zengin besinler nörogenezi arttırabilmektedir (17), kognitif fonksiyon üzerinde olumlu etkiler gösterebilmektedir (17, 98).

Hem insanlar hem de hayvanlarda çilekgil türü meyvelerin kognitif fonksiyonu iyileştirdiği gösterilmiştir. Yaban mersininin nörogenezi arttırdığı, çileğin nörogenezi geliştirdiği gösterilmiştir. Yaban mersini ile beslenen sıçanlarda koordinasyonda artış, mekânsal (spatial) bellekte olumlu gelişmeler görülürken çilek ile beslenen sıçanlarda hipokampus öncü hücrelerin sağ kalımında artış görülmüştür. Üzüm çekirdeği ekstraktının da nörogenezi arttırdığı gösterilmiştir (17). Orta yaşta yetişkinler üzerinde yapılan bir çalışmada toplam polifenol alımı ile kognitif faktörler (dil ve kelime belleği) arasında pozitif yönde bir ilişki bulunmuştur (60).

Çalışmalarda nörojenezi arttıran polifenoller arasında kurkumin (turmerikte bulunan polifenol), resveratrol (17) epigallo kateşin gallat (72, 99) bulunmaktadır. Diyetle kurkumin alımı fruktozlu diyetle indüklenen nöroinflamasyon ve mikroglial aktivasyona karşı koruyucu olarak gösterilmiştir. Kurkumin, fruktozlu diyet ile artan serum ve hipokampus sitokin seviyeleri ve gen ekspresyonlarını, hipokampusta artan GFAP protein miktarını, beyinde artan Iba-1 ve GFAP pozitif hücre sayılarını azaltmıştır (93). Yeşil çayda bulunan epigallo kateşin gallat HFFD ile artan beyin TNF- $\alpha$  mRNA ekspresyonu azaltarak nöroinflamasyonu azaltmış, HFFD ile oluşan bellek kaybını engellenmiştir (99).

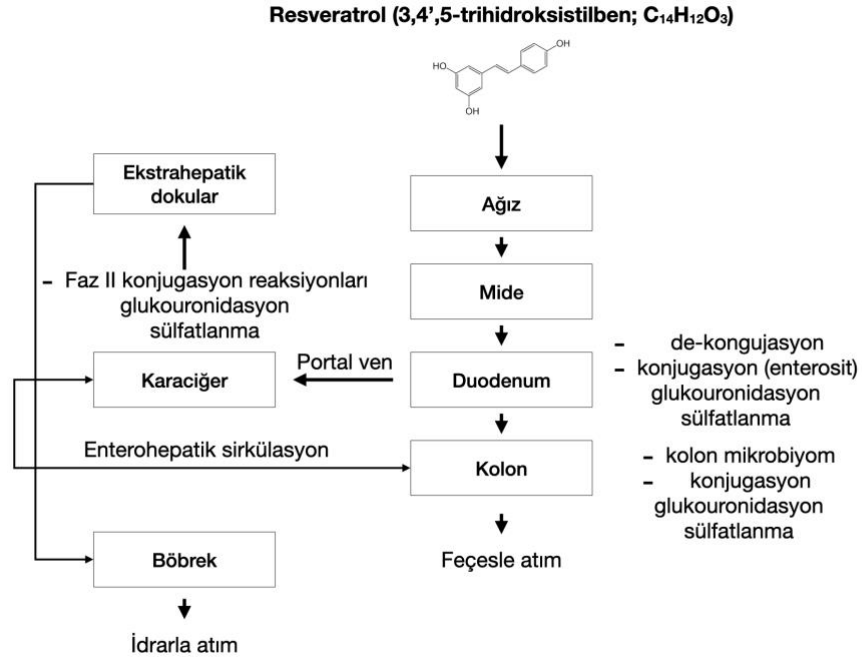
*In vitro* çalışmalara göre polifenollerin lipofilik kısmı KBB'yi geçme potansiyelini belirlemektedir. Polaritesi daha az olan polifenoller (o-metillenmiş türevler) KBB'yi daha kolay geçerken polaritesi yüksek olan polifenoller (sülfatlanmış ve glukuronidatlanmış türevler) daha az geçmektedir. *In vivo* modelleri inceleyen çalışmalarda da polifenollerin KBB'yi geçtiği gözlenmiştir ancak, burada oral ve intravenöz alımlar da önemli farklılıklar oluşturabilmektedir (100-102).

İyi tolere edilen polifenollerden olan resveratrol glikasyon, oksidatif stres, inflamasyon ve nörodejenerasyon, kanser ve yaşlanmaya karşı etkileri sebebiyle çalışmalarda sıklıkla incelenmektedir (103). Nöro-koruyucu etkileri olduğu gösterilen resveratrol, suda çözünebilmektedir ve KBB'yi geçebilmektedir (100). Çalışmalar resveratrolün serbest radikalleri süpürebileceğini, glial aktivasyonu baskılayabileceğini, pro-inflamatuvar faktörlerin üretimini azaltıp anti-inflamatuvar IL-10'u arttırabileceğini göstermektedir (104, 105).

### **Resveratrol**

Resveratrol (3,4',5-trihidroksistilben; C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>), yer fıstığı, ağaç yemişleri, üzüm, kakao, şarap ve çilekgil türü meyvelerde bulunan stilbenler gurubuna ait bir polifenoldür (17, 18, 106, 107). Anti-oksidan, anti-inflamatuvar, anti-apoptotik ve anti-kanser özellikler gösteren resveratrol (108), güney Fransa'da yüksek doymuş yağların tüketimine rağmen kardiyovasküler hastalık insidansının düşük olmasını ifade eden "Fransız paradoksu"nda kırmızı şarap tüketimi ile merkezi bir görev üstlenmektedir (18, 106). KBB'yi geçebilen resveratrol (100, 106), nöro-koruyucu

fonksiyonel besin bileşeni olarak son yıllarda araştırılmaktadır. Resveratrolün olası metabolizması Şekil 2.2.'de verilmiştir.



**Şekil 2.2.** Resveratrolün olası metabolizması.

*Polygonum cuspidatum*'dan elde edilen resveratrolün serbest resveratrole göre biyoyararlanımının daha yüksek olabileceği gösterilmektedir (109). Resveratrol, suda çözünürlüğü ve biyoyararlanımının düşük olması sebebiyle oral emilimi azdır (108, 109). *Polygonum cuspidatum* besin takviyesinde resveratrole ilave olarak bulunan resveratrol glikozidi olan stilben türevi polidatin (3,4,5-trihidroksistilben-3-β-D-glikozit) resveratrolün doğal bir öncüsüdür (110), nöro-koruyucu (110) etkiler ve nöroinflamasyonu azaltıcı etkiler göstermektedir (110, 111). Özellikle kırmızı şarap ve üzüm ürünlerinde aglikon konsantrasyonundan daha çok glikozit konsantrasyonlarının yüksek olması polidatinin resveratrol kadar önemsenmesine yol açmıştır. Günlük 1 doz *Polygonum cuspidatum* alımı ile ratlarda birçok dokuda resveratrol dağılımı gözlenerek idrar ve safra ile atım oldukça azdır (109). Polidatin resveratrole göre daha iyi bir suda çözünürlüğe sahipken (109) intestinal emilimi yüksek olarak bulunmuştur (112). Dokularda birikimi daha az iken yarılanma ömrü resveratrol'den daha uzundur (4 saat) (109). Daha yüksek bir antioksidan kapasite ile daha yüksek biyoyararlılığa sahip olabileceği düşünülmektedir (109, 112). Polidatinin

resveratole göre daha az farmakokinetik sınırlılıklara sahip terapötik bir ajan olarak potansiyeli yüksektir (109).

Beyindeki hücreler yüksek adenozin trifosfat gereksinimi nedeniyle enerji stresine karşı hassastır. Beyin hücrelerinde biyoenerjetiği modüle edebilen doğal bileşenler nöro-koruyucu ajan olarak kullanılabilme potansiyeline sahiptir. Bu kapsamda resveratrol mitokondriyel fonksiyon, redoks biyolojisi ve dinamiklerini birçok hücre çeşidinde modüle etmektedir (106), kemirgenlerde hipokampusta azalan BDNF mRNA miktarını normalize etmiştir (17). İnflamasyona ve NO aracılı oksidatif strese karşı aktif olan resveratrol serebral iskemide nöro-koruyucu etkiler göstermiştir (107). MSS fonksiyonunu da modüle ederek öğrenme ve bellek ile ilgili becerilerde etkisini göstermektedir. Deneysel olarak resveratrol ile indüklenen anti-depresan etki de gösterilmiştir ve hem nöronlar hem de glial hücreler üzerinde olumlu etkiler göstermektedir (106).

Resveratrol sirtuin 1 (SIRT1) aktivasyonu özelliği ile bilinmektedir ve nörogenezi indüklediği gösterilmektedir (17, 108, 113, 114). Sitruinler, histon deasetilasyonu nikotinamin adenin dinükleotide (NAD)'e bağımlı olan histon deasetilazların 3. sınıfıdır. Bu ailede bulunan 7 sitruin vardır ve SIRT1 apoptoz, DNA onarımı, inflamatuvar yanıt, metabolizma, kanser ve stres gibi birçok fizyolojik süreci düzenlemekte kritik role sahiptir. SIRT1'in nöroinflamasyon-ilişkili hastalıklarda koruyucu etkileri gösterilmiştir (114). Nöroinflamasyonla ilişkili bozuklukların tedavisi için SIRT1'in terapötik bir hedef olabileceğini düşünülmektedir (114, 115).

Nöro-koruyucu potansiyeli gösterilen resveratrol Alzheimer hastalığı tedavisini araştıran çalışmalara dahil edilmektedir (108). Hafif ve orta seviyede demansa sahip Alzheimer hastaları üzerinde toz (enkapsüle) formda sentetik resveratrol müdahalesi beyinde volüm kaybında artış (anti-inflamatuvar etki), Alzheimer hastalığı belirteçlerinde azalma, makrofaj-türemiş kemokin (MDC), IL-4 ve fibroblast-büyüme faktörü (FGF)-2'de artış, plazmada matriks metallaproteinaz 10'da artış, IL-12p40, IL-12p70 ve RANTES'de azalma göstermiştir (115). Resveratrol alan hastalarda kognitif performansta iyileşme ve günlük aktivite puanları değişiminde hafiflemeler görülmüştür ancak tau seviyeleri değişmemiştir. Dolayısıyla, resveratrol nöroinflamasyonu modüle ederek kazanılmış bağışıklığı indükleyebilmekte, Alzheimer hastalarında görülen kognitif azalmayı periferal ve

merkezi immün yanıtı koordine ederek yavaşlatabilmektedir (115). Resveratrolün A $\beta$  üretimini azaltan mekanizmaları indüklediği, bunun yanında inflamasyon ve oksidatif stresi azaltarak A $\beta$ 'nin oluşturduğu nörotoksositeye karşı koruyuculuk sağlayabileceği gösterilmektedir (108). Resveratrolün "sızdıran" KBB'yi kapatabilme hipotezi çalışmalarda desteklenmektedir, ancak Alzheimer hastalarında daha büyük kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır (115, 116).

Resveratrol aynı zamanda immün düzenleyici olarak görev görür (117), NO, IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , MCP-1, CRP, IL-12p40 ve IL-23 seviyelerini azaltmak için transkripsiyon faktörlerini modüle etmektedir (117). Mikroglia hücrelerinin anti-inflamatuvar fenotipe polarizasyonunu uyardığı (116, 118), lenfositlerin, matriks metalloproteinazlar ve IL-17A'nın KBB'yi geçmesini önlediği ve KBB bütünlüğünü geri kazandırdığı gösterilmektedir (116). Farelerden elde edilen astrositlerde resveratrol toksisite göstermeden NO üretimini doza bağımlı bir şekilde inhibe etmiştir, lipopolisakkarit sonrasında artan TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, MCP-1 seviyelerini doza bağımlı bir şekilde baskılamıştır (117). Başka bir çalışmaya göre resveratrol fare mikroglia hücrelerindense astrosit hücrelerinde daha güçlü bir TNF- $\alpha$ , IL-6, MCP-1 ve NO baskılayıcıdır, IL-1 $\beta$  üretimini ise mikroglia hücrelerinde baskılayarak astrositlerde baskılamamıştır (119). Resveratrolün pro-inflamatuvar molekülleri etkili bir şekilde baskıladığı ve nöroinflamasyonu azaltabileceği çalışmalarda göstermektedir (117-119). Resveratrolün nöroinflamasyondaki etkileri mikroglia ve astrosit hücrelerinde farklılık gösterebilmektedir (117, 119) ve bu etkilerin bazı mikro RNA'lar aracılığıyla olabileceği gösterilmiştir (118).

Resveratrolün, yüksek fruktozlu diyet veya HFD ile indüklenen nöroinflamasyona karşı koruyuculuğu çalışmalarda incelenmektedir. Resveratrolün bir türevi olan mulberrosit A yüksek fruktozlu diyetle beslenen farelerde indüklenen hipokampal nöroinflamasyonu önlemiştir, yüksek fruktozlu diyetle artan hipokampus TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 mRNA ve protein seviyelerini ve Iba-1, GFAP pozitif hücre sayısını azaltmıştır (15). Yüksek yağlı ve yüksek şekerli bir diyetle ilave olarak verilen resveratrol, yüksek yağlı ve yüksek şekerli diyetle şiddetlenen nöroinflamasyona (oksidatif stres belirteçleri, apoptoz, NF-kB aktivasyonu) karşı koruyuculuk göstermiştir. Yüksek yağlı ve yüksek şekerli diyetle artan serebral korteks Iba-1 pozitif hücre sayısı sayısını ve IL-6 seviyelerini azaltmıştır (120). Maternal dönemde HFD ile



beslenen farelere ek olarak verilen resveratrol, HFD'nin oluşturduğu bellek bozukluklarını iyileştirmiştir, daha iyi kognitif performansa yol açmıştır, IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , MCP-1 gibi pro-inflamatuvar genlerin ekspresyonlarında azalmalar göstermiştir (121). Hayvan çalışmalarında resveratrol pro-inflamatuvar profili değiştirerek (121) ve/veya apoptoz ve nöron kaybını önleyerek kognitif performansta iyileşmelere yol açmaktadır (108).

Hayvanlar için resveratrolün toksisitesinin düşük olduğu ve insanların 5000 mg'a kadar güvenle tüketebileceği bildirilmektedir (18). Çalışmaların kısıtlayıcı faktörüne yol açan ise resveratrolün suda çözünürlüğünün düşük olması ve karaciğerde hızlı metabolizması sebebiyle düşük biyoyararlılığıdır (108). Resveratrolün nöroinflamasyon ile ilişkili mekanizmaları üzerinde çalışılmalar yoğunlaşmaktadır ve bazı temel yolları netleşmiştir ancak oral resveratrol alımı ile ilgili yapılan çalışmalar sınırlıdır.

#### **2.2.4. Besin Ögelerinin Sinerjistik Etkisi**

Beslenme araştırmalarında yeni geliştirilen bir araştırma sorusu ise spesifik besinlerin ya da besin bileşenlerinin diyetin içerisinde veya besin takviyesi olarak alınmasının sinerjistik bir etki yaratıp yaratmayacağıdır (17). Yağ asitleri ve fenolik bileşiklerden oluşan, özellikle bazı yağlı tohumları, kakao, bitkisel yağlar ve yüksek posalı un içeren spesifik olarak formüle edilmiş bir diyet olan LMN diyetini (polifenollerden ve PUFA'dan zengin, La Morella Nuts şirketi tarafından patentli bir diyet) alan farelerde iyileşmiş mekânsal (spatial) bellek gibi beyin fonksiyonuna yararlı etkiler gösterilmektedir (17). Besinlerin tamamının veya biyoaktif bileşenlerinin kombine edilerek tüketilmesi yetişkin nörojenizde iyileşmelere sinerjistik bir etki göstererek terapötik etkiyi arttırabilmektedir (17). Özellikle bazı besin öğelerinin beraber kullanımının hastalık durumunu daha da kötüleştirilebileceği hücre kültüründe öne sürülmektedir. Farklı besin öğeleri belirli hücre tipleri üzerinde birbirinden bağımsız etkiler gösterebilir ancak bu hücrelerin fonksiyonlarını birlikte oluşturacağı bir mekanizma ile etkiler. Bu bulgular birçok hastalık için farklı besin öğelerini (yüksek doymuş yağ, yüksek şeker, yüksek tuz içeriği) yüksek miktarda içeren batı tarzı beslenmenin bir risk faktörü olduğunu göstermektedir (79).

Diyetle indüklenen obezite (DIO) modelleri 1940’lardan beri klinik öncesi çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır (5). Araştırmacılar kemirgenlere lezzet içeriği yüksek sıvı bir diyeti *ad libitum* olarak vererek ağırlık kazanımı ve obeziteyi indüklemek istemiştir (5, 122, 123). Yağ, şeker ve diğer besin öğelerini yüksek seviyede içeren diyetler kemirgenlerde DIO modeli olarak kullanılmaktadır ve bu diyetlere bitkisel katı yağ, hayvansal kaynaklı katı yağ (domuz yağı, sığır donyağı), çikolata, sükröz ve fruktoz eklenmektedir (5, 122, 123). Böylelikle çeşitli insan diyetleri (ör. batı tarzı diyet, kafeterya diyeti) ile kıyaslama yapmayı sağlamaktadır (5). DIO diyetlerin genel olarak arkasında yatan mekanizmalar yüksek enerji içeriğine sahip diyetlerin oluşturduğu hiperfaji, diyetle alınan yüksek yağ alımının vücutta depolanması, pre-diyabetik fenotipin (ör. orta seviyede hiperglisemi, hiperinsülinemi, insülin direnci, glukoz intoleransı) gözlenmesi ve enerji dengesini kontrol eden hormonlarda bozukluklardır (5, 123). Son yıllarda bu diyet modellerinin hipotalamusta IL-1 $\beta$  seviyelerini arttırarak ve IL-10 seviyelerini azaltarak inflamasyona yol açtığı gözlenmiştir (124).

Araştırmacılar, HFD ile beraber ilave stres faktörlerinin de kullanıldığı deney modellerini kullanmaktadır. Bazı araştırmacılar yağ içeriğini, daha yüksek fruktoz konsantrasyonu ile değiştirdiği bir diyet kompozisyonu oluşturmaktadır (51). HFD obezite ve obezite ile ilişkili bozuklukları oluşturmada başarılı olsa da kafeterya diyeti ve yüksek yağlı yüksek şekerli diyetlerin metabolik bozukluk oluşturmada daha etkili olabilecekleri gösterilmektedir (123, 125, 126). Güncel çalışmalar yüksek yağ ve yüksek şekerli birlikte içeren diyetlerin ayrı ayrı yüksek yağlı veya yüksek şekerli diyetlere göre metabolik sendrom gelişiminde daha yüksek bir risk oluşturduğunu göstermektedir (51). Bu yüksek şekerli diyetlerin şeker içeriği fruktoz olduğunda daha yıkıcı metabolik etkiler gözlenmektedir ve HFFD olarak tanımlanmaktadır (51, 123). Fruktoz ilavesinin HFD’nin yıkıcı etkilerini arttırdığı çalışmalarda gösterilmektedir (90). Bir meta-analize göre yüksek yağlı veya yüksek şekerli diyetler mekânsal (spatial) öğrenme ve belleği bozmuştur ancak en büyük etki yüksek yağlı yüksek şekerli diyetlerin birlikte kullanılmasıyla gözlenmiştir (127).

SFA ve basit şekerlerden (mono ve disakkaritler) zengin batı tarzı diyetlerinin obezite, tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalıkların gelişimi ile ilişkisi bilinmektedir ancak, güncel çalışmalara göre öğrenme ve bellek gibi çeşitli kognitif fonksiyonlarda

bozulmalara ve hipokampus bütünlüğünün bozulmasına yol açabileceği gösterilmektedir (94). Kemirgen davranış testlerine göre HFFD; lokomotor aktivitede düşüş, tanıma indeksi, öncelik indeksi, tanıma sayısında düşüş (16) ve bellek kaybı (99) gibi kognitif bozulmalara yol açmıştır. Bu diyetlerin ve içeriğindeki besin öğelerinin kognitif bozulmaya giden mekanizmaları netleşmemiştir (94), nöroinflamasyon yolları araştırılmaktadır. HFFD kemirgenlerde beyin dokusunda Iba-1, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 protein (16) veya mRNA (99) seviyelerini yükselterek nöroinflamasyona yol açabilmektedir dolayısıyla nöroinflamasyonu indükleyen diyet modelleri olarak kullanılabilmesine dikkat çekilmektedir. Henüz nöroinflamasyonu indükleyen belirli bir diyet modeli bulunmamasına rağmen güncel çalışmalarda HFFD sıklıkla araştırılmaktadır.

### 2.3. Nöroinflamasyon ve CD36

Metabolik hastalıkların genellikle immün sistemde bir disregülasyon ile ilişkili olarak ortaya çıktığı immunometabolizma tanımı son 10 yıl içerisinde literatüre girmiştir (32). İmmün hücre aktivasyonunda görevli olabilecek bir molekül olarak CD36 dikkat çekmektedir (32). CD36, B sınıfı süpürücü reseptör ailesinde olan, birçok hücrenin (makrofaj, monosit, dendritik hücre, trombosit, immatür eritrosit, adiposit, miyosit, bazı epitel hücreler, mikrovasküler epitel hücreler) yüzeyinde eksprese edilen glikolize bir reseptördür. CD36 çok geniş bir hücre dışı ligand profiline sahiptir (32). Bu ligandları 3 kategoride listelemek mümkündür; thrombospodin yapısı gösteren proteinler, LCFA, DAMP ve PAMP (32). CD36, oxLDL ve bazı apoptotik hücre yüzeyleri gibi spesifik okside fosfolipit parçalarını da tanıyıp bağlayabilir (32, 82). Bunların yanında, glikolize proteinleri (ileri glikasyon son ürünleri), aktive nötrofillerden salınan pro-inflamatuvar S100 proteinleri, Alzheimer hastalarının beyinlerinde bulunan A $\beta$  proteinlerini de bağlayabilir (32).

Nörobiyoloji alanında CD36 çoğunlukla kronik iskemi ve inmede araştırılmıştır ancak mikrogliyal fagositozda amiloid temizlenmesi ile de ilişkili bulunmuştur (34). Mikroglia hücrelerde de eksprese edilen CD36'nın amiloid peptitlere yanıt olarak inflamazom aktivasyonunda görev alarak nöroinflamasyonu indükleyebileceği, dolayısıyla Alzheimer hastalığı patogenezinde katkıda bulunabileceği gösterilmektedir (36). Mikroglialarda A $\beta$  birikimi CD36

ekspresyonunu arttırarak mikroglia aktivasyonuna neden olur ve CD36 sayesinde biriken A $\beta$  elimine edilir (37). Bu mekanizma nörotoksisiteye karşı koruyucu bir mekanizma olarak görev alabilir (37). Ancak, A $\beta$  klirensinin yeterli olmadığı durumlarda CD36'nın devamlı indüklemesi fazla ROS ve kemokin üretimi ile nörodejenerasyona neden olabilir (37). IL-10'un mikroglial fagositozu regüle ettiği ve CD36'nın IL-10 ile regüle edilen anahtar bir fagositoz molekülü olduğu gösterilmiştir (32). Makrofajların ve mikrogliaların miyelin alımı (nörodejeneratif bozuklukların bir özelliği) için CD36'nın gerekli olduğu ve miyelin alımının CD36 ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Bu nedenle, CD36 multiple skleroz gibi demyelinasyon gösteren hastalıklarda miyelin atığını temizlemek ve nöroinflamasyonu baskılamak için de gerekli olmaktadır (35).

CD36'nın LCFA'ya bağlandığı 1993'de keşfedilmiştir (128). Mikroglial fagositoz, adhezyon ve sinyal transdüksiyonu dışında beyinde CD36 ekspresyonu endotel hücreleri aracılığıyla lipit alımı fonksiyonu da göstermektedir (37). Yağ asitlerinin KBB'den protein-aracılı translokasyonu için görevli birçok yağ asit taşıyıcı proteinlerinden biri de CD36'dır (129). CD36 eksikliği olan farelerde aktivite, anksiyete ve yeni alanların keşfedilmesi ile ilgili davranışlar normal iken öğrenme becerilerinde bozukluklar gözlenmiştir. Bu bulgular beyin lipit metabolizmasına yeni bir bakış açısı sunmaktadır (37).

CD36 çeşitli ligandlar ile indüklenen TLR-bağımlı inflamatuvar yanıtta görev almaktadır (82). Alzheimer hastalığında görülen heterodimer TLR4 ve TLR6 aracılığıyla A $\beta$ 'ların inflamatuvar sinyalizasyonunun CD36 reseptöründen gelen sinyaller ile regüle edildiği gösterilmiştir. Dolayısıyla, A $\beta$ 'nın steril inflamasyonu uyardığı yaygın bir moleküler mekanizma CD36-TLR4-TLR6 aktivasyonudur (130). CD36 monoklonal antikörlerin teraptötik olarak Alzheimer hastalığında kullanımı araştırılmaktadır ancak, Alzheimer hastalığı klinik çalışmalarında CD36'nın değerlendirilmesi için henüz erkendir ve LCFA, CD36 ekspresyonu ve Alzheimer hastalığı gelişimi ile ilgili yeterince bilgi bulunmamaktadır (34).

Glukoz ve yağ asidi metabolizmasında önemli görevleri olan CD36'nın (82) özellikle karaciğer, bağırsak ve makrofajlarda ekspresyonu diyetin içeriğinde bulunan yağ asitlerinin miktarı ve yağ asidi örüntüsünden etkilenmektedir (131, 132). Yüksek yağlı bir diyetten sonra doymuş yağ asitlerinin bağırsak mikrobiyomu üzerinden yol

açtığı metabolik endotoksemi ile oluşabilen oxLDL ve okside fosfolipitler veya plazmada artan SFA, CD36-TLR4-TLR6 inflamatuvar yanıtını indükleyerek aterojenik bir ortam oluşturabilmektedir (82). Çalışmalarda HFD ile beslenen farelerde karaciğer CD36 protein ve/veya mRNA ekspresyonu artmıştır (39, 133, 134), plazma CD36 seviyeleri ve kalp CD36 ekspresyonu artmıştır (39). Ancak, HFD'ye ilave olarak verilen hindistan cevizi yağının ise karaciğerde artan CD36 ekspresyonunu azaltarak yağlı karaciğer gelişimini inhibe ettiği gösterilmektedir (133, 134). Artan CD36 ekspresyonlarının; karaciğerde hepatik lipid birikimi (39, 134), plazmada aterojenite, kalpte yağ asidi alımı (39) genel olarak da kolesterol homeostazı ile plazma lipoprotein profili (39) ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür (39) ancak, CD36'nın dokulara spesifik görevleri incelenmelidir. Diyetin beyin CD36 ekspresyonunu üzerine etkisini inceleyen çalışmalar oldukça sınırlıdır. HFD alımı ile erkek farelerin beyin dokusunda CD36 ekspresyonu azalmıştır, dişi farelerde ise artmıştır (135). Anti-inflamatuvar etkinliği olan bir bitki ekstraktının CD36-bağımlı mekanizma ile mikroglia fagositozunu indükleyerek nöroinflamasyonu azalttığı gösterilmiştir (136).

CD36 ekspresyonunu etkileyen diğer bir diyet faktörü ise fruktozdur. Diyetle yüksek miktarda fruktoz alımı sıçanlarda hem plazma CD36'da artış hem de dilde CD36 ekspresyonunda artış göstermiştir ve metabolik disregülasyon ve obezite ile ilişkili bulunmuştur (38). Yüksek fruktozlu (enerjinin %35 fruktoz) diyetle beslenen farelerde plazma CD36 seviyelerinde artış karaciğer ve kalp dokusunda CD36 ekspresyonunda artış gösterilerek, artan CD36 seviyelerinin aterojenite, karaciğerde lipid birikimi, kalpte yağ asidi alımı ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür (39).

Resveratrol maruziyeti insan over hücrelerinin CD36 ekspresyonunu azaltarak hücre ölümünden korumuştur (137) ve insan makrofaj hücrelerinde CD36 ekspresyonunu arttırmıştır (138). Hayvan çalışmalarında HFD'ye ilave olarak verilen resveratrol plasental CD36 ekspresyonunu arttırmıştır (139), kas dokusunda CD36 ekspresyonunu arttırmıştır (140). Bu bulgular yağ asidi alımı ile ilişkilendirilmiş olsa da (139) artan  $\beta$ -oksidasyon ile resveratrolün lipid birikimine neden olmayacağı ileri sürülmektedir (140).

CD36 üzerinde laurik asidin direk etkisini inceleyen çalışmaya rastlanmamıştır ancak, SFA'nın inflamatuvar sinyal yolları üzerinde etkilerini inceleyen araştırmalar mevcuttur (82, 141). Bir doymuş yağ asidi olan laurik asidin TLR4'ü aktive ederek

inflamatuvar yanıtı tetikleyebileceği gösterilmiştir. HFD ile bozulan mikrobiyom ile fazla üretilen lipopolisakkarit metabolik endotoksemiye ve devamında oksidatif strese yol açmaktadır. Bu durumda oluşan oxLDL ve okside fosfolipidlerin CD36-TLR4-TLR6 inflamatuvar yanıtını tetiklediği gösterilmiştir (82). Palmitik asidin astrositlerde sitokin (TNF- $\alpha$  ve IL-6) salınımına yol açma mekanizması CD36'dan bağımsız olarak gerçekleşmiştir (30).

Sonuç olarak, CD36 ekspresyonu hem transkripsiyonel hem de posttranslasyonel olarak regüle edilmektedir ancak regülasyonu hücre tiplerine göre (36), fizyolojik duruma (37) ve diyet içeriğine göre (38, 39) değişmektedir. Bu çalışmanın hedeflerinden biri diyetin içeriğinde bulunan besin öğelerinin ve fonksiyonel besin bileşenlerinin CD36 aracılığıyla nöroinflamasyona etkilerinin incelenmesi ile nörodejeneratif hastalıklarda tıbbi beslenme tedavilerine yeni bir bakış açısı getirmektir.

#### **2.4. Kemirgenlerde Uygulanan Davranış Testleri ve Beslenme ile İlişkileri**

Kemirgenlere uygulanan davranış testleri anksiyete benzeri davranış, depresyon-benzeri davranış, sosyalleşme, bellek ve daha birçok nörolojik faktörü değerlendirmek için kullanılmaktadır (40) ve nörodejeneratif hastalıkları inceleyen çalışmaları desteklemektedir (40). Bu testler insan belleğinde görülen episodik bellek, tanıma belleği, semantik bellek, mekânsal (spatial) bellek ve duygusal bellek gibi bazı yönleri yansıtmaktadır. İnsanlarda Alzheimer hastalığında episodik ve semantik bellekte kayıplar mekânsal (spatial) ve navigasyonel öğrenme ve bellekte hatalar ile sıklıkla örtüşmektedir. Mekânsal (spatial) öğrenme birçok kognitif ve kavrama süreçlerinin dahil olduğu ve bir yeri veya objeyi idrak etme ve korumayı içeren ve zamanla öğrenilen bellektir. Bu nedenle, mekânsal (spatial) belleği değerlendiren kognitif-davranışsal görevler kemirgen araştırmalarında oldukça önemlidir (11).

Hayvanlara uygulanan davranış testlerinde birçok çalışma özellikle farmakolojik ajanları kullanırken son yıllarda bu testleri beslenme müdahale çalışmalarında inceleyen araştırmaların sayıları gittikçe artmaktadır (11, 142). Diyet müdahaleleri kemirgenlerde çeşitli davranış ve kognisyon testlerini etkileyerek beslenmenin beyin ve nörodejenerasyona etkisini öne sürmektedir. Kemirgenlerde

kognisyonu değerlendirmek için basit, havyanlar arası değişkenliği düşük, tekrarlanabilirliği yüksek olan testleri seçmek önemlidir. Belleği değerlendiren, kognitif-davranışsal görevleri olan, spesifik bir zamanı veya zamana yayılmış değerlendirmeyi içeren, iyi bir şekilde oluşturulmuş birçok test bulunmaktadır (11).

Açık Alan Testi (Open Field Test, AAT) 1934'te geliştirilen hayvan psikolojisinde davranışı ölçen en yaygın kullanılan testtir. Bu testin altında yatan psikolojik ve fizyolojik konseptler doğru ve iyi bir şekilde anlaşılmıştır. Bu testten elde edilen veriler, lokomotor aktivite ile anksiyete-ilişkili duygusal davranış hakkında bilgiler sunmaktadır (143). HFD (41, 144) veya HFFD (144) ile beslenen fareler AAT'de merkezde geçirilen zamanda azalma, merkez alana giriş sayısında azalma ile anksiyete veya depresyon-benzeri davranışlar göstermiştir (144). Buna karşın, yüksek fruktozlu diyet ile farelerin gezdiği mesafe artmış, merkeze girme sayısı değişmemiş ve merkez alanda geçirilen zaman azalmıştır. Diyetle fruktoz alımı lokomotor aktiviteyi arttırmıştır ancak kısa-dönem mekânsal (spatial) bellek, anksiyete ve depresyon-benzeri davranışları etkilememiştir, altında yatan mekanizmaların araştırılması önerilmektedir (145). Maternal diyetle yüksek fruktoz alımı erkek yavrularda AAT'ye göre anksiyete benzeri davranışa yol açmıştır (146). Standart kemirgen diyetine ilave olarak resveratrol alan sıçanlarda AAT'ye göre merkez alanda gezme uzaklığı artmıştır, süslenme (grooming) davranışı ise azalmıştır. Bu sonuçlar resveratrolün anti-anksiyete ajanı olarak rol alabileceğini ve anksiyete benzeri davranışlara karşı koruyucu etki gösterebileceğini desteklemektedir (147). Hipokampus analizleri sonucunda gözlenen inflamatuvar yanıtlardaki farklılıklar HFD'nin depresyon-benzeri davranışlara nöroinflamasyon aracılığıyla neden olabileceğini göstermektedir (41). Artmış nöroinflamasyon ile paralel olarak fareler AAT'de anksiyete-aracılı davranış göstermiştir (42). HFD'nin AAT'ye göre yol açtığı depresyon-benzeri davranışların devamında bellek ve öğrenme yetersizliklerine de yol açabileceği düşünülmektedir (41).

Yeni Nesne Tanıma Testi (Novel Object Recognition Test, YNTT) ise kemirgenlerde sıklıkla kullanılan, öğrenme ve bellek ile ilişkili çeşitli durumları inceleyen bir kognitif davranış testidir. Deney hayvanında görülen yüksek anksiyete/stres seviyeleri, bu testte ölçülen öğrenme ve bellek ile ilişkili verileri etkilemektedir (148). Kemirgenlerde belleği test etmekte bu testin sık tercih

edilmesinin sebebi insanlarda kullanılan benzer testler ile paralellik göstermesidir. YNTT'ye göre primat ya da insanın yeni bir uyarıcıyı bilinen bir uyarıcıya göre keşfetme önceliğine dayanmaktadır. Kemirgenlerin önceden tanıtılan objeye kıyasla yeni bir objeyi keşfetmeye doğal yönelimi kullanılır. YNTT protokolü basit, ucuz ve hızlı olması sebebiyle de yaygın olarak kullanılmaktadır. Deney alanında kısa süreli bir habitasyondan sonra kemirgen aynı olan 2 objeyle tanıştırılır. Belirlenen zamanlardan sonra (1 saat, 2 saat, 24 saat) tanıtılan objelerden biri yeni bir obje ile değiştirilir. Diskriminasyon oranı olarak tanımlanan, kemirgenin yeni objeyi keşfetmek için harcadığı zamanın eski objeyi keşfetmek için harcadığı zaman kıyaslanarak % hesaplaması yapılır (11).

Kemirgenler üzerinde yapılan çalışmalarda HFD (122), yüksek fruktozlu diyet (97) ve HFFD (122, 149) YNTT'ye göre tanıma indeksini azaltarak kognitif performansta azalma, episodik-benzeri bellek oluşumu fonksiyonunda bozulma ile ilişkili bulunmuştur. Kaferterya diyeti ve HFD tanıma bellek süreçlerinde benzer etkileri gösterilmektedir (122). HFD alımı ile görülen tanıma bellek süreçlerinde hipokampal değişiklikleri fruktoz ilavesinin şiddetlendirebileceğini öne sürülmektedir (122). Fruktoz alımının yüksek enerji alımından bağımsız olarak kognitif bozukluğa yol açabileceği gösterilmektedir (97). Standart kemirgen diyetine ilave olarak resveratrol alan ratların yaşamları süresince belirli aralıklarla ölçülen kognitif performansında tanıma indeksi yüksek bulunarak, resveratrolün yaşlanmada görülen tanıma bellek bozuklukları gibi negatif etkileri tersine çevirebileceği öne sürülmektedir (147). Kemirgenlerde diyete bağlı kognitif bozuklukların cinsiyetine bağlı olabileceği de düşünülmektedir (97, 149).

Laurik asidin davranış testleri aracılığıyla anksiyete benzeri davranışlara veya kognitif performansa etkisini inceleyen çalışmaya rastlanmamıştır. Bir çalışmada sıçanlara içerisinde kaprik ve kaprilik asidin de bulunduğu bir besin ögesi formülasyonu vererek ratların kimyasalla indüklenen kognitif bozulmasını incelemiştir. Kognitif performansı ölçmek için YNTT'ye göre diskriminasyon oranı kısa zincirli yağ asitlerini içeren besin ögesi formülasyonu ile artmıştır ve bu da kognitif performansta iyileşmeyi, bellek bozukluğunun geriye döndüğünü göstermektedir. Ancak, bu çalışmada besin ögesi formülasyonunda yer alan DHA,



vitaminler ve mineraller vb. diğer besin öğelerinin varlığı tek başına kaprik ve kaprilik asidin mekanizmasının açığa kavuşturulmasını önlemektedir (150).

Baskılanmış Beslenme Testi (Novelty-Suppressed Feeding Test, BBT) yeni bir eğitici ortamda beslenme davranışını destekleyen, stres ile indüklenen anksiyeteyi değerlendirmek için kullanılan bir testtir (151). Farelerde HFD'nin kronik alımı, BBT sonuçlarına göre anksiyete benzeri bir davranışı indüklemiştir (152). Yüksek karbonhidratlı diyetle beslenen farelerin anksiyete benzeri davranışı BBT ile incelendiğinde kronik yüksek karbonhidrat alımı besine yaklaşma ve yeme latansını arttırmıştır, anksiyete benzeri davranışlara yol açmaktadır. Anksiyete benzeri davranışlar, yüksek rafine karbonhidrat alımı ile artan nöroinflamatuvar yanıt (hipokampuste artan TNF $\alpha$ , IL-6, leptin seviyeleri) ve mikroglial aktivasyon ile ilişkili bulunmuştur (152).

Sonuç olarak, besin öğelerinin kognisyon ve sinaptik plastisite üzerindeki etkilerini çalışmak için birçok deneysel test değerlendirmiştir ve kemirgenlere uygulanan davranış testleri beslenmenin beyin sağlığı üzerine etkisini anlamak için kullanışlı bir model sağlamaktadır (11). Özellikle diyet ile indüklenen nöroinflamasyon modellerinin kullanıldığı çalışmalarda davranış testleri sonuçları anksiyete/depresyon-benzeri davranışlar ve öğrenme ile bellek yetersizliklerinin nöroinflamasyon ile ilişkili olabileceğini göstermektedir (41, 42). Bu nedenle, nöroinflamasyona çeşitli besin öğelerinin etkilerini inceleyen klinik öncesi çalışmalarda davranış testlerinin kullanımı, mekanizmaların keşfi ile nörodejeneratif hastalıkların önlenmesi/tedavisi için kullanılabilir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma, Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 14.07.2020 tarihli toplantısında 2020/10-09 karar numarası ile onaylanmıştır (EK-1). Araştırma, Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Yönergesi'ne ve Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Orman Bakanlığı'nın Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlar İçin Kullanılan Hayvanların Refah ve Korunmasına Dair Yönetmeliği'ne uygun olarak yürütülmüştür.

#### 3.1. Çalışma Yeri, Zamanı, Tasarımı ve Örneklem Seçimi

Bu çalışmanın hayvan müdahalesi aşaması Hacettepe Üniversitesi Deneysel Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi (HÜDHAM)'nde yürütülmüştür. Anestezi altında kan alma; doku ve organ izolasyonları gibi cerrahi işlemler HÜDHAM Cerrahi Araştırma Ünitesi'nde yapılmıştır. İzole edilen organ ve dokuların saklanması ve ileri laboratuvar analizleri ise Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Araştırma Laboratuvarları'nda ve Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında yürütülmüştür. Canlı hayvan bakım süreci 12.10.2020-09.03.2021 tarihleri arasında, analizler ise 22.10.2021-23.05.2022 tarihleri arasında tamamlanmıştır.

Bu çalışmanın örneklem sayısını belirlemek için G\*Power programı yardımıyla güç (power analizi) analizi yapılmıştır. Örneklem genişliği hesaplaması dört deney grubu olduğu için Anova testine göre yapılmıştır. En yüksek ortalamaya sahip grup ile en düşük ortalamaya sahip gruplar arasındaki fark değerine göre etki büyüklüğü 0.5685 olarak bulunmuştur. Tip 1 hata miktarı 0,05 ve çalışmanın gücü (1- $\beta$ ) %80 olarak alınarak, her grupta 8 adet fare olacak şekilde toplam 32 adet farenin bu çalışmada kullanılması planlanmıştır. Çalışma boyunca gerçekleşen 1 hayvan kaybı nedeniyle toplam  $n=31$  fare ile çalışma tamamlanmıştır ( $n_{\text{Kontrol}} = 8$ ,  $n_{\text{HFFD}} = 8$ ,  $n_{\text{HFFD-RSV}} = 7$ ,  $n_{\text{HFFD-LA}} = 8$ ).

## 3.2. Hayvanların Temini ve Diyet Müdahalesi

### 3.2.1. Hayvanların Temini ve Bakımı

Aynı soydan gelen (inbred), 32 adet 8 haftalık erkek C57Bl/6 soyu fare 6 ay süresince belirli aralıklarla temin edilmiştir (Hacettepe Üniversitesi Transgenik Hayvan Teknolojileri Uygulama ve Araştırma Merkezi, Türkiye). Farelerin vücut ağırlığı hassas terazi (A&D EK-6000H Scale, A&D, Japonya) kullanılarak tartılıp 24-27 gram ağırlığında fareler çalışmaya dahil edilmek üzere saydam polikarbon kafeslere alınmıştır. Bu çalışmanın amacına yönelik olarak farelerin yem tüketimlerinin bireysel olarak kaydedilmesi gerektiği için her fare ayrı bir kafese yerleştirilmiştir. Tüm farelerin bakımı ve müdahalesi optimal koşullarda ( $22 \pm 2$  °C, 12 saat dönüşümlü aydınlık/karanlık ortam, %45 nem) gerçekleştirilmiştir. Farelerin vücut ağırlığı çalışma boyunca her gün hassas terazi (A&D EK-6000H Scale, A&D, Japonya) ile ölçülerek kayıt edilmiştir.

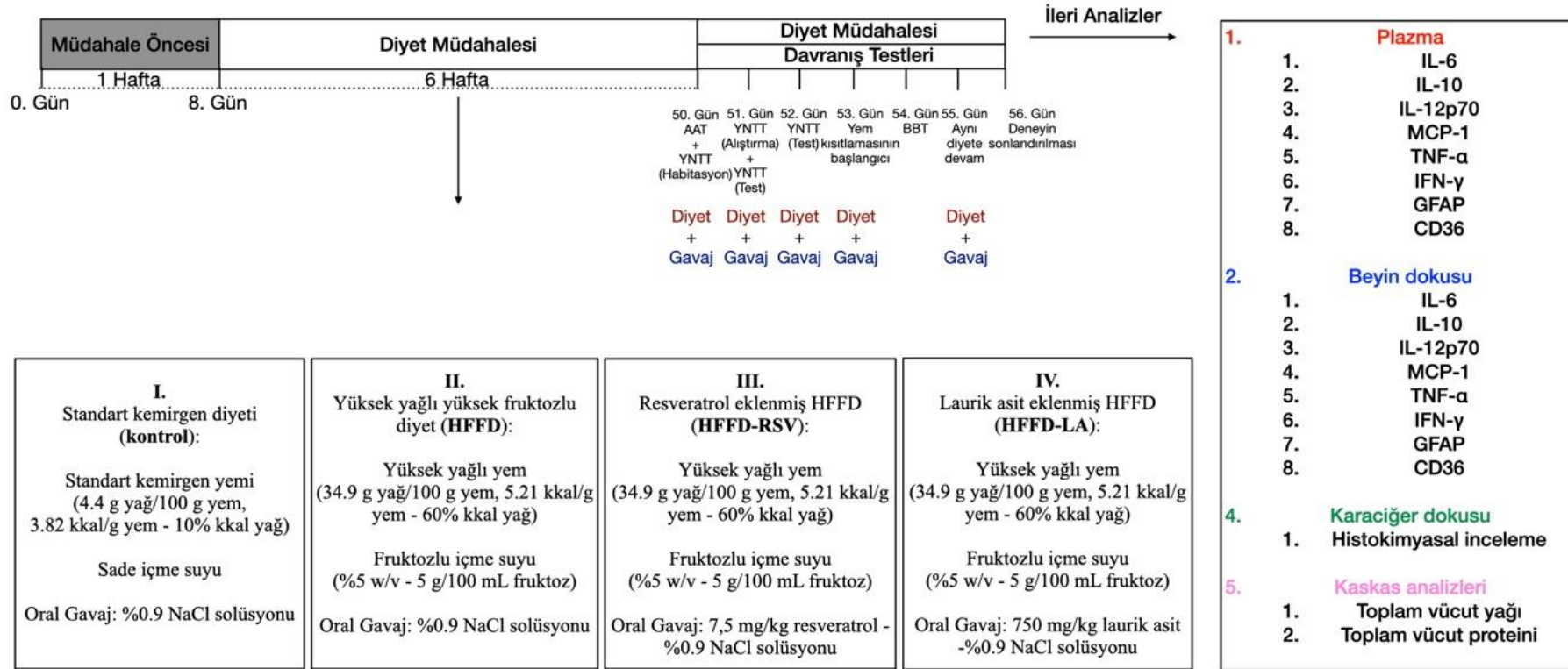
### 3.2.2. Uygulanan Diyet Müdahalesi

Bu çalışmanın diyet müdahalesi farelerin günlük yem ve su tüketimleri göz önünde bulundurularak planlanıp oluşturulmuştur. Müdahale protokolünden önce standart koşulları sağlamak için her kafeste bir fare olacak şekilde tüm fareler 1 hafta boyunca standart laboratuvar yemi, içme suyu ve bakım şartları (sıcaklık:  $20 \pm 2$ °C, 12 saat dönüşümlü aydınlık/karanlık ortam) ile bakılmıştır (standardizasyon dönemi) (38, 132, 153). Standart koşullar sağlandıktan sonra birinci haftanın sonunda fareler randomize olarak 4 gruba ayrılmıştır. Altı hafta süresince farklı diyetler ile beslenen farelere oral gavaj (her gün) (154, 155) uygulanmıştır. Tüm farelere çalışma süresince kısıtlama olmaksızın (*ad libitum*) su ve yem verilmiştir (Şekil 3.1.).

Bu çalışmada kullanılan pürifiye hayvan yemleri Türk Standartları Enstitüsü'nün yürürlükte bulunan Hayvan Yemleri - Laboratuvar Hayvanı Yemleri Standardına (TS 9313) uygun olarak Arden Araştırma & Deney (Ankara, Türkiye) firmasına yaptırılmıştır. Kontrol grubundaki farelerin diyetinde standart kemirgen yemi (4,4 g yağ/100 g yem, 3,82 kkal/g yem- %10 kkal yağ) (#D12450J, Research Diets) ve sade içme suyu vardır. Kontrol diyet grubuna oral gavaj ile %0,9 NaCl solüsyonu verilmiştir. İkinci grup olan yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet (HFFD)

grubundaki farelerin diyetinde yüksek yağlı yem (34,9 g yağ/100 g yem, 5,21 kkal/g yem- %60 kkal yağ) (#D12492, Research Diets) ve fruktozlu içme suyu (%5 w/v- 5 g/100 mL fruktoz) vardır. Bu diyet grubuna oral gavaj ile %0,9 NaCl solüsyonu verilmiştir. Üçüncü grup olan resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet (HFFD-RSV) grubundaki farelerin diyetinde yüksek yağlı yem (34,9 g yağ/100 g yem, 5,21 kkal/g yem- %60 kkal yağ) (#D12492, Research Diets) ve fruktozlu içme suyu (%5 w/v- 5 g/100 mL fruktoz) vardır. Bu diyet grubuna oral gavaj ile %0,9 NaCl solüsyonu içinde çözdürülmüş resveratrol (7,5 mg/kg) verilmiştir. Dördüncü grup olan laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet (HFFD-LA) grubundaki farelerin diyetinde yüksek yağlı yem (34,9 g yağ/100 g yem, 5,21 kkal/g yem- %60 kkal yağ) (#D12492, Research Diets) ve fruktozlu içme suyu (%5 w/v- 5 g/100 mL fruktoz) vardır. Bu diyet grubuna oral gavaj ile %0,9 NaCl solüsyonu içinde çözdürülmüş laurik asit (750 mg/kg) verilmiştir (Şekil 3.1.).

Çalışma süresince farelerin yem ve su tüketimleri kaydedilmiştir. Tüm diyet gruplarında oral gavaj uygulanarak oral gavaj nedeniyle oluşabilecek stres, anksiyete vb. durumların çalışmanın sonuçlarını etkilememesi amaçlanmıştır. Çalışmanın düzeni ve diyet grupları Şekil 3.1.'de, diyetin besin ögesi örüntüsü Tablo 3.1.'de, diyetin enerjisinin makro besin öğelerine göre oranları Şekil 3.2'de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.



**Şekil 3.1. Çalışmanın düzeni.** Çalışma süresince farelere uygulanan aşamalar standardizasyon (müdahale öncesi), diyet müdahalesi, diyet müdahalesi/davranış testleri olarak 3 aşamada gösterilmiştir. Tüm fare gruplarına (4 grup) uygulanan diyet müdahalelerinin içeriği belirtilmiştir. Diyet müdahalesi/davranış testleri aşamasında diyet ve gavaj müdahalesinin devam ettiği günler belirtilmiştir. AAT: Açık Alan Testi; BBT: Baskılanmış Beslenme Testi; HFFD: yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet; HFFD-LA: laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet; HFFD-RSV: resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet; YNTT: Yeni Nesne Tanıma Testi.

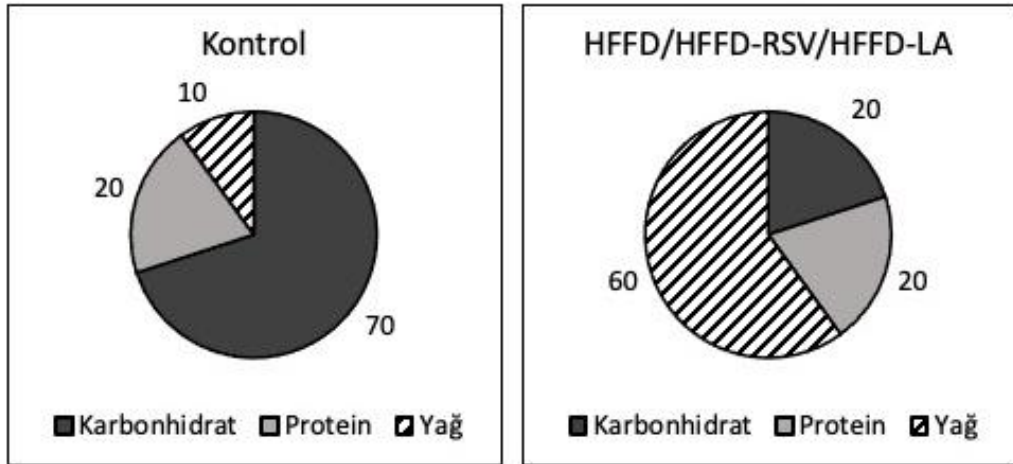
**Tablo 3.1.** Diyet müdahalesi sırasında farelerin yem, su ve gavaj içerikleri.

Diyet Örüntüsü **	Diyet Müdahale Grupları*			
	Kontrol	HFFD	HFFD-RSV	HFFD-LA
<b>Enerji</b> (kkal/g)				
Enerji, yem (kkal/g)	3,83	5,21	5,21	5,21
<b>Karbonhidrat</b> (% enerji)				
Karbonhidrat, yem (% enerji)	70	20	20	20
<b>Yağ</b> (% enerji) ***	10	60	60	60
<b>Protein</b> (% enerji)	20	20	20	20
<b>Karbonhidrat kaynağı</b> (g/100 g yem)				
Mısır nişastası	52,13	-	-	-
Maltodekstrin	14,22	16,15	16,15	16,15
Sükroz	-	8,89	8,89	8,89
Selüloz	4,74	6,46	6,46	6,46
<b>Yağ kaynağı</b> (g/100 g yem)				
Palm yağı	4,26	-	-	-
Tereyağı (anhidrozu)	-	34,89	34,89	34,89
<b>Protein kaynağı</b> (g/100 g yem)				
Kazein	18,95	25,85	25,85	25,85
L-sistein	0,28	0,39	0,39	0,39
<b>Diğer</b> (g/100 g yem)				
Mineral karışımı	0,95	1,29	1,29	1,29
Vitamin karışımı	0,95	1,29	1,29	1,29
Kolin klorür	0,19	-	-	-
Kolin bitartarat	-	0,26	0,26	0,26
Dikalsiyum fosfat	1,23	1,68	1,68	1,68
Kalsiyum karbonat	0,52	0,71	0,71	0,71
Potasyum sitrat	1,56	2,13	2,13	2,13
<b>Enerji</b> (kkal/mL)				
Enerji, su (kkal/mL)	-	0,2	0,2	0,2
<b>Karbonhidrat</b> (% enerji)				
Eklenmiş fruktoz, su (% enerji)	-	100	100	100
<b>Resveratrol</b> (mg/kg)	-	-	7,5	-
<b>Laurik asit</b> (mg/kg)	-	-	-	750

\* Kontrol standart kemirgen diyeti; HFFD yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet; HFFD-RSV resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet; HFFD-LA laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet.

\*\* Diyet kompozisyonu sırasıyla yem, su ve oral gavaj olmak üzere 3 bölüme ayrılmıştır.

\*\*\* Günlük gavaj dozunun çok düşük olmasından dolayı laurik asitten gelen enerji ihmal edilmiştir.



**Şekil 3.2.** Diyetin enerjisinin makro besin öğelerine göre oranları. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet.

### 3.2.3. Gavaj Solüsyonlarının Hazırlanması

Diyete eklenecek resveratrol miktarını belirlemek için resveratrolün çeşitli etkilerini inceleyen hayvan çalışmalarının yanı sıra insanlarda besin takviyesi olarak rahatlıkla tüketilebilir bir dozu yansıtabilecek fizyolojik miktarlar hedeflenmiştir. Bu nedenle fareler oral gavaj ile her gün 7,5 mg/kg resveratrol (Resveratrol, *Polygonum cuspidatum* (kök), Solgar, ABD) almıştır. Kullanılan resveratrol toz formdadır. Resveratrolün oral alımının NOAEL dozu sıçanlarda 300 mg/kg/gün olarak bulunarak (156) bu doz fareler için 600 mg/kg/gün olarak hesaplanmaktadır (157). Bu çalışmada farelere diyete ilave edilen resveratrol insan diyetinin ~0,6 mg/kg/gün resveratrol alımına eşittir (157). İnsanlarda resveratrol alımının günde bir kaç mg olduğu ve bu miktarın en yüksek kaynağının (yaklaşık %90) kırmızı şarap olduğu rapor edilmiştir (158).

Resveratrolün suda çözünübilirliğinin ve biyoyararlanımının düşük olması sebebiyle oral emilimi azdır (108, 109). *Polygonum cuspidatum*'dan elde edilen resveratrolün serbest resveratrole göre biyoyararlanımının daha yüksek olabileceği gösterilmiştir (109). *Polygonum cuspidatum* besin takviyesinde resveratrole ilave olarak bulunan stilben türevi polidatin (3,40,5-trihidroksistilben-3-β-D-glikozit) resveratrolün doğal bir öncüsüdür (110). Bu molekül, nörolojik açıdan koruyucu (110)

ve nöroinflamasyonu azaltıcı etkiler göstermektedir (110, 111). *Polygonum cuspidatum* alımı ile sıçanlarda birçok dokuda resveratrol dağılımı gözlenirken idrar ve safra ile atımın azaldığı belirlenmiştir (109).

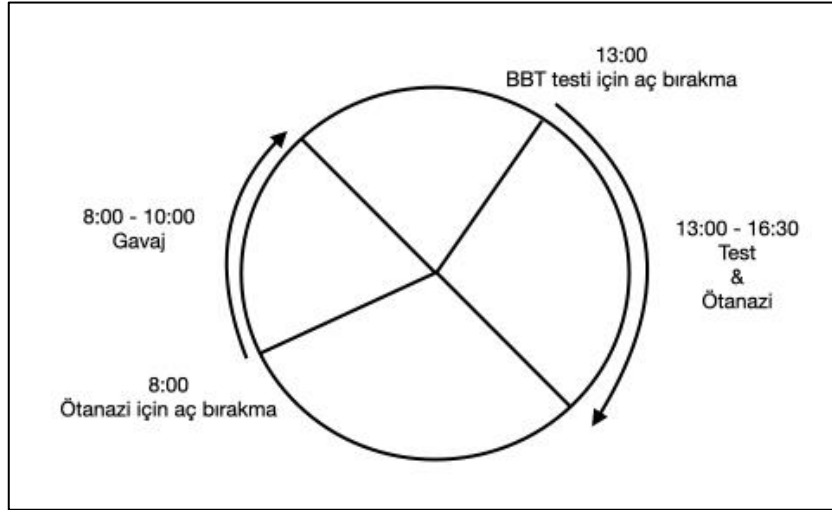
Diyete eklenecek laurik asit miktarını belirlemek için laurik asidin çeşitli etkilerini inceleyen hayvan çalışmalarının yanı sıra insanlarda yaklaşık olarak hesaplanan günlük alım düzeylerini yansıtabilecek miktarlar hedeflenmiştir. Bu nedenle fareler oral gavaj ile her gün 750 mg/kg laurik asit (Merck Chemicals, Almanya) almıştır. Kullanılan laurik asit toz formdadır. İnsan diyetinde günlük alınan laurik asidin enerjiye katkısının %0,2 olduğu rapor edilirken (159) bu çalışmada diyetle ilave edilen laurik asit insan diyetinin ~%0,03 kkal enerji alımına ve ~60 mg/kg laurik asit alımına eşittir (157).

Gavaj solüsyonları %0,9 NaCl (serum fizyolojik) kullanılarak hazırlanmıştır ve her gün diyetle eklenmiştir. Kontrol ve HFFD grubu oral gavaj ile her gün %0,9 NaCl (serum fizyolojik) almıştır. Gavaj ile verilen besin öğelerinin metabolizmaya etkilerini diğer faktörlerden ayırmak için gavaj uygulamaları her gün aynı saatte yapılmıştır (Şekil 3.2.).

### 3.3. Hayvanlara Uygulanan Davranış Testleri

Diyet ve gavaj müdahalesinin 6. haftasının sonunda (50. gün) farelere Açık Alan Testi (Open Field Test, AAT), 50-52. günlerde Yeni Nesne Tanıma Testi (Novel Object Recognition Test, YNTT), 54. gününde Baskılanmış Beslenme Testi (Novelty-Suppressed Feeding Test, BBT) uygulanmıştır (Şekil 3.1.). Tüm testler aydınlık fazda gerçekleştirilmiştir. Oral gavaj uygulaması saat 8:00 de yapıldığı için gavajın oluşturacağı stresin deney sonuçlarını etkilememesi amacıyla davranış testleri gavajdan 5 saat sonra gerçekleştirilmiştir (13:00 den itibaren). Çalışmanın günlük düzeni Şekil 3.2’de verilmiştir. Davranış testleri düzeneklerinin tabanı ile test edilen hayvanın rengi kontrast oluşturmaktadır. Bu nedenle, C57Bl/6 kökenli fare siyah tüy rengine sahip olduğu için kutunun dibi beyaz ve eşit 16 kareye bölünmüş bir düzenden oluşmaktadır. Video kaydına alınan testlerin analizi video izleme sistemi (ANY-maze, Stoelting Co., ABD) kullanılarak sonuçlar elde edilmiştir.

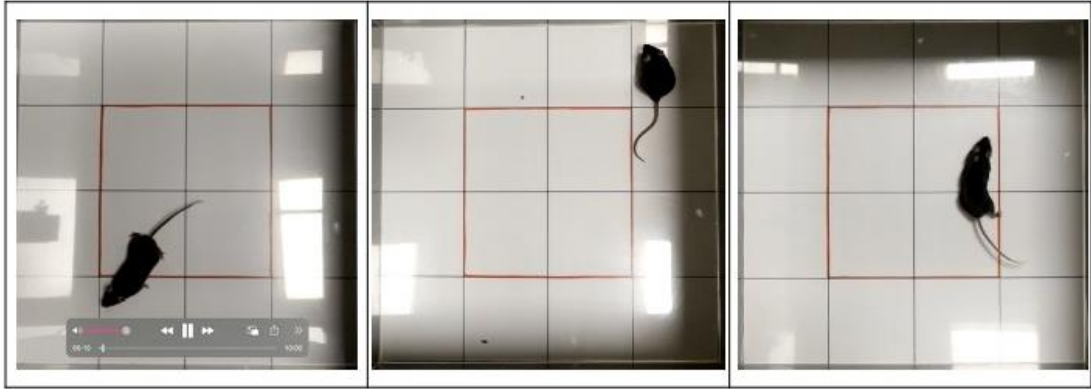




**Şekil 3.2.** Günlük müdahalelerin zamanı. BBT: Baskılanmış beslenme testi.

### 3.3.1. Açık Alan Testi (AAT)

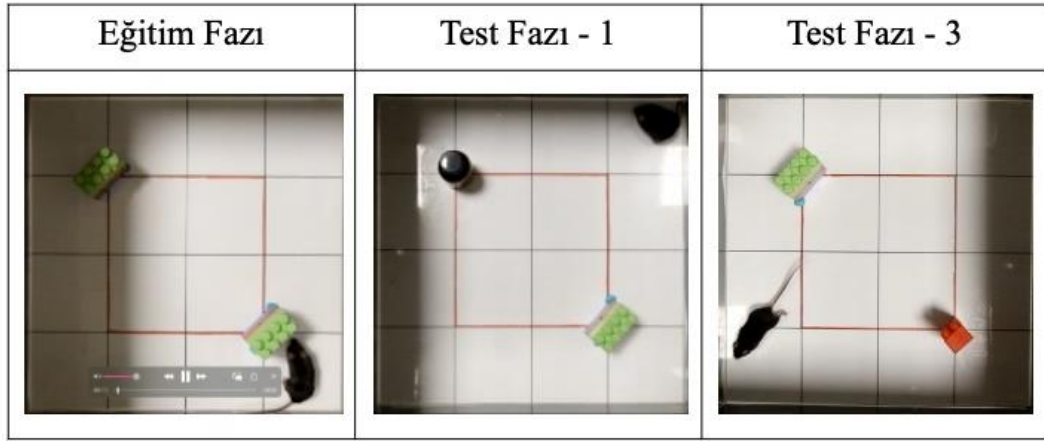
Farelerde anksiyete durumunu ölçen bu test için tek bir odadan oluşan ve 40 cm (boy) x 40 cm (en) x 30 cm (yükseklik) boyutlarında bir kutu (kenarları siyah karton ile kaplı pleksiglass kutu) kullanılmıştır. Test kutusunun ortasına bırakılan her farenin kutudaki aktivitesi kamera (Fujifilm X-A2, Japonya) ile 10 dk. boyunca kayıt altına alınmıştır. Test sonunda farenin davranışları, dışkı peletlerinin sayısı kamera kayıtlarına göre analiz edilmiştir (143). Farelerin 10 dk. boyunca gösterdiği davranışlar anksiyete durumunu ve lokomotor aktiviteyi göstermek için incelenmiştir. Bu test kapsamında ele alınan parametreler; hareketli geçirilen zaman (sn), hareketsiz geçirilen zaman (sn), hareketsiz epizotların sayısı (n), merkez alana giriş sayısı (n), kenar alana giriş sayısı (n), köşe alanlara giriş sayısı (n), merkez alandan ayrılma süresi (sn), toplam gezilen mesafe (m), geçtiği çizgi sayısı (n) (lokomotor aktivite)'dir (143) (Şekil 3.3.).



**Şekil 3.3.** Farelerin açık alan testi (AAT) görüntüleri.

### 3.3.2. Yeni Nesne Tanıma Testi (YNTT)

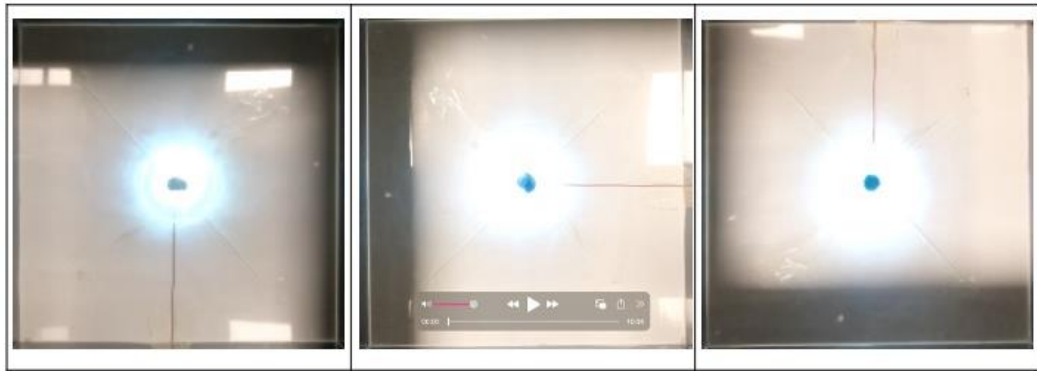
Kemirgenlerin nesne tanıma davranışından kognitif durumunu ölçen bu test için tek bir odadan oluşan ve 40 cm (boy) x 40 cm (en) x 30 cm (yükseklik) boyutlarında bir kutu (kenarları siyah karton ile kaplı pleksiglass kutu) kullanılmıştır. Bu test, habitasyon seansı, tanıma (eğitim) seansı ve test seansı olmak üzere 3 aşamadan oluşmaktadır. Tanıtma (eğitim) seansında test kutusuna 2 eş nesne yerleştirilmiştir. Test kutusuna objelere ters biçimde bırakılacak olan farenin birbirine eş olan bu nesnelere tanıması izlenmiştir. Farenin aktivitesi kamera ile 10 dk. boyunca kayıt altına alındıktan sonra tanıma seansı sonlandırılmıştır. Temizlenen test kutusuna test seansını gerçekleştirmek için tanıma seansındaki nesnelere 1 tanesi (eski nesne, bilinen nesne) ve 1 tane yeni nesne (bilinmeyen nesne) olmak üzere toplam 2 nesne yerleştirilmiştir. Farenin, eski ve yeni nesnelere tanıması izlenmiş, kamera ile 10 dk. boyunca kayıt altına alınmış ve test seansı sonlandırılmıştır. Test seansı hem kısa dönem belleği hem de uzun dönem belleği test etmek için tanıma seansından sonra 1 saat ve 24 saat sonra olmak üzere 2 kez uygulanmıştır. Test sonunda farenin test seansında eski ve yeni nesnelere tanımak için harcadığı zaman kamera kayıtlarına göre analiz edilmiştir (160). Tüm davranış testlerinin kutuları aynı ölçekte ve özellikle olduğu için AAT testi aynı zamanda YNTT'nin habitasyon seansı olarak kabul edilmiştir. Bu testten elde edilen veriler yeni nesne ile geçirilen sürenin hem yeni hem de eski nesne ile geçirilen süreye bölümü ile hesaplanan formül ile diskriminasyon oranı (%) (discrimination/recognition index) olarak ifade edilmiştir (11) (Şekil 3.4.).



**Şekil 3.4.** Farelerin yeni nesne yanıtı testi (YNTT) Görüntüleri.

### 3.3.3. Baskılanmış Beslenme Testi (BBT)

Anksiyete benzeri davranışı ölçen bu test için tek bir odadan oluşan ve 40 cm (boy) x 40 cm (en) x 30 cm (yükseklik) boyutlarında bir kutu (kenarları siyah karton ile kaplı pleksiglass kutu) kullanılmıştır. Fareler 1 gece aç bırakıldıktan sonra test uygulanmıştır. Yem pelletleri farenin diyet müdahalesine uygun olarak test kutusu alanının merkezinde, ışıklandırılmış (60 lx beyaz ışık) petri kabının üstüne yerleştirilmiştir. Test kutusunun köşesine bırakılan farenin davranışları 10 dk. boyunca kamera ile kayıt altına alındıktan sonra test sonlandırılmıştır. Test sonunda farenin yem pelletinden ilk ısırığı alana kadar geçen süre ve tükettiği yem miktarı kamera kayıtlarına göre analiz edilmiştir. Test süresi içerisinde yeme yaklaşmayan farelerin verileri çalışmaya dahil edilmemiştir (161). Fareler bu testten önce 24 saat aç bırakıldığı için dışkılama beklenmemektedir (Şekil. 3.4.).



**Şekil 3.5.** Farelerin baskılanmış beslenme testi (BBT) Görüntüleri.

### **3.4. Anestezi, Kan Alma, Doku Toplama ve Ötanazi**

Standardizasyon (1 hafta), diyet ve gavaj müdahalesi (6 hafta) ve davranış testleri (7 gün) sonunda fareler anestezi altında kan alma ve doku/organ diseksiyonu ile ötanazi edilmiş ve deneyler sonlandırılmıştır. Bu aşamalar Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde gerçekleştirilmiştir. Deney sonunda yapılan kan, doku ve organ diseksiyonları 5 saatlik açlık sonrasında yapılmıştır (38, 39, 81, 126, 153).

#### **3.4.1. Anestezi**

Fareler terminal vücut ağırlıkları ölçüldükten sonra genel anestezi altına alınmıştır. Ketamin (0,1 mg/g vücut ağırlığı) (Richter Pharma, Avusturya) ve ksilazin (0,02 mg/g vücut ağırlığı) (Alfasan International B.V., Hollanda) kokteyli subkutan yoldan enjekte edilerek anestezi işlemi gerçekleştirilmiştir. İşleme alınacak fare diğerlerinden ayrılarak müdahale odasına alınmış ve stres düzeyi en aza indirilerek enjeksiyon gerçekleştirilmiştir. Anestezi derinliği parmak kıstırma yöntemi ile sıklıkla kontrol edilerek farenin tepki vermesinin sonlandığı noktada cerrahi müdahaleye başlanmıştır. Fare ötanazi edilene kadar uygulanan tüm cerrahi işlemler sırasında anestezi derinliği izlemine devam edilmiştir (38, 39, 81, 153).

#### **3.4.2. Kan Alma ve Ötanazi**

Farelerin anestezi durumu doğrulandıktan sonra cerrahi müdahaleye başlanmıştır. Sodyum sitrat (Merck Chemicals, Almanya) ile hazırlanan sitrat çözeltisi (12,9 mM) antikoagülan olarak kullanılmıştır. *Vena Cava* aracılığıyla eksanguinasyon yöntemiyle ötanazi gerçekleştirilmiştir. Disekte edilen kan polipropilen kapaklı tüplere transfer edilerek mikrosantrifüj cihazıyla (Selecta Microtronic-BL, İspanya) 10000 rpm'de 10 dk. olmak üzere 2 kez santrifüj edilerek plazma ayrılmıştır. Ayrılan plazma polipropilen kapaklı tüplere alınarak ve -80°C'de analiz gününe kadar saklanmıştır (38, 39, 81, 153).

#### **3.4.3. Organların Diseksiyonu**

Farelerin tüm dokuları (karaciğer, böbrek, kalp, adipoz doku, beyin) çevre dokulardan dikkatli bir şekilde disekte edildikten sonra ağırlıkları tartılmış ve

polipropilen kapaklı tüplere alınmıştır. Ötenaziden sonra dokuları izole etmek için sterilize serum fizyolojik (%0,9 NaCl) ile perfüzyon yapılmıştır. Perfüzyon işlemi enjektör ile kalp karıncıklarından 20 mL serum fizyolojik (%0,9 NaCl) kullanılarak yapılmıştır. Toplanan adipoz dokuları (inguinal, gonadal ve retroperitoneal beyaz adipoz dokular) hızlıca tartılmıştır. Dokular nitrojen (-196°C) ile aniden dondurularak laboratuvar analizleri için -80 °C’de saklanmıştır (38, 153). Beyin dokusu tartıldıktan sonra tek yarımküresi bistüri ile tek seferde kesilerek ve ayrılarak %10’luk formaldehit solüsyonu içerisinde histolojik analizler için saklanmıştır. Karaciğer dokusu tartıldıktan sonra sol lateral lob hasar almayacak şekilde ayrılarak %10’luk formaldehit solüsyonu içerisinde histolojik analizler için saklanmıştır. Dokuları (karaciğer, böbrek, kalp, adipoz doku, beyin) çıkarılmış karkaslar ise toplam yağ ve protein analizleri için -80°C’de saklanmıştır (126). Disekte edilen tüm dokular diseksiyondan hemen sonra tartılarak ağırlıkları kaydedilmiştir (Shimadzu Analytical Balance AUX 220, Shimadzu Corp., Japonya) (126).

Ötenazi günü ölçülen vücut ağırlığı ve ötenazi sonrasında mezura ile ölçülen nazo-anal uzunluk ile Lee obezite indeksi hesaplanmıştır. Lee indeksi, 1929 yılında sıçanlarda obeziteyi değerlendirmek için geliştirilmiştir (162). Vücut ağırlığının (g) küp kökünün nazo-anal uzunluğa (cm) bölünerek 1000 ile çarpılmasıyla elde edilmektedir. İndeks değerinin 310’dan büyük olmasının obezitenin belirleyicisi olduğu bildirilmiştir. Lee indeksi ile vücut yağ miktarı arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmalar (163) ve Lee indeksini farelerde kullanan çalışmalar bulunmaktadır (164, 165). Yüksek yağlı diyet verilen farelerde Lee indeks değerleri (328-346) (165) bu çalışma ile benzerlik göstermektedir. Lee indeksi formülü Formül 3.1.’de verilmiştir.

$$Lee \text{ İndeksi } \left( \frac{g}{cm^3} \right) = \frac{\sqrt[3]{Vücut \text{ Ağırlığı } (g)}}{Nazo-anal \text{ Uzunluk } (cm)} \times 1000 \quad (3.1.)$$

### 3.5. Karkaslarda Toplam Vücut Yağı ve Proteini Analizleri

Önceden açıklandığı gibi farelerin disekte edilen dokuları (karaciğer, böbrek, kalp, adipoz doku, beyin) hariç geri kalan tüm bölümleri bu çalışmada karkas olarak ifade edilmektedir. Fare karkasları analiz edilmek üzere -80°C olan dondurucudan çıkarılarak tartılmıştır (Sartorius BP 310 P hassas terazi, Almanya). Doku kaybını

önlemek için alüminyum kaplara konulan karkasları kurutmak için 80°C’de sabitlenmiş bir etüv (BINDER ED-53, Almanya) kullanılmıştır. Sabit kuru ağırlığa gelen karkaslar porselen havanda homojenize edilmiştir. Homojenize edilen karkaslar toplam yağ ve protein miktarı analizi yapılabildiği kadar 50 ml’lik falcon tüpler içerisinde -20°C’deki dondurucuda saklanmıştır. Karkaslar etüve yerleştirilmeden önce ve tamamen kuruduktan sonra tartılmış; aradaki farkın vücut ağırlığına oranı karkas su oranı olarak düşünülmüştür (126, 166).

### 3.5.1. Soxhlet Yöntemi ile Toplam Vücut Yağı Analizi

Soxhlet yöntemiyle karkaslarda toplam vücut yağı analiz edilmiştir (126, 166). Selüloz kartuş (Filtros Anovia, İspanya) içerisine konulan homojenize edilmiş karkasa sodyum sülfat (Merck KGaA, Almanya) eklenmiş ve cam pamukla kartuşun üstü kapatılmıştır. İçerisinde örnek olan kartuş Soxhlet ekstraktörü içine yerleştirilerek sabit ağırlığa getirilmiş balona bağlanmıştır. Ekstraktör ve balon geri soğutucuya bağlanmadan önce içerisine petrol eteri (Merck KGaA, Almanya) dökülmüştür. Soxhlet sisteminde yer alan ve birbirine bağlı olan geri soğutucu, ekstraktör ve balon kapalı bir sistem oluşturmaktadır. Bu sayede kapalı sistemin içerisinde olan petrol eterinin buharlaşması önlenmektedir. Bu kapalı sistemin en altında olan balon ise ısıtılarak petrol eterinin kaynama noktasına gelmesi sağlanmaktadır. Kaynama noktasına gelen petrol eteri buharlaşarak geri soğutucuya çıkar, geri soğutucuda tekrar yoğunlaşarak ekstraktördeki örnek içerisinden geçer ve tekrar balona damlayarak sistemin içerisinde dolaşır. Bu sayede örneğin içindeki tüm yağı çözerek balonda birikmesini sağlar. Önceki deneyimlere göre 10-12 döngüde tamamlanan yağ ekstraksiyonu sonunda balonda biriken toplam yağın miktarını tayin etmek gerekmektedir. Bu nedenle ekstraktörden alınan balon evaporatöre (Büchi RE111 Rotavapor, İsviçre) yerleştirilerek içindeki eterin tamamı uçurulmuştur. Balon içinde sadece örnekten ekstrakte edilen yağ kaldığında balon etüve (BINDER ED-53, Almanya) konularak yeniden sabit ağırlığa gelmesi sağlanmıştır. Balon sabit ağırlığa geldiğinde tartılarak karkaslardaki yağ miktarı Formül 3.2. yardımıyla yüzde olarak hesaplanmıştır.

$$\% Yağ = \frac{g(balon+yağ) - g(balon)}{g(örnek)} \times 100 \quad (3.2.)$$

### 3.5.2. Kjeldahl Yöntemi ile Toplam Vücut Proteini Analizi

Kjeldahl yöntemi kullanılarak karkaslarda toplam vücut protein ve azot miktarı analiz edilmiştir (126, 166). Yöntemin temel amacı örnekteki serbest azotun amonyum iyonuna çevrilmesidir. Bu deney yakma, distilasyon ve titrasyon olmak üzere 3 aşamadan oluşmaktadır. Öncelikle yakma aşamasını gerçekleştirmek için homojenize edilmiş karkaslardan eşit miktarda örnek 500 ml'lik kjeldahl balonlarına konulmuştur. Örnek bulunan balonun içerisine civa ve selenyum içermeyen kjeldahl tablet (Merck KGaA, Almanya), 2 cam boncuk ve derişik sülfürik asit (Merck KGaA, Almanya) eklenerek balon, kjeldahl sisteminin yakma kısmına yerleştirilmiştir. Havalandırma ve yakma sistemi çalıştırılarak balon ısıtılmaya başlanmıştır. Isıtılan balon sayesinde örnek potasyum sülfat katalizörü varlığında sülfürik asit ile yakılmaktadır ve böylelikle amonyum sülfat oluşmaktadır. Yakma işleminde balonun içindeki renk önce siyaha dönüşür sonra ise organik bileşikler ayrılarak renk yeşile döner ( $\pm 20$  dk.). Burada amaç örnek içerisindeki tüm N-bağlarını kırmak ve tüm nitrojeni amonyağa dönüştürmektir.

Distilasyon için yakma ısı bloğundan ayrılıp soğuyan kjeldahl balonlarına 150-200 ml saf su, sodyum tiyosülfat (Merck KGaA, Almanya) ve damıtma sırasında patlamaları önlemek için 1-2 tane çinko parçası konulmuştur. En son olarak dikkatli bir şekilde balonlara doymuş sodyum hidroksit (Merck KGaA, Almanya) eklenmiş balonlar sıkıca ve dikkatlice kapatılıp çalkalanmıştır ve distilasyon kısmına yerleştirilmiştir. Kjeldahl sisteminin distilasyon kısmı kapalı bir sistem oluşturacak şekilde geri soğutucuya bağlıdır. Geri soğutucunun altına ise borik asit (Merck KGaA, Almanya) çözeltisi (mor renk) eklenen 250 ml'lik erlenler yerleştirilmiştir. Distilasyonda amonyum sülfatı uçucu amonyağa dönüştürmek amaçlanmaktadır. Amonyum sülfat sodyum hidroksit ile amonyum hidroksit oluşturur. Amonyum hidroksitin ısıtılması ile amonyak gazı açığa çıkar. Distile olan amonyak gazı içinde borik asit bulunan erlene damlayarak amonyum borat oluşturmaktadır ve erlende yeşil renk gözlenir. Sodyum tiyosülfat civayı indirger, çinko parçaları ise indirgenen civayı tutar. Yeterli miktarda amonyum borat erlende toplanınca ocak kapatılıp erlenler sistemden ayrılmıştır.

Kjeldahl protein analizinin son kısmında asit-baz titrasyonu yapılmaktadır. İçinde amonyum borat bulunan erlen sülfürik asit çözeltisi ile menekşe-mor renk

oluşuncaya kadar titre edilmiş ve kullanılan sülfürik asit miktarları kaydedilmiştir. Amonyum borat sülfürik asit ile beraber amonyum sülfat ve borik asit oluşturur.

Kjeldahl yönteminin tüm bu aşamaları içerisinde örnek bulunmayan balon ile de tekrarlanarak kör örneği (kontrol) olarak hazırlanmıştır. Organik örneklerde toplam nitrojen miktarını bulmak için Formül 3.3 ve total protein miktarını bulmak için Formül 3.4 kullanılmıştır. Toplam protein miktarını bulabilmek için toplam nitrojen miktarı çevirme faktörü 6.25 ile çarpılmıştır.

$$\% \text{ Nitrojen (N)} = \frac{(\text{örnek} - \text{kör}) \text{ mL } H_2SO_4 \times N (H_2SO_4) \times (0,014)}{g (\text{örnek})} \quad (3.3.)$$

$$\% \text{ Protein} = \%N \times 6,25 \quad (3.4.)$$

### **3.6. Plazma ve Beyin Dokularında Flow/Akış Sitometrisi ile**

#### **İnflamasyonda Görevli Bazı Moleküllerin Düzeylerinin Belirlenmesi**

##### **3.6.1. Beyin Dokusu Örneklerinin Hazırlanması**

Çalışma kapsamında hem flow/akış sitometrisi hem de ELISA analizlerinde kullanılmak üzere beyin dokusu supernatantları hazırlanmıştır. Dokularda proteinlerin tespiti için proteinlerin çözünebilir olması ve ayrıştırılması gerekmektedir. Dondurucuda (-80 °C) saklanan beyin dokuları RIPA (radioimmunoprecipitation assay buffer; 25 ml 1M Tris-HCl, 5 ml NP-40, 2,5 g Na-deoksikolat, 0,5 g SDS, 15 ml 5 M NaCl, 2 ml 0,5 M EDTA, 1,05 g NaF) tampon çözeltisi (Thermo-Scientific, ABD) ile hücre zarları parçalanmış ve sitoplazmik proteinler elde edilmiştir. Hücre parçalanması sırasında ortaya çıkan proteaz enzimlerinin inhibisyonu için proteaz ve fosfataz inhibitör kokteyli (Thermo-Scientific, ABD) eklenerek mikrotüp havaneli yardımıyla (İnterlab, Türkiye) homojenizasyon gerçekleştirilmiştir. Homojenize edilen dokular 3 dakika 13,000 rpm'de (8765 g) 4 °C'de santrifüj edilerek (Eppendorf Centrifuge 5430R, Almanya), tüplerin içindeki sıvı kısım (supernatant) başka bir tüpe aktarılmıştır. Beyin dokusu supernatantları analiz günlerine kadar -20°C'de saklanmıştır.



### 3.6.2. Beyin Dokusu Örneklerinde Protein Miktar Tayini

Hem flow/akış sitometrisi hem de ELISA analizlerinde kullanılmak üzere hazırlanan beyin dokusu supernatantlarının protein konsantrasyonu Smith ve ark. (167) tarafından önerilen bişinkoninik asit (BCA) yöntemine göre, ticari bir BCA kiti yardımıyla (DC Protein Assay Kit II, Bio-Rad, ABD) belirlenmiştir. BCA analizi, örneklerde bulunan proteinin alkali bakır tartarat çözeltisi ve folin reaktanı ile reaksiyona girmesi prensibine dayanmaktadır. Alkali ortamda, protein ve bakır reaksiyona girerek folin reaktanını indirgemektedir. Renk değişimi, temel olarak tirozin ve triptofan ve daha az oranda sistin, sistein ve histidin aminoasitlerine bağlı olarak gerçekleşmektedir. Folin reaktanında gerçekleşen indirgenme reaksiyonu sonucu oluşan ürünler karakteristik mavi rengi oluşturmaktadır. Oluşan renk değişimi minimum 405 nm dalga boyunda ölçülmektedir. BCA analizi sonucu, protein konsantrasyonu ile ilişkili olarak oluşan farklı renk yoğunlukları Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Araştırma Laboratuvarları'nda, kolorimetrik mikropilaka okuyucu ile okunmuştur (ChromMate 4300, Awareness Technology Inc, ABD). Flow/akış sitometrisi ve ELISA analizlerinde elde edilen spesifik protein konsantrasyonları BCA analizi sonuçlarına göre elde edilen toplam protein konsantrasyonlarına bölünerek spesifik proteinlerin toplam proteine oranı (/mg protein) olarak ifade edilmiştir.

### 3.6.3. İnflamasyonda Görevli Bazı Moleküllerin Analizi

Farelerden elde edilen plazma örneklerinde ve hazırlanan beyin dokusu supernatantında gerçekleştirilen bu analiz ile temel inflamasyon belirteçleri olan interlökin-6 (IL-6), interlökin-10 (IL-10), interlökin-12p70 (IL-12p70), monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1), tümör nekrozis faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ve interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) kantitatif olarak ölçülmüştür (BDTM CBA Mouse Inflammation, San Jose, CA, ABD). Hacettepe Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Araştırma Laboratuvarları'nda gerçekleştirilen bu analiz, büyüklüğü ve flüoresanı bilinen boncuklar (beads) aracılığıyla örnek içindeki çözünebilir analitlerin flow/akış sitometrisi yöntemi ile saptanmasını sağlamaktadır. Kit içerisinde bulunan her boncuk (bead) spesifik bir antikor ile konjuge olarak bağlıdır, phycoerythrin (PE)-kojuge antikorlarla muamele edilerek bağlı analitin miktarına göre flüoresan sinyali

oluşturmaktadır. Bu kitin prensibine göre boncuk + analit + PE-kojuge antikor sandviç bir kompleks oluşturarak bu komplekslerde hem PE-kojuge antikorun hem de boncukların flüoresan karakteristikleri flow/akış sitometrisi ile saptanabilmektedir.

Farklı flüoresan yoğunluğu gösteren 6 farklı boncuk popülasyonu IL-6, IL-10, MCP-1, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  ve IL-12p70 proteinleri için spesifik antikorlarla kaplanmıştır. Analiz protokolünde 6 farklı boncuk popülasyonunu içeren boncuk karışımı standartlar veya örneklerle inkübe edilmiştir. Daha sonra ise PE-kojuge antikorlarla inkübasyon gerçekleştirilerek sandviç komplekslerin oluşması sağlanmıştır. Standartlar rekombinant fare proteinlerini içermektedir. Her sandviç kompleksinin PE flüoresan yoğunluğu o sitokinin konsantrasyonunu vermektedir ve 585-675 nm dalga boyu aralıklarında flüoresan yoğunluğu ölçülebilen flow/akış sitometrisi ile saptanabilmektedir (BD Accuri C6, Becton Dickinson Company, ABD). Analiz sonuçları ve grafikleri elde etmek için BD Accuri C6 Software (Becton Dickinson Company, ABD) yazılımı kullanılmıştır.

### **3.7. Plazma ve Beyin Dokularında CD36 Analizi**

Plazma ve beyin dokusu supernatantlarında CD36 konsantrasyonu kolorimetrik/ELISA yöntemini kullanan hazır kitler (#E2661Mo, Bioassay Technology Laboratory, Şanghay, Çin) yardımıyla analiz edilmiştir. Fare CD36 antikoruna ile kaplı olan mikropłaka örneklerin yerleştirilmesine hazırdır. Örneklerin içerisinde bulunan CD36 proteini mikropłakanın kuyularında bulunan antikora bağlanmıştır. Örneklerde bulunan CD36 proteinine bağlanmak üzere biyotinlenmiş Fare CD36 antikoruna kuyulara eklenmiştir. Biyotinlenmiş CD36 antikoruna bağlanmak üzere streptavidin-horseradish peroxidase (Streptavidin-HRP) kuyulara eklenmiştir. İnkübasyondan sonra bağlı olmayan Streptavidin-HRP ortamdaki uzaklaştırılmıştır. HRP için substrat eklenerek renk değişimi gözlenmiştir. Bu renk değişimi reaksiyonunu durdurabilmek için asit solüsyonu eklendikten sonra sabitlenen rengi analiz etmek üzere kolorimetrik mikropłaka okuyucu (Chrommate 4300, Awareness Technology Inc, ABD) kullanılarak absorbans 450 nm'de ölçülmüştür. CD36 konsantrasyonu bilinen standart solüsyonu kullanılarak ölçülen absorbans değerleri ile "CD36 standart eğrisi" çizilmiştir. Bu eğri kullanılarak her bir örneğin içerdiği CD36 konsantrasyonu hesaplanmıştır. Uygulanan dilüsyon oranına ve beyin dokusu

supernatantının protein miktarına göre gerekli düzeltmeler yapılarak örneklerin içerdiği CD36 düzeyi belirlenmiştir.

### **3.8. Plazma ve Beyin Dokularında GFAP Analizi**

Plazma ve beyin dokusu supernatantlarında GFAP konsantrasyonunu kolorimetrik/ELISA yöntemi kullanılarak hazır kitler (#E0367Mo, Bioassay Technology Laboratory, Şanghay, Çin) yardımıyla analiz edilmiştir. Fare GFAP antikoru ile kaplı olan mikropłaka örneklerin yerleştirilmesine hazırdır. Örneklerin içerisinde bulunan GFAP proteini mikropłakanın kuyularında bulunan antikora bağlanmıştır. Örneklerdeki GFAP proteinine bağlanmak üzere biyotinlenmiş Fare GFAP antikoru eklenmiştir. Biyotinlenmiş GFAP antikoru bağlanmak üzere streptavidin-horseradish peroxidase (Streptavidin-HRP) eklenmiştir. İnkübasyondan sonra bağlı olmayan Streptavidin-HRP ortamdan uzaklaştırılmıştır. HRP için substrat eklenerek renk değişimi gözlenmiştir. Bu renk değişimi reaksiyonunu durdurabilmek için asit solüsyonu eklendikten sonra sabitlenen rengi analiz etmek üzere kolorimetrik mikropłaka okuyucu (Chrommate 4300, Awareness Technology Inc, ABD) kullanılarak absorbans 450 nm’de ölçülmüştür. GFAP konsantrasyonu bilinen standart solüsyonu kullanılarak ölçülen absorbans değerleri ile “GFAP standart eğrisi” çizilmiştir. Bu eğri kullanılarak her bir örneğin içerdiği GFAP konsantrasyonu hesaplanmıştır. Uygulanan dilüsyon oranına ve beyin dokusu supernatantının protein miktarına göre gerekli düzeltmeler yapılarak örneklerin içerdiği GFAP düzeyi belirlenmiştir.

### **3.9. İnflamasyonda Görevli Bazı Proteinlerin Gen Ekspresyonu Analizi**

Moleküler düzeyde inflamasyon belirteci olarak kullanılabilen ve nöroinflamasyonda temel pro-inflamatuvar göstergeler olarak kabul edilen TNF- $\alpha$  ve IL-6 moleküllerinin gen ekspresyonu nicel gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR: quantitative real time polimerase chain reaction) yöntemiyle beyin dokusunda saptanmıştır. Gerçek zamanlı PCR (RT-qPCR) analizleri sırasında gerekli olan materyaller ve kimyasalların seçimi ile adapte edilmiş protokollerin uygulanması sırasında Diagen Biyoteknolojik Sistemler A.Ş. (Türkiye)’den destek alınmıştır.

### 3.9.1. Nükleik Asit Ekstraksiyon İşlemi

Trizol Reagent kullanılarak yapılan ekstraksiyon işlemleri faz ayrımı ve bir dizi nükleik asit çöktürme yöntemine dayanmaktadır. Farelerin beyin dokularından 50-100 mg doku mikrosantrifüj tüplere aktararak içerisine 1 ml TRIZOL reagent solüsyonu ve manyetik boncuk ilave edilmiştir. Doku Süspansiyonları FP120 FASTPREP (Thermo Fisher Scientific, USA) homojenizatör cihazında 4.0 hızda 20 sn parçalanmıştır. Liziz ve faz ayrımı işlemlerini gerçekleştirmek üzere süspansiyon oda sıcaklığında 5 dk bekletilmiştir. Süspansiyona 200 µl kloroform eklenerek, dikkatlice karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 2 dk bekletildikten sonra 12000 G hızda 15 dk +4°C sıcaklıkta santrifüj işlemi uygulanmıştır. Farklı bir mikrosantrifüj tüpe aktarılan süpernatant içerisine 0,5 ml -20°C sıcaklıkta isopropanol eklenerek dikkatlice karıştırılmıştır. Karışım 10 dk -20°C sıcaklıkta bekletildikten sonra 12,000 G hızda 10 dk +4°C sıcaklıkta santrifüj işlemi uygulanmıştır. Süpernatant kısmı atılarak oluşan nükleik asit pelleti 1 ml %75 etanol ile 7500 G hızda 5 dk +4°C sıcaklıkta tekrar santrifüj yapılarak yıkanmıştır. Üst faz mikrosantrifüj tüpünden uzaklaştırılarak, RNA pelleti kuruyana kadar (15-30 dk) oda sıcaklığında bekletilmiştir. 100 µl nükleaz-free elution buffer eklenerek pellet süspansiyon edilerek, numunelere ait total RNA'lar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

### 3.9.2. Nükleik Asit Miktar Tayini

Total RNA ekstraksiyon işleminden elde edilen numunelere ait nükleik asit yükleri (ng değerleri) çalışmanın sonraki basamaklarında kullanılmak üzere belirli bir ng değerine sabitlenmiştir. Bu işlem qPCR aşamasında tutarsız sonuçların önüne geçilebilmesi için önemlidir. Örneklerin RNA ölçümleri gerçekleştirilmiştir (Berthold Technologies GmbH & Co. KG, Almanya).

### 3.9.3. Reverse Transcriptase (cDNA) İşlemi

mRNA gen ekspresyonu çalışmalarında pre-mRNA ve mature-mRNA yapılarının tespiti için Oligo(dT) ve Random Hexamer primerleri ile Revers Transkriptaz işlemi yapılmıştır. Bu primerler mRNA zincirini uzatarak bir yapıyı kararlı hale getirmektedir. Daha sonra Reverse Transkriptaz enzimi mRNA dizisinin

karşı kopyasını sentezlemiştir. Elde edilen cDNA, standart PCR için bir şablon olarak kullanılmıştır (168, 169). Revers transkripsiyon işlemi gerçekleştirilmiştir (Thermo Fisher Scientific, USA). Protokolde, 25 °C 10 dk primer bağlaması, 50 °C 15 dk reverse transkripsiyon işlemi, 85°C 5 dk enzim inaktivasyonu gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon sonunda enzim, 85 °C’de 5 dk ’da inaktive edilerek, cDNA ürünleri -20 °C’de uzun süre muhafaza edilmiştir (168, 169).

### 3.9.4. Gen Ekspresyon Primer Tasarım ve Bağlanma Sıcaklıkları

Çalışma kapsamında RT-qPCR yöntemi kullanılarak IL6 ve TNF- $\alpha$  genlerinin ekspresyon seviyeleri saptanmıştır. RT-qPCR cihazları her döngü sonunda flüoresan şiddetini saptayan fluometre ve thermal cycler’den meydana gelmektedir (Bio-Rad Laboratories, ABD). Ters transkriptaz işlemiyle RNA’lardan çift iplikli yapıya dönüştürülen cDNA zincirleri arasına girerek flüoresan ışığa veren SYBR Green I boyası, gen ekspresyon analizlerinde sıklıkla kullanılmaktadır (168, 169). Bu çalışmada gen ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi için SensiFAST™ SYBR® No-ROX Kit (Bioline, UK) kullanılmıştır. Tasarımları tamamlanan primer setlerinin optimizasyonları yapılarak bağlanma sıcaklıkları belirlenmiştir (Tablo 3.2.). Her bir Gen bölgesi için uygun bağlanma sıcaklıkları (T<sub>m</sub>) değerinde kurulumlar gerçekleştirilmiş ve döngü eğrileri ve Melting Curve verileri incelenmiştir.

**Tablo 3.2.** Kullanılan primerlerin özellikleri.

Primer Adı	Sekans (5'→3')	Uzunluk	T <sub>m</sub> °C
IL6-mmu-F	CCTGTCTATAACCACTTCAC	19	64°C
IL6-mmu-R	GCATCATCGTTGTTTCATAC	19	
TNF-mmu-F	CCAAAGGGATGAGAAGTTC	19	61 °C
TNF-mmu-R	GCTACAGGCTTGTCCT	17	
ACTB-mmu-F	TGAAGATCAAGATCATTGCT	20	59 °C
ACTB-mmu-R	GAAGGTGGACAGTGAGG	17	

### 3.9.5. Gerçek Zamanlı qPCR mRNA Analizi

Moleküler düzeyde inflamasyon belirteci olarak TNF- $\alpha$  ve IL-6 moleküllerinin gen ekspresyonu analizinin son aşamasında mRNA dizileriyle oluşturulan cDNA zincirleri, relative ekspresyon analizlerinde kullanılmıştır. Tüm diyet müdahale gruplarında bulunan örneklerin hepsi ayrı ayrı ilgili mRNA ve ona uygun referans genine ait dizilerin RT-qPCR cihazı ile çoğaltılması sağlanmıştır. İşlem sonucunda cihazdan alınan veriler  $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$  metodu ile değerlendirilmiştir. 40 döngü üzerinden yapılan çalışmalarda flüoresan değerinin eşik değerini geçtiği (Threshold çizgisini kestiği) noktadan alınan eşik değeri (Ct, Cp, Cq) hesaplamalarda kullanılmıştır (168, 169). Referans gen baz alınarak sonuçlar normalize edilmiştir.

### 3.10. Beyin ve Karaciğer Dokularının Histopatolojik İncelemesi

#### 3.10.1. Doku Örneklerinin Hazırlanması

Deney sonunda farelerden alınan karaciğer ve beyin dokuları %10'luk formaldehit solüsyonunda histolojik incelemeler için saklanmaktadır. Dokular %10'luk formaldehit solüsyonunda bekletildikten sonra artan alkol serilerinden (%50, %70, %96, absolut alkol x 3) geçirilerek suyu uzaklaştırılmıştır. Ksilen ile muamele edilen kesitler 4 saat eriyik parafinde bekletildikten sonra bloklanarak kesit almaya hazır hale getirilmiştir. 5  $\mu\text{m}$ 'luk kesitler polilizin kaplı lamlara yayılmıştır. Bu kesitler kullanılarak karaciğer dokuları için hematoksilin eozin (HE) ile histopatolojik inceleme, beyin dokuları için ise IL-6 immunohistokimyasal boyaması gerçekleştirilmiştir.

#### 3.10.2. Beyin Dokusunun İmmünohistokimyasal Boyanması

Beyin dokularında IL-6 immunoreaktivitesini belirlemek amacıyla immunohistokimya boyama prosedürü uygulanmıştır. Bir gece 60°C'lik etüvde bekletilen kesitler önce ksilen sonra dereceli alkol serilerinden geçirilmiştir. Yıkama solüsyonu olarak fosfat tampon (PBS) kullanılmıştır. Kesitlere antijen geri kazanımı için %5'lik sitrat tamponu ile mikrodalga fırında muamele edilmiştir. Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)'de bekletilen kesitler PBS ile yıkanmıştır. Bu basamaktan sonraki işlemler ticari immunohistokimya boyama kiti (LabVision, Ultra Vision Detection

System Large Volume Anti-Polyvalent, ThermoScientific) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. IL-6 immunoreaktiviteleri görünür hale getirmek için diamino benzidin (DAB) (DAB Plus Substrate System, ThermoScientific) uygulanmış ve kesitler suyla yıkanmıştır. Gill hematoxilen ile karşıt boyanan kesitler tekrar suyla yıkanarak önce alkol sonra ksilen basamaklarından geçirilerek kapatılmıştır. Tüm beyin dokularının korteks tabakasından resimler alınmıştır. IL-6 immunoreaktivitesi her grupta toplam yüz alan olacak şekilde ImageJ programı kullanılarak ölçülmüştür.

### **3.10.3. Karaciğer Dokusunun Histopatolojik İncelemesi**

Karaciğer kesitleri etüvde bekletildikten sonra ksilene alınarak fazla parafini uzaklaştırılmıştır. Daha sonra azalan dereceli alkol serilerinden geçirilerek suyla yıkanmıştır. Hematoxilen boya solüsyonunda bekletildikten sonra suyla yıkanan kesitler Eozin solüsyonuna alınmıştır. Tekrar suyla yıkanan kesitler artan dereceli alkol serilerinden geçirilerek ksilende bekletilmiştir. Kapatıcı uygulanan kesitler lamelle kapatılarak hazır hale getirilmiştir. Boyama sonrası kesitler incelenerek hepatosit dejenerasyonu, mikroveziküler steatozis, inflamatuvar hücre infiltrasyonu lobüler ve portal alanlar skorlanmıştır. Skorlama 0 (yok), 1 (hafif), 2 (orta) ve 3 (şiddetli) olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

### **3.11. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi**

Çalışmadan elde edilen veriler IBM SPSS (Statistical Package for Social Science) 23.0 programı ile analiz edilmiştir (SPSS Inc., Chicago, IL, USA, 2011). Öncelikle normallik testleri ile verilerin dağılımı ve çarpıklığı değerlendirilerek veriler ortalama ( $\chi$ ) ve standart hata (SEM) olarak ifade edilmiştir. Bağımsız gruplar arasındaki farkın karşılaştırılmasında sayısal/nicel verilere uygun olan parametrik (One-Way ANOVA, t testi) veya parametrik olmayan (Kruskal Wallis, Mann-Whitney U testi) hipotez testleri kullanılmıştır. Gerektiğinde gruplar arası farkın analiz edilmesi için Tukey's post hoc testi uygulanmıştır. Tekrarlanan ölçümler (yem tüketimi, su tüketimi, enerji ve makro besin ögesi alımları, vücut ağırlıkları, vücut ağırlıkları değişimleri) için Tekrarlı Ölçümler Varyans Analizi (Repeated Measures ANOVA) kullanılmıştır. Sayısal değişkenler arasındaki ilişkinin saptanması için uygun

korelasyon analizleri Spearman/Pearson ile yapılmıştır. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık  $p < 0,05$  düzeyinde değerlendirilmiştir.

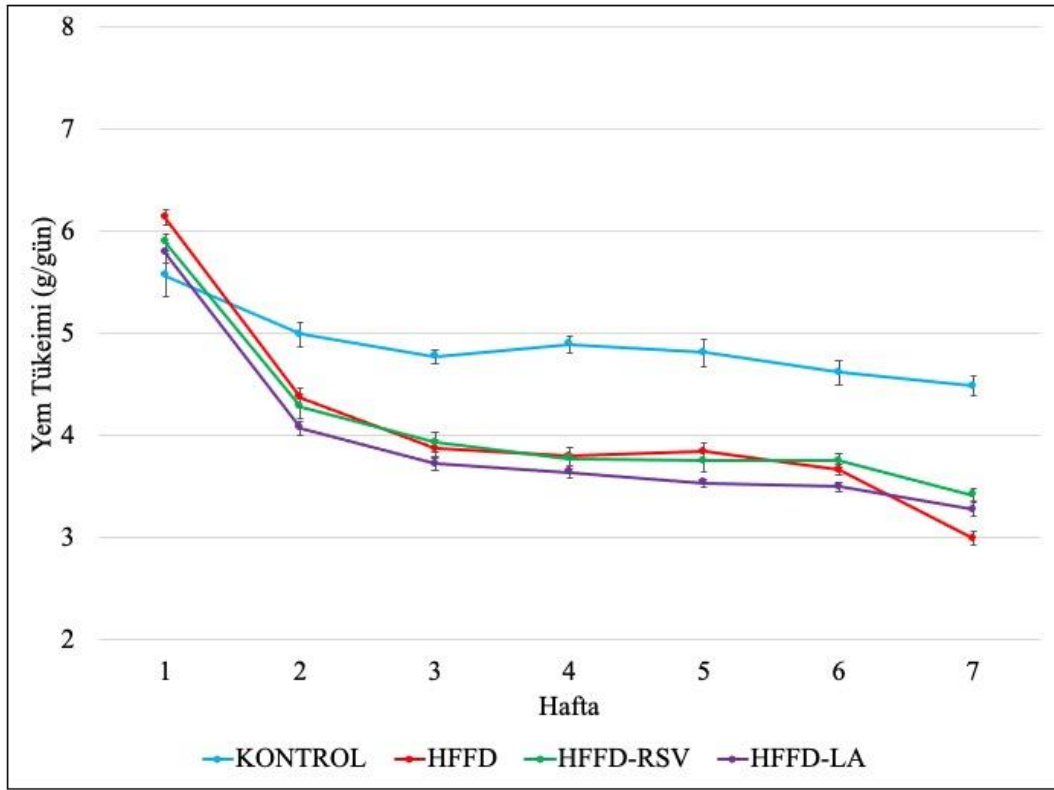


## 4. BULGULAR

Yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyetle alınan resveratrol ve laurik asidin etkilerini belirlemek için çalışmada yer alan C57BL/6 farelere (n=31) ait bulgular 4 farklı diyet grupları arasındaki karşılaştırmaların sonuçları şeklinde verilmiştir. Bulgular arasında, yem, su tüketimleri, enerji alımları ve vücut ağırlıklarına ilişkin bulgular; davranışsal testlere ilişkin bulgular; biyokimyasal bulgular ve beyin dokusunda nöroinflamasyon oluşumuna ilişkin bulgular bulunmaktadır.

### 4.1. Yem ve Su Tüketimleri, Enerji Alımları ve Vücut Ağırlıklarına İlişkin Bulgular

Farelerin günlük ortalama yem tüketimlerinin haftalara göre değişimi Şekil 4.1'de verilmiştir. Farelerin diyet gruplarına göre yem tüketimi, su tüketimi, enerji ve besin ögesi alımları Tablo 4.1'de verilmiştir. Çalışma boyunca farelerin yem tüketimleri diyet müdahalesiyle, zamanla ve diyet-zaman etkileşimine göre değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (D,  $p<0,001$ ; Z,  $p<0,001$ ; DxZ,  $p<0,001$ ) (Tablo 4.1.). Kontrol grubunun ortalama günlük yem tüketimi ( $4,88\pm 0,13$  g/gün) HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarının yem tüketimlerinden (sırasıyla;  $4,09\pm 0,37$ ,  $4,12\pm 0,31$ ,  $3,93\pm 0,32$  g/gün) yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA grupları arasında fark bulunmamıştır (Tablo 4.1.).



**Şekil 4.1.** Farelerin yem tüketimlerinin çalışma süresince değişimleri. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. Gruplar arasındaki karşılaştırmada Tekrarlı Ölçümler Varyans Analizi (Repeated Measures ANOVA) uygulanmıştır (D,  $p < 0,001$ ; Z,  $p < 0,001$ ; DxZ,  $p < 0,001$ ).

**Tablo 4.1.** Farelerin diyet gruplarına göre yem ve su tüketimi, enerji ve besin ögesi alımları.

Ölçümler	Diyet Grubu				Tekrarlı Ölçümler*		
	Kontrol	HFFD	HFFD-RSV	HFFD-LA	D (p)	Z (p)	DxZ (p)
Yem Tüketimi (g/gün)	4,88±0,13 <sup>a</sup>	4,09±0,37 <sup>b</sup>	4,12±0,31 <sup>b</sup>	3,93±0,32 <sup>b</sup>	<0,001	<0,001	<0,001
Su tüketimi (mL/gün)	9,32±0,24 <sup>a</sup>	8,87±0,37 <sup>a</sup>	9,46±0,26 <sup>a</sup>	9,70±0,35 <sup>a</sup>	0,318	0,065	0,857
Enerji (kkal/gün)	18,63±0,50 <sup>a</sup>	21,51±1,94 <sup>b</sup>	21,63±1,62 <sup>b</sup>	20,68±1,68 <sup>b</sup>	<0,001	<0,001	<0,001
Karbonhidrat (g/gün)	3,47±0,09 <sup>a</sup>	1,73±0,13 <sup>b</sup>	1,76±0,10 <sup>b</sup>	1,71±0,11 <sup>b</sup>	<0,001	<0,001	0,840
Fruktoz (g/gün)	0,00±0,00 <sup>a</sup>	1,02±0,06 <sup>b</sup>	1,05±0,05 <sup>b</sup>	1,03±0,05 <sup>b</sup>	<0,001	<0,001	<0,001
Posa (g/gün)	23,11±0,62 <sup>a</sup>	26,45±2,41 <sup>b</sup>	26,58±2,02 <sup>b</sup>	25,40±2,09 <sup>ab</sup>	<0,001	<0,001	<0,001
Protein (g/gün)	0,94±0,02 <sup>a</sup>	1,07±0,09 <sup>b</sup>	1,08±0,08 <sup>b</sup>	1,03±0,08 <sup>ab</sup>	<0,001	<0,001	<0,001
Yağ (g/gün)	0,21±0,01 <sup>a</sup>	1,43±0,13 <sup>b</sup>	1,43±0,11 <sup>b</sup>	1,37±0,11 <sup>b</sup>	<0,001	<0,001	<0,001
Doymuş yağ (g/gün)	0,10±0,00 <sup>a</sup>	0,88±0,08 <sup>b</sup>	0,89±0,07 <sup>b</sup>	0,85±0,07 <sup>b</sup>	<0,001	<0,001	<0,001
Sodyum (mg/gün)	4,88±0,13 <sup>a</sup>	6,14±0,56 <sup>b</sup>	6,17±0,47 <sup>b</sup>	5,90±0,48 <sup>b</sup>	<0,001	<0,001	<0,001
Karbonhidrat (Enerji %)	71,16±0,00 <sup>a</sup>	28,94±0,39 <sup>b</sup>	29,22±0,32 <sup>b</sup>	29,57±0,36 <sup>b</sup>	<0,001	0,010	0,003
Fruktoz (Enerji %)	0,00±0,00 <sup>a</sup>	19,68±2,16 <sup>b</sup>	19,75±1,76 <sup>b</sup>	19,95±1,63 <sup>b</sup>	<0,001	<0,001	<0,001
Protein (Enerji %)	19,25±0,00 <sup>a</sup>	17,80±0,10 <sup>b</sup>	17,73±0,08 <sup>b</sup>	17,64±0,09 <sup>b</sup>	<0,001	<0,001	0,098
Yağ (Enerji %)	9,59±0,00 <sup>a</sup>	53,26±0,29 <sup>b</sup>	53,04±0,24 <sup>b</sup>	52,78±0,27 <sup>b</sup>	<0,001	<0,001	0,098

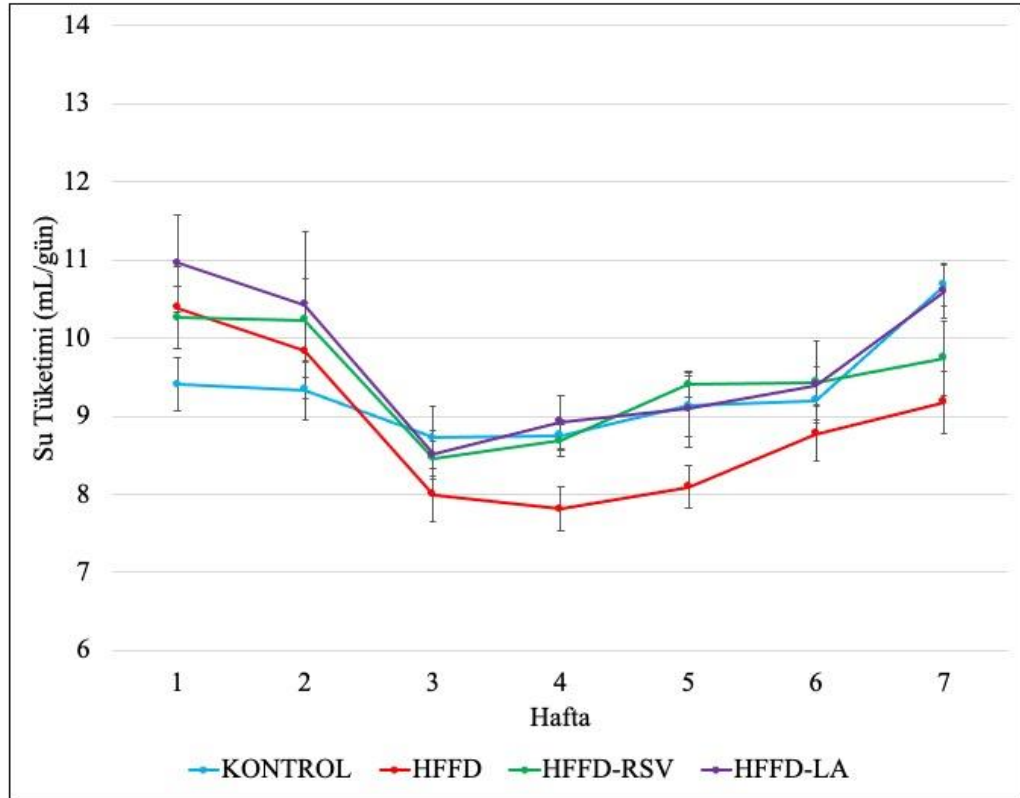
Veriler ortalama  $\pm$  standart hata ( $\bar{X} \pm S_x$ ) olarak gösterilmiştir.

\*Gruplar arasındaki karşılaştırmada Tekrarlı Ölçümler Varyans Analizi (Repeated Measures ANOVA) uygulanmıştır.

<sup>ab</sup>Farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden anlamlı olarak farklıdır (Bonferroni post-hoc testi uygulanmıştır). İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir.

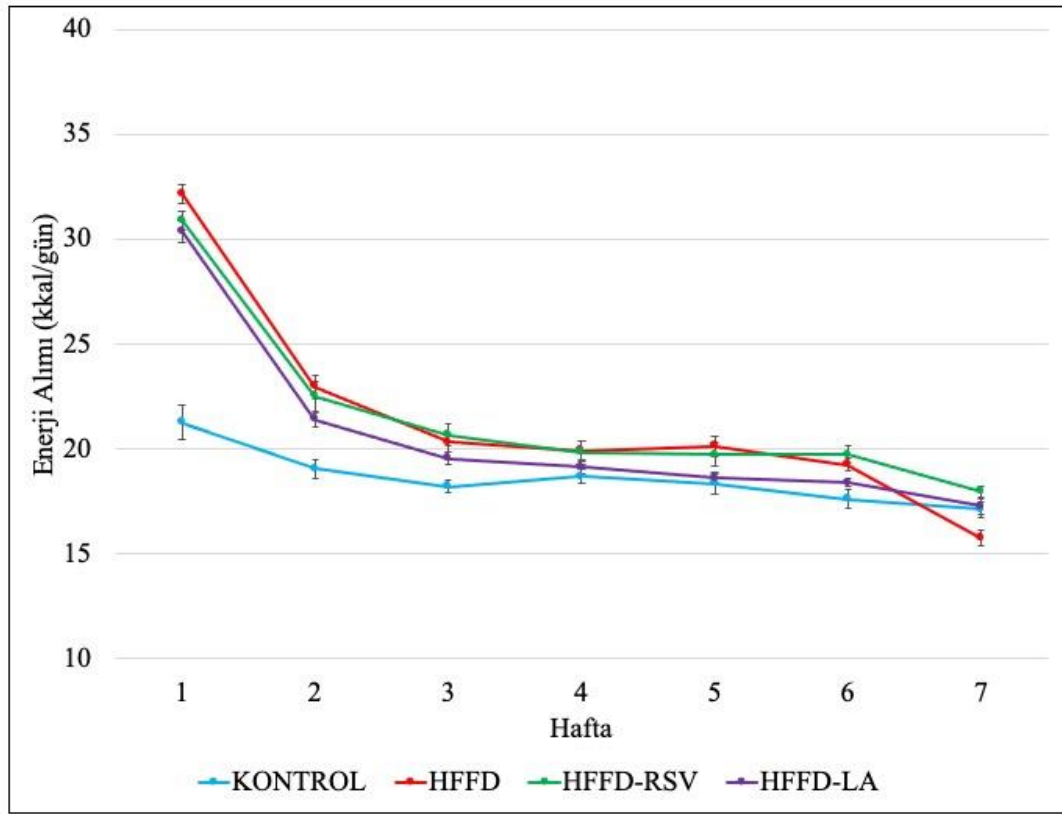
**D**; diyet, **DxZ**; diyet-zaman etkileşimi, **HFFD**; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-RSV**; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-LA**; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **Z**; zaman.

Farelerin ortalama günlük su tüketimlerinin haftalara göre değişimi Şekil 4.2.'de verilmiştir. Farelerin su tüketimlerinin diyet müdahalesi, zaman ve diyet-zaman etkileşimine göre ve gruplar arasında farklılık göstermemiştir ( $p>0,05$ ) (Tablo 4.1.).



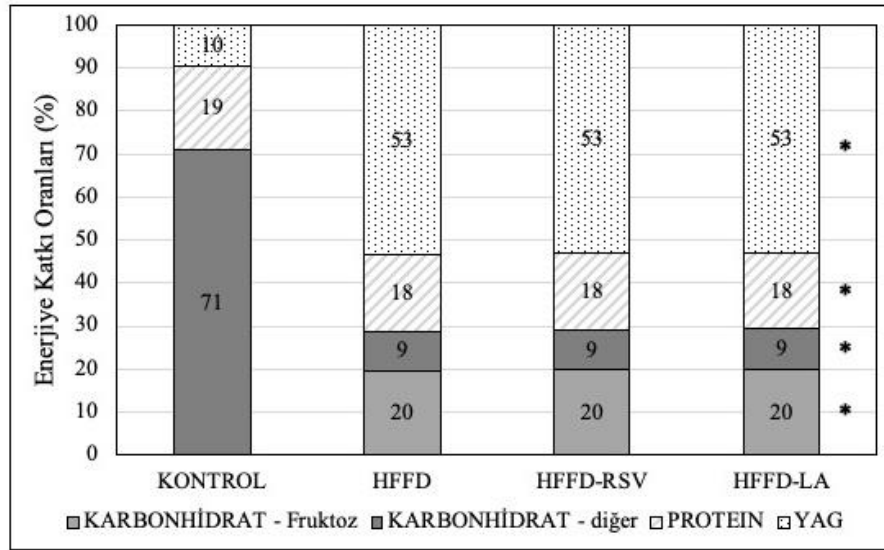
**Şekil 4.2.** Farelerin su tüketimlerinin çalışma süresince değişimleri. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. Gruplar arasındaki karşılaştırmada Tekrarlı Ölçümler Varyans Analizi (Repeated Measures ANOVA) uygulanmıştır ( $p<0,05$ ).

Farelerin günlük ortalama enerji alımlarının haftalara göre değişimi Şekil 4.3.'de verilmiştir. Farelerin toplam günlük enerji alımlarının diyet müdahalesi, zaman ve diyet-zaman etkileşimine göre değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (D,  $p<0,001$ , Z,  $p<0,001$ , DxZ,  $p<0,001$ ) (Tablo 4.1.) HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarının toplam günlük enerji alımları (sırasıyla;  $21,51\pm 1,94$ ,  $21,63\pm 1,62$ ,  $20,68\pm 1,68$  kkal/gün) kontrol grubundan ( $18,63\pm 0,50$  kkal/gün) yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA grupları arasında fark yoktur (Tablo 4.1.).



**Şekil 4.3.** Farelerin enerji alımlarının çalışma süresince değişimleri. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. Gruplar arasındaki karşılaştırmada Tekrarlı Ölçümler Varyans Analizi (Repeated Measures ANOVA) uygulanmıştır (D,  $p<0,001$ ; Z,  $p<0,001$ ; DxZ,  $p<0,001$ ).

Farelerin günlük ortalama enerji alımlarının makro besin öğelerine göre oranları Şekil 4.4’da verilmiştir. Farelerin günlük ortalama enerji alımlarının toplam karbonhidrattan gelen oranlarının diyet müdahalesi, zaman ve diyet-zaman etkileşimine göre değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (D,  $p<0,001$ , Z,  $p=0,010$ , DxZ,  $p=0,003$ ) (Tablo 4.1.). HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarının günlük enerji alımlarının toplam karbonhidrattan gelen oranları (sırasıyla;  $28,94\pm0,39$ ,  $29,22\pm0,32$ ,  $29,57\pm0,36$  enerji %) kontrol grubundan ( $71,16\pm0,00$  enerji %) düşüktür ( $p<0,05$ ). HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 4.1.).



**Şekil 4.4.** Diyetle alınan enerjinin makro besin öğelerine göre oranlarının ortalaması. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. Gruplar arasındaki karşılaştırmada Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir. \*Tüm diyet grupları arasında anlamlı bir farklılık vardır.

Farelerin günlük ortalama enerji alımlarının fruktozdan gelen oranlarının diyet müdahalesi, zaman ve diyet-zaman etkileşimine göre değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (D,  $p < 0,001$ , Z,  $p < 0,001$ , DxZ,  $p < 0,001$ ) (Tablo 4.1.). HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarının günlük ortalama enerji alımlarının fruktozdan gelen oranları (sırasıyla;  $19,68 \pm 2,16$ ,  $19,75 \pm 1,76$ ,  $19,95 \pm 1,63$  enerji %) kontrol grubundan ( $0,00 \pm 0,00$  enerji %) yüksektir ( $p < 0,05$ ). HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 4.1.).

Farelerin günlük ortalama enerji alımlarının proteinden gelen oranlarının diyet müdahalesi ve zamana göre değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (D,  $p < 0,001$ , Z,  $p < 0,001$ ) (Tablo 4.1.). HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarının günlük ortalama enerji alımlarının proteinden gelen oranları (sırasıyla;  $17,80 \pm 0,10$ ,  $17,73 \pm 0,08$ ,  $17,64 \pm 0,09$  enerji %) kontrol grubundan ( $19,25 \pm 0,00$  enerji %) düşük bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 4.1.).

Farelerin günlük ortalama enerji alımlarının yağdan gelen oranlarının diyet müdahalesi ve zamana göre değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (D,  $p<0,001$ , Z,  $p<0,001$ ) (Tablo 4.1.). HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarının günlük ortalama enerji alımlarının yağdan gelen oranları (sırasıyla;  $53,26\pm0,29$ ,  $53,04\pm0,24$ ,  $52,78\pm0,27$  enerji %) kontrol grubundan ( $9,59\pm0,00$  enerji %) yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 4.1.).

Farelerin günlük ortalama karbonhidrat alımlarının diyet müdahalesi ve zamana göre değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (D,  $p<0,001$ , Z,  $p<0,001$ ) (Tablo 4.1.). HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarının günlük karbonhidrat alımları (sırasıyla;  $1,73\pm0,13$ ,  $1,76\pm0,10$ ,  $1,71\pm0,11$  g/gün) kontrol grubundan ( $3,47\pm0,09$  g/gün) düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ). HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 4.1.).

Farelerin günlük ortalama fruktoz alımlarının diyet müdahalesi, zaman ve diyet-zaman etkileşimine göre değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (D,  $p<0,001$ , Z,  $p<0,001$ , DxZ,  $p<0,001$ ) (Tablo 4.1.). HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarının günlük fruktoz alımları (sırasıyla;  $1,02\pm0,06$ ,  $1,05\pm0,05$ ,  $1,03\pm0,05$  g/gün) kontrol grubundan ( $0,00\pm0,00$  g/gün) yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 4.1.).

Farelerin günlük ortalama posa alımlarının diyet müdahalesi, zaman ve diyet-zaman etkileşimine göre değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (D,  $p<0,001$ , Z,  $p<0,001$ , DxZ,  $p<0,001$ ) (Tablo 4.1.). HFFD ve HFFD-RSV gruplarının günlük posa alımları (sırasıyla;  $26,45\pm2,41$ ,  $26,58\pm2,02$  g/gün) kontrol grubundan ( $23,11\pm0,62$  g/gün) yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). HFFD-LA ( $25,40\pm2,09$  g/gün) grubunun günlük posa alım diğer gruplardan farklı bulunmamıştır (Tablo 4.1.).

Farelerin günlük ortalama protein alımlarının diyet müdahalesi, zaman ve diyet-zaman etkileşimine göre değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (D,  $p<0,001$ , Z,  $p<0,001$ , DxZ,  $p<0,001$ ) (Tablo 4.1.). HFFD ve HFFD-RSV gruplarının günlük protein alımları (sırasıyla;  $1,07\pm0,09$ ,  $1,08\pm0,08$  g/gün) kontrol grubundan ( $0,94\pm0,02$  g/gün) yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA ( $1,03\pm0,08$  g/gün) grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 4.1.).

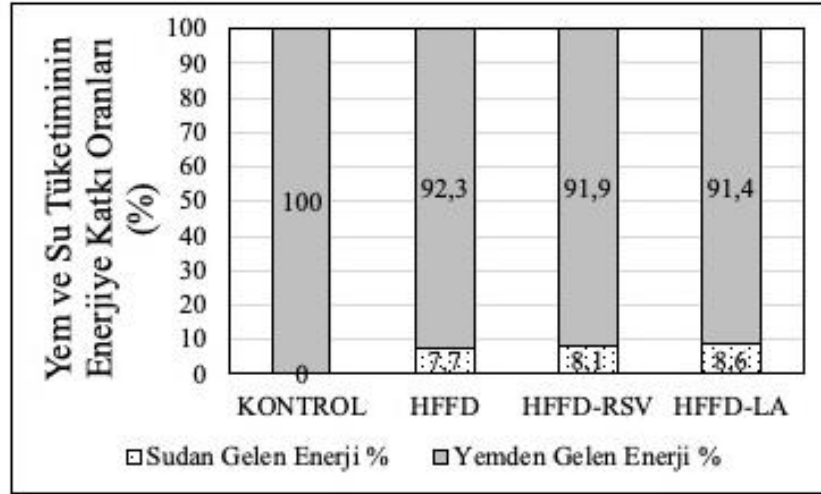
Farelerin günlük ortalama yağ alımlarının diyet müdahalesi, zaman ve diyet-zaman etkileşimine göre değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (D,  $p<0,001$ , Z,  $p<0,001$ , DxZ,  $p<0,001$ ) (Tablo 4.1.). HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarının günlük yağ alımları (sırasıyla;  $1,43\pm0,13$ ,  $1,43\pm0,11$ ,  $1,37\pm0,11$  g/gün) kontrol grubundan ( $0,21\pm0,01$  g/gün) yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 4.1.).

Farelerin günlük ortalama doymuş yağ alımlarının diyet müdahalesi, zaman ve diyet-zaman etkileşimine göre değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (D,  $p<0,001$ , Z,  $p<0,001$ , DxZ,  $p<0,001$ ) (Tablo 4.1.). HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarının günlük doymuş yağ alımları (sırasıyla;  $0,88\pm0,08$ ,  $0,89\pm0,07$ ,  $0,85\pm0,07$  g/gün) kontrol grubundan ( $0,10\pm0,00$  g/gün) yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 4.1.).

Farelerin günlük ortalama sodyum alımlarının diyet müdahalesi, zaman ve diyet-zaman etkileşimine göre değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (D,  $p<0,001$ , Z,  $p<0,001$ , DxZ,  $p<0,001$ ) (Tablo 4.1.). HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarının günlük sodyum alımları (sırasıyla;  $6,14\pm0,56$ ,  $6,17\pm0,47$ ,  $5,90\pm0,48$  mg/gün) kontrol grubundan ( $4,88\pm0,13$  mg/gün) yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 4.1.).

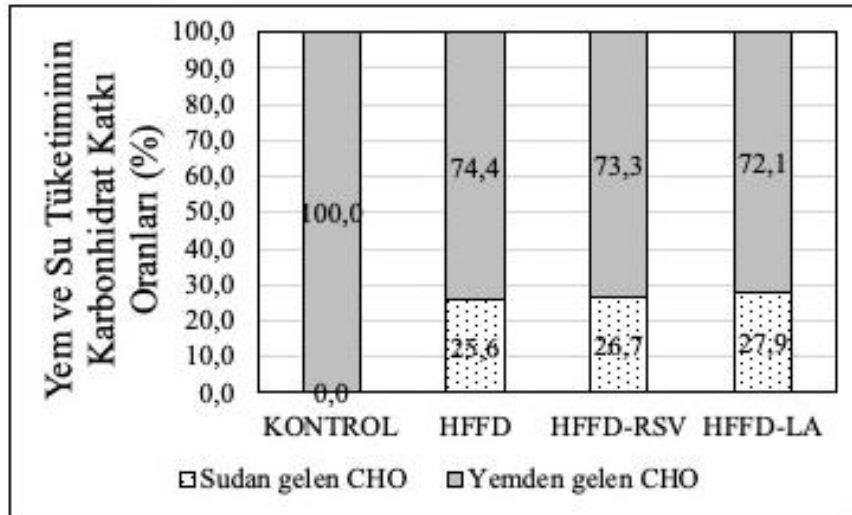
Farelerin yem ve su tüketimlerinin toplam enerji alımına katkı oranları Şekil 7’de verilmiştir. Kontrol grubunun yem tüketiminin toplam enerji alımına katkısı % 100 iken HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarının su tüketimleri toplam enerji alımına katkı sağlamaktadır (sırasıyla; %7,7, %8,1, %8,6) (Şekil 4.5.).





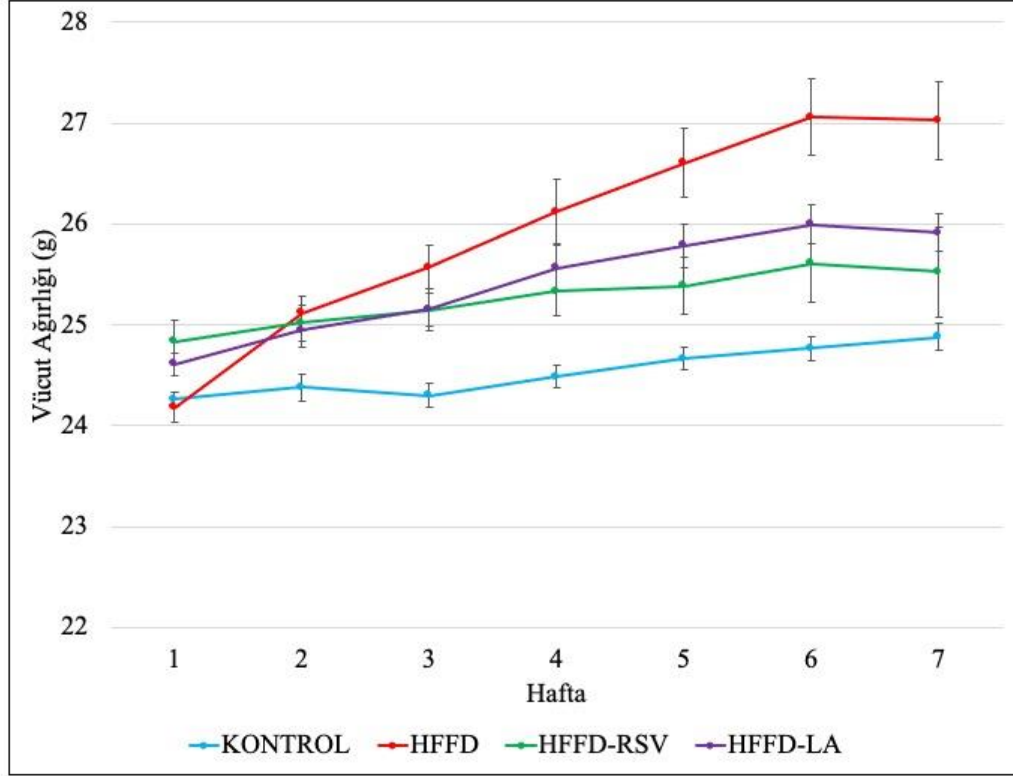
**Şekil 4.5.** Farelerin yem ve su tüketimlerinin toplam enerji alımına katkı oranlarının ortalaması. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet.

Farelerin yem ve su tüketimlerinin toplam karbonhidrat alımına katkı oranları Şekil 4.6'de verilmiştir. Kontrol grubunun yem tüketiminin toplam karbonhidrat alımına katkısı %100 iken HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarının su tüketimleri toplam karbonhidrat alımına katkı sağlamaktadır (sırasıyla; %25,6, %26,7, %27,9) (Şekil 6.).



**Şekil 4.6.** Farelerin yem ve su tüketimlerinin toplam karbonhidrat alımına katkı oranlarının ortalaması. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet.

Farelerin vücut ağırlığının çalışma süresince değişimleri Şekil 4.7’de verilmiştir. Çalışma sonunda farelerin vücut ağırlığı gruplar arasında istatistiksel olarak farklı değildir ancak anlamlılık yönünde bir eğilim vardır ( $p=0,096$ ) (Şekil 4.7.).



**Şekil 4.7.** Farelerin vücut ağırlığının çalışma süresince değişimleri. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. Gruplar arasındaki karşılaştırmada Tekrarlı Ölçümler Varyans Analizi (Repeated Measures ANOVA) uygulanmıştır (D,  $p<0,001$ ; Z,  $p<0,001$ ; DxZ,  $p<0,001$ ).

Farelerin diyet gruplarına göre ortalama vücut ağırlığı değişimleri Tablo 4.2’de verilmiştir. Farelerin günlük ortalama vücut ağırlıklarının diyet müdahalesi ve zamana göre değişimi ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (D,  $p<0,001$ , Z,  $p<0,001$ ) (Tablo 4.2.). Farelerin günlük ortalama vücut ağırlığının kontrol grubunda ( $24,53\pm0,09$  g) HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarından (sırasıyla;  $25,95\pm0,40$ ,  $25,26\pm0,10$ ,  $25,43\pm0,20$  g) düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Tablo 4.). Farelerin haftalık ortalama vücut ağırlığı artışının diyet müdahalesine göre değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (D,  $p<0,001$ ) (Tablo 4.2.). HFFD ( $0,42\pm0,12$  g/hafta) grubunun

haftalık ortalama vücut ağırlığı artışı kontrol grubundan ( $0,10\pm 0,03$  g/hafta) yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarının haftalık ortalama vücut ağırlığı artışı (sırasıyla;  $0,12\pm 0,04$ ,  $0,36\pm 0,15$  g/hafta) diğer gruplardan farklı değildir ( $p>0,05$ ) (Tablo 4.2.).

**Tablo 4.2.** Farelerin diyet gruplarına göre vücut ağırlığı değişimleri.

Ölçümler	Diyet Grubu				Tekrarlı Ölçümler*		
	Kontrol	HFFD	HFFD-RSV	HFFD-LA	D (p)	Z (p)	DxZ (p)
Vücut ağırlığı (g)	24,53±0,09 <sup>a</sup>	25,95±0,40 <sup>b</sup>	25,26±0,10 <sup>b</sup>	25,43±0,20 <sup>b</sup>	<0,001	<0,001	0,022
Vücut ağırlığı artışı (g/hafta)	0,10±0,03 <sup>a</sup>	0,42±0,12 <sup>b</sup>	0,12±0,04 <sup>ab</sup>	0,36±0,15 <sup>ab</sup>	<0,001	0,179	0,239

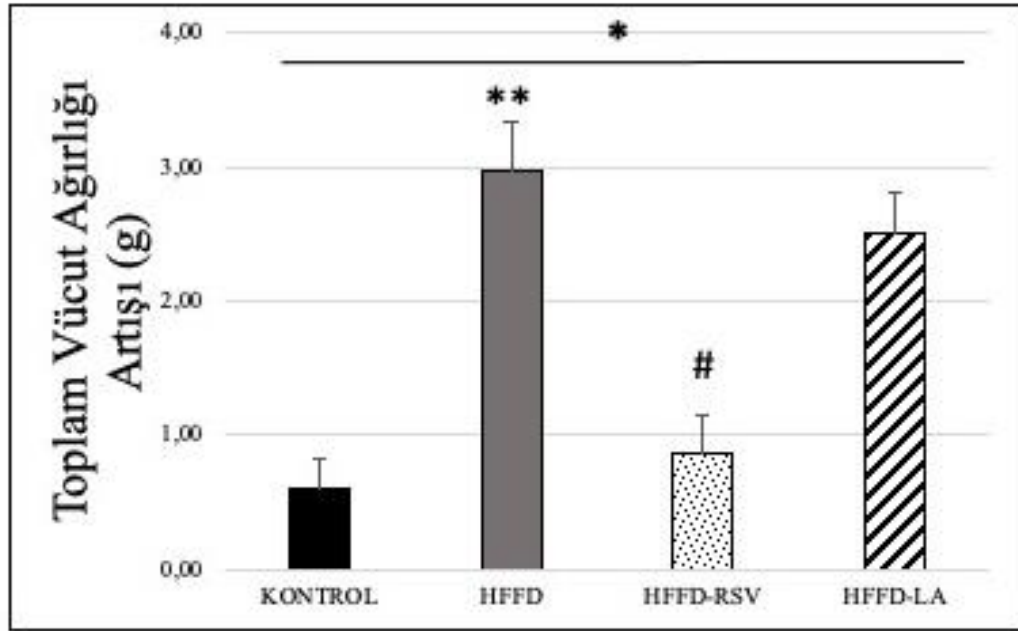
Veriler ortalama  $\pm$  standart hata ( $\bar{X} \pm Sx$ ) olarak gösterilmiştir.

\*Gruplar arasındaki karşılaştırmada Tekrarlı Ölçümler Varyans Analizi (Repeated Measures ANOVA) uygulanmıştır.

<sup>ab</sup>Farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden anlamlı olarak farklıdır (Bonferroni post-hoc testi uygulanmıştır). İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir.

**D**; diyet, **DxZ**; diyet-zaman etkileşimi, **HFFD**; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-RSV**; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-LA**; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **Z**; zaman.

Farelerin diyet gruplarına göre çalışma boyunca ortalama toplam vücut ağırlığı artışı Şekil 4.8’de verilmiştir. Farelerin diyet gruplarına göre antropometrik ölçümleri Tablo 4.3’de verilmiştir. HFFD grubunun çalışma boyunca toplam vücut ağırlığı artışı ortalaması ( $2,97 \pm 0,71$  g) kontrol grubundan ( $0,61 \pm 0,41$  g) yüksek bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). HFFD-RSV grubunun çalışma boyunca toplam vücut ağırlığı artışı ortalaması ( $0,87 \pm 0,57$  g) HFFD grubundan düşük bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). HFFD-LA grubunun çalışma boyunca toplam vücut ağırlığı artışı ortalaması ( $2,50 \pm 0,62$  g) diğer diyet gruplarından farklı bulunmamıştır (Şekil 4.8., Tablo 4.3.). Farelerin başlangıç vücut ağırlığı gruplar arasında istatistiksel olarak farklı değildir ( $p > 0,05$ ). Farelerin son vücut ağırlığı gruplar arasında istatistiksel olarak farklı değildir ancak anlamlılık yönünde bir eğilim vardır ( $p = 0,096$ ). Farelerin çalışma sonunda nazo-anal uzunlukları ve Lee indeks değerleri gruplar arasında istatistiksel olarak farklı değildir ( $p > 0,05$ ) (Tablo 4.3.).



**Şekil 4.8.** Toplam vücut ağırlığı artışının değerlerinin ortalaması. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir. Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır. İkili karşılaştırmalar Tukey HSD post-hoc testi ile yapılmıştır. \*Tüm diyet grupları arasında anlamlı bir farklılık vardır, \*\*Kontrol grubu ile anlamlı olarak farklıdır. #HFFD grubu ile anlamlı olarak farklıdır.

**Tablo 4.3.** Farelerin diyet gruplarına göre antropometrik ölçümleri.

Ölçümler	Diyet Grubu				p
	Kontrol	HFFD	HFFD-RSV	HFFD-LA	
Başlangıç vücut ağırlığı (g)	24,59±0,48	24,36±0,52	24,81±0,47	23,95±0,29	0,688
Son vücut ağırlığı (g)	24,61±0,77	27,15±0,95	25,66±0,53	26,36±0,41	0,096
Toplam ağırlık artışı (g)	0,61±0,41 <sup>a</sup>	2,97±0,71 <sup>b</sup>	0,87±0,57 <sup>a</sup>	2,50±0,62 <sup>ab</sup>	<b>0,002*</b>
Nazo-anal uzunluk (cm)	9,17±0,06	9,34±0,10	9,22±0,09	9,30±0,05	0,546
Lee indeksi değeri (g/cm <sup>3</sup> )	313,64±2,08	317,41±2,13	315,76±1,77	315,13±2,25	0,734

Veriler ortalama  $\pm$  standart hata ( $\bar{X} \pm S_x$ ) olarak gösterilmiştir.

\*Gruplar arasındaki karşılaştırmada Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır.

<sup>ab</sup>Farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden anlamlı olarak farklıdır (Tukey HSD post-hoc testi uygulanmıştır). İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir.

**HFFD**; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-RSV**; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-LA**; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet.

#### 4.2. Organ Ağırlıkları ve Vücut Kompozisyonuna İlişkin Bulgular

Farelerin diyet gruplarına göre müdahale sonrası organ ağırlıkları Tablo 4.4'da verilmiştir. Farelerin karaciğer organ ağırlıklarının vücut ağırlığına oranı (%VA) gruplar arasında istatistiksel olarak farklıdır ( $p < 0,05$ ). HFFD ve HFFD-LA gruplarının karaciğer organ ağırlıklarının vücut ağırlığına oranı (sırasıyla; 4,50±0,09, 4,46±0,09) kontrol grubundan (5,12±0,19) düşük bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Farelerin diğer organ ağırlıkları ve organ ağırlıklarının vücut ağırlığına oranları gruplar arasında istatistiksel olarak farklı değildir ( $p > 0,05$ ) (Tablo 4.4.).

**Tablo 4.4.** Farelerin diyet gruplarına göre müdahalesi sonrası organ ağırlıkları.

Ölçümler	Diyet Grubu				p
	Kontrol	HFFD	HFFD-RSV	HFFD-LA	
Beyin (g)	0,40±0,02	0,39±0,01	0,38±0,01	0,40±0,01	0,748
Beyin (%VA)	1,68±0,09	1,50±0,05	1,57±0,06	1,58±0,04	0,456
Karaciğer (g)	1,22±0,05	1,17±0,01	1,24±0,04	1,12±0,03	0,967
Karaciğer (%VA)	5,12±0,19 <sup>a</sup>	4,50±0,09 <sup>b</sup>	5,02±0,11 <sup>ab</sup>	4,46±0,09 <sup>b</sup>	<b>0,006*</b>
Böbrekler (g)	0,33±0,01	0,34±0,01	0,34±0,01	0,33±0,01	0,876
Böbrekler (%VA)	1,37±0,03	1,31±0,04	1,38±0,03	1,31±0,03	0,458
Kalp (g)	0,13±0,01	0,17±0,01	0,16±0,01	0,17±0,01	0,202
Kalp (%VA)	0,56±0,01	0,67±0,06	0,64±0,04	0,69±0,04	0,317
Toplam beyaz adipoz doku (g)	1,01±0,08	1,53±0,24	1,13±0,16	1,39±0,24	0,378
Toplam beyaz adipoz doku (%VA)	4,22±0,32	5,69±0,75	4,42±0,48	5,46±0,93	0,469

Veriler ortalama  $\pm$  standart hata ( $\bar{X} \pm S_x$ ) olarak gösterilmiştir.

\*Gruplar arasındaki karşılaştırmada Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır.

<sup>ab</sup>Farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden anlamlı olarak farklıdır (Tukey HSD post-hoc testi uygulanmıştır). İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir.

**HFFD**; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-RSV**; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-LA**; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet.

Farelerin diyet gruplarına göre vücut kompozisyonları Tablo 4.5’de yaş ağırlık vücut kompozisyonları dağılımları ise Şekil 4.9’de verilmiştir. Farelerin ortalama kuru ağırlık yağ oranları ve toplam yağ oranları diyet grupları arasında istatistiksel olarak farklıdır ( $p < 0,05$ ). HFFD grubunun kuru ağırlık yağ oranı (%38,96±3,48) ve toplam yağ oranı (%14,49±1,79) kontrol grubunun kuru ağırlık yağ oranı (%31,98±1,00) ve toplam yağ oranından (%11,29±0,45) yüksek bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarının kuru ağırlık yağ oranları (sırasıyla; %35,33±3,30, %33,15±2,13) ve toplam yağ oranları (sırasıyla; %12,33±1,44, %11,38±1,03) HFFD grubundan düşük bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Farelerin ortalama vücut su oranları, kuru ağırlık azot oranları, kuru ağırlık protein oranları ve toplam protein oranları gruplar arasında istatistiksel olarak farklı değildir ( $p > 0,05$ ) (Şekil 4.9., Tablo 4.5.).

**Tablo 4.5.** Farelerin diyet gruplarına göre vücut kompozisyonları.

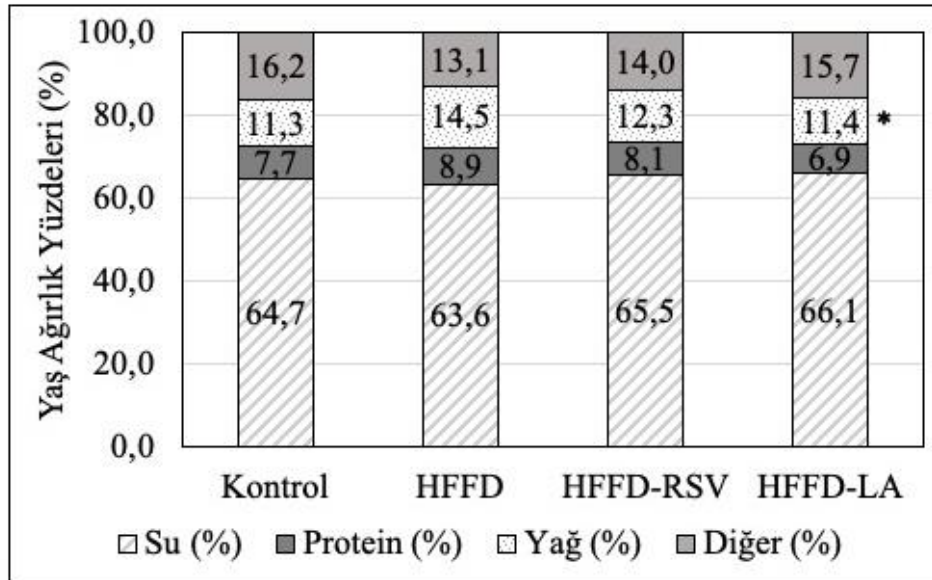
Ölçümler	Diyet Grubu				p
	Kontrol	HFFD	HFFD-RSV	HFFD-LA	
Su oranı (%)	64,74±0,62	63,57±1,33	65,53±1,15	66,06±1,02	0,380
Kuru ağırlık azot oranı (%)	4,06±0,78	2,90±0,79	3,21±0,94	3,01±0,62	0,568
Kuru ağırlık protein oranı (%)	22,21±2,13	20,28±4,63	23,69±1,59	19,68±2,24	0,783
Toplam protein oranı (%)	7,74±0,68	8,86±1,50	8,10±0,81	6,88±1,02	0,600
Kuru ağırlık yağ oranı (%)	31,98±1,00 <sup>a</sup>	38,96±3,48 <sup>b</sup>	35,33±3,30 <sup>a</sup>	33,15±2,13 <sup>a</sup>	<b>0,002*</b>
Toplam yağ oranı (%)	11,29±0,45 <sup>a</sup>	14,49±1,79 <sup>b</sup>	12,33±1,44 <sup>a</sup>	11,38±1,03 <sup>a</sup>	<b>0,005*</b>

Veriler ortalama ± standart hata ( $\bar{X} \pm S_x$ ) olarak gösterilmiştir.

\*Gruplar arasındaki karşılaştırmada Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır.

<sup>ab</sup>Farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden anlamlı olarak farklıdır (Tukey HSD post-hoc testi uygulanmıştır). İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir.

**HFFD**; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-RSV**; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-LA**; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet.



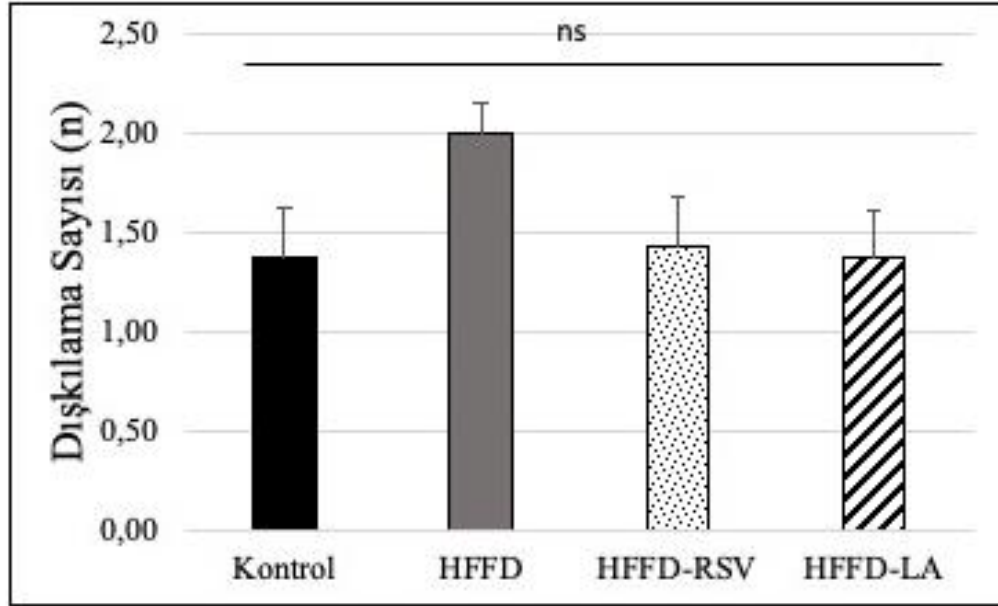
**Şekil 4.9.** Yaş ağırlık vücut kompozisyonları dağılımları. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır. İkili karşılaştırmalar Tukey HSD post-hoc testi ile yapılmıştır. \*Tüm diyet grupları arasında anlamlı bir farklılık vardır.



### 4.3. Davranış Testlerine İlişkin Bulgular

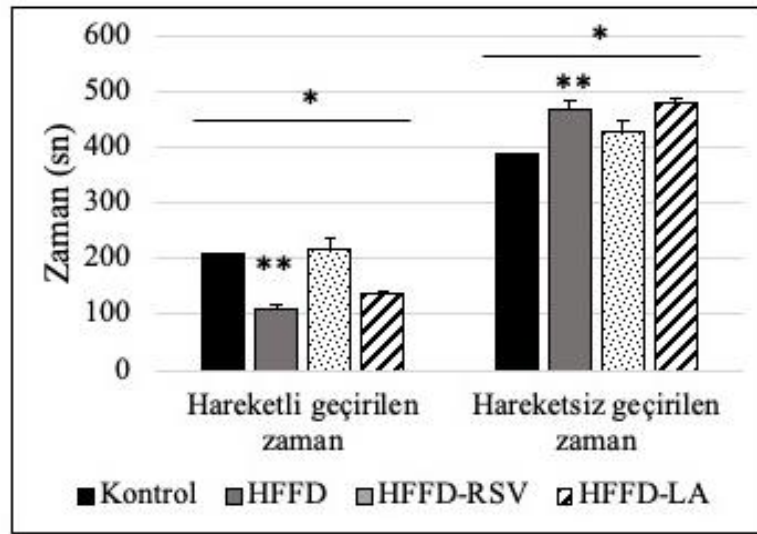
#### 4.3.1. Açık Alan Testi (AAT) Bulguları

Farelerin diyet gruplarına göre AAT dışkılama sayıları Şekil 4.10'da verilmiştir. Farelerin diyet gruplarına göre AAT dışkılama sayıları gruplar arasında istatistiksel olarak farklıdır değildir ( $p>0,05$ ) (Şekil 4.10.).



**Şekil 4.10.** Açık alan testinin dışkılama sayılarının ortalaması. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. İstatistiksel anlamlılık  $p<0,05$  olarak kabul edilmiştir. Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır. İkili karşılaştırmalar Tukey HSD post-hoc testi ile yapılmıştır.  $^{ns}p>0,05$

Farelerin AAT hareketli ve hareketsiz geçirilen zamanlarının ortalamaları Şekil 4.11'de ve diyet gruplarına göre açık alan testi ölçümleri Tablo 4.6'da verilmiştir. AAT'ye göre farelerin hareketli ve hareketsiz geçirilen zamanları gruplar arasında istatistiksel olarak farklıdır ( $p<0,05$ ). HFFD grubunun hareketli geçirdiği zaman (108,30±17,82 sn) kontrol (208,60±27,14 sn) grubundan düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ). HFFD grubunun hareketsiz geçirdiği zaman (468,74±25,84 sn) kontrol (385,76±42,42 sn) grubundan yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.11., Tablo 4.6.).



**Şekil 4.11.** Açık alan testinin hareketli ve hareketsiz geçirilen zamanların ortalaması. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir. Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır. İkili karşılaştırmalar Tukey HSD post-hoc testi ile yapılmıştır. \*Tüm diyet grupları arasında anlamlı bir farklılık vardır, \*\*kontrol grubu ile anlamlı olarak farklıdır.

**Tablo 4.6.** Farelerin diyet gruplarına göre açık alan testi ölçümleri.

Parametreler	Diyet Grubu				p
	Kontrol	HFFD	HFFD-RSV	HFFD-LA	
Hareketli geçirilen zaman (sn)	208,60±27,14 <sup>a</sup>	108,30±17,82 <sup>b</sup>	218,24±35,88 <sup>ab</sup>	138,40±6,76 <sup>ab</sup>	<b>0,046*</b>
Hareketsiz geçirilen zaman (sn)	385,76±42,42 <sup>a</sup>	468,74±25,84 <sup>b</sup>	426,08±42,58 <sup>ab</sup>	480,62±13,13 <sup>ab</sup>	<b>0,007*</b>
Hareketsiz epizotların sayısı (n)	35,33±5,62 <sup>a</sup>	44,33±0,69 <sup>ab</sup>	37,71±4,44 <sup>a</sup>	49,14±2,53 <sup>b</sup>	<b>0,034*</b>
Merkez alana giriş sayısı (n)	12,50±1,91 <sup>a</sup>	6,33±0,72 <sup>b</sup>	8,00±2,70 <sup>b</sup>	5,13±1,16 <sup>b</sup>	<b>0,019*</b>
Kenar alana giriş sayısı (n)	7,25±2,43 <sup>a</sup>	11,42±1,90 <sup>b</sup>	8,00±2,53 <sup>bc</sup>	4,28±0,69 <sup>ac</sup>	<b>0,010*</b>
Köşe alanlara giriş sayısı (n)	10,83±2,59 <sup>a</sup>	23,71±4,81 <sup>b</sup>	16,29±1,20 <sup>a</sup>	14,00±2,21 <sup>a</sup>	<b>0,049*</b>
Merkez alandan ayrılma süresi (sn)	7,63±1,28 <sup>a</sup>	13,50±1,22 <sup>b</sup>	9,86±1,25 <sup>a</sup>	10,00±1,46 <sup>a</sup>	<b>0,019*</b>
Toplam gezilen mesafe (m)	7,81±1,55 <sup>a</sup>	4,50±0,84 <sup>b</sup>	5,53±1,20 <sup>b</sup>	3,99±0,51 <sup>b</sup>	<b>0,042*</b>
Lokomotor aktivite (n)	115,38±19,61 <sup>a</sup>	76,38±12,28 <sup>b</sup>	78,43±18,12 <sup>b</sup>	75,00±8,95 <sup>b</sup>	<b>0,002*</b>

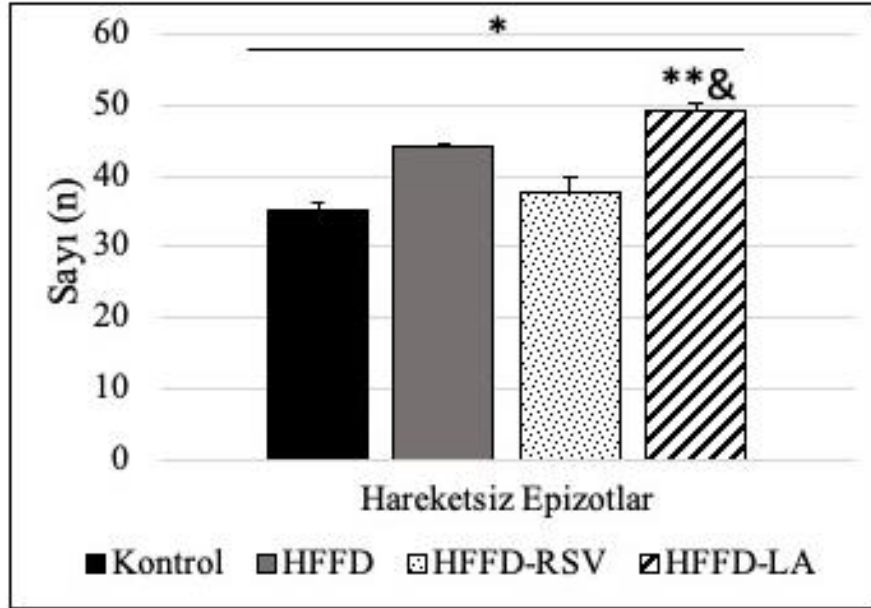
Veriler ortalama  $\pm$  standart hata ( $\bar{X} \pm S_x$ ) olarak gösterilmiştir.

\*Gruplar arasındaki karşılaştırmada Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır.

<sup>ab</sup>Farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden anlamlı olarak farklıdır (Tukey HSD post-hoc testi uygulanmıştır). İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir.

**HFFD**; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-RSV**; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-LA**; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet.

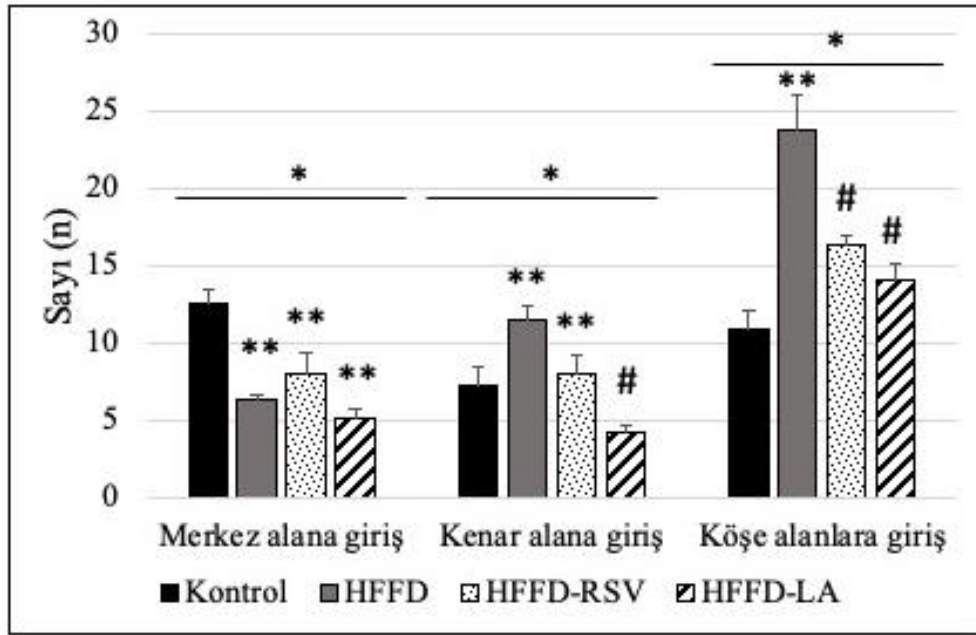
Farelerin AAT hareketsiz epizotlarının ortalamaları Şekil 4.12’de ve diyet gruplarına göre açık alan testi ölçümleri Tablo 4.6’da verilmiştir. AAT’ye göre farelerin hareketsiz epizotlarının ortalamaları gruplar arasında istatistiksel olarak farklıdır ( $p<0,05$ ). HFFD-LA ( $49,14\pm 2,53$ ) grubunun hareketsiz epizotları HFFD-RSV ve kontrol gruplarından (sırasıyla;  $37,71\pm 4,44$ ,  $35,33\pm 5,62$ ) yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.12., Tablo 4.6.).



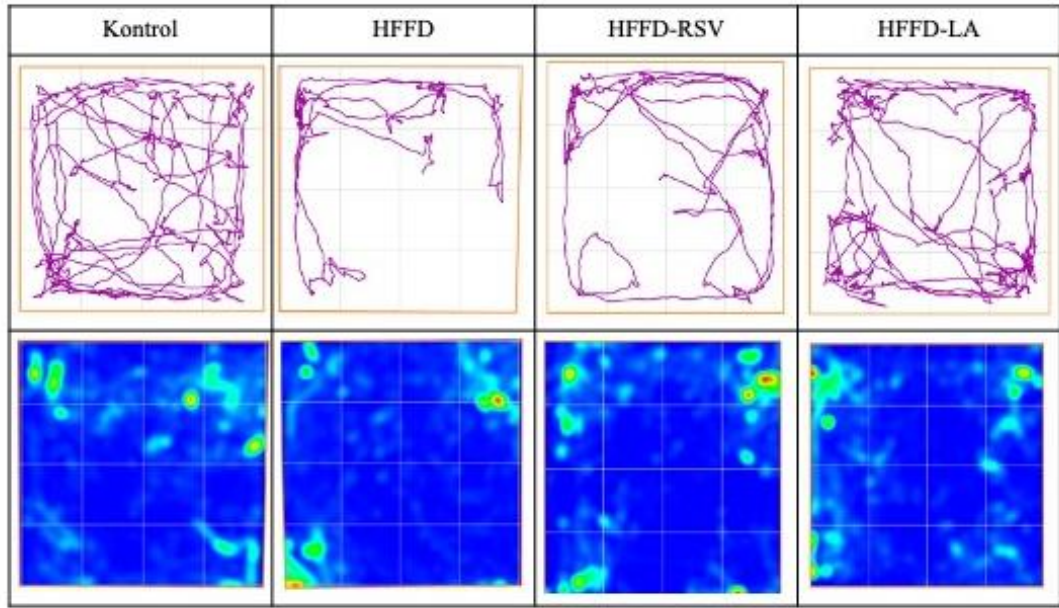
**Şekil 4.12.** Açık alan testinin hareketsiz epizotlarının ortalaması. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. İstatistiksel anlamlılık  $p<0,05$  olarak kabul edilmiştir. Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır. İkili karşılaştırmalar Tukey HSD post-hoc testi ile yapılmıştır. \*Tüm diyet grupları arasında anlamlı bir farklılık vardır, \*\*kontrol grubu ile anlamlı olarak farklıdır. &HFFD-RSV ile anlamlı olarak farklıdır.

Farelerin AAT merkez alana, kenar alana ve köşe alanlara giriş sayılarının ortalamaları Şekil 4.13’de ve diyet gruplarına göre açık alan testi ölçümleri Tablo 4.8’de verilmiştir. AAT’ye göre farelerin merkez alana, kenar alana ve köşe alanlara giriş sayıları gruplar arasında istatistiksel olarak farklıdır ( $p<0,05$ ). HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarının merkez alana giriş sayıları (sırasıyla;  $6,33\pm 0,72$ ,  $8,00\pm 2,70$ ,  $5,13\pm 1,16$ ) kontrol grubundan ( $12,50\pm 1,91$ ) düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

HFFD ve HFFD-RSV gruplarının kenar alana giriş sayıları (sırasıyla;  $11,42 \pm 1,90$ ,  $8,00 \pm 2,53$ ) kontrol grubundan ( $7,25 \pm 2,43$ ) yüksek, HFFD-LA ( $4,28 \pm 0,69$ ) grubunun kenar alana giriş sayısı HFFD grubundan düşük bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). HFFD grubunun köşe alanlara giriş sayısı ( $23,71 \pm 4,81$ ) kontrol grubundan ( $10,83 \pm 2,59$ ) yüksek, HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarının köşe alanlara giriş sayıları (sırasıyla;  $16,29 \pm 1,20$ ,  $14,00 \pm 2,21$ ) HFFD grubundan düşük bulunmuştur ( $p < 0,05$ ) (Şekil 4.13., Şekil 4.14., Tablo 4.8.).

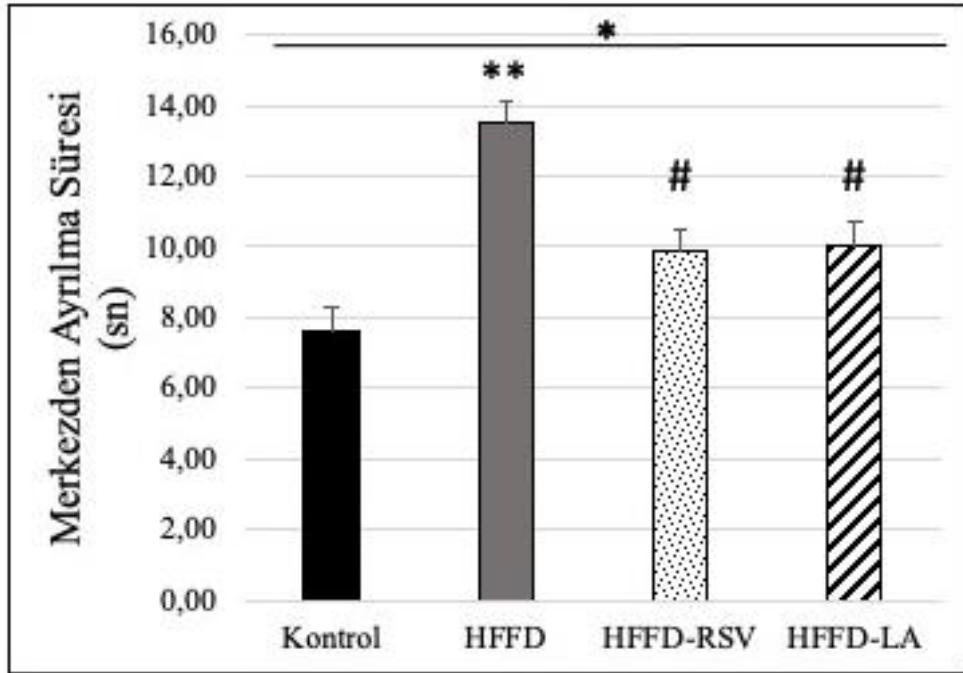


**Şekil 4.13.** Açık alan testinin merkez alana, kenar alana ve köşe alanlara giriş sayılarının ortalaması. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir. Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır. İkili karşılaştırmalar Tukey HSD post-hoc testi ile yapılmıştır. \*Tüm diyet grupları arasında anlamlı bir farklılık vardır, \*\*kontrol grubu ile anlamlı olarak farklıdır. #HFFD grubu ile anlamlı olarak farklıdır.



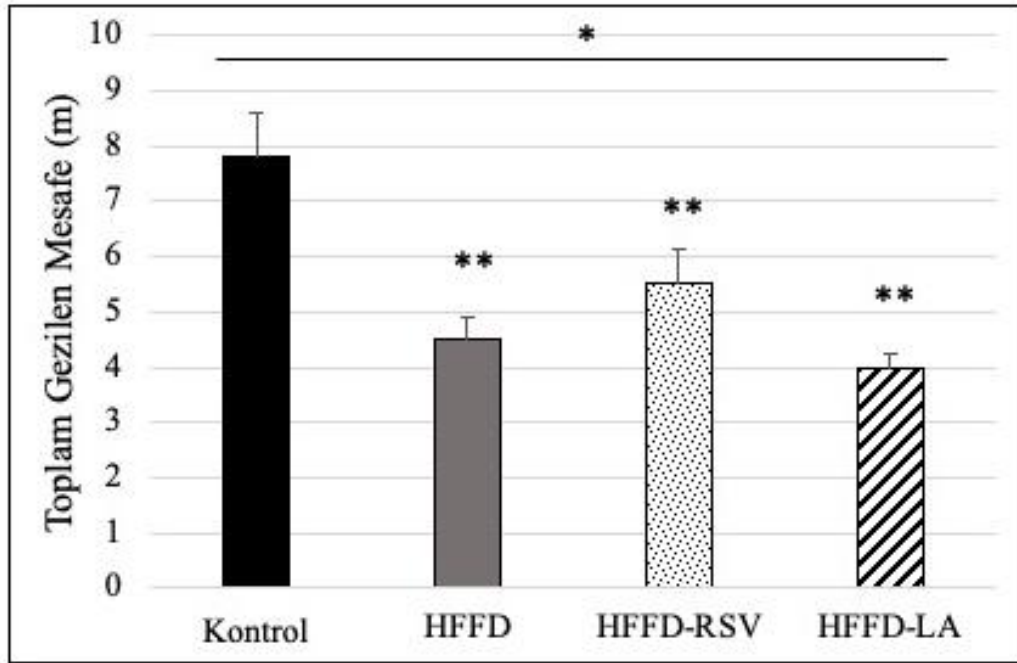
**Şekil 4.14.** Açık alan testinde her diyet grubundaki hareketin iz görüntüleri ve ısı haritalarının ortalamaları. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet.

Farelerin AAT merkezden ayrılma sürelerinin ortalamaları Şekil 4.15’de ve diyet gruplarına göre açık alan testi ölçümleri Tablo 4.6’da verilmiştir. AAT’ye göre farelerin merkez alandan ayrılma süreleri gruplar arasında istatistiksel olarak farklıdır ( $p<0,05$ ). HFFD grubunun merkez alandan ayrılma süresi ( $13,50\pm1,22$  sn) kontrol grubundan ( $7,63\pm1,28$  sn) yüksek, HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarının merkezden ayrılma süreleri (sırasıyla;  $9,86\pm1,25$ ,  $10,00\pm1,46$  sn) HFFD grubundan düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.15., Tablo 4.6.).



**Şekil 4.15.** Açık alan testinin merkezden ayrılma sürelerinin ortalaması. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir. Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır. İkili karşılaştırmalar Tukey HSD post-hoc testi ile yapılmıştır. \*Tüm diyet grupları arasında anlamlı bir farklılık vardır, \*\*kontrol grubu ile anlamlı olarak farklıdır. #HFFD grubu ile anlamlı olarak farklıdır.

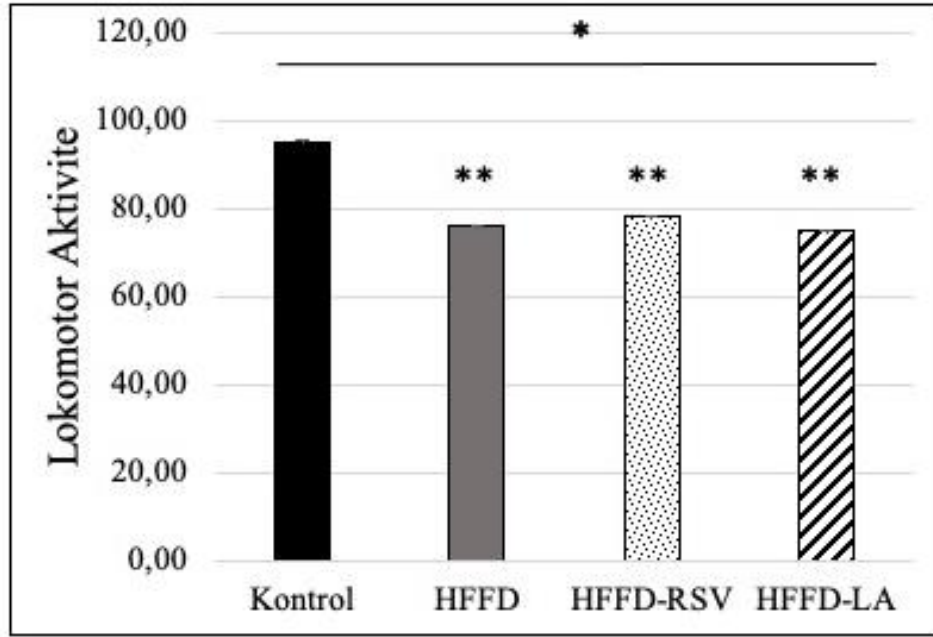
Farelerin AAT toplam gezilen mesafelerinin ortalamaları Şekil 4.16'de ve diyet gruplarına göre açık alan testi ölçümleri Tablo 4.6'da verilmiştir. AAT'ye göre farelerin toplam gezilen mesafeleri gruplar arasında istatistiksel olarak farklıdır ( $p < 0,05$ ). HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarının toplam gezilen mesafeleri (sırasıyla;  $4,50 \pm 0,84$ ,  $5,53 \pm 1,20$ ,  $3,99 \pm 0,51$  m) kontrol grubundan ( $7,81 \pm 1,55$  m) düşük bulunmuştur ( $p < 0,05$ ) (Şekil 4.16., Şekil 16., Tablo 4.6.).



**Şekil 4.16.** Açık alan testinin toplam gezilen mesafelerin ortalaması. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir. Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır. İkili karşılaştırmalar Tukey HSD post-hoc testi ile yapılmıştır. \*Tüm diyet grupları arasında anlamlı bir farklılık vardır, \*\*kontrol grubu ile anlamlı olarak farklıdır.

Farelerin AAT lokomotor aktivite değerlerinin ortalamaları Şekil 4.17’da ve diyet gruplarına göre açık alan testi ölçümleri Tablo 4.6’da verilmiştir. AAT’ye göre farelerin lokomotor aktiviteleri gruplar arasında istatistiksel olarak farklıdır ( $p < 0,05$ ). HFFD, HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarının lokomotor aktiviteleri (sırasıyla;  $76,38 \pm 12,28$ ,  $78,43 \pm 18,12$ ,  $75,00 \pm 8,95$ ) kontrol grubundan ( $95,38 \pm 19,61$ ) düşük bulunmuştur ( $p < 0,05$ ) (Şekil 4.17., Tablo 4.6.).



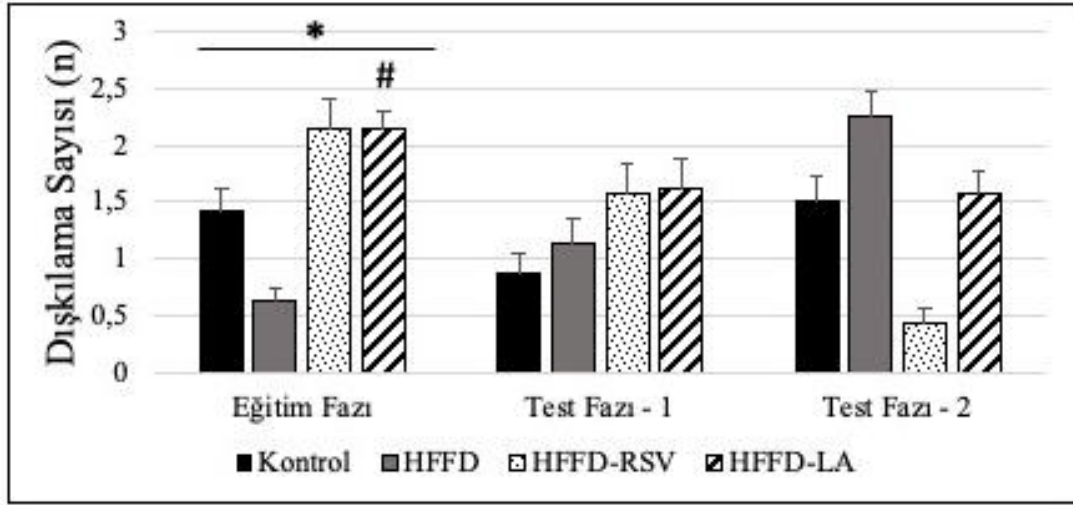


**Şekil 4.17.** Açık alan testinin lokomotor aktivite değerlerinin ortalaması. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir. Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır. İkili karşılaştırmalar Tukey HSD post-hoc testi ile yapılmıştır. \*Tüm diyet grupları arasında anlamlı bir farklılık vardır, \*\*kontrol grubu ile anlamlı olarak farklıdır.

#### 4.3.2. Yeni Nesne Tanıma Testi (YNTT) Bulguları

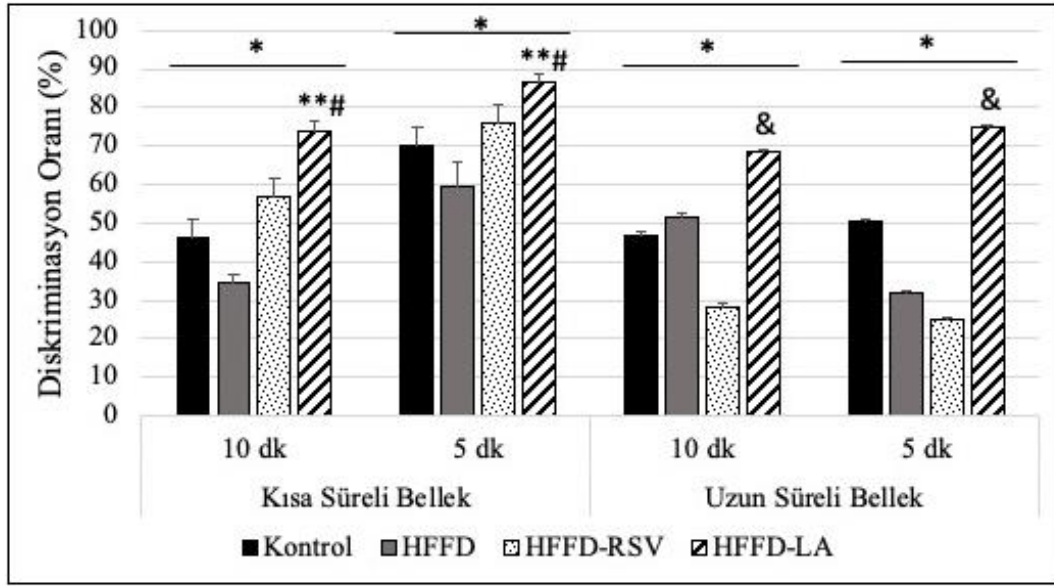
Farelerin diyet gruplarına göre YNTT dışkılama sayıları Şekil 4.18'de verilmiştir. Farelerin diyet gruplarına göre YNTT'nin dışkılama sayıları gruplar arasında eğitim fazında istatistiksel olarak farklıdır ( $p < 0,05$ ). YNTT'nin eğitimin fazında HFFD-LA grubunun dışkılama sayısı HFFD grubunun dışkılama sayısından yüksek bulunmuştur ( $p < 0,05$ ) (Şekil 4.18.).





**Şekil 4.18.** Yeni nesne tanıma testinin dışkılama sayılarının ortalaması. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir. Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır. İkili karşılaştırmalar Tukey HSD post-hoc testi ile yapılmıştır. \*Tüm diyet grupları arasında anlamlı bir farklılık vardır, \*\*kontrol grubu ile anlamlı olarak farklıdır. #HFFD grubu ile anlamlı olarak farklıdır. <sup>ns</sup> $p > 0,05$ .

Farelerin diyet gruplarına göre YNTT diskriminasyon oranlarının ortalamaları Şekil 4.19’da diskriminasyon oranlarının değerleri de Tablo 4.7’de verilmiştir. Farelerin diyet gruplarına göre YNTT’nin diskriminasyon oranları kısa süreli ve uzun süreli bellekte hem 10 dk hem de 5 dk uzunluğundaki video sürelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Kısa süreli belleğin 10 dk ve 5 dk video süresi ölçümlerinde HFFD-LA grubunun diskriminasyon oranı (sırasıyla;  $73,57 \pm 5,58$ ,  $86,83 \pm 3,67$ ) kontrol (sırasıyla;  $46,14 \pm 9,48$ ,  $70,33 \pm 9,31$ ) ve HFFD (sırasıyla;  $34,50 \pm 3,97$ ,  $59,60 \pm 12,32$ ) grubundan yüksek bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Uzun süreli belleğin 10 dk ve 5 dk video süresi ölçümlerinde HFFD-LA grubunun diskriminasyon oranı (sırasıyla;  $68,33 \pm 1,02$ ,  $75,00 \pm 0,59$ ) HFFD-RSV (sırasıyla;  $28,33 \pm 2,13$ ,  $25,00 \pm 1,22$ ) grubundan yüksek bulunmuştur ( $p < 0,05$ ) (Şekil 4.19., Şekil 4.20., Şekil 4.21., Tablo 4.7.).



**Şekil 4.19.** Yeni nesne tanıma testinin diskriminasyon oranlarının ortalaması. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir. Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır. İkili karşılaştırmalar Tukey HSD post-hoc testi ile yapılmıştır. \*Tüm diyet grupları arasında anlamlı bir farklılık vardır, \*\*kontrol grubu ile anlamlı olarak farklıdır. #HFFD grubu ile anlamlı olarak farklıdır. &HFFD-RSV grubu ile anlamlı olarak farklıdır.

**Tablo 4.7.** Farelerin diyet gruplarına göre yeni nesne tanıma testi diskriminasyon oranları.

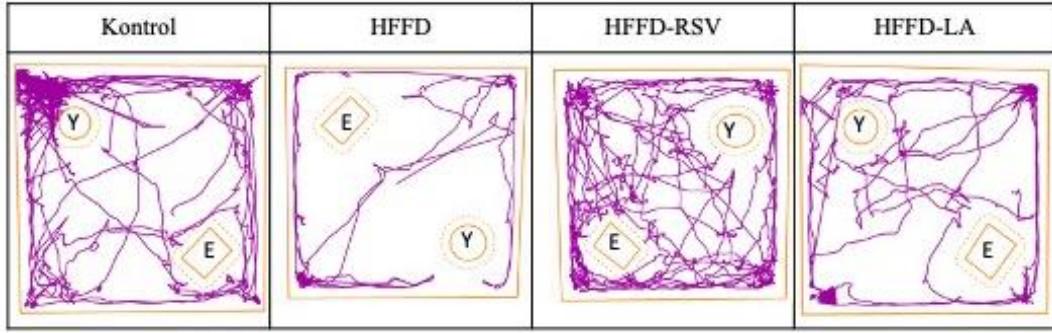
Diskriminasyon Oranları (%)		Diyet Grubu				p
		Kontrol	HFFD	HFFD-RSV	HFFD-LA	
10 dk.	Kısa süreli bellek	46,14±9,48 <sup>a</sup>	34,50±3,97 <sup>a</sup>	56,80±10,06 <sup>ac</sup>	73,57±5,58 <sup>bc</sup>	<b>0,049*</b>
	Uzun süreli bellek	46,50±2,40 <sup>ab</sup>	51,75±1,68 <sup>ab</sup>	28,33±2,13 <sup>a</sup>	68,33±1,02 <sup>b</sup>	<b>0,046*</b>
5 dk.	Kısa süreli bellek	70,33±9,31 <sup>a</sup>	59,60±12,32 <sup>a</sup>	75,83±9,32 <sup>ac</sup>	86,83±3,67 <sup>bc</sup>	<b>0,012*</b>
	Uzun süreli bellek	50,50±1,47 <sup>ab</sup>	32,00±0,64 <sup>ab</sup>	25,00±1,22 <sup>a</sup>	75,00±0,59 <sup>b</sup>	<b>0,043*</b>

Veriler ortalama  $\pm$  standart hata ( $\bar{X} \pm S_x$ ) olarak gösterilmiştir.

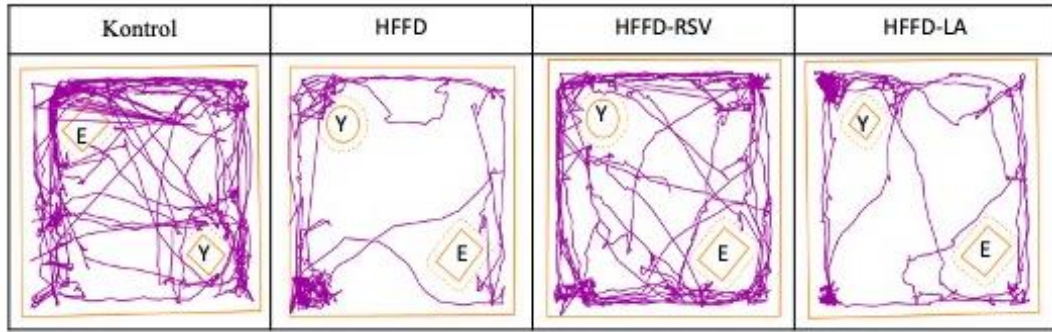
\*Gruplar arasındaki karşılaştırmada Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır.

<sup>abc</sup>Farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden anlamlı olarak farklıdır (Tukey HSD post-hoc testi uygulanmıştır). İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir.

**HFFD**; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-RSV**; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-LA**; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet.



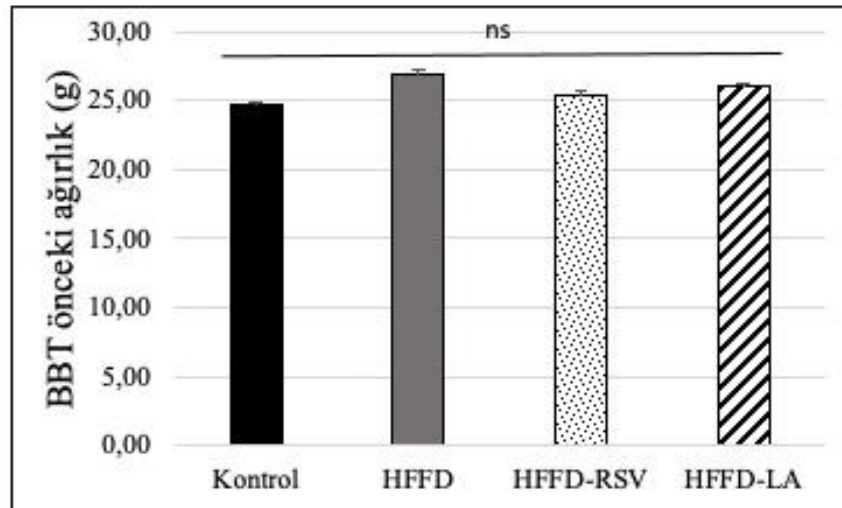
**Şekil 4.20.** Yeni nesne tanıma testinde kısa süreli test aşamasında her diyet grubundaki hareketin temsili iz görüntüleri. E; eski nesne, HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, Y; yeni nesne.



**Şekil 4.21.** Yeni nesne tanıma testinde uzun süreli test aşamasında her diyet grubundaki hareketin temsili iz görüntüleri. E; eski nesne, HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, Y; yeni nesne.

### 4.3.3. Baskılanmış Beslenme Testi (BBT) Bulguları

Farelerin BBT'den önceki ağırlıklarının ortalaması Şekil 4.22'de ve diyet gruplarına göre BBT ölçümleri Tablo 4.8'da verilmiştir. Farelerin BBT'den önceki vücut ağırlıkları gruplar arasında istatistiksel olarak farklı değildir ( $p>0,05$ ) (Şekil 4.22., Tablo 4.8.).



**Şekil 4.22.** Baskılanmış beslenme testinden önceki ağırlıkların ortalaması. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, BBT; baskılanmış beslenme testi. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir. Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır. İkili karşılaştırmalar Tukey HSD post-hoc testi ile yapılmıştır.  $^{ns}p > 0,05$

**Tablo 4.8.** Farelerin diyet gruplarına göre baskılanmış beslenme testi ölçümleri.

Parametreler	Diyet Grubu				p
	Kontrol	HFFD	HFFD-RSV	HFFD-LA	
BBT önceki ağırlık (g)	24,79±0,20	26,86±0,75	25,44±0,87	26,11±0,38	0,131
BBT sonraki ağırlık (g)	22,63±0,13 <sup>a</sup>	25,23±0,68 <sup>b</sup>	23,86±0,68 <sup>ab</sup>	24,45±0,37 <sup>ab</sup>	<b>0,016*</b>
Ağırlık kaybı (g)	2,16±0,12	1,64±0,07	1,59±0,24	1,66±0,13	0,081
Su tüketimi (mL)	7,25±0,76 <sup>a</sup>	13,60±1,13 <sup>b</sup>	12,33±0,47 <sup>ab</sup>	12,83±1,44 <sup>b</sup>	<b>0,006*</b>
Besine yaklaşma ve yeme latansı (sn)	72,86±9,06 <sup>a</sup>	425,24±26,41 <sup>b</sup>	258,90±34,97 <sup>ab</sup>	402,34±33,99 <sup>b</sup>	<b>0,001*</b>

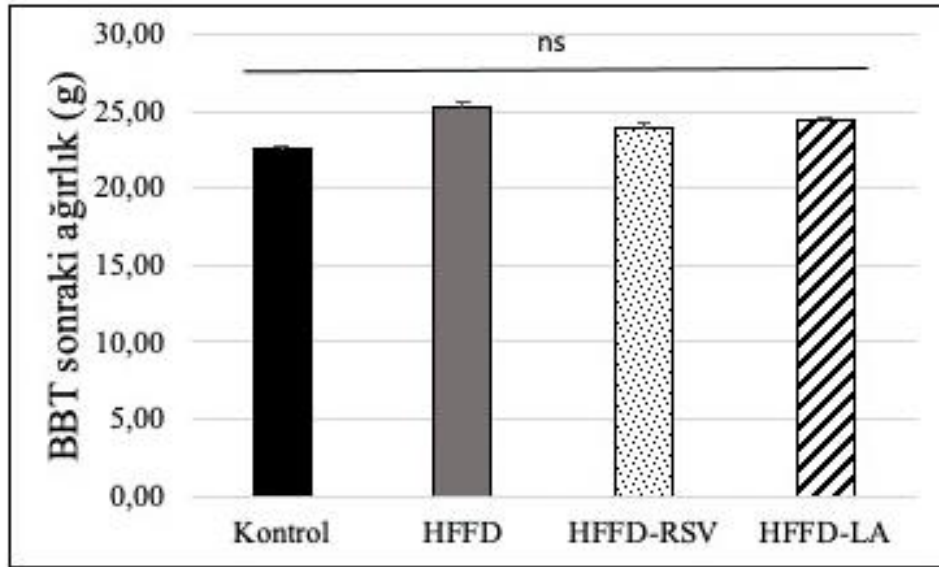
Veriler ortalama  $\pm$  standart hata ( $\bar{X} \pm S_x$ ) olarak gösterilmiştir.

\*Gruplar arasındaki karşılaştırmada Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır.

<sup>ab</sup>Farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden anlamlı olarak farklıdır (Tukey HSD post-hoc testi uygulanmıştır). İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir.

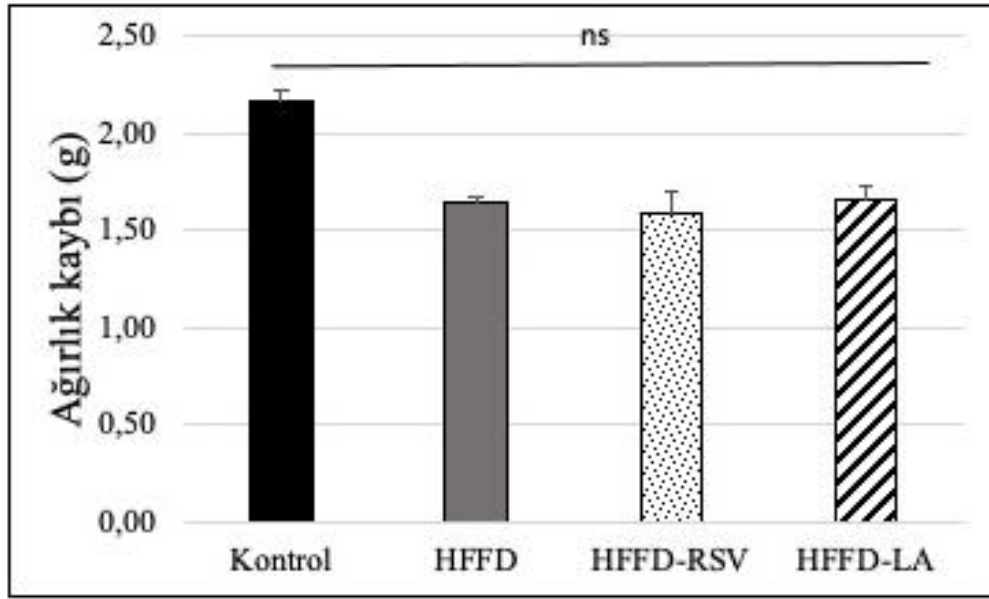
**BBT**; baskılanmış beslenme testi, **HFFD**; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-RSV**; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-LA**; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet.

Farelerin BBT'den sonraki ağırlıkların ortalaması Şekil 4.23'de ve diyet gruplarına göre BBT ölçümleri Tablo 4.8'de verilmiştir. Farelerin BBT'den sonraki vücut ağırlıkları gruplar arasında istatistiksel olarak farklı değildir ( $p>0,05$ ) (Şekil 4.23., Tablo 4.8.).



**Şekil 4.23.** Baskılanmış beslenme testinden sonraki ağırlıkların ortalaması. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, BBT; baskılanmış beslenme testi. İstatistiksel anlamlılık  $p<0,05$  olarak kabul edilmiştir. Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır. İkili karşılaştırmalar Tukey HSD post-hoc testi ile yapılmıştır. <sup>ns</sup> $p>0,05$

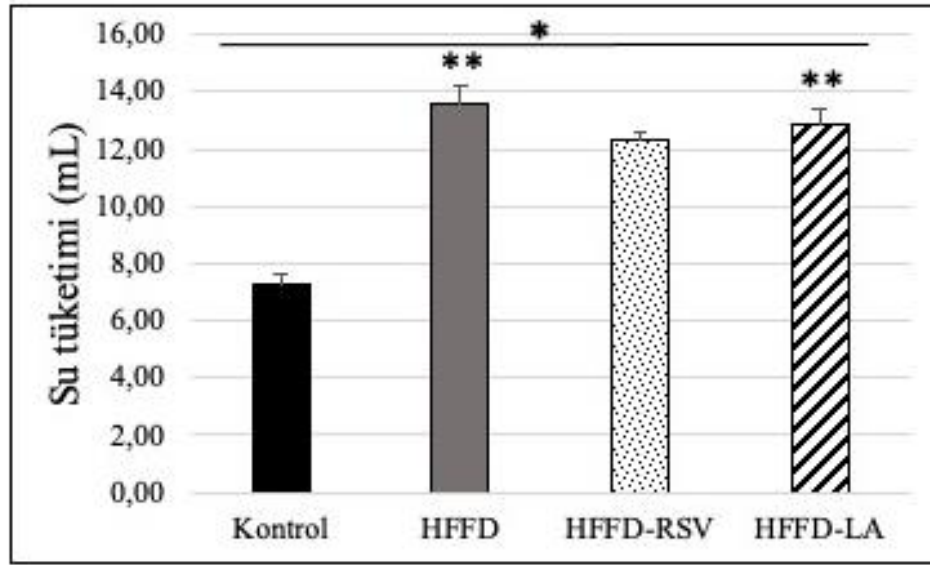
Farelerin BBT'de ağırlık kayıplarının ortalaması Şekil 4.24'de ve diyet gruplarına göre BBT ölçümleri Tablo 4.8'de verilmiştir. Farelerin BBT'de vücut ağırlığı kayıpları gruplar arasında istatistiksel olarak farklı değildir ( $p>0,05$ ) (Şekil 4.24., Tablo 4.8.).



**Şekil 4.24.** Baskılanmış beslenme testinin ağırlık kayıplarının ortalaması. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir. Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır. İkili karşılaştırmalar Tukey HSD post-hoc testi ile yapılmıştır.  $^{ns}p > 0,05$

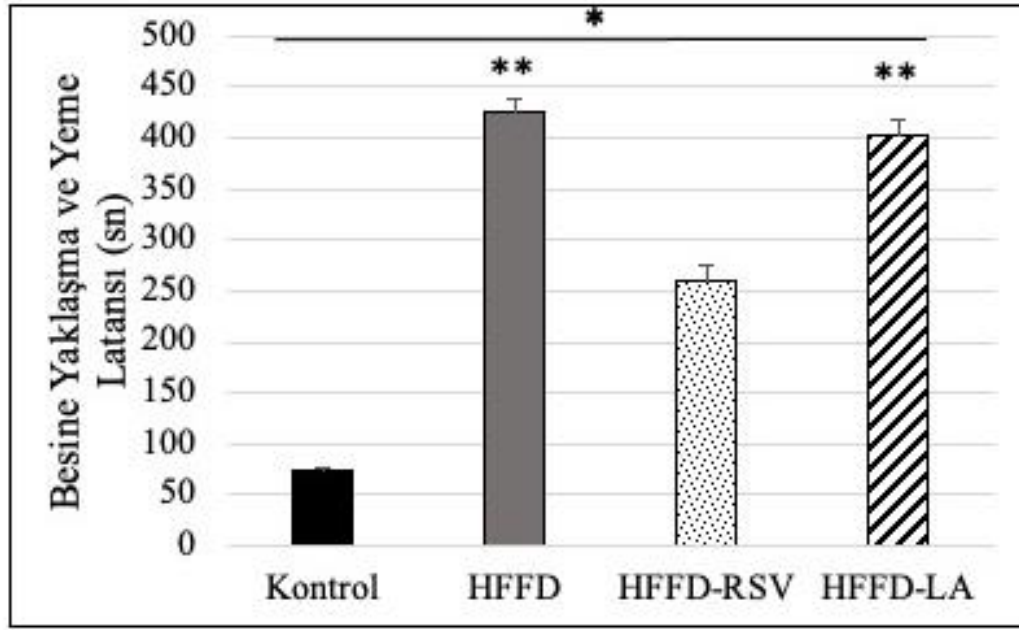
Farelerin BBT’de su tüketim değerlerinin ortalaması Şekil 4.25’de ve diyet gruplarına göre BBT ölçümleri Tablo 4.8’de verilmiştir. BBT’ye göre farelerin su tüketim değerlerinin gruplar arasında istatistiksel olarak farklıdır ( $p < 0,05$ ). HFFD ve HFFD-LA gruplarının BBT’ye göre su tüketimleri (sırasıyla;  $13,60 \pm 1,13$ ,  $12,83 \pm 1,44$  mL) kontrol grubundan ( $7,25 \pm 0,76$  mL) yüksek bulunmuştur ( $p < 0,05$ ) (Şekil 4.25., Tablo 4.8.).





**Şekil 4.25.** Baskılanmış beslenme testinin su tüketim değerlerinin ortalaması. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir. Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır. İkili karşılaştırmalar Tukey HSD post-hoc testi ile yapılmıştır. \*Tüm diyet grupları arasında anlamlı bir farklılık vardır, \*\*kontrol grubu ile anlamlı olarak farklıdır.

Farelerin BBT’de besine yaklaşma ve yeme latansı değerlerinin ortalaması Şekil 4.26’de ve diyet gruplarına göre BBT ölçümleri Tablo 4.8’de verilmiştir. BBT’ye göre farelerin besine yaklaşma ve yeme latansı değerleri gruplar arasında istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). HFFD ve HFFD-LA gruplarının besine yaklaşma ve yeme latansı (sırasıyla;  $425,24 \pm 26,41$ ,  $402,34 \pm 33,99$  sn) kontrol ( $72,86 \pm 9,06$  sn) grubuna göre yüksek bulunmuştur ( $p < 0,05$ ) (Şekil 4.26., Tablo 4.8.).



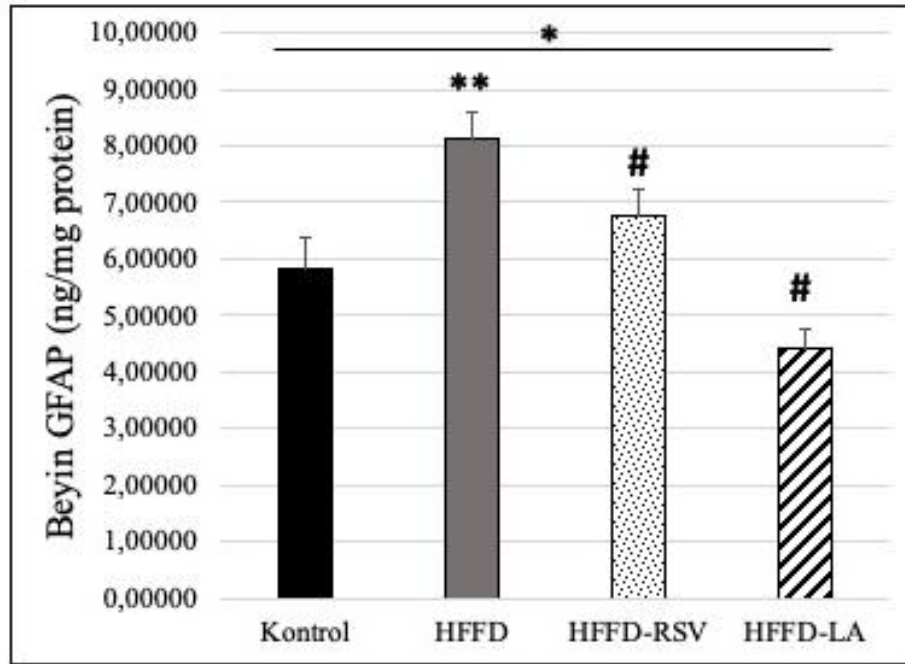
**Şekil 4.26.** Baskılanmış beslenme testinin besine yaklaşma ve yeme latansı değerlerinin ortalaması. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. \*Tüm diyet grupları arasında anlamlı bir farklılık vardır, \*\*kontrol grubu ile anlamlı olarak farklıdır.

#### 4.4. Beyin Dokusunda Nöroinflamasyona İlişkin Bulgular

##### 4.4.1. Beyin Dokusunda GFAP ve CD36 Düzeyi

Farelerin çalışma sonunda beyin GFAP konsantrasyonlarının gruplara göre ortalaması Şekil 4.27’de ve değerleri Tablo 4.9’de verilmiştir. Farelerin beyin GFAP konsantrasyonları gruplar arasında istatistiksel olarak farklıdır ( $p < 0,05$ ). HFFD grubunun beyin GFAP seviyesi ( $8,11 \pm 0,94$  ng/mg protein) kontrol grubundan ( $5,81 \pm 1,11$  ng/mg protein) yüksek bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). HFFD-RSV ve HFFD-LA (sırasıyla;  $6,76 \pm 1,854$  ng/mg protein,  $4,42 \pm 0,67$  ng/mg protein) gruplarının beyin GFAP düzeyleri HFFD grubundan düşük bulunmuştur ( $p < 0,05$ ) (Şekil 4.27., Tablo 4.9.).





**Şekil 4.27.** Beyin GFAP konsantrasyonlarının gruplara göre ortalaması. GFAP; glial fibriler asidik protein, HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir. Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır. İkili karşılaştırmalar Tukey HSD post-hoc testi ile yapılmıştır. \*Tüm diyet grupları arasında anlamlı bir farklılık vardır, \*\*kontrol grubu ile anlamlı olarak farklıdır. #HFFD grubu ile anlamlı olarak farklıdır.

**Tablo 4.9.** Beyinde nöroinflamasyon ile ilişkili parametrelerin diyet gruplarına göre ortalama değerleri.

Parametre	Diyet Grubu				p
	Kontrol	HFFD	HFFD-RSV	HFFD-LA	
GFAP (ng/mg protein)	5,81±1,11 <sup>a</sup>	8,11±0,94 <sup>b</sup>	6,76±1,85 <sup>a</sup>	4,42±0,67 <sup>a</sup>	<b>0,004*</b>
CD36 (ng/mg protein)	1,15±0,18 <sup>a</sup>	1,51±0,16 <sup>b</sup>	1,37±0,25 <sup>a</sup>	1,07±0,12 <sup>a</sup>	<b>0,003*</b>

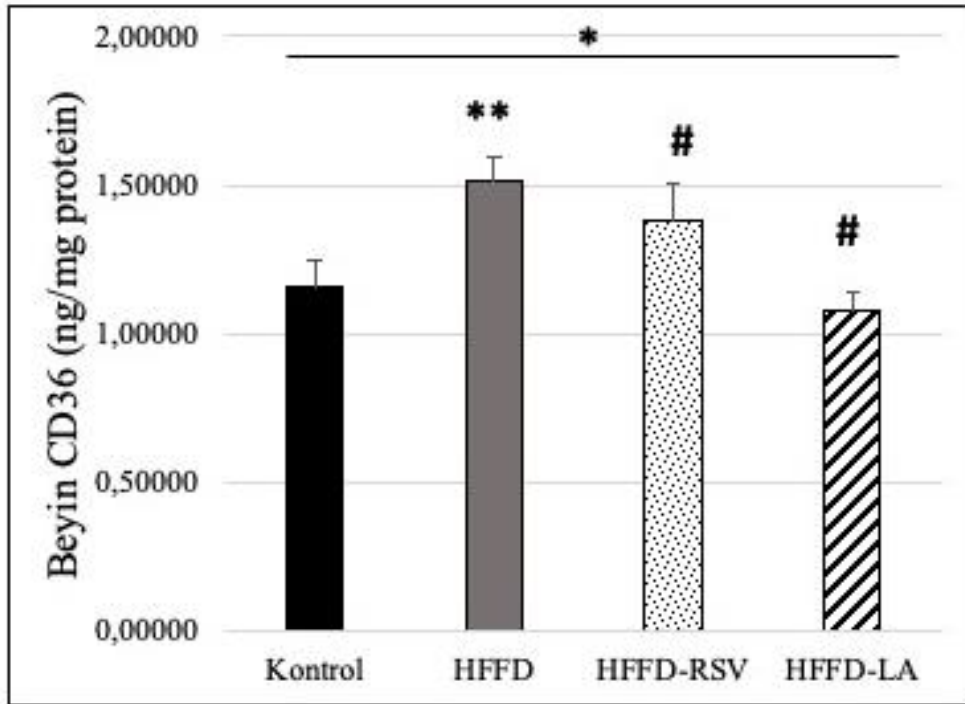
Veriler ortalama  $\pm$  standart hata ( $\bar{X} \pm S_x$ ) olarak gösterilmiştir.

\*Gruplar arasındaki karşılaştırmada Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır.

<sup>ab</sup>Farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden anlamlı olarak farklıdır (Tukey HSD post-hoc testi uygulanmıştır). İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir.

**HFFD**; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-RSV**; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-LA**; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet.

Farelerin çalışma sonunda beyin CD36 konsantrasyonlarının gruplara göre ortalaması Şekil 4.28’de ve değerleri Tablo 4.9’de verilmiştir. Farelerin beyin CD36 konsantrasyonları gruplar arasında istatistiksel olarak farklıdır ( $p<0,05$ ). HFFD grubunun beyin CD36 seviyesi ( $1,51\pm 0,16$  ng/mg protein) kontrol grubundan ( $1,15\pm 0,18$  ng/mg protein) yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). HFFD-RSV ve HFFD-LA (sırasıyla;  $1,37\pm 0,25$ ,  $1,07\pm 0,12$  ng/mg protein) gruplarının beyin GFAP düzeyleri HFFD grubundan düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.28., Tablo 4.9.).



**Şekil 4.28.** Beyin CD36 konsantrasyonlarının gruplara göre ortalaması. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. İstatistiksel anlamlılık  $p<0,05$  olarak kabul edilmiştir. Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır. İkili karşılaştırmalar Tukey HSD post-hoc testi ile yapılmıştır. \*Tüm diyet grupları arasında anlamlı bir farklılık vardır, \*\*kontrol grubu ile anlamlı olarak farklıdır. #HFFD grubu ile anlamlı olarak farklıdır

#### 4.4.2. Beyin Dokusunda Nöroinflamatuvar Belirteçler

Farelerin çalışma sonunda beyin nöroinflamatuvar belirteçler konsantrasyonlarının gruplara göre ortalaması Şekil 4.29’de ve değerleri Tablo

4.10'da verilmiştir. Farelerin IL-6, IL-10, MCP-1, IFN- $\gamma$ , ve TNF- $\alpha$  beyin sitokin seviyeleri gruplar arasında istatistiksel olarak farklıdır ( $p<0,05$ ). Farelerin IL-12p70 beyin sitokin seviyeleri gruplar arasında istatistiksel olarak farklı değildir ancak anlamlılık yönünde eğilim vardır ( $p=0,074$ ).

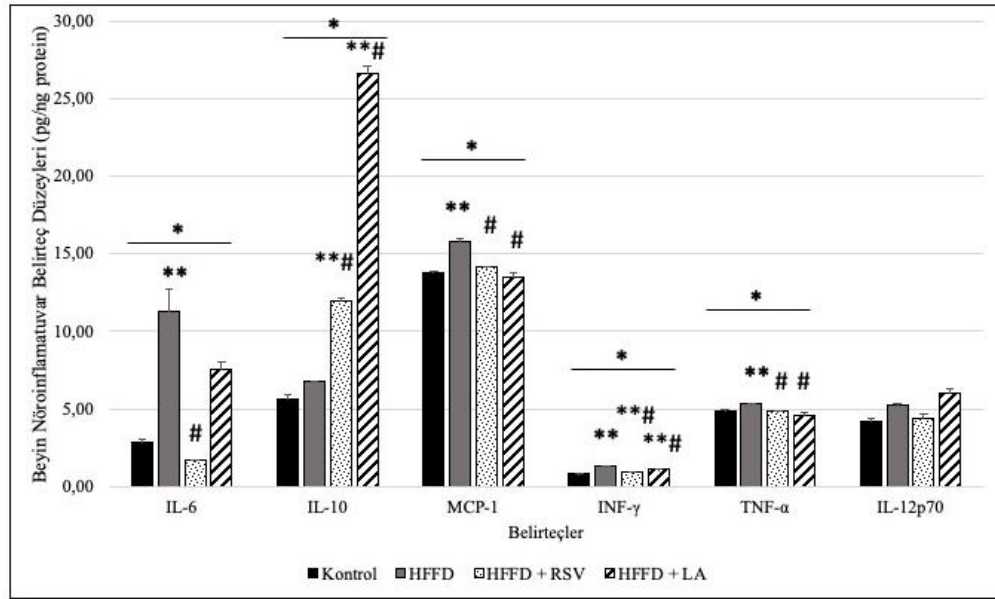
HFFD grubunun beyin IL-6 konsantrasyonu ( $11,32\pm 2,87$  pg/ng protein) kontrol ( $2,86\pm 0,33$  pg/ng protein) grubundan yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). HFFD-RSV grubunun beyin IL-6 konsantrasyonu ( $1,73\pm 0,02$  pg/ng protein) HFFD grubundan düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarının beyin IL-10 konsantrasyonları (sırasıyla;  $11,92\pm 0,53$ ,  $26,58\pm 2,10$  pg/ng protein) kontrol ve HFFD (sırasıyla;  $5,66\pm 0,48$ ,  $6,73\pm 0,16$  pg/ng protein) gruplarından yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

HFFD grubunun beyin MCP-1 konsantrasyonu ( $15,81\pm 0,31$  pg/ng protein) kontrol ( $13,78\pm 0,10$  pg/ng protein) grubundan yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarının beyin MCP-1 konsantrasyonları (sırasıyla;  $14,14\pm 0,11$ ,  $13,51\pm 0,45$  pg/ng protein) HFFD grubundan düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

HFFD grubunun beyin IFN- $\gamma$  konsantrasyonu ( $1,29\pm 0,02$  pg/ng protein) kontrol ( $0,82\pm 0,03$  pg/ng protein) grubundan yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarının beyin IFN- $\gamma$  konsantrasyonları (sırasıyla;  $0,96\pm 0,02$ ,  $1,14\pm 0,04$  pg/ng protein) HFFD grubundan düşük kontrol grubundan yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). HFFD-LA grubunun beyin IFN- $\gamma$  konsantrasyonu HFFD-RSV grubundan yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

HFFD grubunun beyin TNF- $\alpha$  konsantrasyonu ( $5,32\pm 0,06$  pg/ng protein) kontrol ( $4,89\pm 0,05$  pg/ng protein) grubundan yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). HFFD-RSV ve HFFD-LA gruplarının beyin TNF- $\alpha$  konsantrasyonları (sırasıyla;  $4,83\pm 0,14$ ,  $4,60\pm 0,37$  pg/ng protein) HFFD grubundan düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.29., Tablo 4.10.).



**Şekil 4.29.** Beyin nöroinflamatuvar belirteçlerin konsantrasyonlarının gruplara göre ortalaması. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir. Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır. İkili karşılaştırmalar Tukey HSD post-hoc testi ile yapılmıştır. \*Tüm diyet grupları arasında anlamlı bir farklılık vardır, \*\*kontrol grubu ile anlamlı olarak farklıdır. #HFFD grubu ile anlamlı olarak farklıdır.

**Tablo 4.10.** Beyinde nöroinflamatuvar belirteçlerin konsantrasyonlarının diyet gruplarına göre ortalama değerleri.

Nöroinflamatuvar Belirteçler (pg/mg protein)	Diyet Grubu				p
	Kontrol	HFFD	HFFD-RSV	HFFD-LA	
IL-6	2,86±0,33 <sup>a</sup>	11,32±2,87 <sup>b</sup>	1,73±0,02 <sup>a</sup>	7,55±1,03 <sup>ab</sup>	<b>0,006*</b>
IL-10	5,66±0,48 <sup>a</sup>	6,73±0,16 <sup>a</sup>	11,92±0,53 <sup>b</sup>	26,58±2,10 <sup>b</sup>	<b>0,008*</b>
MCP-1	13,78±0,10 <sup>a</sup>	15,81±0,31 <sup>b</sup>	14,14±0,11 <sup>a</sup>	13,51±0,45 <sup>a</sup>	<b>0,001*</b>
IFN-γ	0,82±0,03 <sup>a</sup>	1,29±0,02 <sup>b</sup>	0,96±0,02 <sup>c</sup>	1,14±0,04 <sup>c</sup>	<b>0,001*</b>
TNF-α	4,89±0,05 <sup>a</sup>	5,32±0,06 <sup>b</sup>	4,83±0,14 <sup>a</sup>	4,60±0,37 <sup>a</sup>	<b>0,005*</b>
IL-12p70	4,23±0,26	5,24±0,28	4,40±0,54	6,00±0,65	0,074

Veriler ortalama  $\pm$  standart hata ( $\bar{X} \pm S_x$ ) olarak gösterilmiştir.

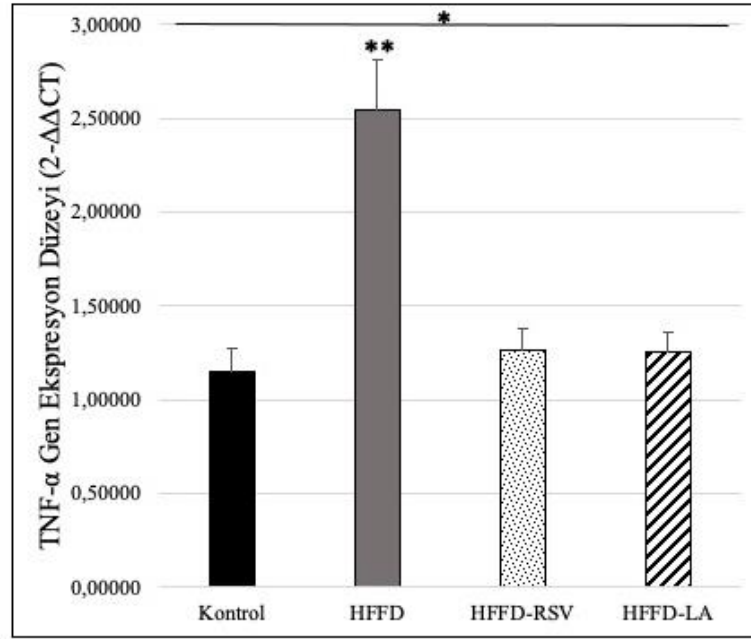
\*Gruplar arasındaki karşılaştırmada Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır.

<sup>a,b,c,d</sup>Farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden anlamlı olarak farklıdır (Tukey HSD post-hoc testi uygulanmıştır). İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir.

**HFFD**; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-RSV**; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-LA**; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet.

#### 4.4.3. Beyin Dokusunda Nöroinflamasyonla İlişkili Gen Analizleri

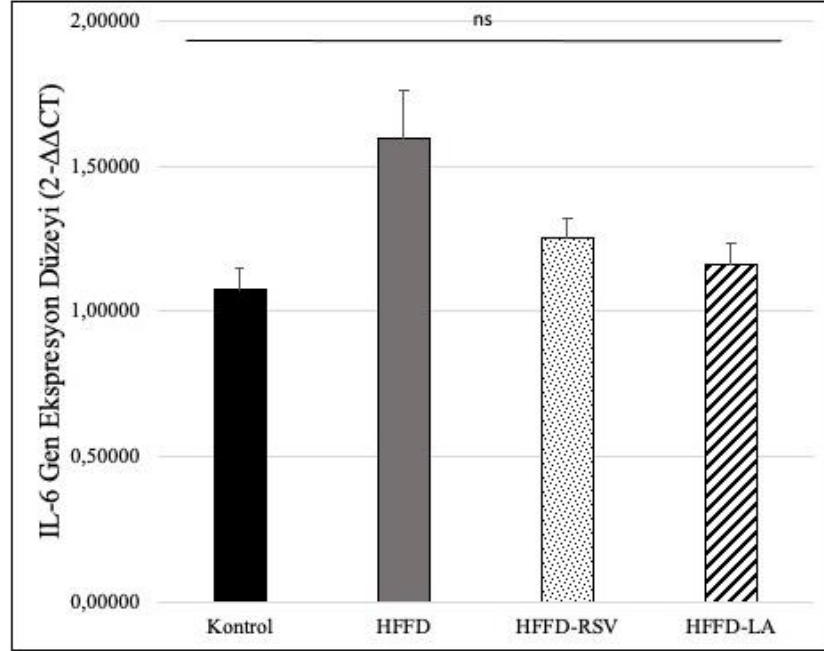
Nöroinflamasyon ile ilişkili TNF- $\alpha$  geninin beyin dokusunda rölatif gen ekspresyon düzeyleri (her grubun ekspresyon düzeyi en düşük ekspresyona sahip olan gruba göre rölatif olarak hesaplanarak) Şekil 4.30'de gösterilmiştir. Farelerin çalışma sonunda beyin TNF- $\alpha$  mRNA ekspresyonu gruplar arasında istatistiksel olarak farklıdır ( $p < 0,05$ ). HFFD grubunun ( $2,54 \pm 1,55$ ) beyin TNF- $\alpha$  mRNA ekspresyonu kontrol grubundan ( $1,14 \pm 0,69$ ) yüksek olarak bulunmuştur ( $p < 0,05$ ) (Şekil 4.30.)



**Şekil 4.30.** Beyin dokusunda qRT-PCR rölatif TNF- $\alpha$  mRNA ekspresyonlarının gruplara göre ortalaması. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir. Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır. İkili karşılaştırmalar Tukey HSD post-hoc testi ile yapılmıştır. \*Tüm diyet grupları arasında anlamlı bir farklılık vardır, \*\*kontrol grubu ile anlamlı olarak farklıdır. #HFFD grubu ile anlamlı olarak farklıdır.

Nöroinflamasyon ile ilişkili IL-6 geninin beyin dokusunda rölatif gen ekspresyon düzeyleri (her grubun ekspresyon düzeyi en düşük ekspresyona sahip olan gruba göre rölatif olarak hesaplanarak) Şekil 4.31'de gösterilmiştir. Farelerin çalışma

sonunda beyin IL-4 mRNA ekspresyonu gruplar arasında istatistiksel olarak farklı değildir ( $p>0,05$ ) (Şekil 4.31.).



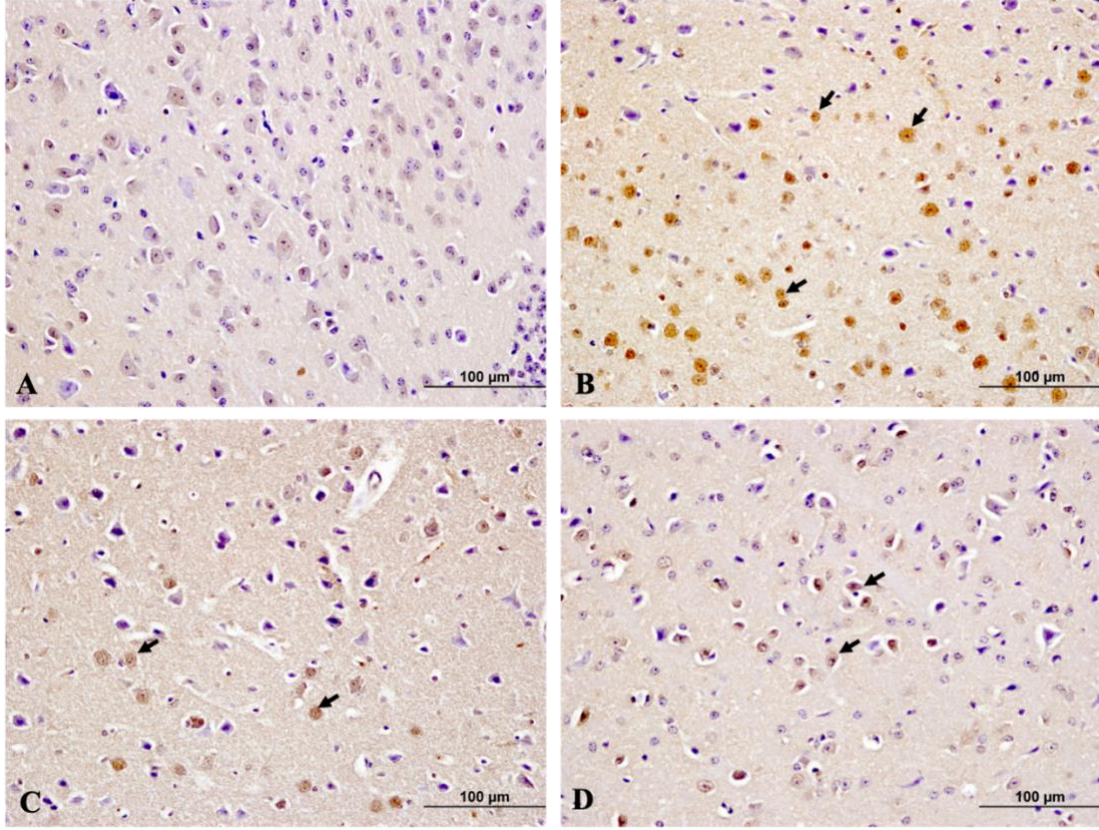
**Şekil 4.31.** Beyin dokusunda qRT-PCR rölatif IL-6 mRNA ekspresyonlarının gruplara göre ortalaması. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. İstatistiksel anlamlılık  $p<0,05$  olarak kabul edilmiştir. Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır. İkili karşılaştırmalar Tukey HSD post-hoc testi ile yapılmıştır.  $^{ns}p>0,05$

#### 4.4.4. Beyin Dokusunda Nöronflamasyonla İlişkili İmmünohistokimyasal Boyanma Bulgular

Beyin dokusuna ait kesitlerde IL-6 immunoreaktivitesinin diyet gruplarına göre ortalama değerleri Tablo 4.11’de gösterilmiştir. Farelerin çalışma sonunda beyin dokusu IL-6 immunoreaktivitesi gruplar arasında istatistiksel olarak farklıdır ( $p<0,05$ ). HFFD grubunun ( $84,04\pm 24,12$ ) IL-6 immunoreaktivitesi kontrol grubundan ( $78,77\pm 22,08$ ) yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Kontrol grubu ile HFFD-RSV grubu ölçüm sonuçları birbirine benzer olmakla beraber HFFD-RSV ve HFFD-LA (sırasıyla;  $79,14\pm 38,88$ ,  $77,02\pm 27,74$ ) gruplarının IL-6 immunoreaktivitesi HFFD grubundan düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ). HFFD-LA grubunun IL-6 immunoreaktivitesi kontrol ve



HFFD-RSV gruplarından düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Tablo 4.11.). IL-6 immunoreaktivitesine ait beyin görüntüleri Şekil 4.32’de gösterilmektedir.



**Şekil 4.32.** Beyin dokusunda IL-6 immunoreaktivitesine ait kesit görüntüleri. Siyah oklar IL-6 pozitif alanları göstermektedir. A) Kontrol grubu, B) HFFD grubu, C) HFFD-RSV grubu, D) HFFD-LA grubu. Skala bar 100 µm. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet.

**Tablo 4.11.** Beyin dokusu IL-6 immunoreaktivitesinin diyet gruplarına göre ortalama değerleri.

	Diyet Grubu				p
	Kontrol	HFFD	HFFD-RSV	HFFD-LA	
<b>IL-6 immunoreaktivitesi</b>	78,77±22,08 <sup>a</sup>	84,04±24,12 <sup>b</sup>	79,14±38,88 <sup>a</sup>	77,02±27,74 <sup>c</sup>	<b>0,0001*</b>

Veriler ortalama  $\pm$  standart hata ( $\bar{X} \pm Sx$ ) olarak gösterilmiştir.

\*Gruplar arasındaki karşılaştırmada Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır.

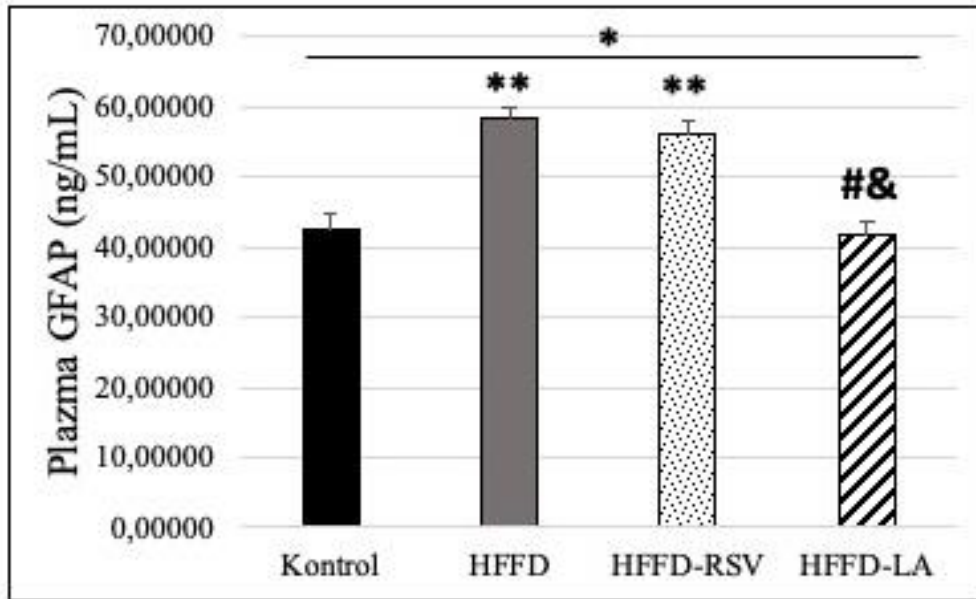
<sup>abc</sup>Farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden anlamlı olarak farklıdır (Tukey HSD post-hoc testi uygulanmıştır). İstatistiksel anlamlılık  $p<0,05$  olarak kabul edilmiştir.

**HFFD**; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-RSV**; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-LA**; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet.

## 4.5. Plazmada İnflamasyona İlişkin Bulgular

### 4.5.1. Plazmada GFAP ve CD36 Düzeyi

Farelerin çalışma sonunda plazma GFAP konsantrasyonlarının gruplara göre ortalaması Şekil 4.33’de ve değerleri Tablo 4.12’de verilmiştir. Farelerin plazma GFAP konsantrasyonları gruplar arasında istatistiksel olarak farklıdır ( $p<0,05$ ). HFFD ve HFFD-RSV gruplarının plazma GFAP seviyeleri (sırasıyla;  $58,22\pm 3,30$ ,  $56,29\pm 3,64$  ng/mL) kontrol grubundan ( $42,34\pm 4,61$  ng/mL) yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). HFFD-LA ( $41,80\pm 3,37$  ng/mL) grubunun plazma GFAP düzeyi HFFD ve HFFD-RSV gruplarından düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.33., Tablo 4.12.).



**Şekil 4.33.** Plazma GFAP konsantrasyonlarının gruplara göre ortalaması. GFAP; glial fibrillar asidik protein, HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. İstatistiksel anlamlılık  $p<0,05$  olarak kabul edilmiştir. Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır. İkili karşılaştırmalar Tukey HSD post-hoc testi ile yapılmıştır. \*Tüm diyet grupları arasında anlamlı bir farklılık vardır, \*\*kontrol grubu ile anlamlı olarak farklıdır. #HFFD grubu ile anlamlı olarak farklıdır. &HFFD-RSV grubu ile anlamlı olarak farklıdır.



**Tablo 4.12.** Plazmada inflamasyon ile ilişkili parametrelerin diyet gruplarına göre ortalama değerleri.

Parametre	Diyet Grubu				p
	Kontrol	HFFD	HFFD-RSV	HFFD-LA	
GFAP (ng/mL)	42,34±4,61 <sup>a</sup>	58,22±3,30 <sup>b</sup>	56,29±3,64 <sup>b</sup>	41,80±3,37 <sup>ac</sup>	<b>0,001*</b>
CD36 (ng/mL)	6,61±0,28 <sup>a</sup>	7,46±0,65 <sup>b</sup>	5,78±0,34 <sup>a</sup>	7,05±0,74 <sup>ab</sup>	<b>0,020*</b>

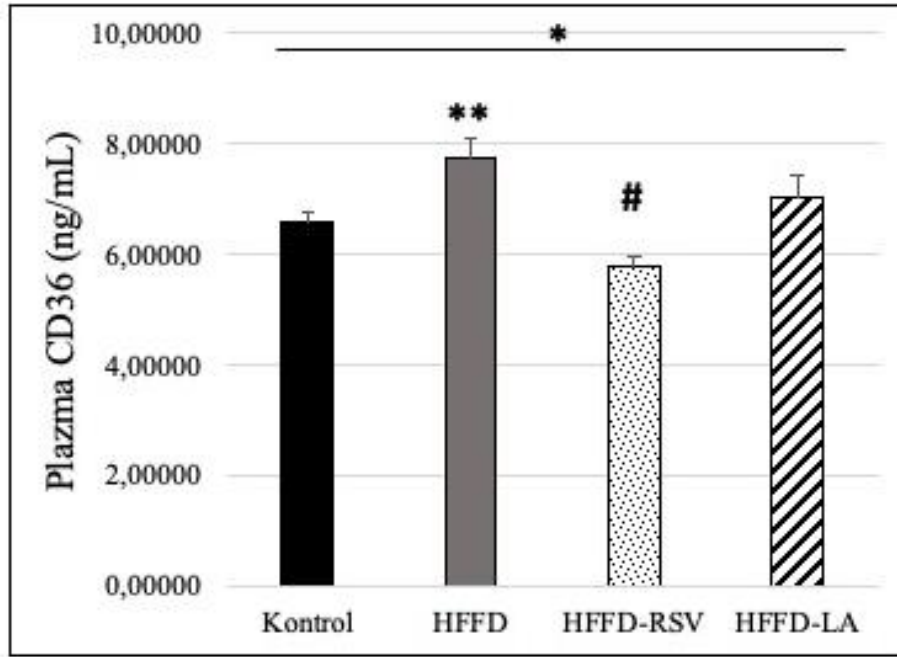
Veriler ortalama ± standart hata ( $\bar{X} \pm Sx$ ) olarak gösterilmiştir.

\*Gruplar arasındaki karşılaştırmada Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır.

<sup>ab</sup>Farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden anlamlı olarak farklıdır (Tukey HSD post-hoc testi uygulanmıştır). İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir.

**HFFD**; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-RSV**; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-LA**; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet.

Farelerin çalışma sonunda plazma CD36 konsantrasyonlarının gruplara göre ortalaması Şekil 4.34’da ve değerleri Tablo 4.12’de verilmiştir. Farelerin plazma CD36 konsantrasyonları gruplar arasında istatistiksel olarak farklıdır ( $p < 0,05$ ). HFFD grubunun plazma CD36 konsantrasyon (7,46±0,65 ng/mL) kontrol grubundan (6,61±0,28 ng/mL) yüksek bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). HFFD-RSV grubunun plazma CD36 düzeyi (5,78±0,34 ng/mL) HFFD grubundan düşük bulunmuştur ( $p < 0,05$ ) (Şekil 4.34., Tablo 4.12.).



**Şekil 4.34.** Plazma CD36 konsantrasyonlarının gruplara göre ortalaması. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir. Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır. İkili karşılaştırmalar Tukey HSD post-hoc testi ile yapılmıştır. \*Tüm diyet grupları arasında anlamlı bir farklılık vardır, \*\*kontrol grubu ile anlamlı olarak farklıdır. #HFFD grubu ile anlamlı olarak farklıdır.

#### 4.5.2. Plazmada İnflamatuvar Belirteçler

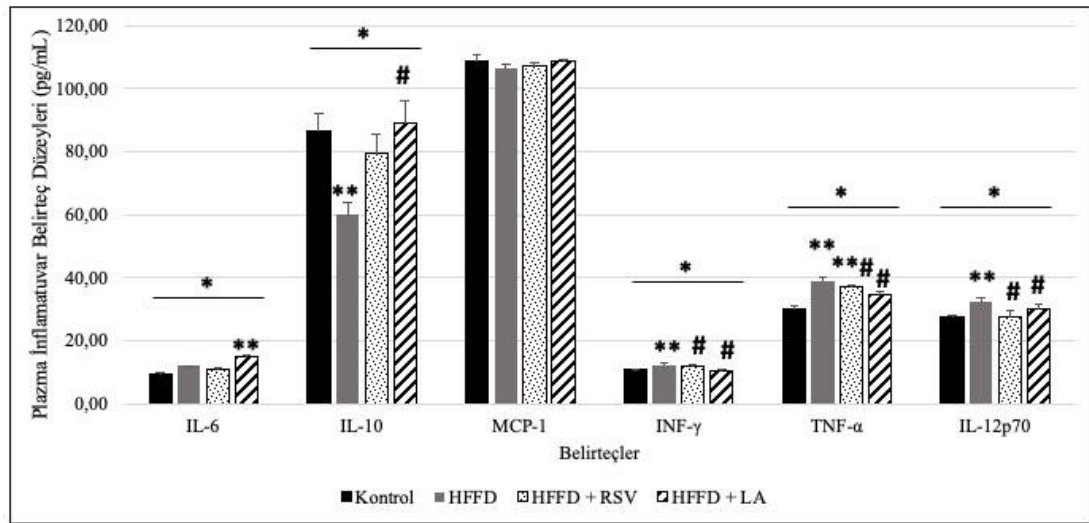
Farelerin çalışma sonunda plazma inflamatuvar belirteçlerin konsantrasyonlarının gruplara göre ortalaması Şekil 4.35’de ve değerleri Tablo 4.13’de verilmiştir. Farelerin IL-6, IL-10, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  ve IL-12p70 plazma sitokin seviyeleri gruplar arasında istatistiksel olarak farklıdır ( $p < 0,05$ ). Farelerin MCP-1 plazma kemokin seviyeleri gruplar arasında istatistiksel olarak farklı değildir ( $p > 0,05$ ).

HFFD-LA grubunun plazma IL-6 konsantrasyonu ( $15,06 \pm 1,21$  pg/mL) kontrol ( $9,60 \pm 0,25$  pg/mL) grubundan yüksek bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). HFFD grubunun plazma IL-10 konsantrasyonu ( $59,91 \pm 8,37$  pg/mL) kontrol ( $86,40 \pm 11,27$  pg/mL) grubundan düşük bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). HFFD-LA grubunun plazma IL-10 konsantrasyonu ( $89,04 \pm 14,52$  pg/mL) HFFD grubundan yüksek bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). HFFD grubunun plazma IFN- $\gamma$  konsantrasyonu ( $12,42 \pm 1,35$  pg/mL) kontrol ( $10,96 \pm 0,36$

pg/mL) grubundan yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). HFFD-LA ve HFFD-RSV gruplarının plazma IFN- $\gamma$  konsantrasyonu (sırasıyla;  $10,60\pm0,56$  pg/mL,  $11,95\pm0,88$  pg/mL) HFFD grubundan düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

HFFD grubunun plazma TNF- $\alpha$  konsantrasyonu ( $39,05\pm2,06$  pg/mL) kontrol ( $30,03\pm1,80$  pg/mL) grubundan yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). HFFD-LA grubunun plazma TNF- $\alpha$  konsantrasyonu ( $34,37\pm2,11$  pg/mL) HFFD grubundan düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ). HFFD-RSV grubunun plazma TNF- $\alpha$  konsantrasyonu ( $37,09\pm0,75$ pg/mL) HFFD grubundan düşük ve kontrol grubundan yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

HFFD grubunun plazma IL-12p70 konsantrasyonu ( $32,33\pm2,35$  pg/mL) kontrol ( $27,35\pm1,12$  pg/mL) grubundan yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). HFFD-RSV ve HFFD-LA grubunun plazma IL-12p70 konsantrasyonları (sırasıyla;  $27,38\pm4,55$ ,  $30,00\pm3,56$  pg/mL) HFFD grubundan düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.35., Tablo 4.13.).



**Şekil 4.35.** Plazma inflamatuvar belirteçlerin konsantrasyonlarının gruplara göre ortalaması. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet. İstatistiksel anlamlılık  $p<0,05$  olarak kabul edilmiştir. Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır. İkili karşılaştırmalar Tukey HSD post-hoc testi ile yapılmıştır. \*Tüm diyet grupları arasında anlamlı bir farklılık vardır, \*\*kontrol grubu ile anlamlı olarak farklıdır. #HFFD grubu ile anlamlı olarak farklıdır.

**Tablo 4.13.** Plazmada inflamatuvar belirteçlerin diyet gruplarına göre ortalama değerleri.

İnflamatuvar Belirteçler (pg/mL)	Diyet Grubu				p
	Kontrol	HFFD	HFFD-RSV	HFFD-LA	
IL-6	9,60±0,25 <sup>a</sup>	12,04±0,21 <sup>ab</sup>	10,74±1,49 <sup>ab</sup>	15,06±1,21 <sup>b</sup>	<b>0,008*</b>
IL-10	86,40±11,27 <sup>a</sup>	59,91±8,37 <sup>b</sup>	79,26±12,80 <sup>ab</sup>	89,04±14,52 <sup>a</sup>	<b>0,023*</b>
MCP-1	108,96±3,35	106,52±1,90	107,08±2,24	108,61±1,05	0,878
IFN- $\gamma$	10,96±0,36 <sup>a</sup>	12,42±1,35 <sup>b</sup>	11,95±0,88 <sup>a</sup>	10,60±0,56 <sup>a</sup>	<b>0,001*</b>
TNF- $\alpha$	30,03±1,80 <sup>a</sup>	39,05±2,06 <sup>b</sup>	37,09±0,75 <sup>c</sup>	34,37±2,11 <sup>ac</sup>	<b>0,001*</b>
IL-12p70	27,35±1,12 <sup>a</sup>	32,33±2,35 <sup>b</sup>	27,38±4,55 <sup>a</sup>	30,00±3,56 <sup>a</sup>	<b>0,002*</b>

Veriler ortalama  $\pm$  standart hata ( $\bar{X} \pm S_x$ ) olarak gösterilmiştir.

\*Gruplar arasındaki karşılaştırmada Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır.

<sup>abc</sup>Farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden anlamlı olarak farklıdır (Tukey HSD post-hoc testi uygulanmıştır). İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir.

**HFFD**; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-RSV**; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-LA**; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet.

#### 4.6. Karaciğer Dokusunda Histopatolojik Bulgular

Karaciğer dokusuna ait analizlerde diyet gruplarına göre hepatosit dejenerasyonu, mikroveziküler steatozis, lobüler ve portal alan inflamatuvar hücre infiltrasyonuna değerleri Tablo 4.14’da gösterilmiştir. Karaciğer hematoksilen-eozin boyamasına ait görüntüler Şekil 4.36’da gösterilmektedir.

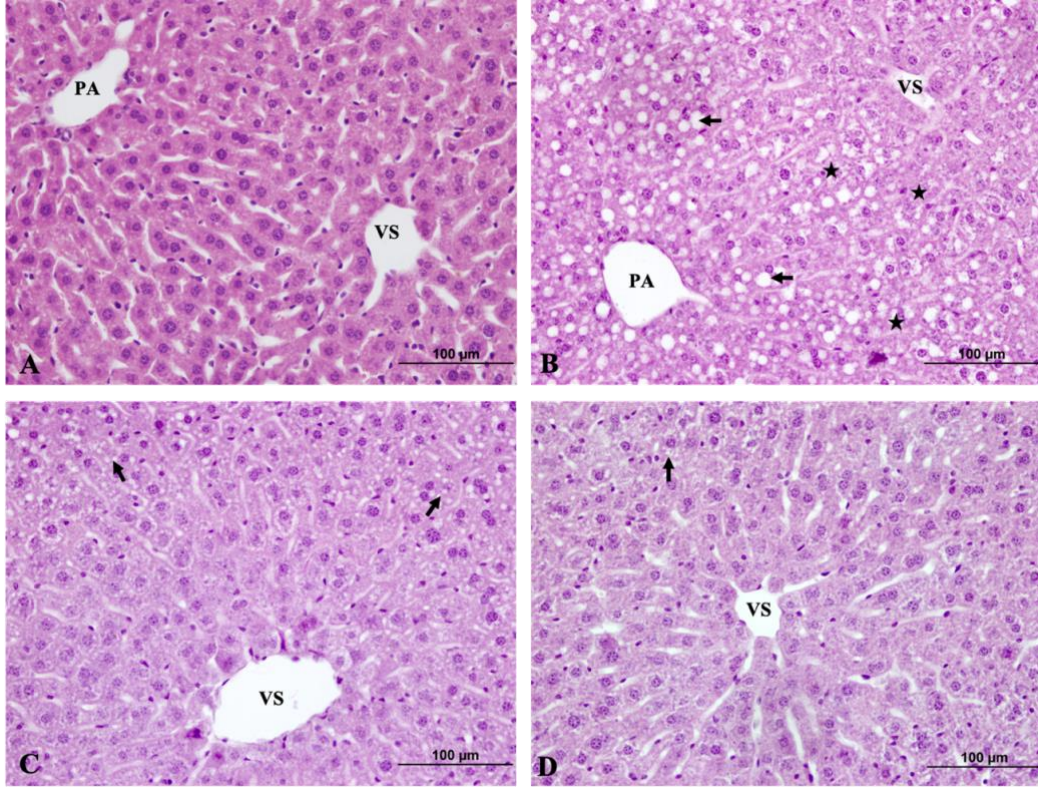
Karaciğer doku kesitleri incelemelerinde kontrol grubu normal histolojik görünüme sahiptir. Klasik karaciğer lobül yapılanmasında ortada vena sentralis ve burdan ışınal olarak yerleşimli hepatosit hücre kordonları, sinuzoidler düzenli görünüm sergilemektedir. Hepatositler sitoplazmik boyanması ve yuvarlak çekirdekleri ile kolayca ayırt edilmektedir. Klasik lobül periferinde yer alan portal alanlar da yer alan kanal, arter ve ven yapıları düzenli yapısını korumaktadır.

HFFD grubuna ait karaciğer kesitlerinin bazı alanlarında hepatosit ışınal diziliminde disorganizasyon olduğu ve hepatositlerin çoğunlukla yapısal özelliklerini

kaybederek dejenere olduğu gözlenmiştir. Klasik lobülü oluşturan tüm hepatositlerin hücre sitoplazmasında mikroveziküler steatozise rastlanmıştır. Mikroveziküler steatozisin klasik lobül periferinde bulunan hepatosit hücrelerin sitoplazmalarında daha yoğun olduğu gözlenmiştir. Doku kesitlerinde lobüler inflamatuvar hücre infiltrasyonu çok nadir gözlenirken, bazı portal alanlarda hafif inflamatuvar hücre infiltrasyonunun olduğu belirlenmiştir.

HFFD-RSV grubu karaciğer doku kesitlerinde hepatosit kordonları ve sinüzoidler HFFD grubuna kıyasla daha düzenli görünüme sahiptir. Hepatositlerde dejenerasyon çoğunlukla steatoz olan bölgelerde gözlenirken vena sentralise yakın bölgelerde bulunan hepatositlerin yapısal bütünlüğünün korunduğu gözlenmiştir. Mikroveziküler steatozis çoğunlukla klasik lobül periferinde yer alan hepatositlerin sitoplazmasında görülmektedir. Bu grupta da lobüler inflamatuvar hücre infiltrasyonu çok nadir gözlenirken, bazı portal alanlarda hafif inflamatuvar hücre infiltrasyonunun olduğu gözlenmiştir.

HFFD-LA grubu karaciğer doku kesitleri hepatosit kordonları ve sinüzoidler bakımından çoğunlukla normal histolojik görünüme sahiptir. Hepatositlerin yapısal bütünlüğünün korunduğu ve dejenerasyonun az olduğu gözlenmiştir. Klasik lobül periferinde yer alan hepatositlerin hücre sitoplazmasındaki mikroveziküler steatozis ise hem HFFD hem de HFFD-RSV gruplarına kıyasla oldukça azalmıştır. Bu gruba ait kesitlerde lobüler inflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlenmezken portal alan inflamatuvar hücre infiltrasyonu çok nadir gözlenmiştir.



**Şekil 4.36.** Karaciğer dokusunda hematoksilen-eozin boyamaya ait kesit görüntüleri. Hepatosit dejenerasyonu (yıldız), mikroveziküler steatozis (siyah oklar) gösterilmektedir. A) Kontrol grubu, B) HFFD grubu, C) HFFD-RSV grubu, D) HFFD-LA grubu. Skala bar 100 µm. HFFD; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-RSV; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, HFFD-LA; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet.

**Tablo 4.14.** Diyet gruplarına ait hepatosit dejenerasyonu, mikroveziküler steatozis, lobüler ve portal alan inflamatuvar hücre infiltrasyonuna değerleri.

	Diyet Grubu				p
	Kontrol	HFFD	HFFD-RSV	HFFD-LA	
Hepatosit dejenerasyonu	0 ± 0 <sup>a</sup>	1,85 ± 0,64 <sup>b</sup>	0,75 ± 0,46 <sup>c</sup>	0,37 ± 0,51 <sup>a</sup>	<b>0,0001*</b>
Mikroveziküler steatozis	0,125 ± 0,35 <sup>a</sup>	1,75 ± 0,70 <sup>b</sup>	1 ± 0,53 <sup>b</sup>	0,75 ± 0,70 <sup>a</sup>	<b>0,0001*</b>
Lobüler inflamatuvar hücre infiltrasyonu	0 (0-0)	0 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-0)	0,5603
Portal alan inflamatuvar hücre infiltrasyonu	0 (0-0)	0 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-1)	0,2642

Veriler ortalama ± standart hata ( $\bar{X} \pm Sx$ ) olarak gösterilmiştir.

\*Gruplar arasındaki karşılaştırmada Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır.

<sup>abc</sup>Farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden anlamlı olarak farklıdır (Tukey HSD post-hoc testi uygulanmıştır). İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir.

**HFFD**; yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-RSV**; resveratrol eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet, **HFFD-LA**; laurik asit eklenmiş yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyet.

#### 4.7. GFAP ve CD36 ile İlgili Korelasyonlar

Farelerin plazma ve beyin CD36 ve GFAP düzeyleri arasındaki korelasyon Tablo 4.15’de gösterilmiştir. Beyin GFAP düzeyleri ile beyin CD36 düzeyleri arasında iyi düzeyde ve pozitif yönlü ilişki saptanmıştır ( $r=0,678$ ;  $p=0,001$ ).

**Tablo 4.15.** Farelerin plazma ve beyin GFAP ve CD36 düzeyleri arasındaki korelasyon.

Parametreler	Plazma GFAP (ng/mL)		Plazma CD36 (ng/mL)		Beyin GFAP (ng/mg protein)		Beyin CD36 (ng/mg protein)	
	r	p	r	p	r	p	r	P
Plazma GFAP (ng/mL)	1	1	0,011	0,962	0,404	0,056	0,374	0,115
Plazma CD36 (ng/mL)	0,011	0,962	1	1	0,349	0,088	0,243	0,289
Beyin GFAP (ng/mg protein)	0,404	0,056	0,349	0,088	1	1	<b>0,678**</b>	<b>0,001</b>
Beyin CD36 (ng/mg protein)	0,374	0,115	0,243	0,289	<b>0,689**</b>	<b>0,001</b>	1	1

Verilerin istatistiği normal dağılım durumlarına göre Spearman veya Pearson korelasyon testleri yapılarak elde edilmiştir.

Veriler korelasyon katsayısı (r) ve p değerleri olarak gösterilmiştir.

İstatistiksel olarak anlamlı çıkan değerler koyu renkle gösterilmiştir.

İstatistiksel anlamlılık \*p<0,05 \*\*p<0,001 olarak kabul edilmiştir.

**CD36**; cluster of differentiation 36, **GFAP**; glial fibrillary asidic protein.

Farelerin plazma ve beyin GFAP ve CD36 düzeyleri ile antropometrik ölçümler ve vücut kompozisyonu arasındaki korelasyon Tablo 4.16'da gösterilmiştir. Beyin GFAP düzeyleri ile vücut yağ oranları arasında orta düzeyde ve pozitif yönlü ilişki saptanmıştır (r=0,481; p=0,027).



**Tablo 4.16.** Farelerin plazma ve beyin GFAP ve CD36 düzeyleri ile antropometrik ölçümler ve vücut kompozisyonu arasındaki korelasyon.

Parametreler	Son vücut ağırlığı (g)		Toplam vücut ağırlık artışı (g)		Ortalama vücut ağırlık artışı (g)		Lee indeksi (g/cm <sup>3</sup> )		Vücut yağ oranı (%)		Vücut protein oranı (%)	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
Plazma GFAP (ng/mL)	0,216	0,300	0,267	0,197	0,288	0,193	0,220	0,325	0,378	0,122	0,392	0,087
Plazma CD36 (ng/mL)	0,026	0,898	-0,33	0,872	0,270	0,202	-0,72	0,738	0,012	0,962	-0,402	0,064
Beyin GFAP (ng/mg protein)	0,059	0,762	0,158	0,414	0,261	0,217	0,221	0,278	<b>0,481*</b>	<b>0,027</b>	0,103	0,641
Beyin CD36 (ng/mg protein)	0,208	0,341	0,366	0,086	0,386	0,084	0,352	0,129	0,440	0,077	-0,047	0,848

Verilerin istatistiği normal dağılım durumlarına göre Spearman veya Pearson korelasyon testleri yapılarak elde edilmiştir.

Veriler korelasyon katsayısı (r) ve p değerleri olarak gösterilmiştir.

İstatistiksel olarak anlamlı çıkan değerler koyu renkle gösterilmiştir.

İstatistiksel anlamlılık \*p<0,05 \*\*p<0,001 olarak kabul edilmiştir.

**CD36**; cluster of differentiation 36, **GFAP**; glial fibrillary asidic protein.

Farelerin plazma ve beyin GFAP ve CD36 düzeyleri ile plazma inflamatuvar belirteçler arasındaki korelasyon Tablo 4.17'de gösterilmiştir. Plazma GFAP düzeyleri ile plazma TNF- $\alpha$  düzeyleri arasında orta düzeyde ve pozitif yönlü ilişki ( $r=0,581$ ;  $p=0,018$ ) saptanmıştır. Beyin GFAP düzeyleri ile plazma IFN- $\gamma$  düzeyleri arasında iyi düzeyde ve pozitif yönlü ilişki ( $r=0,683$ ;  $p=0,001$ ), plazma TNF- $\alpha$  düzeyleri arasında orta düzeyde ve pozitif yönlü ilişki ( $r=0,585$ ;  $p=0,007$ ), plazma IL-12p70 (pg/mL) düzeyleri arasında orta düzeyde ve pozitif yönlü ilişki ( $r=0,514$ ;  $p=0,012$ ) saptanmıştır. Beyin CD36 düzeyleri ile plazma TNF- $\alpha$  düzeyleri arasında çok iyi düzeyde ve pozitif yönlü ilişki ( $r=0,708$ ;  $p=0,007$ ), plazma IL-12p70 (pg/mL) düzeyleri arasında çok iyi düzeyde ve pozitif yönlü ilişki ( $r=0,742$ ;  $p<0,001$ ) saptanmıştır.

**Tablo 4.17.** Farelerin plazma ve beyin GFAP ve CD36 düzeyleri ile plazma inflamatuvar belirteçler arasındaki korelasyon.

Parametreler	Plazma IL-6 (pg/mL)		Plazma IL-10 (pg/mL)		Plazma MCP-1 (pg/mL)		Plazma IFN- $\gamma$ (pg/mL)		Plazma TNF- $\alpha$ (pg/mL)		Plazma IL-12p70 (pg/mL)	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
Plazma GFAP (ng/mL)	-0,338	0,218	-0,343	0,193	0,115	0,650	0,188	0,485	<b>0,581*</b>	<b>0,018</b>	0,297	0,217
Plazma CD36 (ng/mL)	0,092	0,725	0,142	0,586	0,214	0,378	0,145	0,577	0,352	0,166	0,226	0,312
Beyin GFAP (ng/mg protein)	0,100	0,676	-0,174	0,463	0,363	0,097	<b>0,683**</b>	<b>0,001</b>	<b>0,585**</b>	<b>0,007</b>	<b>0,514*</b>	<b>0,012</b>
Beyin CD36 (ng/mg protein)	-0,111	0,706	-0,238	0,413	0,080	0,752	0,353	0,180	<b>0,708**</b>	<b>0,007</b>	<b>0,742**</b>	<b>&lt;0,001</b>

Verilerin istatistiği normal dağılım durumlarına göre Spearman veya Pearson korelasyon testleri yapılarak elde edilmiştir.

Veriler korelasyon katsayısı (r) ve p değerleri olarak gösterilmiştir.

İstatistiksel olarak anlamlı çıkan değerler koyu renkle gösterilmiştir.

İstatistiksel anlamlılık \*p<0,05 \*\*p<0,001 olarak kabul edilmiştir.

**CD36**; yağ asidi translokaz proteini, **GFAP**; glial fibriler asidik protein. **IFN**; interferon; **IL**; interlökin, **MCP**; monosit kemoatraktan protein; **TNF**; tümör nekroz faktörü.

Farelerin plazma ve beyin GFAP ve CD36 düzeyleri ile beyin inflamatuvar belirteçler arasındaki korelasyon Tablo 4.18'de gösterilmiştir. Beyin GFAP düzeyleri ile beyin IL-6 düzeyleri arasında orta düzeyde ve pozitif yönlü ilişki ( $r=0,571$ ;  $p=0,026$ ), beyin MCP-1 düzeyleri arasında çok iyi düzeyde ve pozitif yönlü ilişki ( $r=0,734$ ;  $p=0,002$ ), beyin IFN- $\gamma$  düzeyleri arasında iyi düzeyde ve pozitif yönlü ilişki ( $r=0,676$ ;  $p=0,006$ ), beyin TNF- $\alpha$  düzeyleri arasında iyi düzeyde ve pozitif yönlü ilişki ( $r=0,606$ ;  $p=0,017$ ) saptanmıştır. Beyin CD36 düzeyleri ile beyin IFN- $\gamma$  düzeyleri arasında iyi düzeyde ve pozitif yönlü ilişki ( $r=0,653$ ;  $p=0,040$ ) saptanmıştır.

**Tablo 4.18.** Farelerin plazma ve beyin GFAP ve CD36 düzeyleri ile beyin inflamatuvar belirteçler arasındaki korelasyon.

Parametreler	Beyin IL-6 (pg/mL)		Beyin IL-10 (pg/mL)		Beyin MCP-1 (pg/mL)		Beyin IFN- $\gamma$ (pg/mL)		Beyin TNF- $\alpha$ (pg/mL)		Beyin IL-12p70 (pg/mL)	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
Plazma GFAP (ng/mL)	0,197	0,540	0,056	0,864	0,464	0,129	0,397	0,201	0,347	0,269	0,002	0,994
Plazma CD36 (ng/mL)	0,434	0,121	-0,128	0,662	0,295	0,305	0,300	0,297	0,134	0,649	0,144	0,623
Beyin GFAP (ng/mg protein)	<b>0,571*</b>	<b>0,026</b>	-0,287	0,299	<b>0,734**</b>	<b>0,002</b>	<b>0,676**</b>	<b>0,006</b>	<b>0,606*</b>	<b>0,017</b>	0,134	0,635
Beyin CD36 (ng/mg protein)	0,301	0,399	-0,282	0,430	0,502	0,139	<b>0,653*</b>	<b>0,040</b>	0,324	0,361	-0,79	0,828

Verilerin istatistiği normal dağılım durumlarına göre Spearman veya Pearson korelasyon testleri yapılarak elde edilmiştir.

Veriler korelasyon katsayısı (r) ve p değerleri olarak gösterilmiştir.

İstatistiksel olarak anlamlı çıkan değerler koyu renkle gösterilmiştir.

İstatistiksel anlamlılık \*p<0,05 \*\*p<0,001 olarak kabul edilmiştir.

**CD36**; yağ asidi translokaz proteini, **GFAP**; glial fibriler asidik protein. **IFN**; interferon; **IL**; interlökin, **MCP**; monosit kemoatraktan protein; **TNF**; tümör nekroz faktörü.

Farelerin plazma ve beyin GFAP ve CD36 düzeyleri ile davranış testleri parametreleri arasındaki korelasyon Tablo 4.19'da gösterilmiştir. Plazma GFAP düzeyleri ile AAT kenar alana giriş sayıları arasında iyi düzeyde ve pozitif yönlü ilişki saptanmıştır (r=0,655; p=0,003). Beyin GFAP düzeyleri ile YNTT uzun süreli belleğin diskriminasyon oranları arasında orta düzeyde ve negatif yönlü ilişki saptanmıştır (r=-0,565; p=0,022). Beyin CD36 düzeyleri ile AAT köşe alanlara giriş sayıları arasında orta düzeyde ve pozitif yönlü ilişki saptanmıştır (r=0,537; p=0,026).

**Tablo 4.19.** Farelerin plazma ve beyin GFAP ve CD36 düzeyleri ile davranış testleri parametreleri arasındaki korelasyon.

Parametreler	Plazma GFAP (ng/mL)		Plazma CD36 (ng/mL)		Beyin GFAP (ng/mg protein)		Beyin CD36 (ng/mg protein)	
	r	p	r	p	r	p	r	p
AAT hareketli geçirilen zaman (sn)	-0,058	0,818	-0,376	0,093	-0,140	0,533	-0,238	0,357
AAT hareketsiz geçirilen zaman (sn)	0,322	0,155	0,081	0,712	0,056	0,791	0,178	0,467
AAT hareketsiz epizodları (n)	0,195	0,411	0,221	0,298	-0,176	0,400	0,046	0,853
AAT merkez alana giriş sayısı (n)	0,065	0,785	-0,050	0,824	-0,144	0,502	0,007	0,978
AAT kenar alana giriş sayısı (n)	<b>0,655**</b>	<b>0,003</b>	0,038	0,870	0,296	0,181	0,448	0,063
AAT köşe alanlara giriş sayısı (n)	0,318	0,160	0,070	0,765	0,286	0,175	<b>0,537*</b>	<b>0,026</b>
AAT merkezden ayrılma süresi (sn)	0,107	0,643	-0,313	0,146	-0,173	0,442	0,031	0,904
AAT toplam gezilen mesafe (m)	-0,40	0,862	-0,132	0,548	-0,162	0,439	-0,073	0,760
AAT lokomotor aktivite (n)	0,124	0,593	0,004	0,987	0,002	0,994	0,084	0,733
YNTT diskriminasyon oranlarının (%) – kısa süreli bellek	0,019	0,941	-0,238	0,327	0,066	0,788	-0,029	0,916
YNTT diskriminasyon oranlarının (%) – uzun süreli bellek	-504	0,79	-0,251	0,388	<b>-0,565*</b>	<b>0,022</b>	-0,131	0,684
BBT besine yaklaşma ve yeme latansı (sn)	0,281	0,377	0,089	0,762	0,275	0,302	0,460	0,154

Verilerin istatistiği normal dağılım durumlarına göre Spearman veya Pearson korelasyon testleri yapılarak elde edilmiştir.

Veriler korelasyon katsayısı (r) ve p değerleri olarak gösterilmiştir.

İstatistiksel olarak anlamlı çıkan değerler koyu renkle gösterilmiştir.

İstatistiksel anlamlılık \*p<0,05 \*\*p<0,001 olarak kabul edilmiştir.

**AAT**; açık alan testi; **BBT**; baskılanmış beslenme testi; **CD36**; yağ asidi translokaz proteini, **GFAP**; glial fibriler asidik protein. **YNTT**; yeni nesne tanıma testi.

## 5. TARTIŞMA

Günümüzde beslenme ve nörodejeneratif hastalık gelişimi arasındaki ilişkiyi aydınlatacak moleküler mekanizmaların belirlenmesi konusundaki araştırmalar önem kazanmıştır (170). Bu araştırmalarda genel olarak yüksek enerji, ilave şekerler (fruktoz veya sukroz) ve yağ içeren batı tarzı diyetlerin nörodejeneratif hastalıkların ayırt edici özelliği olan nöroinflamasyon mekanizmaları ile ilişkili olduğuna işaret edilmektedir (95, 171). Polifenoller nöroinflamasyonu azaltmak için potansiyel bir diyet faktörü olarak değerlendirilirken (172) hindistan cevizi yağının son yıllarda nörolojik hastalıklarda kullanımı dikkat çekmektedir (9, 20). Bu nedenle, bu çalışma, polifenollerden biri olan resveratrol alımının ve hindistan cevizi yağındaki temel yağ asidi olan laurik asidin farelerde yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyetle (HFFD) indüklenen nöroinflamasyon üzerindeki etkilerini araştırmıştır.

### 5.1. Yem ve Su Tüketimleri, Enerji Alımları ve Vücut Ağırlıklarına İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi

Yedi haftalık diyet müdahalesi sırasında günlük yem tüketim miktarı kontrol grubunda diğer üç HFFD içeren gruptan daha yüksek bulunmuştur (Şekil 4.1., Tablo 4.1.). Kemirgenler üzerinde yapılan farklı araştırmalar HFFD (enerjinin %38 yağ, %20 fruktoz), yüksek yağlı diyet (HFD) (enerjinin %35-48 yağ) (170, 173) ve yüksek hindistan cevizi yağı içeren diyet (enerjinin %60 yağ) (12) alımının günlük yem tüketiminde miktar olarak azalmaya neden olduğunu göstermiştir (144). Kontrol grubuna kıyasla yüksek yağ ve şeker içeren diyetlerin yol açtığı düşük yem tüketim miktarı kontrol diyetlerinde günlük karbonhidrat alımı ve karbonhidşanlardan gelen günlük enerjinin yüksek olması ile açıklanmaktadır (12). Bunun yanında HFFD'nin yüksek yağ içeriği sebebiyle intestinal hormonları uyararak daha düşük yem tüketimine yol açabileceği de bildirilmiştir (144). HFD yeminin yüksek yağ içeriği ile oluşan yağlı yapısı bazı çalışmalarda kemirgenler için çekici bulunurken bu diyetlerin yüksek enerji içeriğinin daha düşük yem tüketimine neden olduğu da bilinmektedir (174). Çalışmalarda kullanılan yemlerin yağ içeriğindeki farklılıklar nedeniyle farklı sonuçların gözlemlenebileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada HFFD-RSV ve HFFD-LA fare gruplarının günlük yem tüketim miktarları HFFD grubundan farklı bulunmamıştır (Şekil 4.1., Tablo 4.1.). Fareler

üzerinde yapılan diğer çalışmalarda, HFD'ye (enerjinin %60 yağ) resveratrol (300 mg/kg/gün veya 400 mg/kg/yem) eklenmesinin günlük yem tüketim miktarını arttırdığı (175) ve azalttığı (176) gösterilmiştir. Resveratrol çalışmalarında kullanılan farklı yöntemlerin çelişkili sonuçlara yol açtığı düşünülmektedir. Çalışmalar, resveratrolü saf halde yüksek yağlı yem ile karıştırarak (175) veya bu çalışmada olduğu gibi gavaj yolu ile farelere vermektedir (176). Bu çalışmanın bulgularından farklı olarak kemirgenler üzerinde yapılan diğer araştırmalar HFD'ye (enerjinin %45-60) %100 laurik asit eklendiğinde (177) veya laurik asidin monogliseridi olan gliserol monolaurat eklendiğinde (178) yem tüketim miktarının azaldığını göstermiştir. Yem tüketiminde bu azalma hipotalamusta daha düşük oreksijenik nöropeptit mRNA (NPY, AGRP) düzeyi ile ilişkili bulunmuştur (177). Laurik asidin yeme eklenmesinin yem kokusunun farklılaşmasına yol açarak sıçanlarda düşük yem tüketimine yol açtığı ve bu nedenle oreksijenik nöropeptit seviyelerinin azaldığı düşünülmektedir (177). Bunun yanında laurik asit ilavesi (1600 mg/kg/gün gliserol monolaurat) ile farelerde azalan yem tüketim miktarı enerji alımında bir değişikliğe yol açmamıştır (178). Literatürde yapılan çalışmaların müdahale süresinin (12 hafta, 16 hafta) daha uzun olması veya laurik asidin dozunun farklı olması sonuçların farklı çıkmasına neden olmuştur (177, 178).

Fruktoz eklenmiş içme suyu (%10 w/v fruktoz) kemirgenlerde su tüketiminin artmasına neden olabilmektedir (144), ancak bu çalışmada (%5 w/v fruktoz) grupların su tüketim miktarında herhangi bir farklılık saptanmamıştır (Şekil 4.2., Tablo 4.1.). Yapılan bir çalışmada, kemirgenlerin içme suyuna eklenen şeker türünün önemli olduğu ileri sürülerek, yüksek fruktozlu mısır şurubu (%20 w/v fruktoz) eklenen içme suyunun sıçanlarda günlük su alımını arttırdığı ancak fruktoz ve sükrözün (%20 w/v) arttırmadığı gösterilmiştir (38). Başka bir çalışmada da sıçanlara verilen şekerli solüsyonlarda (%11 w/v) yüksek fruktozlu mısır şurubu yerine sükröz tercih edilmiştir (179). Bu çalışmada ise içme suyuna eklenen fruktoz miktarı (%5 w/v fruktoz) tüketilen toplam sıvı miktarını değiştirmemiş olsa da günlük fruktoz alımına (%20) katkıda bulunarak yüksek fruktozlu diyet tüketimine neden olmuştur.

Bu çalışmada HFFD içeren diyetlerin toplam günlük enerji alımları kontrol grubundan yüksek bulunmuştur (Şekil 4.3., Tablo 4.1.). Kontrol grubuna kıyasla HFD (enerjinin %40 yağ) (81) ve yüksek fruktozlu diyet (enerjinin %35 fruktoz veya %20

w/v fruktoz) (38, 81, 153) yüksek enerji alımına yol açmaktadır. Kemirgenlerde diyetin karbonhidrat veya protein yerine yağ içeriğini arttırmak yüksek enerji alımına yol açarak artan adipozite ve obezite ile ilişkilendirilmektedir (180). Yapılan bir çalışmada sıçanlara verilen HFD (enerjinin %60 yağ) enerji alımını arttırırken yüksek fruktozlu diyetin (enerjinin %55 fruktoz) enerji alımı kontrol grubu ile benzer bulunmuştur (181). Güncel kanıtlar yüksek yağın, özellikle fruktoz başta olmak üzere yüksek karbonhidrat kaynakları ile beraber kullanımının HFD'ye kıyasla tercih edilebilirliği yönündedir (180). Kemirgen diyetlerinde fruktozun özellikle sıvı formda alınması insan diyetine benzerliği ile ön plana çıkmaktadır (180). Bunun nedeni fruktozun doğal olmayan kaynaklarının insan diyetinde sıvı formda alınmasıdır. Amerika Birleşik Devletlerinde yaşayan yetişkinlerde günlük alınan enerjinin ortalama %6,5'i şekerle tatlandırılmış içeceklerden gelmektedir (182).

Diyete bağlı indüklenen obezite modellerinde makro besin ögeleri dağılımı değiştiği için çalışmalarda genellikle vücut ağırlıkları ve vücut kompozisyonları değerlendirilen önemli parametreler arasında yer almaktadır. Çalışmalar, hem kısa süreli (3 gün, 7 gün, 10 gün) (12, 170) hem de uzun süreli (12 hafta, 15 hafta) (38, 81, 126), HFFD (183), HFD (12, 81, 126, 170) ve yüksek fruktozlu diyet (38, 81) müdahalesiyle kemirgenlerde vücut ağırlıklarının arttığını bildirmiştir ve bu durum diyetin yağ kaynağından (domuz yağı, zeytinyağı, tereyağı, hindistan cevizi yağı) bağımsız olarak gösterilmiştir (12, 81). Bu çalışmada da gözlenen HFFD grubunun yüksek vücut ağırlığı ve vücut ağırlığı artışı (Şekil 4.7., Tablo 4.1) diyetin yağdan gelen enerjisinin yüksek olması ile açıklanabilmektedir (12).

Yağdan gelen günlük enerji yüksek olmasına rağmen HFFD-RSV ve HFFD-LA fare gruplarında toplam vücut ağırlığı artışı HFFD'den daha düşük bulunmuştur ancak sadece HFFD-RSV grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa ulaşılmıştır (Şekil 4.8., Tablo 4.1). Obezite araştırmalarında yaygın olarak çalışılan polifenollerden biri olan resveratrolün hiperinsülinemiye iyileştirmesi, anti-oksidan ve anti-inflamatuvar etkileri ve AMPK sinyalizasyon yolaklarını regüle etmesi ile obeziteye karşı koruyuculuğu gösterilmektedir (184). Yapılan çalışmalarda HFD (enerjinin %45-60 yağ) ile beslenen farelere resveratrol verilmesi (5-10 mg/kg veya 400 mg/kg/yem veya 15-300 mg/kg/gün) vücut ağırlığında azalmaya yol açmıştır (154, 175, 176, 185, 186). Vücut ağırlığındaki azalmanın 8. haftada başladığı belirtilmiştir

(176). Yapılan çalışmalarda resveratrol, mikrobiyom kompozisyonunu değiştirerek (obezite ile ilişkili gösterilen mikroorganizmaları azaltarak ve kısa zincirli yağ asitleri üretiminden sorumlu mikroorganizmaları arttırarak) HFD ile ilişkili sistemik inflamasyonu azaltması ile ilişkili mekanizmalar üzerinden obezite karşıtı etkiler göstermiştir (176, 185, 186). Buna karşın, bir çalışmada farelere verilen HFD'ye (enerjinin %60 yağ) %1 resveratrol eklenmesi vücut ağırlığı üzerinde bir değişiklik göstermemiştir (187). Resveratrolün diyetle ilgili indüklenen obezite ve vücut ağırlığı artışının önlenmesi üzerindeki etkileri konusunda farklı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Fakat yakın tarihte yayımlanan bir sistematik derleme çalışmasında resveratrolün kemirgenlerde kahverengi adipoz doku aktivasyonuna ve beyaz adipoz doku kahverengileşmesine yol açarak obeziteye karşı koruyucu olabileceği gösterilmiştir (188). Bu çalışma da literatürle paralellik göstererek resveratrol ilavesinin HFFD ile indüklenen obeziteye karşı koruyucu olabileceğini göstermiştir.

Kemirgenler üzerinde yapılan çalışmalarda HFD'ye (enerjinin %45-60 yağ) gliserol monolaurat (1600 mg/kg/gün) (178), %100 laurik asit (177) veya %1 laurik asit (189) eklendiğinde vücut ağırlığında (177, 178, 189), beden kütle indeksi ve Lee indeksinde azalma görülmüştür (177). Azalan vücut ağırlığı; azalan iştah durumu, azalan yem tüketimi (177), değişen mikrobiyom kompozisyonu (azalan disbiyoz ve artan *Bifidobacterium* sayısı) (178) ve termogenezele ilişkili proteinin kahverengi adipoz dokuda artan ekspresyonu (189) ile ilişkili bulunmuştur. MCFA'dan zengin diyetlerin  $\beta$ -oksidasyonu arttırarak obeziteye karşı koruyucu olabileceği düşünülmektedir (173). Yapılan bir çalışmada sıçanlara yüksek karbonhidrat ve hindistan cevizi yağından (200 g/kg) oluşan diyetin 16 hafta boyunca verilmesi ile hindistan cevizi yağı vücut ağırlığında azalmaya yol açmıştır (190). Hindistan cevizi yağında bulunan MCFA'nın enerji harcamasını arttırarak düşük vücut ağırlığına yol açtığı düşünülmektedir. Söz konusu MCFA olan laurik asit ve miristik asidin pankreatik lipaza gereksinim duymadan hızlıca emilmesi ve doymuş LCFA'ya göre mitokondride kolayca okside olması aday mekanizmalar arasında gösterilmektedir (190). Bu bulgular mevcut çalışmada HFFD-LA fare grubunda HFFD grubuna kıyasla bulunan düşük vücut ağırlığı artışı ile benzerlik göstermektedir. Buna karşın, farklı SFA'dan zengin HFD (enerjinin %48 yağ) ile beslenen farelerde doymuş yağ asitleri arasında fark olmaksızın hem laurik asit hem de palmitik asit diyet gruplarında vücut



ağırlıkları artmış fakat yağsız vücut kütleleri değişmemiştir (173). Benzer şekilde, HFD'ye (enerjinin %45 yağ) eklenen laurik asidi (%3) palmitik asitle (%3) karşılaştıran bir çalışmada her iki yağ asidi grubunda da vücut ağırlığı artmıştır (191). Bu çalışmalarda artan vücut ağırlıkları verilen diyetin yüksek yağ içermesi nedeniyle obeziteyi indüklemesi (191) ve obezojenik diyetlerin toplam vücut ağırlığı başına ölçülen enerji harcamasının (solunum değişim oranı, VCO<sub>2</sub> ve VO<sub>2</sub> arasındaki oran) düşük olması ile ilişkilendirilmiştir (173). Bu çalışmaya göre laurik asit ilavesi HFFD ile indüklenen obeziteye karşı koruyucu olabilir.

## **5.2. Organ Ağırlıkları ve Vücut Kompozisyonuna İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi**

Yapılan çalışmalara göre diyetle fazla enerji, yağ ve fruktoz alımı kemirgenlerde vücut ağırlığında değişiklik göstermemesine rağmen (144, 161, 171) adipoziteyi arttırmaktadır (161). Kemirgenler üzerinde yapılan çalışmalar HFFD (enerjinin %38 yağ, %20 fruktoz) (144), HFD (enerjinin %17-60 yağ) (126, 170, 192) ve yüksek yağlı yüksek sükrözlu diyetlerin (enerjinin %30 yağ, %40 sükröz) (183) retroperitonel (144, 183), mezenterik (183) ve epididimal (170, 183) adipoz doku ağırlıklarını arttırarak yüksek yağ indeksi (144) ve Lee indeksine (126, 192) yol açtığını göstermiştir. Bu çalışmada organ ağırlıklarında ve Lee indeksinde gruplar arasında bir farklılık olmamasına rağmen HFFD grubunun vücut yağ yüzdesi kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (Şekil 4.9., Tablo 4.3., Tablo 4.4., Tablo 4.5.). Dolayısıyla, bu çalışmada literatürle benzer şekilde HFFD alımı adipoziteyi indükleyerek obezite gelişimine katkıda bulunmuştur.

Bu çalışmada HFFD-RSV diyeti HFFD'ye göre düşük vücut yağ yüzdesine yol açmıştır (Şekil 4.9., Tablo 4.5.). Benzer bir şekilde yapılan bir çalışmada HFFD (enerjinin %52 yağ, %20 w/v fruktoz) (193) ve HFD'ye (enerjinin %60 yağ) (175) resveratrol eklendiğinde (25 mg/kg veya 400 mg/kg/yem) farelerde daha düşük kahverengi adipoz doku ağırlığına (193) ve abdominal ve epididimal adipoz doku ağırlıklarına yol açmıştır (175). İlave olarak, kemirgenlerde HFD (enerjinin %45-60 yağ)'ye resveratrol (15-300 mg/kg/gün) eklendiğinde vücutta yağ birikimini (adipozit büyüklüğü) (185), visseral adipoziteyi (epididimal, perirenal adipoz doku ağırlıkları), beyaz adipoz doku/100 g vücut ağırlığı oranını azalttığı (186) gösterilmiştir.

Resveratrolün obezite karşıtı etkilerinin mikrobiyom kompozisyonu değişimi (176, 185, 186), kahverengi adipoz doku aktivasyonu ve beyaz adipoz doku kahverengileşmesi üzerinden olabileceği gösterilmiştir (188).

Bu çalışmada HFFD-LA diyeti HFFD'ye göre düşük vücut yağ yüzdesine yol açmıştır (Şekil 4.9., Tablo 4.5.). Yapılan çalışmalarda, HFD (enerjinin %48 yağ)'ye eklenen gliserol monolaurat (450- 1600 mg/kg/gün) (178, 194) veya laurik asit kaynaklı HFD (enerjinin %45 yağ) (177) azalan visseral adipoz dokuya (178, 194) ve azalan abdominal yağ ağırlıklarına (epididimal, perirenal ve mezenterik) (177) neden olmuştur. Laurik asit eklenmiş diyetle daha düşük adipozit lipid damlacığı gözlenmiştir. Bunun nedeni beyaz adipoz dokuda aşağı yönde regülasyon gösteren lipogenez ilişkili genler ve azalan protein düzeyleri (SREBP-1c, ACC1, FASN) ile yukarı yönde regülasyon gösteren lipoliz (ATGL, HSL, LPL) ve  $\beta$ -oksidasyon (PPAR $\alpha$ , CPT-1a, PCG-1 $\alpha$ ) ilişkili genler ve artan protein düzeyleri olduğu gösterilmiştir (177). Buna karşın, palmitik asit veya laurik asit kaynaklı HFD (enerjinin %48 yağ) verilen farelerde doymuş yağlar arasında fark olmaksızın hem laurik asit hem de palmitik asit diyet gruplarının adipozite yüzdeleri artmış, yağsız vücut kütleleri ise değişmemiştir (173). Benzer şekilde HFD'ye (enerjinin %45 yağ) eklenen laurik asidi (%3) palmitik asitle (%3) karşılaştıran bir çalışmada her iki yağ asidi grubunda da toplam yağ kütlesi ve visseral adipoz doku ağırlığı kontrol grubuna göre artmıştır, ancak palmitik asidin yol açtığı adipoz doku inflamasyonu (MCP-1, IL-6) laurik asitte gözlenmemiştir. Palmitik aside göre laurik asidin visseral adipoz doku ağırlığını daha çok arttırması farklı yağ asitlerinin visseral adipoz doku birikimini farklı şekilde regüle ettiğini düşündürmektedir çünkü yağ asidi lipolizi iki yağ asidi grubunda değişiklik göstermemiştir (191). Bu çalışmanın bulgularına göre, resveratrol ve laurik asit alımı HFFD ile ilişkili adipoziteye karşı koruyucu etkiler gösterebilmektedir.

### **5.3. Davranış Testlerine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi**

#### **5.3.1. Açık Alan Testi (AAT) Bulguları**

Kemirgenlerde anksiyete benzeri davranışı ve lokomotor aktiviteyi ölçmek için kullanılan AAT (195) bu çalışmada da farklı diyet müdahaleleri sonrasında farelere uygulanmıştır. AAT'ye göre merkez alanda geçirilen zaman (144, 196) ve merkez

alandaki gezilen mesafenin azalması (144, 196), hareketsiz geçirilen zamanın uzun olması (196), yüksek dışkılama sayıları (196) anksiyete benzeri davranışların indikatörleri olarak kabul edilmektedir. Lokomotor aktiviteyi ölçmek için kullanılan parametre açık alanda geçilen çizgi sayısı ve toplam gezilen mesafedir (144, 197). AAT’de ölçülen lokomotor aktivitenin düşük olması anksiyete benzeri davranış ve depresyon ile ilişkilendirilmektedir (198).

Kemirgenlere yapılan AAT’ye göre HFFD (enerjinin %38 yağ, %20 fruktoz veya enerjinin %30 yağ, %20 w/v fruktoz) (144, 195) ve yüksek yağlı yüksek sükrözli diyet (enerjinin %30 yağ, %40 sükröz) (183) merkez alana girme/geçme sayısını veya merkez alanda toplam geçirilen zamanı azaltarak anksiyete benzeri davranış ile ilişkili bulunmuştur (199). Bu çalışmada HFFD’nin kontrol grubuna göre azalan merkez alana giriş sayısı literatür ile paralellik göstermektedir (Şekil 4.13., Tablo 4.6.). Bunun yanında bu çalışmada HFFD kontrol grubuna göre kenar alana giriş sayısını arttırmıştır (Şekil 4.13., Tablo 4.6.). Buna karşın, sıçanlarda yapılan çalışmalara göre HFFD (enerjinin %30 yağ, %20 w/v fruktoz veya enerjinin %38 yağ, %20 fruktoz) kontrol grubuna göre AAT’de kenar alana giriş sayısını (195) ve merkez alanda geçirilen toplam zamanı değiştirmemiştir (144). Akut strese maruz bırakılan sıçanlara verilen HFFD (enerjinin %20 yağ, %46 fruktoz) ise AAT sonuçlarına göre dışkılama sayısında ve anksiyete ile ilişkili diğer parametrelerde (süslenme, şahlanma (rearing), merkez alana giriş sayısı, merkez alanda geçirilen zaman, hareketsiz geçirilen zaman) değişiklik göstermemiştir. Bunun nedeninin diyetten bağımsız olarak uygulanan akut stres olduğu düşünülmektedir (196). Bu çalışmada kontrol grubuna kıyasla HFFD ile azalan toplam gezilen mesafe ve geçilen çizgi sayısı azalan lokomotor aktivite ile ilişkilendirilmektedir (Şekil 4.14., Şekil 4.16., Şekil 4.17., Tablo 4.6.). Buna karşın sıçanlara verilen HFFD (enerjinin %38 yağ, %20 fruktoz) lokomotor aktivitede (geçilen çizgi sayısı) değişikliğe yol açmamıştır (200).

Kemirgenlere verilen HFFD (enerjinin %30 yağ, %20 w/v fruktoz veya enerjinin %38 yağ, %20 fruktoz) farklı davranış testlerine göre (yükseltilmiş artı labirent testi (195), sosyal etkileşim testi (144)) de anksiyete benzeri davranışlara yol açmıştır (144, 195). Bunun yanında, kemirgenlerde yapılan AAT’ye göre yüksek fruktozlu diyet (enerjinin %55 fruktoz) merkez alana girme/geçme sayısını azaltarak anksiyete benzeri davranış ile ilişkili bulunmuştur (199). Sıçanlarda anksiyeteyi

ölçmek için kullanılan sosyal etkileşim testine göre ise HFD (enerjinin %38 yağ) sosyal etkileşim halinde geçirilen toplam süreyi azaltarak anksiyete benzeri davranışa yol açmıştır (144).

Kemirgenler üzerinde yapılan çalışmalar HFD (enerjinin %60 yağ) (12) ve yüksek fruktozlu diyetin (enerjinin %55 fruktoz) (199) AAT’de gezilen hızı azaltarak (12) ve merkez alandan geçme sayısını arttırarak (199) anksiyeteyi indükleyebileceğini göstermiştir. Ek olarak, HFD (enerjinin %60 yağ) verilen kemirgenlerde AAT’ye göre toplam gezilen mesafe (12) ve geçilen çizgi sayısı azalarak (201) lokomotor aktivitede azalma gösterilmiştir. HFD ile indüklenen anksiyete benzeri davranışlar, diyetin içeriğinde bulunan SFA’nın arttırdığı serotonin metabolizması ile ilişkilendirilmektedir (183). Dolayısıyla, günlük diyetin yağ asidi kompozisyonu nöropsikiyatrik hastalıkların patofizyolojisinde rol alabilmektedir (183). Yüksek fruktozlu diyetlerin ise hipotalmik-adrenal aks üzerinden beyin enerji homeostazında düzensizliklere yol açarak depresyon-benzeri etkilere yol açabileceği gösterilmiştir (199). Bunun yanında, yüksek fruktozlu diyet ile oluşan metabolik sendromun nöral yapı ve fonksiyonu üzerinde negatif sonuçlara ve davranışsal bozukluklara yol açabileceği gösterilmektedir (199). Sonuç olarak, AAT bulgularına göre farelere verilen HFFD anksiyete benzeri davranışa yol açmıştır.

Bu çalışmada HFFD-RSV diyetinin, HFFD’nin yol açtığı anksiyete benzeri davranışları hafiflettiği AAT bulguları (köşe alanlara giriş sayısı, merkezden ayrılma süresi) ile gösterilmiştir (Şekil 4.13., Şekil 4.15., Tablo 4.6.). Önceki çalışmalar HFFD (enerjinin %52 yağ, %20 w/v fruktoz) (193) veya HFD (enerjinin %60 yağ) (187, 202) ile indüklenen anksiyete benzeri davranışı resveratrol (15,6 mg/kg veya %1) takviyesinin azalttığını göstermiştir (193). Bu çalışmalarda resveratrol AAT’de hareketsiz geçirilen zamanın azaltmış (187, 202), merkez alana giriş sayısını arttırmış (193) ancak, merkez alana giriş süresini azaltmış (202) ve toplam gezilen mesafeyi değiştirmemiştir (187, 202). Bu çalışmalarda HFD’ye bağlı olarak artan vücut ağırlığının kemirgenlerde hareket kolaylığını azaltmış olabileceği düşünülmektedir (187). HFD’lerin hem uzun dönem (12 hafta) hem de kısa dönemde (4 hafta) farelerde yol açtığı anksiyete benzeri davranışlar prefrontal korteks ve amigdalada azalan SIRT1 ekspresyonu ile ilişkili bulunmaktadır (202). Resveratrolün ise doğal bir SIRT1

aktivatörü olması nedeniyle HFD'ye bağlı gelişen anksiyete benzeri davranışı azaltabileceği gösterilmiştir (202).

Resveratrolün depresyonun tedavisinde kullanılmasına yönelik araştırmalar devam ederken kemirgenlerde depresyon/anksiyeteyi ölçmek için kullanılan davranış testleri bir sistematik derlemede incelenmiştir. Elde edilen bulgulara göre resveratrol hipotalamus-hipofiz-adrenal aks regülasyonu, azalan inflamasyon, BDNF ve nörogenezde artış mekanizmaları ile depresyon ve anksiyeteye karşı koruyuculuk göstermiştir. Bu etki hayvan deneylerinde 10-80 mg/kg/gün dozları arasında gösterilmiştir (198). Bu çalışmanın bulgularına göre resveratrol ilavesi HFFD ile indüklenen anksiyete benzeri davranışı hafifletmektedir.

Bu çalışmada HFFD-LA diyetinin, HFFD'nin yol açtığı anksiyete benzeri davranışları hafiflettiğini AAT bulguları (kenar alana giriş sayısı, köşe alanlara giriş sayısı, merkezden ayrılma süresi) ile gösterilmiştir (Şekil 4.13., Şekil 4.15., Tablo 4.6.). Ancak, diyetle laurik asit alımının kemirgen davranışları üzerine etkilerini inceleyen çalışmaya rastlanmamıştır. Bunun yanında VCO takviyesi L-dopa'nın yol açtığı agresif davranışı AAT'ye göre (azalan süslenme, şahlanma sayıları) hafifletmiştir. Ek olarak, VCO takviyesinin (30 gün) tek başına verilmesi ise kontrol grubuna kıyasla davranışsal sonuçlarda küçük miktarda değişikliklere (AAT'de artan merkez alana giriş sayısı ile azalan dışkılama sayısı) yol açmıştır (203). Bu çalışmaya göre, VCO alternatif bir enerji kaynağı oluşturarak, anti-oksidan ile anti-inflamatuvar etkileri aracılığıyla dopaminerjik nörotransmisyonu etkileyerek L-dopa'nın yol açtığı agresif davranışları hafifletmiştir (203). Buna karşın farelere verilen VCO (8 hafta) AAT'ye göre (lokomotor aktivitede azalma, şahlanma ve süslenme sayılarında artış) anksiyete benzeri davranışa yol açmıştır ve bu durum MSS'de inflamatuvar yolakların aktivasyonu ile ilişkilendirilmiştir (204). Yapılan başka bir çalışmada ise kafeterya diyeti ile indüklenen obez sıçanlara verilen VCO takviyesi (8 hafta) AAT parametrelerini (hareketli geçirilen zaman, şahlanma ve süslenme sayıları, dışkılama sayısı) değiştirmemiştir (205). Sonuç olarak, hindistan cevizi yağının kemirgenlerde anksiyete benzeri davranışlar üzerine etkisini inceleyen kısıtlı çalışmaların verileri çelişkilidir. Bu sonuçlar müdahale süreleri ile ilişkili olabilir. Bu çalışmanın bulgularına göre ise laurik asit ilavesi HFFD-ilişkili anksiyete benzeri davranışı hafifletmektedir.

Bu çalışmada tüm HFFD içeren diyet grupları kontrol grubuna kıyasla azalmış lokomotor aktivite göstermiştir (Şekil 4.14., Şekil 4.16., Şekil 4.17., Tablo 4.6.). Böylelikle, laurik asit ve resveratrol takviyesi HFFD'nin yol açtığı azalan lokomotor aktiviteyi hafifletmemiştir. Önceki çalışmalar HFD (60% yağ, domuz yağı, 3 gün) (12) ve yüksek yağlı yüksek şükrozlu diyetlerin (30% yağ, 40% şükroz, 3 gün, 8 hafta) (12, 183) lokomotor aktivitede azalmaya yol açtığını göstermiştir. Anksiyete benzeri davranış ve lokomotor aktivitenin HFD/HFFD'nin lipid kompozisyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (183). Diyetin lipid kompozisyonu beyin dokusunu etkileyerek davranışsal değişikliklerin patofizyolojisi için önemli bir faktördür (183). Bunu destekleyen bir çalışmada ise hindistan cevizi yağı (3 gün) ile geliştirilen HFD (enerjinin %60 yağ) lokomotor aktivitede bir değişikliğe yol açmamıştır (12) ancak domuz yağı ile geliştirilen HFD (3 gün, 8 hafta) anksiyete benzeri davranışa yol açmıştır (12, 183). Kemirgenlere uygulanan davranış testlerinin incelendiği bir sistematik derlemede resveratrolün (10-80 mg/kg/gün) bazı çalışmalarda AAT'ye göre lokomotor aktivite üzerinde etki göstermediğini bazı çalışmalarda da azalan lokomotor aktivitenin tekrar arttığı, anksiyete benzeri davranış ve depresyon ile ilişkili davranışın azaldığı gösterilmiştir (198). Bu çalışmada yer alan resveratrol ve laurik asit takviyesi HFFD ile azalan lokomotor aktiviteyi önlemek için yeterli seviyeye ulaşamamış olabilir veya çalışma süresi bu sonuçlara neden olmuş olabilir. Bu durum HFFD'nin aynı zamanda yüksek miktarda doymuş yağ içeriyor olmasından kaynaklanabilir.

### 5.3.2. Yeni Nesne Tanıma Testi (YNTT) Bulguları

Diyetin makro besin ögesi kompozisyonu kognitif fonksiyon için önem taşımaktadır (12). Bu çalışmada da HFFD kontrol grubuna kıyasla tanıma belleğinde bir değişikliğe neden olmamıştır dolayısıyla tanıma belleğinde bozulma göstermemiştir (Şekil 4.19., Tablo 4.7.). Kemirgenler üzerinde yapılan çalışmalarda HFFD (enerjinin %42 yağ, %30 w/v fruktoz (206), enerjinin %48 yağ, %33 fruktoz (122)) bozulmuş mekansal belleğe (Y-maze test) (122, 206) ve tanıma belleğine (daha düşük öncelik indeksi ve diskriminasyon oranı değerleri) (206) dolayısıyla kognitif performansta düşüşe yol açmıştır. Buna karşın, yapılan bir sıçan çalışmasında HFFD (enerjinin %38 yağ, enerjinin %20 fruktoz) alımı bellekte hiçbir bozukluğa yol açmamıştır (144). Bunun sebebi çalışma süresinin yeterince uzun olmaması (8 hafta) ve test fazına kadar

geçen sürenin uzun olmasına (5 saat) dayandırılmaktadır (144). Çalışmalarda kognitif performans değerlendirilirken tanıma belleğinden ziyade mekânsal belleğin daha duyarlı bir parametre olacağı düşünülmektedir (144).

Yüksek fruktozlu diyetler, hipokampuste erken nörodejenerasyon sinyalleri ile ilişkili gösterilerek nörodejeneratif hastalıkların gelişimi için bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (171). Yüksek yağlı diyetler hem insanlarda hem de kemirgenlerde kısa süreli tüketimden sonra ve hatta obezite gelişiminden önceki aşamalarda da bellekte bozulmalara yol açmaktadır (12). Sıçanlarda yapılan çalışmalarda, HFD (enerjinin %60 yağ, domuz yağı) (12) ve yüksek fruktozlu diyet (%10 w/v fruktoz) (97)) bozulmuş mekansal belleğe yol açmaktadır. Buna karşın, fareler üzerinde yapılan bir çalışmada yüksek fruktozlu diyet (enerjinin %35 fruktoz) bellekte hiçbir bozukluk göstermemiştir (171). Çalışmalarda gözlenen farklılıklar fruktozun dozu ve kemirgen türünün yüksek fruktozlu diyete hassasiyeti ile ilişkili bulunmuştur (171). Bir çalışmada farelere verilen HFFD (enerjinin %48 yağ, %33 fruktoz) tanıma belleğinde bozulmaya yol açarken HFD (enerjinin %48 yağ) bozulma göstermemiştir (122). Özellikle HFFD'nin tanıma belleğinde bozulmaya yol açabileceği vurgulanmaktadır. Yüksek fruktoz alımı, HFD alımı ile hipokampuste disfonksiyonların yol açtığı tanıma belleği bozulmalarını şiddetlendirmektedir (122). Kognitif bozulmalara yol açan mekanizmalardan birinin nöroinflamasyon olduğu düşünülmektedir (206).

Bu çalışmada da HFFD-RSV tanıma belleğinde bir değişikliğe neden olmamıştır (Şekil 4.19., Tablo 4.7.). HFFD (207) veya HFD (enerjinin %60 yağ) (208) ile birlikte verilen streptozotocin ile indüklenen tip 2 diyabetli sıçanlara resveratrol (50-100 mg/kg (208), 40 mg/kg (207)) takviyesi YNTT'ye göre hem kısa dönem (30 dk) (208) hem de uzun dönem (24 s) (207, 208) mekansal öğrenme belleğinde iyileşmelere yol açmıştır ve bu iyileşme beyin dokusunda SIRT1 aktivasyonu ile ilişkilendirilmiştir (208). Sonuç olarak, diyabetin indüklendiği deney hayvanı modellerinde resveratrol kognitif ve bellek disfonksiyonlarını iyileştirmektedir (207, 208). Benzer şekilde YNTT'ye göre HFD (enerjinin %60 yağ) tanıma belleği üzerinde negatif etkiler göstererek demans benzeri kognitif fonksiyona yol açarken %1 resveratrol takviyesi tanıma belleğini yeniden kazandırarak kognitif kayba karşı nörokoruyucu etkiler göstermiştir (187). Literatürdeki bulguların mevcut çalışmada

gözlenmemesi kullanılan resveratrolün dozu (vücut ağırlığı başına ne kadar verildiği) ve türü (serbest veya glikozit formu) ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada HFFD-LA grubu hem uzun-dönem hem de kısa-dönem tanıma belleğini diğer diyet gruplarına kıyasla iyileştirmiştir (Şekil 4.19., Tablo 4.7.). Diyetle laurik asit alımının bellek üzerinde etkisini inceleyen çalışmaya rastlanmamıştır. Literatürde hindistan cevizi yağı alımının bellek üzerinde etkilerini inceleyen sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Farelere verilen hindistan cevizi yağı diyetinin (%5-20) tanıma belleği (YNTT) üzerinden etkilerini inceleyen bir çalışmada kısa ve uzun dönemde diskriminasyon oranı değerleri azalmıştır (209). Bunun yanında hindistan cevizi yağı diyeti (%5-20) mekânsal bellek (Morris Water Maze) üzerinde de bozulma göstermiştir (209). Hindistan cevizi yağının tanıma belleğinde bozulmalara yol açması bellekle ilişkili bölge olan hipokampusta hücre dejenerasyonu ile ilişkilendirilmektedir (209). Bu negatif yönde etkiler, hindistan cevizi yağının uzun süreli kullanımı (28 gün) ve yüksek doz kullanımı (%20) ile ilişkilendirilmektedir (209). Hindistan cevizi yağında bulunan MCFA'nın varlığı keton cisimciği üretimine yol açabilmektedir. Keton cisimciği üretiminde asetil-CoA üretimi gerçekleşir. Çok fazla asetil-CoA üretimi okzaloasetatın aspartat aminotransferaz reaksiyonu yerine sitrik asit döngüsüne girmesine neden olur. Bu durumda beyin dokusunda azalan okzaloasetat konsantrasyonu glutamat transaminasyonunu azaltarak glutamatın birikmesine neden olur. Biriken glutamat da eksitotoksisiteye (MSS'de aşırı glutamat birikimi) neden olarak bellekte bozulmalara yol açmaktadır (209). Dolayısıyla, tanıma belleğinde diyet lipit kaynağı önemli olmaktadır.

Hindistan cevizi yağı ile geliştirilen HFD (enerjinin %60 yağ) YNTT'ye göre kontrol grubu ile benzer hız ve diskriminasyon oranı değerleri gösterirken domuz yağı ile geliştirilen HFD (enerjinin %60 yağ) sıçanlarda bozulmuş mekânsal belleğe yol açmıştır (12). Bellekte gözlenen bu farklı etki, domuz yağı ile geliştirilen HFD ile gözlenen ancak hindistan cevizi yağı ile geliştirilen HFD ile gözlenmeyen nöroinflamasyon (hipokampus veya prefrontal kortekste artan IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B seviyeleri) ile ilişkilendirilmektedir (12). Alzheimer hastalarına verilen hindistan cevizi yağı ilave edilmiş Akdeniz diyeti bu hastalarda bellek fonksiyonunu (epidosik, temporal oryantasyon ve semantik bellek) iyileştirmiştir (20). Hindistan cevizi yağındaki temel yağ asidi laurik asidin kognitif azalmaya karşı koruyucu



olabileceği düşünülmektedir. MCFA, demans gözlenmeyen yaşlı bireylerde kognitif fonksiyonda bazı iyileştirici etkilere (çalışma belleği, görsel dikkat ve görev değiştirme) yol açmıştır. Orta ve şiddetli seviyede Alzheimer hastalığında MCFA'nın beyindeki glikoz metabolizmasını azaltarak kognitif fonksiyonu iyileştirdiği düşünülmektedir (210). Nöron-glial hücre iletişimde lipit metabolizması nöronal fonksiyonları (nörotransmisyon ve nöral gelişim) regüle etmek için elzemdir. Astrositlerin, MCFA katabolizması sonucu nöronlara laktat ve keton cisimcikleri sağladığı bilinmektedir (211). Laurik asit ise astrositlerde keton cisimciklerine metabolize olmaktadır (212). Yapılan bir hücre kültürü çalışmasında astrositler laurik asit ile muamele edildiğinde büyüme faktörlerini ve sitokinlerin mRNA ekspresyonunu uyararak nöronal maturasyonu indükleyebileceğini göstermiştir. Laurik asidin nöron-glial hücre iletişimde görevli spesifik bir lipit olabileceği ve nöronal gelişimde etkili olabileceği düşünülmektedir (211). Yapılan bir hücre kültürü çalışmasında hindistan cevizi yağı ve laurik asit  $A\beta$ 'ya maruz bırakılan nöronların sağ kalımını arttırmıştır ve hem nöronlarda hem de astrositlerde keton cisimcikleri üretimini arttırmıştır (213). Bu çalışma ise literatürde bazı çalışmaları destekleyerek laurik asidin tanıma belleğinde olumlu etkilerini göstererek kognitif fonksiyonu iyileştirebileceğini düşündürmektedir.

### 5.3.3. Baskılanmış Beslenme Testi (BBT) Bulguları

Kemirgenlerde anksiyete ile ilişkili parametrelerin analizi karmaşık süreçleri içerdiği için tek bir davranış testinin birçok farklı parametresinin kullanılması veya birden fazla davranış testinin incelenmesi bu konuda daha objektif bir yaklaşımı ortaya koyacağı düşünülmektedir (197). Kemirgenlerde anksiyeteyi ölçmek için kullanılan BBT doğuştan gelen korkularının çevreyle olan çatışmasına ve açlığın yarattığı motivasyonel tepkiye dayanmaktadır (214). Bu çalışmada HFFD grubunda besine yaklaşma ve yeme latansı kontrol grubundan yüksek bulunmuştur (Şekil 4.26., Tablo 4.8.). Diğer davranış testlerine göre daha az çalışılan BBT'ye göre farelerde HFFD (enerjinin %38 yağ, %20 fruktoz) alımı hareketsiz geçirilen zaman arttırarak (144), yüksek rafine karbonhidrat içeren diyet (enerjinin %30 rafine şeker) alımı ise besine yaklaşma ve yeme latansısını arttırarak (161) anksiyete benzeri davranışlara yol açmıştır. Buna karşın, farelere verilen HFD (enerjinin %45 yağ) besine yaklaşma ve

yeme latansını değiştirmeye tek başına yetmemiştir (215). Bu çalışma literatür ile benzerlik göstererek BBT'ye göre HFFD anksiyete benzeri davranışa yol açmıştır.

Bu çalışmada HFFD-RSV grubu besine yaklaşma ve yeme latansında değişiklik göstermezken HFFD-LA grubu kontrol grubundan yüksek bir değer göstermiştir (Şekil 4.26., Tablo 4.8.). Postravmatik stres bozukluğu ile farelerde indüklenen anksiyete benzeri davranış resveratrol müdahalesi (10-20-40 mg/kg) ile azalmıştır (216). Resveratrolün hipotalamus-hipofiz-adrenal aks regülasyonu aracılığıyla postravmatik stres bozukluğunun yol açtığı anksiyete benzeri davranışa karşı koruyucu olabileceği gösterilmektedir (216). Bu çalışmada BBT bulgularında resveratrolün değişiklik göstermemesi verilen doz ile ilişkili olabilir. Literatürde laurik asit veya hindistan cevizi yağını BBT ile inceleyen çalışmaya rastlanmamıştır. Önceki başlıklarda bahsedildiği gibi kemirgenlerde anksiyeteyi ölçmek için kullanılan AAT'ye göre hindistan cevizi yağı anksiyete benzeri davranışta çelişkili veriler göstermektedir. Bir çalışmada farelere verilen VCO anksiyete benzeri yol açmıştır ve bu durum merkezi sinir sisteminde inflamatuvar yolakların aktivasyonu ile ilişkilendirilmiştir (204). Bu çalışmada, laurik asit alımı HFFD ile ilişkili anksiyete benzeri davranışı BBT bulgularına göre hafifletmemektedir.

#### **5.4. Beyin Dokusunda Nöroinflamasyona İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi**

##### **5.4.1. Beyin Dokusunda GFAP ve CD36 Düzeyi**

Enerji içeriği, ilave şeker (fruktoz ve sükröz) ve yağ içeriği yüksek olan batı tarzı diyet nörodejeneratif hastalıkların ayırt edici özelliği olan nöroinflamasyon ile ilişkili bulunmaktadır (217-220). HFD (12, 170) ve yüksek fruktozlu diyetlerin (95, 171) nöroinflamasyonu indüklediğine dair elde edilen veriler literatürde her geçen gün giderek artmaktadır. Mikroglia (95) ve astrosit aktivasyonu, HFD (221) veya yüksek fruktozlu diyetin (95) nöroinflamasyona yol açığının bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. Kemirgen ve *in vitro* çalışmalara göre HFFD (42%en yağ, 30% w/v fruktoz) (206) ve yüksek fruktozlu diyetler (10% w/v fruktoz veya 35%en fruktoz) (95, 161, 171) mikroglia aktivasyonunu (Iba-1 immunoreaktivite) (95, 161, 171, 206) veya astrosit aktivasyonunu (GFAP immunoreaktivite) (171, 206) beyinin farklı bölgelerinde (prefrontal korteks, nükleus traktüs solitari, hipokampus) kısa dönem

tüketimden sonra dahi (10% w/v fruktoz, 2 hafta) arttırmaktadır (95). Bu iki aktivasyon belirteci (Iba-1, GFAP) nöroinflamasyonun göstergesidir (171) ve bu nöroinflamatuvar yanıt özellikle nöroenezin yüksek seviyelerde gerçekleştiği beyinin bazı bölgelerinde nöron kaybı ile ilişkili bulunmuştur (171). Benzer şekilde bu çalışmada da HFFD beyin GFAP seviyelerini arttırarak, astrosit aktivasyonuna dolayısıyla nöroinflamasyona yol açmıştır (Şekil 4.27., Tablo 4.9.).

Konu ile ilgili yürütülen benzer çalışmalar resveratrol (193) ve gliserol monolauratın (222) immunomodülatör etkileri olabileceğini göstermiştir. Oral resveratrol alımı (100, 200, 400 µM/mL) sıçanlarda nöropatik ağrı deney modelinde hem GFAP hem de Iba-1 seviyelerini sıçan spinal trigeminal çekirdeğinde aşağı yönde regüle ederek nöroinflamasyonu inhibe ettiğini göstermiştir. İlişkili mekanizma AMPK'nın aktivasyonu ve devamında gelen astrosit ve mikroglia aktivasyonunun aşağı yönde regüle edilmesidir (223). Laurik asidin GFAP üzerine etkisini inceleyen çalışmaya rastlanmamıştır ancak VCO'nun L-dopa ile beraber verilmesi sıçanlarda artan GFAP seviyelerini baskılamıştır, bu nedenle nörodejenerasyonu azaltabileceği ileri sürülmektedir (203). Yapılan bir çalışmaya göre hindistan cevizi yağı kökenli laurik asit, diğer MCFA'ya kıyasla keton cisimciklerine metabolize olmadan önce kanda yüksek seviyelerde uzun süre bulunmaktadır (24), dolayısıyla diğer MCFA'ya kıyasla hepatosit ketogenez yerine astrosit ketogenezde daha etkin olma potansiyeline sahiptir (212). Belirtilen mekanizmalar ile ilgili daha kesin görüşlerin oluşabilmesi için laurik asidin *in vivo* etkileri konusunda klinik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (212). Laurik asidin LCFA veya MCFA olarak etki etmesini diyetin toplam yağ asidi örüntüsünün belirlediği düşünülmektedir. Farklı yağlardan oluşan bir diyet tüketildiğinde MCFA genellikle portal vene geçmektedir. MCFA'dan zengin bir diyetle ise bazı yağ asitlerinin şilomikronlara paketlenişi böylelikle vücudun diyetten gelen yağa göre adaptasyon gösterdiği düşünülmektedir (224). Sonuç olarak bu çalışma, resveratrol ve laurik asit ilavesinin HFFD ile indüklenen yüksek GFAP seviyelerini hafiflettiğini dolayısıyla astrosit aktivasyonu ve nöroinflamasyonu azalttığını göstermiştir (Şekil 4.27., Tablo 4.9.).

Beyin GFAP düzeyleri ile vücut yağ oranları arasında orta düzeyde ve pozitif yönlü ilişki saptanmıştır ( $r=0,481$ ;  $p=0,027$ ) (Tablo 4.16). Kemirgenlerde stresli durumlara maruziyet anksiyete benzeri davranışlara yol açabilmektedir.

Kemirgenlerde artmış abdominal yağ dokusu gibi metabolik değişikliklerin varlığında stres ve anksiyeteye duyarlılığın arttığı düşünülmektedir. Anksiyete benzeri davranışlar artan inflamatuvar yanıtla (artan IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) beraber gözlenmektedir. Anksiyete bozukluklarında ve obezitede mikroglial aktivasyonun varlığı çalışmalarda gösterilmektedir (215). Dolayısıyla, saptanan bu ilişki nöroinflamasyon ve obezitenin ilişkili olabileceğini bu çalışmada göstermektedir. Bunun yanında, beyin GFAP düzeyleri ile YNTT uzun süreli belleğin diskriminasyon oranları arasında orta düzeyde ve negatif yönlü ilişki saptanmıştır ( $r=-0,565$ ;  $p=0,022$ ) (Tablo 4.19). Yapılan beslenme çalışmalarında kognitif performansta düşüş nöroinflamasyon ile ilişkilendirilmiştir (115, 206). Bu durumda artan beyin GFAP seviyelerinin kognitif performansta düşüş ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Beyin CD36 seviyelerinin diyetle ilgili yanıtını inceleyen sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. HFD (enerjinin %17-60 yağ) kemirgenlerde farklı beyin bölgelerinde artan CD36 ekspresyonuna neden olarak bu sürecin nöroinflamasyonla ilişkili olduğunu savunmuştur (192, 225). Benzer şekilde bu çalışmada da HFFD beyin CD36 konsantrasyonlarını arttırmıştır (Şekil 4.28., Tablo 4.9.). HFD (39) veya yüksek fruktozlu diyet (38, 39) alımında farklı dokularda (karaciğer, kalp ve dil) artmış CD36 ekspresyonu, bozulmuş lipoprotein ve kolesterol metabolizması (39) ve artan iştah durumu (38) ile ilişkili bulunmuştur. CD36 fare mikroglia, astrosit ve bazı nöron türlerinde eksprese edilmektedir (34). CD36'nın mikroglialın fagositik aktivitesinde önemli bir rolü olabileceği düşünülmektedir (34, 35). Alzheimer hastalığı hayvan modellerinde CD36'nın hidrofobik amyloid fibrillere bağlandığı ve takibinde mikroglial aktivasyona yol açtığı, mikrogliaları pro-inflamatuvar duruma indüklediği birçok *in vitro* çalışmada gösterilmiştir (34). Bu nedenle, bu çalışmada HFFD ile artan beyin CD36 konsantrasyonlarının nöroinflamasyonun göstergesi olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada HFFD-RSV diyet grubunun beyin CD36 konsantrasyonu HFFD grubundan düşük bulunmuştur (Şekil 4.28., Tablo 4.9.). Diyetle resveratrol alımının beyin CD36 seviyelerine etkilerini inceleyen çalışma literatürde henüz bulunmamaktadır. Resveratrol ve CD36 ile ilişkili çalışmalara bakıldığında, resveratrolün karaciğer (226) ve makrofajlarda (138, 227) CD36 seviyelerini azalttığı gösterilmiştir. CD36'nın hücre içine yağ asidi alımı görevi nedeniyle dokularda artan

ekspresyonu karaciğer yağlanması (226) ve ateroskleroz (138) ile ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle azalan CD36 konsantrasyonları ile resveratrol yağlı karaciğer (226) ve ateroskleroza (138) karşı koruyucu olarak öne sürülmektedir. Buna karşın, resveratrolün CD36 ekspresyonunu arttırdığı çalışmalarda farklı dokularda/hücrelerde (makrofaj, monosit, kas dokusu) gösterilmektedir (138, 140). İnsan makrofaj hücrelerinde resveratrol ile artan CD36 mRNA ekspresyonunu PPAR- $\gamma$  yolağının uyarılmasıyla ateroskleroza karşı koruyucu olarak bulunmuştur (138). Kas dokusunda resveratrol ile artan CD36 ekspresyonu ise artan yağ asidi alımı ile ilişkili bulunarak  $\beta$ -oksidasyonu ve insülin duyarlılığını artırabileceği düşünülmektedir (140).

Bu çalışmada HFFD-LA diyet grubunun beyin CD36 konsantrasyonu HFFD grubundan düşük bulunmuştur (Şekil 4.28., Tablo 4.9.). Diyetle laurik asit veya hindistan cevizi yağı alımının beyin CD36 seviyelerine etkilerini inceleyen çalışma literatürde henüz bulunmamaktadır. HFD'ye (enerjinin %39-45 yağ) ilave olarak verilen monolaurat (178) veya hindistan cevizi yağını (133) inceleyen çalışmalar beyin dışındaki dokularda (karaciğer (133, 178), beyaz adipoz doku (228)) CD36 seviyelerinde düşüş olabileceğini bildirmiştir. CD36'nın hücre içine yağ asidi alımı görevi nedeniyle dokularda artan ekspresyonu karaciğer yağlanması (133, 178) ve obezite (228) ile ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle azalan CD36 konsantrasyonları laurik asidin yağlı karaciğer (133, 178) ve obeziteye (228) karşı koruyucu olarak öne sürülmektedir. Buna karşın bir hücre kültürü çalışmasında yüksek laurik asit konsantrasyonu makrofaj CD36 mRNA seviyelerini arttırarak (229) ateroskleroz ile ilişkili kardiyovasküler hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (229, 230). Çalışmalar, CD36 gen ekspresyonunun yağ asitleri tarafında regüle edildiğini göstermektedir (229, 230), ancak beyin dokusu CD36 regülasyonunun yağ asitlerine yanıtları ile ilgili çalışmalar yetersizdir. Mikroglia hücrelerinin aktivasyonunun baskılanması nörodejeneratif hastalıkların ilerlemesini yavaşlatacak önemli bir mekanizmadır (24) dolayısıyla, azalan CD36 konsantrasyonlarının nörodejeneratif hastalıkları gelişimine karşı koruyucu olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmaya göre diyete resveratrol ve laurik asit ilavesi beyin CD36 seviyelerini azaltarak HFFD ile indüklenen nöroinflamasyonu hafifletmektedir.

Bu çalışmada beyin CD36 düzeyleri ile beyin GFAP düzeyleri arasında iyi düzeyde ve pozitif yönlü ilişki saptanmıştır ( $r=0,678$ ;  $p=0,001$ ) (Tablo 4.15). Astrosit

aktivasyonu (171, 206) belirteci olan GFAP, nöroinflamasyonun varlığını göstermektedir (171). Bu korelasyon artan beyin CD36'nın nöroinflamasyon ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Bunun yanında, beyin CD36 düzeyleri ile beyin IFN- $\gamma$  düzeyleri arasında iyi düzeyde ve pozitif yönlü ilişki ( $r=0,653$ ;  $p=0,040$ ) saptanmıştır (Tablo 4.18). Beyin CD36 düzeyleri ile plazma TNF- $\alpha$  düzeyleri arasında çok iyi düzeyde ve pozitif yönlü ilişki ( $r=0,708$ ;  $p=0,007$ ), plazma IL-12p70 (pg/mL) düzeyleri arasında çok iyi düzeyde ve pozitif yönlü ilişki ( $r=0,742$ ;  $p<0,001$ ) saptanmıştır (Tablo 4.17.). Bu bulgular da nöroinflamasyon ve sistemik inflamasyon ile ilişkili disfonksiyonlarda CD36'nın önemli bir rolü olabileceğini düşündürmektedir. Beyin CD36 düzeyleri ile AAT köşe alanlara giriş sayıları arasında orta düzeyde ve pozitif yönlü ilişki saptanmıştır ( $r=0,537$ ;  $p=0,026$ ) (Tablo 4.19.). Yapılan çalışmalar kısıtlı olsa da CD36'nın bozulmuş öğrenme ve bellek (231) ile ilişkisi gösterilirken anksiyete ile gösterilmemiştir (232).

#### 5.4.2. Beyin Dokusunda Nöroinflamatuvar Sitokinler

MSS'de sitokinlerin anahtar rolü araştırmacıları beyin dokusunda ve özellikle beyin hücrelerinde (mikroglia, astrosit ve diğer beyin hücreleri) sitokinleri araştırmaya yöneltmiştir (233). Astrositler ve mikroglialar aktive olduğunda pro-inflamatuvar sitokin ve kemokin üretirler (172). TNF- $\alpha$ 'nın artışı nöroinflamasyonun ayırt-edici bir özelliği iken (234) IL-6 ise nörodegenerasyonda önemli bir rolü olan, astrosit, mikroglia ve nöronlarda eksprese edilen major sitokinlerden biridir (235). HFFD (42%en yağ, 30% w/v fruktoz) (206), HFD (12, 170) ve yüksek fruktozlu diyet (95, 161, 171) kemirgenlerde farklı beyin bölgelerinde (hipokampus, prefrontal korteks, soliter sistemin çekirdeği) IL-1 $\beta$  (12, 95, 170, 171, 206), IL-6 (12, 95, 161, 171, 206), TNF- $\alpha$  (12, 95, 161, 170, 171, 206) pro-inflamatuvar sitokin seviyelerini hem mRNA hem de protein düzeyinde arttırmıştır. Bu çalışma ise literatürdeki verilerle örtüşerek HFFD ile beyin dokusunda artan pro-inflamatuvar sitokin ve kemokin seviyelerini protein (IL-6, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , MCP-1), mRNA (TNF- $\alpha$ ) ve immunhistokimyasal (IL-6) bulgularla göstermiştir (Şekil 4.29-4.32., Tablo 4.10., Tablo 4.11). Sonuç olarak, HFFD'ye bağlı olarak beyin dokusunda artmış pro-inflamatuvar belirteçler nöroinflamasyon ile ilişkili olabilmektedir. Ek olarak, beyin GFAP düzeyleri ile beyin IL-6 düzeyleri arasında orta düzeyde ve pozitif yönlü ilişki ( $r=0,571$ ;  $p=0,026$ ), beyin

MCP-1 düzeyleri arasında çok iyi düzeyde ve pozitif yönlü ilişki ( $r=0,734$ ;  $p=0,002$ ), beyin IFN- $\gamma$  düzeyleri arasında iyi düzeyde ve pozitif yönlü ilişki ( $r=0,676$ ;  $p=0,006$ ), beyin TNF- $\alpha$  düzeyleri arasında iyi düzeyde ve pozitif yönlü ilişki ( $r=0,606$ ;  $p=0,017$ ) saptanmıştır (Tablo 4.18.). Bu bulgular beyin dokusunda artan pro-inflamatuvar belirteçlerin (IL-6, MCP-1, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) nöroinflamasyon göstergesi olduğunu desteklemektedir.

Bu çalışmada HFFD-RSV diyet grubu HFFD diyet grubuna kıyasla beyin IL-6, MCP-1, IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  seviyelerini azaltırken IL-10 seviyelerini arttırmıştır (Şekil 4.29-4.32., Tablo 4.10., Tablo 4.11). Önceki çalışmalar resveratrolün immunomodülatör ve anti-inflamatuvar etkilerinin (193) sitokin seviyelerini modüle ederek (115, 236) ve pro-inflamatuvar sitokinlerin aşırı üretimini azaltarak (236) nöroinflamasyona karşı koruyucu olabileceğini göstermiştir (236). Resveratrol, lipopolisakkarit ile aktive edilen mikroglia (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6) ve astrosit (TNF- $\alpha$ , MCP-1) hücrelerinde artan seviyede üretilen pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimini inhibe etmiştir (236). Yapılan bir *in vivo* çalışmaya göre oral resveratrol alımı (100, 200, 400  $\mu\text{M}/\text{mL}$ ) sıçanlarda astrosit ve mikroglia aktivasyonunu aşağı yönde regüle ederek IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  seviyelerini azaltmıştır (223). Bu çalışma, literatür ile benzer sonuçlar göstererek resveratrol takviyesinin beyindeki IL-6, MCP-1, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  pro-inflamatuvar belirteçleri azaltarak ve IL-10 anti-inflamatuvar sitokini arttırarak HFFD ile indüklenen nöroinflamatuvar yanıtı hafiflettiğini göstermiştir.

Bu çalışmada HFFD-LA diyet grubu HFFD diyet grubuna kıyasla beyin MCP-1, IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  seviyelerini azaltırken IL-10 seviyelerini arttırmıştır (Şekil 4.29-4.32., Tablo 4.10., Tablo 4.11). Laurik asidin nöroinflamasyondaki etkisini inceleyen çalışmalar literatürde sınırlıdır. SFA'nın mikroglia (170) ve astrosit (30) hücrelerinde nöroinflamatuvar yanıtı indüklediği gösterilmiştir. Laurik asit bir SFA olarak astrosit kültürlerinde TNF- $\alpha$ , IL-6 ve IL-1 $\beta$  salınımını artmıştır ve bu etki palmitik asit ve stearik asit gibi başka SFA ile de gösterilmiştir (30). Bu nedenle, SFA'nın *in vitro* ortamda astrosit inflamasyonuna yol açması, *in vivo* ortamda nöroinflamasyona ve olası nörolojik sonuçlara yol açabileceğini düşündürmektedir (30). İnsan kaynaklı bir hücre kültürü (nörodejeneratif hastalıkları incelemek için bir *in vitro* model) çalışmasında kullanılan laurik asit, IL-6 ve TNF- $\alpha$  hiperaktivasyonu ile sitokin fırtınasını indüklemiştir (29). Burada olası mekanizma ise TLR aktivasyonudur (82,

170, 237). Laurik asit TLR4 reseptörünü uyararak lipopolisakkarit-benzeri inflamatuvar yanıtı indüklemiştir (82, 83). Bu inflamatuvar yanıtın devamında NF- $\kappa$ B-bağımlı gen ekspresyonu aktivasyonu ve apoptoz gözlenmiştir (29).

Laurik asidi araştıran çalışmalar bu yağ asidinin anti-inflamatuvar etkileri olabileceğini de göstermektedir. Laurik asit muamelesi lipopolisakkarit ile indüklenen mikrogliya hücrelerinde (rat ve fare) pro-inflamatuvar sitokin (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6) üretimini baskılamıştır (24). Laurik asidin monogliserit formu olan gliserol monolaurat ise T ve B lenfositlerinin aktivasyonunu inhibe ederek immün yanıt üzerinde daha geniş bir etki göstermiştir (222). Gliserol monolaurat civcivlerin serum ve jejenumunda TLR4/NF- $\kappa$ B yolağını baskılayarak IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  seviyelerini azaltmıştır. Bu nedenle gliserol monolauratın immunomodulatör ve anti-inflamatuvar etkileri olduğu düşünülmektedir (238). Literatürde çelişkili verilerin bulunması ve bu yağ asidinin metabolizmasının bilinmemesi daha fazla sayıda çalışmaya gereksinimi arttırmaktadır. Bu çalışma, laurik asit ilavesinin beyindeki MCP-1, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  pro-inflamatuvar belirteçleri azaltarak ve IL-10 anti-inflamatuvar sitokini arttırarak HFFD ile indüklenen nöroinflamatuvar yanıtı hafiflettiğini göstermiştir.

## **5.5. Plazmada İnflamasyona İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi**

### **5.5.1. Plazmada GFAP ve CD36 Düzeyi**

Bu çalışmada HFFD ve HFFD-RSV gruplarının plazma GFAP seviyeleri kontrol grubundan yüksek bulunurken HFFD-LA grubunun plazma GFAP seviyeleri HFFD ve HFFD-RSV gruplarından düşük bulunmuştur (Şekil 4.33., Tablo 4.12.). HFFD ile artan beyin GFAP seviyeleri plazmada da artış göstermiştir. Beyin dokusunda artmış GFAP ekspresyonu astrosit aktivasyonunun en önemli göstergesidir (203). Beyin amyloid patolojisiyle (54) ve kognitif bozulma (239) ile ilişkili olan plazma GFAP ise insanlarda erken dönem Alzheimer hastalığı göstergesi (54, 240) olmasına rağmen kemirgen plazmasında çok çalışılmamıştır. Bunun yanında, plazma GFAP'nin diyetle yanıtı da araştırılmamıştır. Beyin GFAP seviyeleri nöroinflamasyonun bir göstergesi olarak kabul edilirken (171, 206, 223) plazma GFAP ile ilgili bulgular kesinleşmemiştir. Ancak bu çalışmada saptanan plazma GFAP düzeyleri ile plazma TNF- $\alpha$  düzeyleri arasında orta düzeyde ve pozitif yönlü ilişki ( $r=0,581$ ;  $p=0,018$ ) plazma GFAP düzeylerinin inflamasyon ile ilişkili olabileceğini



düşündürmektedir (Tablo 4.17). Bunun yanında, plazma GFAP düzeyleri ile AAT kenar alana giriş sayıları arasında iyi düzeyde ve pozitif yönlü ilişki saptanmıştır ( $r=0,655$ ;  $p=0,003$ ) (Tablo 4.19). Mikroglia ve astrosit fonksiyonunun stres, sosyal izolasyon ve depresyonda etkisi olabileceği gösterilirken bu konuda yapılan çalışmalar sınırlıdır (241). Sonuç olarak, bu çalışma farelerde diyetin plazma GFAP seviyeleri üzerine etkilerini gösteren ilk çalışma olarak literatüre katkı sağlamaktadır. Farelerde HFFD'nin plazma GFAP seviyelerini arttırdığı ve laurik asit ilavesinin HFFD ile artan plazma GFAP seviyelerini azalttığı gösterilmiştir.

Bu çalışmada HFFD grubunun plazma CD36 seviyeleri kontrol grubundan yüksek bulunurken HFFD-RSV grubunun plazma CD36 seviyeleri HFFD grubundan düşük bulunmuştur (Şekil 4.34., Tablo 4.12.). Yapılan çalışmalarda kemirgenlerde diyetle yüksek doymuş yağ (39) veya fruktoz (38, 39) alımı plazma CD36 seviyelerini farklı dokularla birlikte arttırarak bozulmuş lipoprotein ve kolesterol metabolizması (39) ve iştah (38) ile ilişkili bulunmuştur. Ancak, HFFD, resveratrol veya laurik asit alımının plazma CD36 üzerine etkilerini inceleyen çalışmaya rastlanmamıştır. Hücre yüzeyindeki CD36 ekspresyonu farklı faktörler tarafından regüle edilebilmektedir ancak bu regülasyonun etkisi ve klinik sonuçları tam olarak anlaşılammıştır (34). Bunun yanında CD36'nın periferik ekspresyonu hem Alzheimer hastalığı hem de hafif kognitif bozukluk gösteren hastalarda önemli ölçüde azalmıştır (34). İnsan çalışmalarında artan plazma CD36 düzeyi birçok hastalık riski (diyabet (242, 243), metabolik sendrom (244)) ile ilişkili bulunurken nörodejeneratif hastalıklardaki rolü ve hayvan çalışmalarında nöroinflamasyon ile ilişkisi bilinmemektedir. Plazma CD36'nın inflamasyon ile ilişkili olabileceği ileri sürülmektedir (244). Bu çalışmada ise HFFD ile artan plazma CD36 düzeylerinin nöroinflamasyon veya sistemik inflamasyon ile ilişki gösterebileceği düşünülmektedir. Resveratrol ilavesinin plazma CD36 seviyelerini azaltması HFFD ile indüklenen nöroinflamasyona veya sistemik inflamasyona karşı koruyucu olduğu ile ilişkilendirilebilir.

### **5.5.2. Plazmada İnflamatuvar Sitokinler**

Sirkülasyonda artan düzeyde pro-inflamatuvar sitokinler ve kemokinler sistemik inflamasyonun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (95). Günlük diyet besin öğelerinin KBB'yi geçmesi nedeniyle veya periferik sistemik inflamasyon

aracılığıyla sitokin (IL-1, IL-6, IL-12p70, TNF- $\alpha$ ) ve kemokin (MCP-1) seviyelerini değiştirerek nöroinflamasyona yol açabilmektedir (245). Sıçanlara verilen HFFD (enerjinin %42 yağ, %30 w/v fruktoz) ile plazmada pro-inflamatuvar sitokin IL-6, IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  seviyelerinin arttığı gösterilmiştir (206). Benzer şekilde kemirgenler üzerinde yapılan çalışmalar HFD (81) , yüksek doymuş yağlı diyet (81) ve yüksek fruktozlu diyet (%10 w/v veya enerjinin %35) (81, 95) alımının da plazmada pro-inflamatuvar sitokin IL-6 (81, 95) , IL-1 $\beta$  (95), TNF- $\alpha$  (81, 95) ve kemokin MCP-1 (81) seviyelerini arttırdığını, anti-inflamatuvar sitokin IL-10 seviyelerini azalttığını göstermiştir (81). Bu çalışma da literatürle paralellik göstermektedir. Farelerde HFFD alımı plazma pro-inflamatuvar sitokin (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-12p70) seviyelerini arttırmış ve anti-inflamatuvar sitokin (IL-10) seviyesini azaltmıştır (Şekil 4.35., Tablo 4.13.). Başta sitokinler olmak üzere sirkülasyondaki inflamatuvar göstergeler doku inflamasyonu ile ilişkili gösterilirken düşük düzeyde inflamasyon olarak kabul edilmektedir (246). Bu nedenle bu çalışmada HFFD'nin düşük düzeyde inflamasyona yol açtığı düşünülmektedir. Bunun yanında beyin GFAP düzeyleri ile plazma IFN- $\gamma$  düzeyleri arasında iyi düzeyde ve pozitif yönlü ilişki ( $r=0,683$ ;  $p=0,001$ ), plazma TNF- $\alpha$  düzeyleri arasında orta düzeyde ve pozitif yönlü ilişki ( $r=0,585$ ;  $p=0,007$ ), plazma IL-12p70 (pg/mL) düzeyleri arasında orta düzeyde ve pozitif yönlü ilişki ( $r=0,514$ ;  $p=0,012$ ) saptanmıştır (Tablo 4.17). Beyin GFAP nöroinflamasyonun belirteci olarak kabul edilmektedir (171). Bu çalışmada beyin GFAP seviyelerinin plazma inflamatuvar belirteçlerle pozitif yönde korelasyonu sistemik inflamasyonun nöroinflamasyon ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Ancak, bu konu henüz aydınlatılmamıştır.

Yapılan çalışmalara göre resveratrol plazma sitokin seviyelerini değiştirerek (115) immunomodülatör ve anti-inflamatuvar etkiler göstermektedir (193). Yapılan bir çalışmada HFFD'ye (enerjinin %42 yağ, %20 w/v fruktoz) resveratrol (15,6 mg/kg) ilavesi plazma IL-10'u arttırarak immunomodülatör etki göstermiştir (193). Hafif-orta derecede Alzheimer hastalarına 52 hafta boyunca verilen resveratrol takviyesi hastaların plazma IL-12p40 ve IL-12p70 seviyelerini azaltmıştır. Bu periferik ve merkezi immün yanıt ile resveratrolün bu hastalarda kognitif fonksiyonundaki azalmayı yavaşlatabileceği düşünülmektedir (115). Bütün bu bulgular resveratrolün anti-inflamatuvar etkiler gösterebileceğine işaret etmektedir (115, 193). Buna karşın,

farelerde HFFD'ye (enerjinin %42 yağ, %20 w/v fruktoz) eklenen resveratrol (15,6 mg/kg) pro-inflamatuvar sitokin seviyelerini IL-3, IL-12p70 plazmada arttırmıştır. Resveratrol, HFFD'nin bulunduğu çevresel koşullarda bazı spesifik inflamatuvar yanıtları hafifletemeyeceği ve bu yanıtın doza bağımlı olabileceği düşünülmektedir (193). Bu çalışmada ise resveratrol (7,5 mg/kg) ilavesi HFFD ile artan plazma pro-inflamatuvar sitokin seviyelerini (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  ve IL-12p70) azaltmıştır, dolayısıyla düşük düzeyde inflamasyonu azaltmıştır (Şekil 4.35., Tablo 4.13.). Böylelikle, diyetle resveratrol alımı plazmada pro-inflamatuvar belirteçleri azaltarak sistemik inflamasyonu azaltabilir.

Literatürde laurik asidin plazma inflamatuvar belirteçleri üzerine etkisine dair çalışmaya rastlanmamıştır. Bunun yanında laurik asit, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 seviyelerini azaltarak bakterilerin oluşturduğu akne inflamasyonuna karşı etki göstermiştir (247). Yapılan bir hayvan çalışmasında, HFD'ye (enerjinin %45 yağ) gliserol monolaurat (450 mg/kg/gün) ilavesi serum pro-inflamatuvar sitokin TNF- $\alpha$  seviyelerini azaltarak HFD ile indüklenen metabolik bozukluğu hafifletmiştir (194). Bu çalışma laurik asidin HFFD ile artan plazma TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  ve IL-12p70 seviyelerini azaltarak ve HFFD ile azalan plazma IL-10 seviyelerini arttırarak düşük düzeyde inflamatuvar yanıtı hafifletebileceğine dair veriler bulundurmaktadır (Şekil 4.35., Tablo 4.13.). Böylelikle, diyetle laurik asit alımı plazmada pro-inflamatuvar sitokinleri azaltarak ve anti-inflamatuvar sitokinleri arttırarak sistemik inflamasyonu azaltabilir.

### **5.6. Karaciğer Dokusunda Histolojik Bulguların Değerlendirilmesi**

Kemirgenler üzerinde yapılan çalışmalar HFFD (enerjinin %36 yağ, %20 w/v fruktoz (248), enerjinin %60 yağ, %10 fruktoz (249), enerjinin %52 yağ, %20 w/v fruktoz (193)) alımının karaciğerde steatoz (193, 248), lipid birikimi (193), hepatosit dejenerasyonu (249) intralobüler inflamatuvar hücre infiltrasyonu artışına (248, 249) yol açtığını göstermiştir. Benzer şekilde bu çalışmada da farelere verilen HFFD (enerjinin %60 yağ, %5 w/v fruktoz) alımı hepatosit dejenerasyonu ve mikroveziküler steatoza yol açmıştır (Şekil 4.36., Tablo 4.14.). Yapılan çalışmalara göre HFD (enerjinin %36-39 yağ) (250), yüksek fruktozlu diyet (%20 w/v fruktoz) (81) ve yüksek yağlı yüksek sükrözlu diyet (enerjinin %36 yağ, %30 sükröz) (250) alımı kemirgenlerde karaciğer histopatolojik bulgularında inflamasyon, fibroz, vakuolar

dejenerasyon (81), hepatik TAG birikimi (81) makrovesiküler ve mikrovesiküler steatoz gelişimine yol açmıştır (81, 250). Bu bulgular fruktoz veya doymuş yağ tüketimi ile karaciğerde asetil-CoA karboksilaz (153), HMG-CoA redüktaz ve acetyl-CoA acetyltransferase-1 (39) ekspresyonunda artış ile ilişkilendirilmiştir.

Alkolik olmayan karaciğer yağlanmasıya sahip bireylerin diyet makro besin ögesi örüntüsü çoğunlukla %36 yağ, %46 karbonhidrat %18 protein olarak bulunmuştur (251). HFD'nin hepatik steatoz gelişimine neden olduğu bilinmektedir (180). Karaciğer hastalığını indüklemek için kemirgenlerde HFD %32-60 yağ oranı ile verilmektedir (180). İnsanlarda HFD'nin özellikle doymuş yağ içermesi karaciğerde lipit birikimi ile ilişkili bulunmuştur (252). İnsan diyetinin aynı enerji içeriğine sahip yüksek yağlı düşük karbonhidratlı diyet, düşük yağlı yüksek karbonhidratlı diyete kıyasla karaciğerde daha yüksek lipit birikimi ile ilişkili bulunmuştur (252). Doymuş yağlar, adipoz doku lipolizini arttırması nedeniyle de karaciğerde lipit birikimi ile ilişkili bulunmuştur (252).

Diyette yer alan basit şekerlerin de novo lipogenezi arttırması karaciğerde lipit birikimi ile ilişkili bulunmuştur (252). Diyetle alınan fruktozun sirkülasyondan GLUT5 ile hücre içine alınması, glikolizdeki hız kısıtlayıcı basamağı atlaması ve yüksek düzeyde asetil-CoA üretimine neden olmasıyla hepatik de novo lipogenez ve lipit birikimi ile ilişkilendirilmektedir (180). Hayvan çalışmalarında fruktozun özellikle sıvı formda içme suyu ile alındığında 12 haftanın üzerinde tüketimi ile hepatik steatoz ve fibroz indüklenebilmektedir (180). Hayvan deneylerinde karaciğer yağlanmasını indüklemek için HFD ile beraber yüksek karbonhidratlı diyetlerin (özellikle fruktoz formunda) kullanılması daha etkili bulunmaktadır (180). HFD'ye (enerjinin %36 yağ) kıyasla yüksek yağlı yüksek sükrözlu diyet (enerjinin %36 yağ, %30 sükröz) daha fazla miktarda makro ve mikrovesiküler steatoz gelişimine yol açmıştır (250).

Bu çalışmada HFFD-RSV grubunda HFFD grubundan daha düşük düzeyde hepatosit dejenerasyonu görülmüştür (Şekil 4.36., Tablo 4.14.). Kemirgenler üzerinde yapılan çalışmalar HFFD (enerjinin %52 yağ, %20 w/v fruktoz) (193) ve HFD'ye (enerjinin %60 yağ) (253) eklenen resveratrol (175, 193) ve yüksek resveratrol içeren *Polygonum cuspidatum* (253), hepatositlerde difüze olmuş yağ birikimi (193) ve anti-steatoz etkiler (175, 253) göstermiştir. Resveratrolün karaciğer koruyucu etkileri anti-

oksidan ve anti-inflamatuvar özellikleri ile ilişkilendirilmektedir (254). Olası mekanizmalar arasında mitokondriyel fonksiyonların korunması, disfonksiyonel lipid metabolizmasının inhibe edilmesi (253), PPAR $\alpha$  mRNA aktivitesinin regülasyonu (175) gösterilmiştir. Resveratrolün pro-inflamatuvar sitokin ekspresyonunu azaltarak karaciğer inflamasyonunu azalttığı da gösterilmiştir (254). Bu nedenle diyetle resveratrol alımı HFFD ile indüklenen hepatosit dejenerasyonunu azaltabilir.

Bu çalışmada HFFD-LA grubunda HFFD grubundan daha düşük düzeyde hepatosit dejenerasyonu ve mikrovasküler steatoz görülmüştür (Şekil 4.36., Tablo 4.14.). Laurik asit ile ilgili çalışmalar incelendiğinde laurik asitten oluşan HFD'de (enerjinin %45-48 yağ) hepatik ağırlık, hepatik steatoz düşük bulunmuştur (173), hepatik TAG miktarı, hepatik de novo lipogenez gen ekspresyonları (173), karaciğer enzimleri (ALT, AST) (191), karaciğer ağırlığının vücut ağırlığına oranı değişiklik göstermemiştir (177). Laurik asit eklenmiş diyetle düşük hepatik lipid birikiminin nedeni karaciğerde inhibe edilen lipogenez-ilişkili genler ve proteinler (SREBP-1c, ACC1, FASN) ile artan lipoliz (ATGL, HSL ve LPL) ve  $\beta$ -oksidasyon (PPAR $\alpha$ , CPT-1a ve PCG-1 $\alpha$ )-ilişkili genler ve proteinler olduğu gösterilmiştir. İlave olarak, karaciğerde mitokondriyel-biyosentez-ilişkili genlerin ekspresyonu da laurik asit ile artış göstermiştir (177). Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada ise HFD (enerjinin %45 yağ)'ye eklenen gliserol monolaurat (300-450 mg/kg) ile hepatik steatoz, hepatik lipid seviyeleri ve hepatik TAG seviyeleri azalmıştır. Bir nükleer hormon reseptörü olan PPAR $\gamma$  lipogenez ile ilişkili genleri yukarı yönde regüle ederek TAG homeostazı ve karaciğer yağlanmasını düzenlemektedir. Gliserol monolauratın PPAR $\gamma$  ekspresyonunu aşağı yönde regüle etmesiyle hepatik steatoza karşı koruyuculuğu gösterilmiştir (194). MCFA olan laurik asidin metabolizması tam olarak bilinmemektedir. Laurik asidin bir LCFA olarak davranıp lenfatik sirkülasyona katıldığı aynı zamanda MCFA olarak davranıp portal ven aracılığıyla karaciğere gittiği gösterilmiştir. Laurik asidin portal ven emiliminin lenfatik emiliminin dörtte birinden de az olduğu gösterilmiştir (212). Bu çalışma literatürdeki bulgularla uyumlu olarak diyete eklenen laurik asidin HFFD ile indüklenen karaciğer yağ birikimi fenotipini hafifletebildiğini göstermiştir.

Kemirgenler üzerine yapılan çalışmalarda, yüksek fruktozlu diyet (%60 fruktoz) (255) ve yüksek karbonhidratlı diyet (enerjinin %74 karbonhidrat, %30 rafine

şeker) (256) alımından 4-8 hafta sonra 30 gün-4 hafta boyunca eklenen hindistan cevizi yağı ile (4-8 mL/kg (255), 1000-9000 mg/kg (256)) hepatosit dejenerasyon (255), hepatik steatoz, (256) mikrovessiküler steatoz ve portal inflamatuvar hücre infiltrasyonu azalmıştır (255). Hindistan cevizi diasilgliserolden zengin HFD (enerjinin %38 yağ) verilen farelerde ise karaciğerde yağ asidi sentetaz (FAS) ve asetil-CoA karboksilaz (ACC) enzim seviyeleri azalmıştır (257). Bu bulgulara karşın, sıçanlara 12 hafta boyunca verilen HFD (enerjinin %16 yağ)'ye sonraki 30 gün boyunca eklenen hindistan cevizi yağı (2 mL/kg) karaciğerde toplam yağ, kolesterol, ve TAG miktarını arttırmıştır ve bu diyet hepatik lipit birikimi ile ilişkilendirilmiştir (258). Hindistan cevizi yağının karaciğer lipit birikimine karşı koruyuculuğu içerisinde bulunan doymuş MCFA'ya dayandırılmaktadır. Bu mekanizmalar arasında kan lipit seviyelerini düzenlemesi (azalan serum kolesterol ve TAG ile artan serum HDL) (255), artan  $\beta$ -oksidasyon (255), enzim aktivitelerinde (FAS, ACC) azalma (257), lipogenezle ilgili genler ve transkripsiyonel faktörlerin azalması bulunmaktadır (256). MCFA'nın karaciğerde kolayca okside olması TAG sentezi için substrat varlığını azaltarak hepatik lipit birikimini de önlemektedir (256). Ancak, hindistan cevizi yağı söz konusu olduğunda orta zincirli SFA'nın varlığının yanında anti-oksidan ve anti-inflamatuvar özellikleri ile ön plana çıkan polifenoller, E vitamini, A vitamini öncülleri ve fitosteroller göz ardı edilmemelidir (256). Özellikle, antioksidan etkileri ile bilinen fenolik asitlerin de karaciğerde lipit birikimi ve steatozu azaltabileceği bildirilmektedir (255).

Bu çalışmada diyetlerin, besin öğelerinin ve fitokimyasalların beyin CD36 düzeyine etkisinin incelenmesi, laurik asitin oral alımının ve metabolik etkilerinin incelenmesi ve farklı fonksiyonel besin bileşenlerinin incelenmesi çalışmanın özgün değeri ve güçlü yönleri arasındadır. Bu çalışmada oral gavaj aracılığıyla farelere verilen resveratrolün saf formu yerine besin takviyesi formu olarak kullanılması çalışmanın limitasyonları arasındadır. Gelecek çalışmalarda resveratrolün farklı formlarının (serbest, glikozit, konjuge vb.) araştırılması, beyin dokusunun farklı bölümlerinde diyetlerin, besin öğelerinin ve fitokimyasalların etkilerinin araştırılması, laurik asitin metabolizmasının araştırılması ve CD36'nın diyetle regülasyonunun tüm dokularda hem sağlık hem de hastalık durumlarında araştırılması önerilmektedir. Bunun yanında, kanıt hiyerarşisi göz önünde bulundurulduğunda diyetlerin, besin

ögelerinin ve fitokimyasalların nöroinflamasyona etkilerine yönelik veya nörodejeneratif hastalıklarda kullanılmalarına yönelik yapılacak insan çalışmalarına gereksinim vardır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

### 6.1. Sonuçlar

Bu çalışma, yüksek yağlı ve yüksek fruktozlu diyetle (HFFD) eklenen resveratrol (HFFD-RSV) ve laurik asidin (HFFD-LA) farelerde yem ve su tüketimi, enerji ve makro besin alımları ile ilişkili olarak vücut ağırlıkları, vücut kompozisyonu, plazma, beyin ve karaciğer dokularında moleküler düzeyde parametrelerin değerlendirilmesi amacıyla yapılmıştır. Çalışma, 8 haftalık erkek C57Bl/6 kökenli (n=31) fare üzerinde 7 hafta süresince uygulanmıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde sunulmuştur.

1. HFFD plazma ve beyin dokusunda GFAP düzeyini arttırmıştır ( $p<0,05$ ).
2. HFFD'ye resveratrol ilavesi beyin dokusunda GFAP düzeyini azaltmıştır ( $p<0,05$ ).
3. HFFD'ye laurik asit ilavesi plazma ve beyin dokusunda GFAP düzeyini azaltmıştır ( $p<0,05$ ).
4. HFFD beyin dokusunda pro-inflamatuvar belirteçleri protein (IL-6, MCP-1, IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$ ), mRNA (TNF- $\alpha$ ) ve immünoreaktivite düzeyinde (IL-6) arttırmıştır ( $p<0,05$ ).
5. HFFD'ye resveratrol ilavesi beyin dokusunda pro-inflamatuvar belirteçleri protein (IL-6, MCP-1, IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$ ) ve immünoreaktivite düzeyinde (IL-6) azaltmıştır ve anti-inflamatuvar belirteçleri (IL-10) protein düzeyinde arttırmıştır ( $p<0,05$ ).
6. HFFD'ye laurik asit ilavesi beyin dokusunda pro-inflamatuvar belirteçleri protein (MCP-1, IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$ ) ve immünoreaktivite düzeyinde (IL-6) azaltmıştır ve anti-inflamatuvar belirteçleri (IL-10) protein düzeyinde arttırmıştır ( $p<0,05$ ).
7. HFFD plazmada pro-inflamatuvar belirteçleri (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  ve IL-12p70) arttırmıştır ve anti-inflamatuvar belirteçleri (IL-10) azaltmıştır ( $p<0,05$ ).
8. HFFD'ye resveratrol ilavesi plazmada pro-inflamatuvar belirteçleri (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  ve IL-12p70) azaltmıştır ( $p<0,05$ ).



9. HFFD'ye laurik asit ilavesi plazmada pro-inflamatuvar belirteçleri (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  ve IL-12p70) azaltmıştır ve anti-inflamatuvar belirteçleri (IL-10) arttırmıştır ( $p<0,05$ ).
10. HFFD plazma ve beyin dokusunda CD36 düzeyini arttırmıştır ( $p<0,05$ ).
11. HFFD'ye resveratrol ilavesi plazma ve beyin dokusunda CD36 düzeyini azaltmıştır ( $p<0,05$ ).
12. HFFD'ye laurik asit ilavesi beyin dokusunda CD36 düzeyini azaltmıştır ( $p<0,05$ ).
13. HFFD anksiyete benzeri davranışa (AAT; azalan hareketli geçirilen zaman, artan hareketsiz geçirilen zaman, azalan merkez alana giriş sayısı, artan kenar alana giriş sayısı, artan köşe alanlara giriş sayısı, artan merkezden ayrılma süresi, azalan lokomotor aktivite, BBT; artan besine yaklaşma ve yeme latansı) neden olmuştur ( $p<0,05$ ).
14. HFFD'ye resveratrol ilavesi anksiyete benzeri davranışı (AAT; azalan köşe alanlara giriş sayısı, azalan merkezden ayrılma süresi) hafifletmiştir ( $p<0,05$ ).
15. HFFD'ye laurik asit ilavesi anksiyete benzeri davranışı (AAT; azalan kenar alana giriş sayısı, azalan köşe alanlara giriş sayısı, azalan merkezden ayrılma süresi) hafifletmiştir ( $p<0,05$ ).
16. HFFD'ye laurik asit ilavesi öğrenme ve belleği (YNTT; artan diskriminasyon oranı) iyileştirmiştir ( $p<0,05$ ).

## 6.2. Öneriler

Güncel literatürde, yüksek yağlı ve yüksek fruktozlu diyetlerin obezite ve ilişkili kronik hastalıklara neden olmasının yanı sıra beyin dokusundaki potansiyel olumsuz etkileri araştırılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü 2019'da Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisi için diyet gibi değiştirilebilir risk faktörlerinin üzerinde durmuştur. Ancak, nörodejeneratif hastalıkların karmaşık ve dinamik özellikleri bireysel beslenme önerileri geliştirmeyi zorlaştırmaktadır. Bu nedenle diyet modellerinin, besin öğelerinin ve fonksiyonel besin bileşenlerinin mekanizmalarının anlaşılması önemlidir. Bu çalışmanın sonuçları yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyetin nöroinflamasyona ve ilişkili anksiyete benzeri davranışa yol

açabileceğini göstermektedir. Bunun yanında, resveratrol ve laurik asit eklenmesinin yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyetin yol açtığı nöroinflamasyon ve ilişkili anksiyete benzeri davranışı farklı mekanizmalarla hafifletebileceği gösterilmektedir. Bu çalışmanın bulgularına göre yüksek yağlı yüksek fruktozlu diyete laurik asit eklenmesi öğrenme ve bellek üzerinde olumlu etkiler göstermektedir. Dolayısıyla, resveratrol ve laurik asidin potansiyel anti-inflamatuvar etkileri bu çalışmada gösterilmektedir.

Resveratrolün deneysel çalışmalarda gösterilen metabolizma üzerindeki potansiyel etkilerinin klinik çalışmalar ile desteklenmesi gerekmektedir. Laurik asidin metabolizması ile ilgili çalışmalar son yıllarda artmaktadır. Laurik asidin potansiyel anti-inflamatuvar etkisi ve hindistan cevizi yağında bulunan diğer besin öğeleri ile etkileşimi araştırılmalıdır. Tıbbi beslenme tedavilerinde laurik asidin veya besin kaynaklarının kullanımı için dokuya özgü yanıtları, diyetle alım miktarları ve diğer besin öğeleri ile etkileşimleri araştırılmalıdır. Sonuç olarak, resveratrol ve laurik asit bulguları nöroinflamasyon ile ilişkili nörodejeneratif hastalıkların önlenmesi ve ilerlemesine yönelik geliştirilecek yeni tıbbi beslenme tedavilerine işaret etmektedir.

Bu çalışma, beyin CD36 ve diyet ile indüklenen nöroinflamasyon arasındaki potansiyel ilişkiye dair klinik öncesi düzeyde özgün veriler sunmaktadır. Güncel olarak, CD36'nın merkezi sinir sisteminde ve nörodejeneratif hastalıkların patogeneizlerindeki rolü nedeniyle potansiyel bir biyobelirteç olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle beyin CD36 düzeylerinin diyetle regülasyonu, nöroinflamasyon ile ilişkili nörodejeneratif hastalıkların tedavisine yönelik tıbbi beslenme tedavilerinin geliştirilmesi için araştırılmalıdır.

## 7. KAYNAKLAR

1. World Health Organization (WHO). Dementia [İnternet]. 2021 [Erişim Tarihi 10 Ocak 2023]. Erişim adresi: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>.
2. National Institute of Environmental Health Sciences (NIH). Neurodegenerative Diseases: United States Government [İnternet]. 2022 [Erişim Tarihi 10 Ocak 2023]. Erişim adresi: <https://www.niehs.nih.gov/research/supported/health/neurodegenerative/index.cfm>.
3. Nature Portfolio. Neurodegenerative diseases [İnternet]. 2022 [Erişim Tarihi 10 Ocak 2023]. Erişim adresi: <https://www.nature.com/subjects/neurodegenerative-diseases>.
4. Türk Nöroloji Derneği. Alzheimer Hastalığı [İnternet]. 2022 [Erişim Tarihi 10 Ocak 2023]. Erişim adresi: <https://www.noroloji.org.tr/menu/94/alzheimer-hastaligi>.
5. Coker CR, Keller BN, Arnold AC, Silberman Y. Impact of High Fat Diet and Ethanol Consumption on Neurocircuitry Regulating Emotional Processing and Metabolic Function. *Front Behav Neurosci*. 2020;14:601111.
6. Bianchi VE, Herrera PF, Laura R. Effect of nutrition on neurodegenerative diseases. A systematic review. *Nutr Neurosci*. 2021;24(10):810-34.
7. Nature Reviews Neurology. Neuroinflammation Nature [İnternet]. 2019 [Erişim Tarihi 10 Ocak 2023]. Erişim adresi: <https://www.nature.com/collections/gjjhiejfd/>.
8. Lyman M, Lloyd DG, Ji X, Vizcaychipi MP, Ma D. Neuroinflammation: the role and consequences. *Neurosci Res*. 2014;79:1-12.
9. Chatterjee P, Fernando M, Fernando B, Dias CB, Shah T, Silva R, et al. Potential of coconut oil and medium chain triglycerides in the prevention and treatment of Alzheimer's disease. *Mech Ageing Dev*. 2020;186:111209.
10. Muñoz Fernández SS, Lima Ribeiro SM. Nutrition and Alzheimer Disease. *Clin Geriatr Med*. 2018;34(4):677-97.
11. Wahl D, Coogan SC, Solon-Biet SM, de Cabo R, Haran JB, Raubenheimer D, et al. Cognitive and behavioral evaluation of nutritional interventions in rodent models of brain aging and dementia. *Clin Interv Aging*. 2017;12:1419-28.

12. Alghamdi BS. The Effect of Short-Term Feeding of a High-Coconut Oil or High-Fat Diet on Neuroinflammation and the Performance of an Object-Place Task in Rats. *Neurochem Res.* 2021;46(2):287-98.
13. Baufeld C, Osterloh A, Prokop S, Miller KR, Heppner FL. High-fat diet-induced brain region-specific phenotypic spectrum of CNS resident microglia. *Acta Neuropathologica.* 2016;132(3):361-75.
14. Cisternas P, Salazar P, Serrano FG, Montecinos-Oliva C, Arredondo SB, Varela-Nallar L, et al. Fructose consumption reduces hippocampal synaptic plasticity underlying cognitive performance. *Biochim Biophys Acta.* 2015;1852(11):2379-90.
15. Yu R, Wen S, Wang Q, Wang C, Zhang L, Wu X, et al. Mulberroside A repairs high fructose diet-induced damage of intestinal epithelial and blood-brain barriers in mice: A potential for preventing hippocampal neuroinflammatory injury. *J Neurochem.* 2021;157(6):1979-91.
16. Mulati A, Zhang X, Zhao T, Ren B, Wang L, Liu X, et al. Isorhamnetin attenuates high-fat and high-fructose diet induced cognitive impairments and neuroinflammation by mediating MAPK and NFκB signaling pathways. *Food Funct.* 2021;12(19):9261-72.
17. Poulouse SM, Miller MG, Scott T, Shukitt-Hale B. Nutritional Factors Affecting Adult Neurogenesis and Cognitive Function. *Adv Nutr.* 2017;8(6):804-11.
18. Boocock DJ, Patel KR, Faust GE, Normolle DP, Marczylo TH, Crowell JA, et al. Quantitation of trans-resveratrol and detection of its metabolites in human plasma and urine by high performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2007;848(2):182-7.
19. Gandotra S, Kour J, Van der Waag A. Efficacy of adjunctive extra virgin coconut oil use in moderate to severe Alzheimer's disease. *Int J Sch Cog Psychol.* 2014;1(108):2.
20. de la Rubia Ortí JE, García-Pardo MP, Drehmer E, Sancho Cantus D, Julián Rochina M, Aguilar MA, Hu Yang I. Improvement of Main Cognitive Functions in Patients with Alzheimer's Disease after Treatment with Coconut Oil Enriched Mediterranean Diet: A Pilot Study. *J Alzheimers Dis.* 2018;65(2):577-87.
21. Bansal A, Kirschner M, Zu L, Cai D, Zhang L. Coconut oil decreases expression of amyloid precursor protein (APP) and secretion of amyloid peptides through inhibition of ADP-ribosylation factor 1 (ARF1). *Brain Res.* 2019;1704:78-84.
22. Sankararaman S, Sferra TJ. Are We Going Nuts on Coconut Oil? *Curr Nutr Rep.* 2018;7(3):107-15.

23. Ramesh SV, Krishnan V, Praveen S, Hebbar KB. Dietary prospects of coconut oil for the prevention and treatment of Alzheimer's disease (AD): A review of recent evidences. *Trends in Food Science & Technology*. 2021;112:201-11.
24. Nishimura Y, Moriyama M, Kawabe K, Satoh H, Takano K, Azuma YT, Nakamura Y. Lauric Acid Alleviates Neuroinflammatory Responses by Activated Microglia: Involvement of the GPR40-Dependent Pathway. *Neurochem Res*. 2018;43(9):1723-35.
25. Maric T, Woodside B, Luheshi GN. The effects of dietary saturated fat on basal hypothalamic neuroinflammation in rats. *Brain Behav Immun*. 2014;36:35-45.
26. Deen A, Visvanathan R, Wickramarachchi D, Marikkar N, Nammi S, Jayawardana BC, Liyanage R. Chemical composition and health benefits of coconut oil: an overview. *J Sci Food Agric*. 2021;101(6):2182-93.
27. Fernando WM, Martins IJ, Goozee KG, Brennan CS, Jayasena V, Martins RN. The role of dietary coconut for the prevention and treatment of Alzheimer's disease: potential mechanisms of action. *Br J Nutr*. 2015;114(1):1-14.
28. Dayrit FM. Lauric acid is a medium-chain fatty acid, coconut oil is a medium-chain triglyceride. *Philippine Journal of Science*. 2014;143(2):157-66.
29. Ramya V, Shyam KP, Kowsalya E, Balavigneswaran CK, Kadalmani B. Dual Roles of Coconut Oil and Its Major Component Lauric Acid on Redox Nexus: Focus on Cytoprotection and Cancer Cell Death. *Front Neurosci*. 2022;16:833630.
30. Gupta S, Knight AG, Gupta S, Keller JN, Bruce-Keller AJ. Saturated long-chain fatty acids activate inflammatory signaling in astrocytes. *J Neurochem*. 2012;120(6):1060-71.
31. Laine PS, Schwartz EA, Wang Y, Zhang WY, Karnik SK, Musi N, Reaven PD. Palmitic acid induces IP-10 expression in human macrophages via NF-kappaB activation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007;358(1):150-5.
32. Li Q, Lan X, Han X, Durham F, Wan J, Weiland A, et al. Microglia-derived interleukin-10 accelerates post-intracerebral hemorrhage hematoma clearance by regulating CD36. *Brain Behav Immun*. 2021;94:437-57.
33. Silverstein RL, Febbraio M. CD36, a scavenger receptor involved in immunity, metabolism, angiogenesis, and behavior. *Sci Signal*. 2009;2(72):re3.
34. Dobri AM, Dudău M, Enciu AM, Hinescu ME. CD36 in Alzheimer's Disease: An Overview of Molecular Mechanisms and Therapeutic Targeting. *Neuroscience*. 2021;453:301-11.

35. Grajchen E, Wouters E, van de Haterd B, Haidar M, Hardonnière K, Dierckx T, et al. CD36-mediated uptake of myelin debris by macrophages and microglia reduces neuroinflammation. *J Neuroinflammation*. 2020;17(1):224.
36. Chen Y, Zhang J, Cui W, Silverstein RL. CD36, a signaling receptor and fatty acid transporter that regulates immune cell metabolism and fate. *J Exp Med*. 2022;219(6).
37. Abumrad NA, Ajmal M, Pothakos K, Robinson JK. CD36 expression and brain function: does CD36 deficiency impact learning ability? *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2005;77(1-4):77-83.
38. Kisioglu B, Nergiz-Unal R. Potential effect of maternal dietary sucrose or fructose syrup on CD36, leptin, and ghrelin-mediated fetal programming of obesity. *Nutr Neurosci*. 2020;23(3):210-20.
39. Nergiz-Unal R, Ulug E, Kisioglu B, Tamer F, Bodur M, Yalcimin H, Yuruk AA. Hepatic cholesterol synthesis and lipoprotein levels impaired by dietary fructose and saturated fatty acids in mice: Insight on PCSK9 and CD36. *Nutrition*. 2020;79-80:110954.
40. Saré RM, Lemons A, Smith CB. Behavior Testing in Rodents: Highlighting Potential Confounds Affecting Variability and Reproducibility. *Brain Sci*. 2021;11(4):522.
41. Wu H, Liu Q, Kalavagunta PK, Huang Q, Lv W, An X, et al. Normal diet Vs High fat diet - A comparative study: Behavioral and neuroimmunological changes in adolescent male mice. *Metab Brain Dis*. 2018;33(1):177-90.
42. Yang B, Figueroa DM, Hou Y, Babbar M, Baringer SL, Croteau DL, Bohr VA. NEIL1 stimulates neurogenesis and suppresses neuroinflammation after stress. *Free Radic Biol Med*. 2019;141:47-58.
43. Shabab T, Khanabdali R, Moghadamtousi SZ, Kadir HA, Mohan G. Neuroinflammation pathways: a general review. *International Journal of Neuroscience*. 2017;127(7):624-33.
44. Leng F, Edison P. Neuroinflammation and microglial activation in Alzheimer disease: where do we go from here? *Nat Rev Neurol*. 2021;17(3):157-72.
45. Okin D, Medzhitov R. Evolution of inflammatory diseases. *Curr Biol*. 2012;22(17):R733-40.
46. Więckowska-Gacek A, Mietelska-Porowska A, Wydrych M, Wojda U. Western diet as a trigger of Alzheimer's disease: From metabolic syndrome and systemic inflammation to neuroinflammation and neurodegeneration. *Ageing Res Rev*. 2021;70:101397.

47. Heneka MT, Carson MJ, Khoury JE, Landreth GE, Brosseron F, Feinstein DL, et al. Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *The Lancet Neurology*. 2015;14(4):388-405.
48. McGeer PL, Itagaki S, Tago H, McGeer EG. Reactive microglia in patients with senile dementia of the Alzheimer type are positive for the histocompatibility glycoprotein HLA-DR. *Neuroscience Letters*. 1987;79(1):195-200.
49. Cagnin A, Brooks DJ, Kennedy AM, Gunn RN, Myers R, Turkheimer FE, et al. In-vivo measurement of activated microglia in dementia. *The Lancet*. 2001;358(9280):461-7.
50. Swardfager W, Lanctôt K, Rothenburg L, Wong A, Cappell J, Herrmann N. A meta-analysis of cytokines in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry*. 2010;68(10):930-41.
51. Sharma S. High fat diet and its effects on cognitive health: alterations of neuronal and vascular components of brain. *Physiol Behav*. 2021;240:113528.
52. El Kadmiri N, Said N, Slassi I, El Moutawakil B, Nadifi S. Biomarkers for Alzheimer Disease: Classical and Novel Candidates' Review. *Neuroscience*. 2018;370:181-90.
53. Olsson B, Lautner R, Andreasson U, Öhrfelt A, Portelius E, Bjerke M, et al. CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol*. 2016;15(7):673-84.
54. Pereira JB, Janelidze S, Smith R, Mattsson-Carlsson N, Palmqvist S, Teunissen CE, et al. Plasma GFAP is an early marker of amyloid- $\beta$  but not tau pathology in Alzheimer's disease. *Brain*. 2021;144(11):3505-16.
55. Moore K, Hughes CF, Ward M, Hoey L, McNulty H. Diet, nutrition and the ageing brain: current evidence and new directions. *Proc Nutr Soc*. 2018;77(2):152-63.
56. Dye L, Boyle NB, Champ C, Lawton C. The relationship between obesity and cognitive health and decline. *Proc Nutr Soc*. 2017;76(4):443-54.
57. Pugazhenti S, Qin L, Reddy PH. Common neurodegenerative pathways in obesity, diabetes, and Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2017;1863(5):1037-45.
58. Martino Adami PV, Galeano P, Wallinger ML, Quijano C, Rabossi A, Pagano ES, et al. Worsening of memory deficit induced by energy-dense diet in a rat model of early-Alzheimer's disease is associated to neurotoxic A $\beta$  species and independent of neuroinflammation. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2017;1863(3):731-43.

59. Więckowska-Gacek A, Mielenska-Porowska A, Chutorański D, Wydrych M, Długosz J, Wojda U. Western Diet Induces Impairment of Liver-Brain Axis Accelerating Neuroinflammation and Amyloid Pathology in Alzheimer's Disease. *Front Aging Neurosci.* 2021;13:654509.
60. Kesse-Guyot E, Fezeu L, Andreeva VA, Touvier M, Scalbert A, Hercberg S, Galan P. Total and Specific Polyphenol Intakes in Midlife Are Associated with Cognitive Function Measured 13 Years Later. *The Journal of Nutrition.* 2011;142(1):76-83.
61. Letenneur L, Proust-Lima C, Le Gouge A, Dartigues JF, Barberger-Gateau P. Flavonoid Intake and Cognitive Decline over a 10-Year Period. *American Journal of Epidemiology.* 2007;165(12):1364-71.
62. Rabassa M, Cherubini A, Zamora-Ros R, Urpi-Sarda M, Bandinelli S, Ferrucci L, Andres-Lacueva C. Low levels of a urinary biomarker of dietary polyphenol are associated with substantial cognitive decline over a 3-year period in older adults: the Invecchiare in Chianti Study. *Journal of the American Geriatrics Society.* 2015;63(5):938-46.
63. Grisotto C, Taïlé J, Planesse C, Diotel N, Gonthier MP, Meilhac O, Couret D. High-Fat Diet Aggravates Cerebral Infarct, Hemorrhagic Transformation and Neuroinflammation in a Mouse Stroke Model. *Int J Mol Sci.* 2021;22(9).
64. Cavaliere G, Trinchese G, Penna E, Cimmino F, Pirozzi C, Lama A, et al. High-Fat Diet Induces Neuroinflammation and Mitochondrial Impairment in Mice Cerebral Cortex and Synaptic Fraction. *Front Cell Neurosci.* 2019;13:509.
65. Nakandakari S, Muñoz VR, Kuga GK, Gaspar RC, Sant'Ana MR, Pavan ICB, et al. Short-term high-fat diet modulates several inflammatory, ER stress, and apoptosis markers in the hippocampus of young mice. *Brain Behav Immun.* 2019;79:284-93.
66. Tan BL, Norhaizan ME. Effect of High-Fat Diets on Oxidative Stress, Cellular Inflammatory Response and Cognitive Function. *Nutrients.* 2019;11(11).
67. Hersey M, Woodruff JL, Maxwell N, Sadek AT, Bykalo MK, Bain I, et al. High-fat diet induces neuroinflammation and reduces the serotonergic response to escitalopram in the hippocampus of obese rats. *Brain Behav Immun.* 2021;96:63-72.
68. Voon PT, Ng TKW, Lee VKM, Nesaretnam K. Diets high in palmitic acid (16:0), lauric and myristic acids (12:0 + 14:0), or oleic acid (18:1) do not alter postprandial or fasting plasma homocysteine and inflammatory markers in healthy Malaysian adults. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 2011;94(6):1451-7.



69. Yin F, Sancheti H, Patil I, Cadenas E. Energy metabolism and inflammation in brain aging and Alzheimer's disease. *Free Radic Biol Med.* 2016;100:108-22.
70. Rahim NS, Lim SM, Mani V, Hazalin N, Majeed ABA, Ramasamy K. Virgin Coconut Oil-Induced Neuroprotection in Lipopolysaccharide-Challenged Rats is Mediated, in Part, Through Cholinergic, Anti-Oxidative and Anti-Inflammatory Pathways. *J Diet Suppl.* 2021;18(6):655-81.
71. Famurewa AC, Aja PM, Nwankwo OE, Awoke JN, Maduagwuna EK, Alope C. Moringa oleifera seed oil or virgin coconut oil supplementation abrogates cerebral neurotoxicity induced by antineoplastic agent methotrexate by suppression of oxidative stress and neuro-inflammation in rats. *J Food Biochem.* 2019;43(3):e12748.
72. Ettcheto M, Cano A, Manzine PR, Busquets O, Verdaguer E, Castro-Torres RD, et al. Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) Improves Cognitive Deficits Aggravated by an Obesogenic Diet Through Modulation of Unfolded Protein Response in APPswe/PS1dE9 Mice. *Mol Neurobiol.* 2020;57(4):1814-27.
73. Rahim NS, Lim SM, Mani V, Abdul Majeed AB, Ramasamy K. Enhanced memory in Wistar rats by virgin coconut oil is associated with increased antioxidative, cholinergic activities and reduced oxidative stress. *Pharm Biol.* 2017;55(1):825-32.
74. Eyres L, Eyres MF, Chisholm A, Brown RC. Coconut oil consumption and cardiovascular risk factors in humans. *Nutr Rev.* 2016;74(4):267-80.
75. McDonald GB, Saunders DR, Weidman M, Fisher L. Portal venous transport of long-chain fatty acids absorbed from rat intestine. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology.* 1980;2(3):G141-G50.
76. GÖRansson G. The Metabolism of Fatty Acids in the Rat VIII. Lauric Acid and Myristic Acid. *Acta Physiologica Scandinavica.* 1965;64(4):383-6.
77. Henry GE, Momin RA, Nair MG, Dewitt DL. Antioxidant and Cyclooxygenase Activities of Fatty Acids Found in Food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2002;50(8):2231-4.
78. Wang Z, Liu D, Wang F, Liu S, Zhao S, Ling E-A, Hao A. Saturated fatty acids activate microglia via Toll-like receptor 4/NF- $\kappa$ B signalling. *British Journal of Nutrition.* 2012;107(2):229-41.
79. Hammer A, Schliep A, Jörg S, Haghikia A, Gold R, Kleinewietfeld M, et al. Impact of combined sodium chloride and saturated long-chain fatty acid challenge on the differentiation of T helper cells in neuroinflammation. *J Neuroinflammation.* 2017;14(1):184.

80. Lee JY, Zhao L, Youn HS, Weatherill AR, Tapping R, Feng L, et al. Saturated fatty acid activates but polyunsaturated fatty acid inhibits Toll-like receptor 2 dimerized with Toll-like receptor 6 or 1. *J Biol Chem*. 2004;279(17):16971-9.
81. Tamer F, Ulug E, Akyol A, Nergiz-Unal R. The potential efficacy of dietary fatty acids and fructose induced inflammation and oxidative stress on the insulin signaling and fat accumulation in mice. *Food Chem Toxicol*. 2020;135:110914.
82. Rocha DM, Caldas AP, Oliveira LL, Bressan J, Hermsdorff HH. Saturated fatty acids trigger TLR4-mediated inflammatory response. *Atherosclerosis*. 2016;244:211-5.
83. Lee JY, Ye J, Gao Z, Youn HS, Lee WH, Zhao L, et al. Reciprocal Modulation of Toll-like Receptor-4 Signaling Pathways Involving MyD88 and Phosphatidylinositol 3-Kinase/AKT by Saturated and Polyunsaturated Fatty Acids\*. *Journal of Biological Chemistry*. 2003;278(39):37041-51.
84. Huang S, Rutkowsky JM, Snodgrass RG, Ono-Moore KD, Schneider DA, Newman JW, et al. Saturated fatty acids activate TLR-mediated proinflammatory signaling pathways. *J Lipid Res*. 2012;53(9):2002-13.
85. Wong SW, Kwon MJ, Choi AM, Kim HP, Nakahira K, Hwang DH. Fatty acids modulate Toll-like receptor 4 activation through regulation of receptor dimerization and recruitment into lipid rafts in a reactive oxygen species-dependent manner. *J Biol Chem*. 2009;284(40):27384-92.
86. Sergi D, Morris AC, Kahn DE, McLean FH, Hay EA, Kubitz P, et al. Palmitic acid triggers inflammatory responses in N42 cultured hypothalamic cells partially via ceramide synthesis but not via TLR4. *Nutr Neurosci*. 2020;23(4):321-34.
87. DeLany JP, Windhauser MM, Champagne CM, Bray GA. Differential oxidation of individual dietary fatty acids in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2000;72(4):905-11.
88. Lee JY, Sohn KH, Rhee SH, Hwang D. Saturated fatty acids, but not unsaturated fatty acids, induce the expression of cyclooxygenase-2 mediated through Toll-like receptor 4. *J Biol Chem*. 2001;276(20):16683-9.
89. Miyamoto J, Hasegawa S, Kasubuchi M, Ichimura A, Nakajima A, Kimura I. Nutritional Signaling via Free Fatty Acid Receptors. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016;17(4):450.
90. Cigliano L, Spagnuolo MS, Crescenzo R, Cancelliere R, Iannotta L, Mazzoli A, et al. Short-Term Fructose Feeding Induces Inflammation and Oxidative Stress in the Hippocampus of Young and Adult Rats. *Mol Neurobiol*. 2018;55(4):2869-83.

91. Bray GA. Energy and fructose from beverages sweetened with sugar or high-fructose corn syrup pose a health risk for some people. *Adv Nutr.* 2013;4(2):220-5.
92. Pérez-Corredor PA, Gutiérrez-Vargas JA, Ciro-Ramírez L, Balcazar N, Cardona-Gómez GP. High fructose diet-induced obesity worsens post-ischemic brain injury in the hippocampus of female rats. *Nutr Neurosci.* 2022;25(1):122-36.
93. Xu MX, Yu R, Shao LF, Zhang YX, Ge CX, Liu XM, et al. Up-regulated fractalkine (FKN) and its receptor CX3CR1 are involved in fructose-induced neuroinflammation: Suppression by curcumin. *Brain Behav Immun.* 2016;58:69-81.
94. Hsu TM, Konanur VR, Taing L, Usui R, Kayser BD, Goran MI, Kanoski SE. Effects of sucrose and high fructose corn syrup consumption on spatial memory function and hippocampal neuroinflammation in adolescent rats. *Hippocampus.* 2015;25(2):227-39.
95. Ho CY, Lin YT, Chen HH, Ho WY, Sun GC, Hsiao M, et al. CX3CR1-microglia mediates neuroinflammation and blood pressure regulation in the nucleus tractus solitarius of fructose-induced hypertensive rats. *J Neuroinflammation.* 2020;17(1):185.
96. Harrell CS, Zainaldin C, McFarlane D, Hyer MM, Stein D, Sayeed I, Neigh GN. High-fructose diet during adolescent development increases neuroinflammation and depressive-like behavior without exacerbating outcomes after stroke. *Brain Behav Immun.* 2018;73:340-51.
97. Sangüesa G, Cascales M, Griñán C, Sánchez RM, Roglans N, Pallàs M, et al. Impairment of Novel Object Recognition Memory and Brain Insulin Signaling in Fructose- but Not Glucose-Drinking Female Rats. *Mol Neurobiol.* 2018;55(8):6984-99.
98. Fraga CG, Croft KD, Kennedy DO, Tomás-Barberán FA. The effects of polyphenols and other bioactives on human health. *Food Funct.* 2019;10(2):514-28.
99. Mi Y, Qi G, Fan R, Qiao Q, Sun Y, Gao Y, Liu X. EGCG ameliorates high-fat- and high-fructose-induced cognitive defects by regulating the IRS/AKT and ERK/CREB/BDNF signaling pathways in the CNS. *Faseb j.* 2017;31(11):4998-5011.
100. Singh SS, Rai SN, Birla H, Zahra W, Rathore AS, Singh SP. NF- $\kappa$ B-Mediated Neuroinflammation in Parkinson's Disease and Potential Therapeutic Effect of Polyphenols. *Neurotox Res.* 2020;37(3):491-507.

101. Shimazu R, Anada M, Miyaguchi A, Nomi Y, Matsumoto H. Evaluation of Blood-Brain Barrier Permeability of Polyphenols, Anthocyanins, and Their Metabolites. *J Agric Food Chem*. 2021;69(39):11676-86.
102. Katila N, Duwa R, Bhurtel S, Khanal S, Maharjan S, Jeong JH, et al. Enhancement of blood-brain barrier penetration and the neuroprotective effect of resveratrol. *J Control Release*. 2022;346:1-19.
103. Galiniak S, Aebischer D, Bartusik-Aebischer D. Health benefits of resveratrol administration. *Acta Biochim Pol*. 2019;66(1):13-21.
104. Zhang J, Chen J, Yang J, Xu CW, Pu P, Ding JW, Jiang H. Resveratrol attenuates oxidative stress induced by balloon injury in the rat carotid artery through actions on the ERK1/2 and NF-kappa B pathway. *Cell Physiol Biochem*. 2013;31(2-3):230-41.
105. Song J, Cheon SY, Jung W, Lee WT, Lee JE. Resveratrol Induces the Expression of Interleukin-10 and Brain-Derived Neurotrophic Factor in BV2 Microglia under Hypoxia. *International Journal of Molecular Sciences*. 2014;15(9):15512-29.
106. Jardim FR, de Rossi FT, Nascimento MX, da Silva Barros RG, Borges PA, Prescilio IC, de Oliveira MR. Resveratrol and Brain Mitochondria: a Review. *Mol Neurobiol*. 2018;55(3):2085-101.
107. Nath D, Khanam N, Ghosh A. Role of Phytocompounds En Route Blood-brain Barrier in Cerebral Ischemia.
108. Drygalski K, Fereniec E, Koryciński K, Chomentowski A, Kielczewska A, Odrzygóźdź C, Modzelewska B. Resveratrol and Alzheimer's disease. From molecular pathophysiology to clinical trials. *Experimental Gerontology*. 2018;113:36-47.
109. Wang Y, Xu H, Fu Q, Ma R, Xiang J. Protective effect of resveratrol derived from *Polygonum cuspidatum* and its liposomal form on nigral cells in Parkinsonian rats. *Journal of the Neurological Sciences*. 2011;304(1):29-34.
110. Guan SY, Zhang K, Wang XS, Yang L, Feng B, Tian DD, et al. Anxiolytic effects of polydatin through the blockade of neuroinflammation in a chronic pain mouse model. *Mol Pain*. 2020;16:1744806919900717.
111. Bahar B, Singhrao SK. An evaluation of the molecular mode of action of trans-resveratrol in the *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide challenged neuronal cell model. *Mol Biol Rep*. 2021;48(1):147-56.
112. Fakhri S, Gravandi MM, Abdian S, Akkol EK, Farzaei MH, Sobarzo-Sánchez E. The Neuroprotective Role of Polydatin: Neuropharmacological Mechanisms, Molecular Targets, Therapeutic Potentials, and Clinical Perspective. *Molecules*. 2021;26(19).

113. Cong L, Lei MY, Liu ZQ, Liu ZF, Ma Z, Liu K, et al. Resveratrol attenuates manganese-induced oxidative stress and neuroinflammation through SIRT1 signaling in mice. *Food Chem Toxicol.* 2021;153:112283.
114. Jiao F, Gong Z. The Beneficial Roles of SIRT1 in Neuroinflammation-Related Diseases. *Oxid Med Cell Longev.* 2020;2020:6782872.
115. Moussa C, Hebron M, Huang X, Ahn J, Rissman RA, Aisen PS, Turner RS. Resveratrol regulates neuro-inflammation and induces adaptive immunity in Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation.* 2017;14(1):1.
116. Saha A, Sarkar C, Singh SP, Zhang Z, Munasinghe J, Peng S, et al. The blood-brain barrier is disrupted in a mouse model of infantile neuronal ceroid lipofuscinosis: amelioration by resveratrol. *Hum Mol Genet.* 2012;21(10):2233-44.
117. Wight RD, Tull CA, Deel MW, Stroope BL, Eubanks AG, Chavis JA, et al. Resveratrol effects on astrocyte function: relevance to neurodegenerative diseases. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012;426(1):112-5.
118. Ma S, Fan L, Li J, Zhang B, Yan Z. Resveratrol promoted the M2 polarization of microglia and reduced neuroinflammation after cerebral ischemia by inhibiting miR-155. *Int J Neurosci.* 2020;130(8):817-25.
119. Lu X, Ma L, Ruan L, Kong Y, Mou H, Zhang Z, et al. Resveratrol differentially modulates inflammatory responses of microglia and astrocytes. *J Neuroinflammation.* 2010;7:46.
120. Bernier M, Wahl D, Ali A, Allard J, Faulkner S, Wnorowski A, et al. Resveratrol supplementation confers neuroprotection in cortical brain tissue of nonhuman primates fed a high-fat/sucrose diet. *Aging (Albany NY).* 2016;8(5):899-916.
121. Izquierdo V, Palomera-Ávalos V, Pallàs M, Griñán-Ferré C. Resveratrol Supplementation Attenuates Cognitive and Molecular Alterations under Maternal High-Fat Diet Intake: Epigenetic Inheritance over Generations. *Int J Mol Sci.* 2021;22(3).
122. Martínez-Orozco H, Reyes-Castro LA, Lomas-Soria C, Sandoval-Salazar C, Ramírez-Emiliano J, Díaz-Cintra S, Solís-Ortiz S. High-fat and combined high-fat-high-fructose diets impair episodic-like memory and decrease glutamate and glutamine in the hippocampus of adult mice. *Nutr Neurosci.* 2021:1-11.
123. Pinheiro-Castro N, Silva L, Novaes GM, Ong TP. Hypercaloric Diet-Induced Obesity and Obesity-Related Metabolic Disorders in Experimental Models. *Adv Exp Med Biol.* 2019;1134:149-61.

124. de Bona Schraiber R, de Mello AH, Garcez ML, de Bem Silveira G, Zacaron RP, de Souza Goldim MP, et al. Diet-induced obesity causes hypothalamic neurochemistry alterations in Swiss mice. *Metab Brain Dis.* 2019;34(2):565-73.
125. Akyol A, Langley-Evans SC, McMullen S. Obesity induced by cafeteria feeding and pregnancy outcome in the rat. *British Journal of Nutrition.* 2009;102(11):1601-10.
126. Buyukdere Y, Gulec A, Akyol A. Cafeteria diet increased adiposity in comparison to high fat diet in young male rats. *PeerJ.* 2019;7:e6656.
127. Abbott KN, Arnott CK, Westbrook RF, Tran DMD. The effect of high fat, high sugar, and combined high fat-high sugar diets on spatial learning and memory in rodents: A meta-analysis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews.* 2019;107:399-421.
128. Harmon CM, Abumrad NA. Binding of sulfosuccinimidyl fatty acids to adipocyte membrane proteins: Isolation and amino-terminal sequence of an 88-kD protein implicated in transport of long-chain fatty acids. *The Journal of Membrane Biology.* 1993;133(1):43-9.
129. Ooi K-LM, Vacy K, Boon WC. Fatty acids and beyond: Age and Alzheimer's disease related changes in lipids reveal the neuro-nutraceutical potential of lipids in cognition. *Neurochemistry International.* 2021;149:105143.
130. Stewart CR, Stuart LM, Wilkinson K, van Gils JM, Deng J, Halle A, et al. CD36 ligands promote sterile inflammation through assembly of a Toll-like receptor 4 and 6 heterodimer. *Nature Immunology.* 2010;11(2):155-61.
131. Ulug E, Nergiz-Unal R. Dietary fatty acids and CD36-mediated cholesterol homeostasis: potential mechanisms. *Nutrition Research Reviews.* 2021;34(1):64-77.
132. Nergiz-Ünal R, Kuijpers MJE, de Witt SM, Heeneman S, Feijge MAH, Garcia Caraballo SC, et al. Atheroprotective effect of dietary walnut intake in ApoE-deficient mice: Involvement of lipids and coagulation factors. *Thrombosis Research.* 2013;131(5):411-7.
133. Lee EJ, Oh H, Kang BG, Kang MK, Kim DY, Kim YH, et al. Lipid-Lowering Effects of Medium-Chain Triglyceride-Enriched Coconut Oil in Combination with Licorice Extracts in Experimental Hyperlipidemic Mice. *J Agric Food Chem.* 2018;66(40):10447-57.
134. Deol P, Evans JR, Dhahbi J, Chellappa K, Han DS, Spindler S, Sladek FM. Soybean Oil Is More Obesogenic and Diabetogenic than Coconut Oil and Fructose in Mouse: Potential Role for the Liver. *PLoS One.* 2015;10(7):e0132672.

135. Martin GG, Landrock D, Chung S, Dangott LJ, Seeger DR, Murphy EJ, et al. Fabp1 gene ablation inhibits high-fat diet-induced increase in brain endocannabinoids. *Journal of Neurochemistry*. 2017;140(2):294-306.
136. Medrano-Jiménez E, Jiménez-Ferrer Carrillo I, Pedraza-Escalona M, Ramírez-Serrano CE, Álvarez-Arellano L, Cortés-Mendoza J, et al. Malva parviflora extract ameliorates the deleterious effects of a high fat diet on the cognitive deficit in a mouse model of Alzheimer's disease by restoring microglial function via a PPAR- $\gamma$ -dependent mechanism. *J Neuroinflammation*. 2019;16(1):143.
137. Schube U, Nowicki M, Jogschies P, Blumenauer V, Bechmann I, Serke H. Resveratrol and desferoxamine protect human OxLDL-treated granulosa cell subtypes from degeneration. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(1):229-39.
138. Voloshyna I, Hai O, Littlefield MJ, Carsons S, Reiss AB. Resveratrol mediates anti-atherogenic effects on cholesterol flux in human macrophages and endothelium via PPAR $\gamma$  and adenosine. *Eur J Pharmacol*. 2013;698(1-3):299-309.
139. O'Tierney-Ginn P, Roberts V, Gillingham M, Walker J, Glazebrook PA, Thornburg KL, et al. Influence of high fat diet and resveratrol supplementation on placental fatty acid uptake in the Japanese macaque. *Placenta*. 2015;36(8):903-10.
140. Chen LL, Zhang HH, Zheng J, Hu X, Kong W, Hu D, et al. Resveratrol attenuates high-fat diet-induced insulin resistance by influencing skeletal muscle lipid transport and subsarcolemmal mitochondrial  $\beta$ -oxidation. *Metabolism*. 2011;60(11):1598-609.
141. DiNicolantonio JJ, O'Keefe JH. Good Fats versus Bad Fats: A Comparison of Fatty Acids in the Promotion of Insulin Resistance, Inflammation, and Obesity. *Mo Med*. 2017;114(4):303-7.
142. Wahl D, Cogger VC, Solon-Biet SM, Waern RV, Gokarn R, Pulpitel T, et al. Nutritional strategies to optimise cognitive function in the aging brain. *Ageing Res Rev*. 2016;31:80-92.
143. Seibenhener ML, Wooten MC. Use of the Open Field Maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice. *J Vis Exp*. 2015(96):e52434.
144. Gancheva S, Galunska B, Zhelyazkova-Savova M. Diets rich in saturated fat and fructose induce anxiety and depression-like behaviours in the rat: is there a role for lipid peroxidation? *Int J Exp Pathol*. 2017;98(5):296-306.
145. Dos Santos B, Schmitz AE, de Almeida GRL, de Souza LF, Szczepanik JC, Nunes EA, et al. Fructose Intake Impairs Cortical Antioxidant Defenses Allied to Hyperlocomotion in Middle-Aged C57BL/6 Female Mice. *Neurochem Res*. 2020;45(12):2868-83.

- 146.Erbas O, Erdogan MA, Khalilnezhad A, Gürkan FT, Yiğittürk G, Meral A, Taskiran D. Neurobehavioral effects of long-term maternal fructose intake in rat offspring. *Int J Dev Neurosci*. 2018;69:68-79.
- 147.Amirazodi F, Mehrabi A, Amirazodi M, Parsania S, Rajizadeh MA, Esmaeilpour K. The Combination Effects of Resveratrol and Swimming HIIT Exercise on Novel Object Recognition and Open-field Tasks in Aged Rats. *Exp Aging Res*. 2020;46(4):336-58.
- 148.Lueptow LM. Novel Object Recognition Test for the Investigation of Learning and Memory in Mice. *J Vis Exp*. 2017(126).
- 149.Chávez-Gutiérrez E, Fuentes-Venado CE, Rodríguez-Páez L, Guerra-Araiza C, Larqué C, Martínez-Herrera E, et al. High Fructose and High Fat Diet Impair Different Types of Memory through Oxidative Stress in a Sex- and Hormone-Dependent Manner. *Metabolites*. 2022;12(4).
- 150.Moura ELR, Dos Santos H, Celes APM, Bassani TB, Souza LC, Vital M. Effects of a Nutritional Formulation Containing Caprylic and Capric Acid, Phosphatidylserine, and Docosahexaenoic Acid in Streptozotocin-Lesioned Rats. *J Alzheimers Dis Rep*. 2020;4(1):353-63.
- 151.Blasco-Serra A, González-Soler EM, Cervera-Ferri A, Teruel-Martí V, Valverde-Navarro AA. A standardization of the Novelty-Suppressed Feeding Test protocol in rats. *Neurosci Lett*. 2017;658:73-8.
- 152.Gomes JA, Silva JF, Marçal AP, Silva GC, Gomes GF, de Oliveira AC, et al. High-refined carbohydrate diet consumption induces neuroinflammation and anxiety-like behavior in mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2020;77:108317.
- 153.Yuruk AA, Nergiz-Unal R. Maternal dietary free or bound fructose diversely influence developmental programming of lipogenesis. *Lipids in health and disease*. 2017;16(1):226.
- 154.Huang JP, Hsu SC, Li DE, Chen KH, Kuo CY, Hung LM. Resveratrol Mitigates High-Fat Diet-Induced Vascular Dysfunction by Activating the Akt/eNOS/NO and Sirt1/ER Pathway. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2018;72(5):231-41.
- 155.Lekshmi Sheela D, Nazeem PA, Narayanankutty A, Manalil JJ, Raghavamenon AC. In Silico and Wet Lab Studies Reveal the Cholesterol Lowering Efficacy of Lauric Acid, a Medium Chain Fat of Coconut Oil. *Plant Foods Hum Nutr*. 2016;71(4):410-5.
- 156.Crowell JA, Korytko PJ, Morrissey RL, Booth TD, Levine BS. Resveratrol-associated renal toxicity. *Toxicol Sci*. 2004;82(2):614-9.



157. Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N. Dose translation from animal to human studies revisited. *Faseb j.* 2008;22(3):659-61.
158. Pastor RF, Restani P, Di Lorenzo C, Orgiu F, Teissedre P-L, Stockley C, et al. Resveratrol, human health and winemaking perspectives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 2019;59(8):1237-55.
159. Zong G, Li Y, Wanders AJ, Alsema M, Zock PL, Willett WC, et al. Intake of individual saturated fatty acids and risk of coronary heart disease in US men and women: two prospective longitudinal cohort studies. *bmj.* 2016;355.
160. Leger M, Quiedeville A, Bouet V, Haelewyn B, Boulouard M, Schumann-Bard P, Freret T. Object recognition test in mice. *Nature Protocols.* 2013;8(12):2531-7.
161. Gomes JAS, Silva JF, Marçal AP, Silva GC, Gomes GF, de Oliveira ACP, et al. High-refined carbohydrate diet consumption induces neuroinflammation and anxiety-like behavior in mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry.* 2020;77:108317.
162. Lee MO. Determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results. *American Journal of Physiology-Legacy Content.* 1929;89(1):24-33.
163. Rogers P, Webb GP. Estimation of body fat in normal and obese mice. *Br J Nutr.* 1980;43(1):83-6.
164. Song W, Song C, Li L, Wang T, Hu J, Zhu L, Yue T. Lactobacillus alleviated obesity induced by high-fat diet in mice. *Journal of Food Science.* 2021;86(12):5439-51.
165. Lei F, Zhang X, Wang W, Xing D, Xie W, Su H, Du L. Evidence of anti-obesity effects of the pomegranate leaf extract in high-fat diet induced obese mice. *International journal of obesity.* 2007;31(6):1023-9.
166. Çetin Karakaş C. Chia Tohumunun (*Salvia Hispanica L.*) Ratlarda Kafeterya Diyeti ile İndüklenen Obezite Üzerine Etkisi. 2021.
167. Smith Pe, Krohn RI, Hermanson GT, Mallia AK, Gartner FH, Provenzano M, et al. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical biochemistry.* 1985;150(1):76-85.
168. Willems E, Leyns L, Vandesompele J. Standardization of real-time PCR gene expression data from independent biological replicates. *Anal Biochem.* 2008;379(1):127-9.
169. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods.* 2001;25(4):402-8.

170. Nakandakari SCBR, Muñoz VR, Kuga GK, Gaspar RC, Sant'Ana MR, Pavan ICB, et al. Short-term high-fat diet modulates several inflammatory, ER stress, and apoptosis markers in the hippocampus of young mice. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2019;79:284-93.
171. Li JM, Yu R, Zhang LP, Wen SY, Wang SJ, Zhang XY, et al. Dietary fructose-induced gut dysbiosis promotes mouse hippocampal neuroinflammation: a benefit of short-chain fatty acids. *Microbiome*. 2019;7(1):98.
172. Rahimifard M, Maqbool F, Moeini-Nodeh S, Niaz K, Abdollahi M, Braidy N, et al. Targeting the TLR4 signaling pathway by polyphenols: A novel therapeutic strategy for neuroinflammation. *Ageing Res Rev*. 2017;36:11-9.
173. Žáček P, Bukowski M, Mehus A, Johnson L, Zeng H, Raatz S, et al. Dietary saturated fatty acid type impacts obesity-induced metabolic dysfunction and plasma lipidomic signatures in mice. *J Nutr Biochem*. 2019;64:32-44.
174. Oliva L, Aranda T, Caviola G, Fernández-Bernal A, Alemany M, Fernández-López JA, Remesar X. In rats fed high-energy diets, taste, rather than fat content, is the key factor increasing food intake: a comparison of a cafeteria and a lipid-supplemented standard diet. *PeerJ*. 2017;5:e3697.
175. Wu J, Li Y, Yu J, Gan Z, Wei W, Wang C, et al. Resveratrol Attenuates High-Fat Diet Induced Hepatic Lipid Homeostasis Disorder and Decreases m(6)A RNA Methylation. *Front Pharmacol*. 2020;11:568006.
176. Wang P, Li D, Ke W, Liang D, Hu X, Chen F. Resveratrol-induced gut microbiota reduces obesity in high-fat diet-fed mice. *Int J Obes (Lond)*. 2020;44(1):213-25.
177. Xia J, Yu P, Zeng Z, Ma M, Zhang G, Wan D, et al. Lauric Triglyceride Ameliorates High-Fat-Diet-Induced Obesity in Rats by Reducing Lipogenesis and Increasing Lipolysis and  $\beta$ -Oxidation. *J Agric Food Chem*. 2021;69(32):9157-66.
178. Zhao M, Jiang Z, Cai H, Li Y, Mo Q, Deng L, et al. Modulation of the Gut Microbiota during High-Dose Glycerol Monolaurate-Mediated Amelioration of Obesity in Mice Fed a High-Fat Diet. *mBio*. 2020;11(2).
179. Ackroff K, Sclafani A. Rats' preferences for high fructose corn syrup vs. sucrose and sugar mixtures. *Physiology & Behavior*. 2011;102(5):548-52.
180. Eng JM, Estall JL. Diet-Induced Models of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Food for Thought on Sugar, Fat, and Cholesterol. *Cells*. 2021;10(7).
181. Woodie L, Blythe S. The differential effects of high-fat and high-fructose diets on physiology and behavior in male rats. *Nutritional Neuroscience*. 2018;21(5):328-36.

182. Rosinger A, Herrick K, Gahche J, Park S. Sugar-sweetened Beverage Consumption Among U.S. Adults, 2011-2014. *NCHS Data Brief*. 2017(270):1-8.
183. Nakajima S, Fukasawa K, Gotoh M, Murakami-Murofushi K, Kunugi H. Saturated fatty acid is a principal cause of anxiety-like behavior in diet-induced obese rats in relation to serum lysophosphatidyl choline level. *Int J Obes (Lond)*. 2020;44(3):727-38.
184. Nani A, Murtaza B, Sayed Khan A, Khan NA, Hichami A. Antioxidant and Anti-Inflammatory Potential of Polyphenols Contained in Mediterranean Diet in Obesity: Molecular Mechanisms. *Molecules*. 2021;26(4).
185. Wang P, Gao J, Ke W, Wang J, Li D, Liu R, et al. Resveratrol reduces obesity in high-fat diet-fed mice via modulating the composition and metabolic function of the gut microbiota. *Free Radic Biol Med*. 2020;156:83-98.
186. Zhao L, Zhang Q, Ma W, Tian F, Shen H, Zhou M. A combination of quercetin and resveratrol reduces obesity in high-fat diet-fed rats by modulation of gut microbiota. *Food Funct*. 2017;8(12):4644-56.
187. Sarroca S, Gatius A, Rodríguez-Farré E, Vilchez D, Pallàs M, Griñán-Ferré C, et al. Resveratrol confers neuroprotection against high-fat diet in a mouse model of Alzheimer's disease via modulation of proteolytic mechanisms. *J Nutr Biochem*. 2021;89:108569.
188. Osuna-Prieto FJ, Martínez-Tellez B, Segura-Carretero A, Ruiz JR. Activation of Brown Adipose Tissue and Promotion of White Adipose Tissue Browning by Plant-based Dietary Components in Rodents: A Systematic Review. *Advances in Nutrition*. 2021;12(6):2147-56.
189. Zhang F, Song M, Chen L, Yang X, Li F, Yang Q, et al. Dietary Supplementation of Lauric Acid Alleviates the Irregular Estrous Cycle and the Impaired Metabolism and Thermogenesis in Female Mice Fed with High-Fat Diet (HFD). *J Agric Food Chem*. 2020;68(45):12631-40.
190. Panchal SK, Carnahan S, Brown L. Coconut Products Improve Signs of Diet-Induced Metabolic Syndrome in Rats. *Plant Foods Hum Nutr*. 2017;72(4):418-24.
191. Saraswathi V, Kumar N, Gopal T, Bhatt S, Ai W, Ma C, et al. Lauric Acid versus Palmitic Acid: Effects on Adipose Tissue Inflammation, Insulin Resistance, and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Obesity. *Biology (Basel)*. 2020;9(11).
192. Treviño S, Díaz A, González-López G, Guevara J. Differential biochemical-inflammatory patterns in the astrocyte-neuron axis of the hippocampus and frontal cortex in Wistar rats with metabolic syndrome induced by high fat or carbohydrate diets. *Journal of Chemical Neuroanatomy*. 2022;126:102186.

193. Trusov NV, Shipelin V, Mzhelskaya KV, Shumakova A, Timonin A N, Riger N, et al. Effect of resveratrol on behavioral, biochemical, and immunological parameters of DBA/2J and tetrahybrid DBCB mice receiving diet with excess fat and fructose. *J Nutr Biochem.* 2021;88:108527.
194. Zhao M, Cai H, Jiang Z, Li Y, Zhong H, Zhang H, Feng F. Glycerol-Monolaurate-Mediated Attenuation of Metabolic Syndrome is Associated with the Modulation of Gut Microbiota in High-Fat-Diet-Fed Mice. *Mol Nutr Food Res.* 2019;63(18):e1801417.
195. Mzhelskaya KV, Shipelin VA, Shumakova AA, Musaeva AD, Soto JS, Riger NA, et al. Effects of quercetin on the neuromotor function and behavioral responses of Wistar and Zucker rats fed a high-fat and high-carbohydrate diet. *Behav Brain Res.* 2020;378:112270.
196. Canini F, Qin B, Arvy N, Poulet L, Batandier C, Roussel AM, Anderson RA. Stress exposure alters brain mRNA expression of the genes involved in insulin signalling, an effect modified by a high fat/high fructose diet and cinnamon supplement. *PLoS One.* 2018;13(5):e0197094.
197. Seibenhener ML, Wooten MC. Use of the open field maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice. *JoVE (Journal of Visualized Experiments).* 2015(96):e52434.
198. Moore A, Beidler J, Hong MY. Resveratrol and Depression in Animal Models: A Systematic Review of the Biological Mechanisms. *Molecules.* 2018;23(9).
199. Kloster A, Hyer MM, Dyer S, Salome-Sanchez C, Neigh GN. High Fructose Diet Induces Sex-specific Modifications in Synaptic Respiration and Affective-like Behaviors in Rats. *Neuroscience.* 2021;454:40-50.
200. Gancheva S, Zhelyazkova-Savova M. Are Bisphosphonates Associated with Adverse Metabolic and Cognitive Effects? A Study in Intact Rats and Rats Fed High-Fat High-Fructose Diet. *Calcif Tissue Int.* 2020;107(1):41-51.
201. Gelineau RR, Arruda NL, Hicks JA, Monteiro De Pina I, Hatzidis A, Seggio JA. The behavioral and physiological effects of high-fat diet and alcohol consumption: Sex differences in C57BL6/J mice. *Brain Behav.* 2017;7(6):e00708.
202. Xu L, Xu S, Lin L, Gu X, Fu C, Fang Y, et al. High-fat Diet Mediates Anxiolytic-like Behaviors in a Time-dependent Manner Through the Regulation of SIRT1 in the Brain. *Neuroscience.* 2018;372:237-45.
203. Shehata AM, Ahmed-Farid OA, Rizk HA, Saber SM, Lashin FM, Re L. Neurochemical, neurobehavioral and histochemical effects of therapeutic dose of l-dopa on striatal neurons in rats: Protective effect of virgin coconut oil. *Biomed Pharmacother.* 2020;130:110473.

204. Veras ACC, Santos Td, Martins IdCA, de Souza CM, Amaral CL, Franco BdS, et al. Low-Dose Coconut Oil Supplementation Induces Hypothalamic Inflammation, Behavioral Dysfunction, and Metabolic Damage in Healthy Mice. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2021;65(10):2000943.
205. Vascoceles MH, Tavares RL, da Veiga Dutra ML, Batista KS, Barbosa A, Pinheiro RO, et al. Extra virgin coconut oil (*Cocos nucifera* L.) intake shows neurobehavioural and intestinal health effects in obesity-induced rats. *Food & Function*. 2023.
206. Yu M, Huang H, Dong S, Sha H, Wei W, Liu C. High mobility group box-1 mediates hippocampal inflammation and contributes to cognitive deficits in high-fat high-fructose diet-induced obese rats. *Brain Behav Immun*. 2019;82:167-77.
207. Hu Y, Zhang Q, Wang JC, Wang J, Liu Y, Zhu LY, Xu JX. Resveratrol improves diabetes-induced cognitive dysfunction in part through the miR-146a-5p/TXNIP axis. *Kaohsiung J Med Sci*. 2023;39(4):404-15.
208. Singh A, Bodakhe SH. Resveratrol attenuates behavioural impairment associated with learning and memory in rats with diabetes induced by a high-fat diet and streptozotocin. *Br J Pharmacol*. 2022;179(19):4673-91.
209. Bisong SA, Nku CO, Sanya OA, Ita SO, Fischer VA, Abuo FE. Long-term consumption of virgin coconut (*Cocos nucifera*) oil diet impairs learning and memory in CD1 mice. *Chin Herb Med*. 2020;12(4):414-20.
210. Roopashree PG, Shetty SS, Suchetha Kumari N. Effect of medium chain fatty acid in human health and disease. *Journal of Functional Foods*. 2021;87:104724.
211. Nakajima S, Kunugi H. Lauric acid promotes neuronal maturation mediated by astrocytes in primary cortical cultures. *Heliyon*. 2020;6(5):e03892.
212. Nonaka Y, Takagi T, Inai M, Nishimura S, Urashima S, Honda K, et al. Lauric Acid Stimulates Ketone Body Production in the KT-5 Astrocyte Cell Line. *J Oleo Sci*. 2016;65(8):693-9.
213. Nafar F, Clarke JP, Mearow KM. Coconut oil protects cortical neurons from amyloid beta toxicity by enhancing signaling of cell survival pathways. *Neurochem Int*. 2017;105:64-79.
214. Bodnoff SR, Suranyi-Cadotte B, Aitken DH, Quirion R, Meaney MJ. The effects of chronic antidepressant treatment in an animal model of anxiety. *Psychopharmacology (Berl)*. 1988;95(3):298-302.
215. Liu W, Zhai X, Li H, Ji L. Depression-like behaviors in mice subjected to co-treatment of high-fat diet and corticosterone are ameliorated by AICAR and exercise. *Journal of Affective Disorders*. 2014;156:171-7.

216. Yuan Y, Zhen L, Li Z, Xu W, Leng H, Xu W, et al. trans-Resveratrol ameliorates anxiety-like behaviors and neuropathic pain in mouse model of post-traumatic stress disorder. *J Psychopharmacol*. 2020;34(7):726-36.
217. Francis HM, Stevenson RJ. Higher reported saturated fat and refined sugar intake is associated with reduced hippocampal-dependent memory and sensitivity to interoceptive signals. *Behav Neurosci*. 2011;125(6):943-55.
218. Mastrocola R, Nigro D, Cento AS, Chiazza F, Collino M, Aragno M. High-fructose intake as risk factor for neurodegeneration: Key role for carboxy methyllysine accumulation in mice hippocampal neurons. *Neurobiol Dis*. 2016;89:65-75.
219. Meng Q, Ying Z, Noble E, Zhao Y, Agrawal R, Mikhail A, et al. Systems Nutrigenomics Reveals Brain Gene Networks Linking Metabolic and Brain Disorders. *EBioMedicine*. 2016;7:157-66.
220. Noble EE, Kanoski SE. Early life exposure to obesogenic diets and learning and memory dysfunction. *Curr Opin Behav Sci*. 2016;9:7-14.
221. de Paula GC, Brunetta HS, Engel DF, Gaspar JM, Velloso LA, Engblom D, et al. Hippocampal Function Is Impaired by a Short-Term High-Fat Diet in Mice: Increased Blood-Brain Barrier Permeability and Neuroinflammation as Triggering Events. *Front Neurosci*. 2021;15:734158.
222. Fosdick MG, Loftus S, Phillips I, Zacharias ZR, Houtman JCD. Glycerol monolaurate inhibition of human B cell activation. *Sci Rep*. 2022;12(1):13506.
223. Yang Y-j, Hu L, Xia Y-p, Jiang C-y, Miao C, Yang C-q, et al. Resveratrol suppresses glial activation and alleviates trigeminal neuralgia via activation of AMPK. *Journal of Neuroinflammation*. 2016;13(1):84.
224. Swift LL, Hill J, Peters J, Greene H. Medium-chain fatty acids: evidence for incorporation into chylomicron triglycerides in humans. *The American journal of clinical nutrition*. 1990;52(5):834-6.
225. Moser VA, Uchoa MF, Pike CJ. TLR4 inhibitor TAK-242 attenuates the adverse neural effects of diet-induced obesity. *Journal of Neuroinflammation*. 2018;15(1):306.
226. Yang JS, Tongson J, Kim KH, Park Y. Piceatannol attenuates fat accumulation and oxidative stress in steatosis-induced HepG2 cells. *Curr Res Food Sci*. 2020;3:92-9.
227. Park SY, Lee SW, Kim HY, Lee SY, Lee WS, Hong KW, Kim CD. SIRT1 inhibits differentiation of monocytes to macrophages: amelioration of synovial inflammation in rheumatoid arthritis. *J Mol Med (Berl)*. 2016;94(8):921-31.

228. Borchertding N, Jia W, Giwa R, Field RL, Moley JR, Kopecky BJ, et al. Dietary lipids inhibit mitochondria transfer to macrophages to divert adipocyte-derived mitochondria into the blood. *Cell Metab.* 2022;34(10):1499-513.e8.
229. Vallvé J-C, Uliaque K, Girona J, Cabré A, Ribalta J, Heras M, Masana Ls. Unsaturated fatty acids and their oxidation products stimulate CD36 gene expression in human macrophages. *Atherosclerosis.* 2002;164(1):45-56.
230. Afonso MdS, Castilho G, Lavrador MSF, Passarelli M, Nakandakare ER, Lottenberg SA, Lottenberg AM. The impact of dietary fatty acids on macrophage cholesterol homeostasis. *The Journal of Nutritional Biochemistry.* 2014;25(2):95-103.
231. Zhang W, Chen R, Yang T, Xu N, Chen J, Gao Y, Stetler RA. Fatty acid transporting proteins: Roles in brain development, aging, and stroke. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids.* 2018;136:35-45.
232. Abumrad NA, Ajmal M, Pothakos K, Robinson JK. CD36 expression and brain function: does CD36 deficiency impact learning ability? *Prostaglandins & Other Lipid Mediators.* 2005;77(1):77-83.
233. Galic MA, Riazi K, Pittman QJ. Cytokines and brain excitability. *Front Neuroendocrinol.* 2012;33(1):116-25.
234. McCoy MK, Tansey MG. TNF signaling inhibition in the CNS: implications for normal brain function and neurodegenerative disease. *J Neuroinflammation.* 2008;5:45.
235. Godbout JP, Johnson RW. Interleukin-6 in the aging brain. *J Neuroimmunol.* 2004;147(1-2):141-4.
236. Lu X, Ma L, Ruan L, Kong Y, Mou H, Zhang Z, et al. Resveratrol differentially modulates inflammatory responses of microglia and astrocytes. *Journal of Neuroinflammation.* 2010;7(1):46.
237. Wang Z, Liu D, Wang F, Liu S, Zhao S, Ling EA, Hao A. Saturated fatty acids activate microglia via Toll-like receptor 4/NF- $\kappa$ B signalling. *Br J Nutr.* 2012;107(2):229-41.
238. Zheng C, Xiao G, Yan X, Qiu T, Liu S, Ou J, et al. Complex of Lauric Acid Monoglyceride and Cinnamaldehyde Ameliorated Subclinical Necrotic Enteritis in Yellow-Feathered Broilers by Regulating Gut Morphology, Barrier, Inflammation and Serum Biochemistry. *Animals (Basel).* 2023;13(3).
239. Cicognola C, Janelidze S, Hertze J, Zetterberg H, Blennow K, Mattsson-Carlgrén N, Hansson O. Plasma glial fibrillary acidic protein detects Alzheimer pathology and predicts future conversion to Alzheimer dementia in patients with mild cognitive impairment. *Alzheimer's Research & Therapy.* 2021;13(1):68.


240. Chatterjee P, Pedrini S, Stoops E, Goozee K, Villemagne VL, Asih PR, et al. Plasma glial fibrillary acidic protein is elevated in cognitively normal older adults at risk of Alzheimer's disease. *Translational Psychiatry*. 2021;11(1):27.
241. Du Preez A, Onorato D, Eiben I, Musaelyan K, Egeland M, Zunszain PA, et al. Chronic stress followed by social isolation promotes depressive-like behaviour, alters microglial and astrocyte biology and reduces hippocampal neurogenesis in male mice. *Brain Behav Immun*. 2021;91:24-47.
242. Wang Y, Zhu J, Aroner S, Overvad K, Cai T, Yang M, et al. Plasma CD36 and Incident Diabetes: A Case-Cohort Study in Danish Men and Women. *Diabetes Metab J*. 2020;44(1):134-42.
243. Ekici M, Kisa U, Arikan Durmaz S, Ugur E, Nergiz-Unal R. Fatty acid transport receptor soluble CD36 and dietary fatty acid pattern in type 2 diabetic patients: a comparative study. *Br J Nutr*. 2018;119(2):153-62.
244. Rać ME, Safranow K, Garanty-Bogacka B, Dziedziejko V, Kurzawski G, Goschorska M, et al. CD36 gene polymorphism and plasma sCD36 as the risk factor in higher cholesterolemia. *Arch Pediatr*. 2018;25(3):177-81.
245. McGrattan AM, McGuinness B, McKinley MC, Kee F, Passmore P, Woodside JV, McEvoy CT. Diet and Inflammation in Cognitive Ageing and Alzheimer's Disease. *Curr Nutr Rep*. 2019;8(2):53-65.
246. Minihane AM, Vinoy S, Russell WR, Baka A, Roche HM, Tuohy KM, et al. Low-grade inflammation, diet composition and health: current research evidence and its translation. *Br J Nutr*. 2015;114(7):999-1012.
247. Huang W-C, Tsai T-H, Chuang L-T, Li Y-Y, Zouboulis CC, Tsai P-J. Anti-bacterial and anti-inflammatory properties of capric acid against *Propionibacterium acnes*: A comparative study with lauric acid. *Journal of Dermatological Science*. 2014;73(3):232-40.
248. Yan J, Nie Y, Liu Y, Li J, Wu L, Chen Z, He B. Yiqi-Bushen-Tiaozhi Recipe Attenuated High-Fat and High-Fructose Diet Induced Nonalcoholic Steatohepatitis in Mice via Gut Microbiota. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022;12:824597.
249. Yu J, Sun H, Yang Y, Yan Y. Sesamolin Alleviates Nonalcoholic Fatty Liver Disease through Modulating Gut Microbiota and Metabolites in High-Fat and High-Fructose Diet-Fed Mice. *Int J Mol Sci*. 2022;23(22).
250. Ishimoto T, Lanaspa MA, Rivard CJ, Roncal-Jimenez CA, Orlicky DJ, Cicerchi C, et al. High-fat and high-sucrose (western) diet induces steatohepatitis that is dependent on fructokinase. *Hepatology*. 2013;58(5):1632-43.



251. Zelber-Sagi S, Nitzan-Kaluski D, Goldsmith R, Webb M, Blendis L, Halpern Z, Oren R. Long term nutritional intake and the risk for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): A population based study. *Journal of Hepatology*. 2007;47(5):711-7.
252. Yki-Järvinen H, Luukkonen PK, Hodson L, Moore JB. Dietary carbohydrates and fats in nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2021;18(11):770-86.
253. Yu L-P, Li Y-Q, Li Y-J, Zi L, Tao Y-X, Hao J-J, et al. In vivo identification of the pharmacodynamic ingredients of *Polygonum cuspidatum* for remedying the mitochondria to alleviate metabolic dysfunction-associated fatty liver disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022;156:113849.
254. Chupradit S, Bokov D, Zamanian MY, Heidari M, Hakimizadeh E. Hepatoprotective and therapeutic effects of resveratrol: A focus on anti-inflammatory and antioxidative activities. *Fundam Clin Pharmacol*. 2022;36(3):468-85.
255. Narayanankutty A, Palliyil DM, Kuruvilla K, Raghavamenon AC. Virgin coconut oil reverses hepatic steatosis by restoring redox homeostasis and lipid metabolism in male Wistar rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2018;98(5):1757-64.
256. Zicker MC, Silveira ALM, Lacerda DR, Rodrigues DF, Oliveira CT, de Souza Cordeiro LM, et al. Virgin coconut oil is effective to treat metabolic and inflammatory dysfunction induced by high refined carbohydrate-containing diet in mice. *J Nutr Biochem*. 2019;63:117-28.
257. Lu H, Guo T, Fan Y, Deng Z, Luo T, Li H. Effects of diacylglycerol and triacylglycerol from peanut oil and coconut oil on lipid metabolism in mice. *J Food Sci*. 2020;85(6):1907-14.
258. Ströher DJ, de Oliveira MF, Martinez-Oliveira P, Pilar BC, Cattelan MDP, Rodrigues E, et al. Virgin Coconut Oil Associated with High-Fat Diet Induces Metabolic Dysfunctions, Adipose Inflammation, and Hepatic Lipid Accumulation. *J Med Food*. 2020;23(7):689-98.

## 8. EKLER

### EK-1: Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı



**T.C.**  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : 52338875 - 105

**HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURUL KARARI**

<b>TOPLANTI TARİHİ</b>	: 25.11.2020 (ÇARŞAMBA)
<b>TOPLANTI SAYISI</b>	: 2020/10
<b>DOSYA KAYIT NUMARASI</b>	: 2020/28 (ONAY TARİHİ : 14.07.2020)
<b>KARAR NUMARASI</b>	: 2020/10- 09
<b>ONAY BİTİŞ TARİHİ</b>	: 14.07.2025
<b>ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ</b>	: Doç. Dr. Aslı Akyol MUTLU
<b>HAYVAN DENEYLERİNDE</b>	: Arş. Gör. Betül KİŞİOĞLU(Doktora Tezi), Doç. Dr.
<b>GÖREVLİ ARAŞTIRMACILAR</b>	: Aslı Akyol MUTLU, Doç. Dr. İlyas ONBAŞILAR
<b>DİĞER YARDIMCI</b>	:
<b>ARAŞTIRMACILAR</b>	:
<b>ONAYLANAN HAYVAN TÜRÜ ve</b>	
<b>SAYISI</b>	: 40 Adet <i>Mus Musculus C57BL/6 Fare (8 Haftalık)</i>

Kurulumuzun 14.07.2020 tarihli toplantısında 2020/28 dosya kayıt numarası ile onaylanmış olan Üniversitemiz Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü öğretim üyelerinden Doç. Dr. Reyhan Nergiz ÜNAL'ın araştırma yürütücüsü olduğu "*Laurik Asit ve Resveratrol Alımının Farelerde Diyetle İndüklenen Nöroinflamasyon, CD36 Düzeyi ve Kognitif Davranışlar Üzerine Etkileri*" başlıklı proje için verilen proje araştırma ekibi revizyonu konulu 06.11.2020 tarihli dilekçe Kurulumuzun 25.11.2020 tarihli toplantısında görüşülmüş ve **uygun bulunmuştur**. Proje ekibinden araştırma yürütücüsü Doç. Dr. Reyhan Nergiz ÜNAL çıkartılmış ve araştırma yürütücüsü olarak Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Aslı Akyol MUTLU proje ekibine dahil edilmiş ve kayıtlarımıza eklenmiştir. Kurul Üyesi Doç. Dr. İlyas ONBAŞILAR çıkar çatışması nedeniyle tartışma ve oylamaya katılmamıştır.

Prof. Dr. Sema ÇALIŞ  
Etik Kurul Başkanı

---

Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 06100 Sıhhiye-Ankara      Ayrıntılı Bilgi için:  
 Telefon: 0 (312) 305 1090-1082 • Faks: 0 (312) 310 0580  
[www.etikkurul.hacettepe.edu.tr/index\\_hdk.php](http://www.etikkurul.hacettepe.edu.tr/index_hdk.php)

## EK-2: Tez Çalışması Orjinallik Raporu

### LAURİK ASİT VE RESVERATROL ALIMININ FARELERDE DİYETLE İNDÜKLENEN NÖROİNFLAMASYON, CD36 DÜZEYİ VE KOGNİTİF DAVRANIŞLAR ÜZERİNE ETKİLERİ

#### ORJİNALLİK RAPORU

% <b>16</b>	% <b>15</b>	% <b>4</b>	% <b>6</b>
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

#### BİRİNCİL KAYNAKLAR

<b>1</b>	<a href="http://www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080">www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080</a> İnternet Kaynağı	% <b>6</b>
<b>2</b>	<a href="http://acikbilim.yok.gov.tr">acikbilim.yok.gov.tr</a> İnternet Kaynağı	% <b>2</b>
<b>3</b>	Submitted to Hacettepe University Öğrenci Ödevi	% <b>2</b>
<b>4</b>	<a href="http://openaccess.hacettepe.edu.tr:8080">openaccess.hacettepe.edu.tr:8080</a> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>5</b>	<a href="http://diagen.com.tr">diagen.com.tr</a> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>6</b>	<a href="http://dspace.ankara.edu.tr">dspace.ankara.edu.tr</a> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>7</b>	<a href="http://avesis.hacettepe.edu.tr">avesis.hacettepe.edu.tr</a> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>8</b>	<a href="http://acikerisim.nevsehir.edu.tr">acikerisim.nevsehir.edu.tr</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>

**EK-3: Dijital Makbuz**



## Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Betül Kişioğlu Halis  
Ödev başlığı: Doktora Tez  
Gönderi Başlığı: LAURİK ASİT VE RESVERATROL ALIMININ FARELERDE DİYETLE ...  
Dosya adı: Betu\_J\_KI\_S\_I\_OG\_LU\_HALI\_S\_du\_zeltmeler.DOCX  
Dosya boyutu: 9.81M  
Sayfa sayısı: 171  
Kelime sayısı: 37,426  
Karakter sayısı: 266,789  
Gönderim Tarihi: 11-Ağu-2023 11:49ÖÖ (UTC+0300)  
Gönderim Numarası: 2144357130

T.C.  
BACETTİKÜLTÜR VE SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

LAURİK ASİT VE RESVERATROL ALIMININ FARELERDE  
DİYETLE İNTERAKSYONUNUN SAĞLIK VE HASTALIK ÜZERİNDEKİ  
ETKİLERİ

Yrd. Doç. Dr. Betül KİŞİOĞLU HALİS

Bilimsel ve Etik Program  
DOKTORA TEZİ

ANKARA  
2023

Copyright 2023 Turnitin. Tüm hakları saklıdır.

## 9. ÖZGEÇMİŞ

BETÜL KİŞİOĞLU HALİS