



**T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL OBEZİTE MODELİNDE BEYAZ ÇAYIN
KARBONİK ANHİDRAZ II İZOENZİMİ ÜZERİNE ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Elif Büşra KORKMAZ

**Danışman
Doç. Dr. Hülya KILIÇ YILMAZ**

**RİZE
2022**

KABUL VE ONAY

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında, Doç. Dr. Hülya KILIÇ YILMAZ danışmanlığında, Elif Büşra KORKMAZ tarafından hazırlanan *Deneyisel Obezite Modelinde Beyaz Çayın Karbonik Anhidraz II İzoenzimi Üzerine Etkisinin İncelenmesi* adlı bu tez çalışması, 18/07/2022 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak jürimiz tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	Unvanı, Adı Soyadı	İmza
Başkan :	Prof. Dr. Hüseyin Avni UYDU	
Üye :	Prof. Dr. Ahmet MENTEŞE	
Üye :	Doç. Dr. Hülya KILIÇ YILMAZ	

ETİK BEYAN

Tıbbi Biyokimya Tezli Yüksek Lisans Programından mezun olmak üzere teslim ettiğim “Deneyisel Obezite Modelinde Beyaz Çayın Karbonik Anhidraz II İzoenzimi Üzerine Etkisinin İncelenmesi” adlı tezim, bilim ve araştırma etiği prensiplerine riayet edilerek tarafımdan yazılmıştır.

Tez çalışmamda, başka kaynaklardan aktarılan bütün bilgi ve alıntılar, Enstitünüz Tez Yazım Kılavuzu’na uygun olarak açıkça gösterilmiştir. Kaynağı gösterilenler dışında kalan bütün bilgiler uygun araştırma yöntemi kullanılarak tarafımdan edinilmiş ve esere bu şekilde yansıtılmıştır. Şahsıma ait olmayan hiçbir bilgi, kasıt veya kusurlar, şahsıma aitmiş gibi gösterilmemiştir. İnternet kaynakları dâhil, sahibine/kaynağına atıf yapılmaksızın hiçbir bilgi kullanılmamıştır. Aksinin ortaya çıkması halinde doğacak bütün hukuki, idari, akademik ve etik sorumluluk tarafıma ait olacaktır. Eserin tesliminden sonra herhangi bir zamanda, bilim etiğine aykırılık tespit edilmesi ve / veya eserimle ilgili intihal veya intihal şeklinde anlaşılabilecek bir durumun ortaya çıkması halinde; Üniversiteniz ve eğitim kadronuzun hiçbir şekilde sorumlu tutulmayacağını hür irademle kabul, beyan ve taahhüt ederim.

18 /07/2022

Elif Büşra KORKMAZ

ÖN SÖZ

Bu tezde; küresel bir sağlık sorunu haline gelen obezite üzerine tedavi edici potansiyele sahip olduğu bilinen, bizim de günlük tüketim alışkanlıklarına kolaylıkla dahil edilebilecek nitelikte gördüğümüz beyaz çayın etkisi ele alındı. Bu etki, adipoz dokuda, yağ depolanma sürecinde rol alan karbonik anhidraz enziminin toplam aktivitesi ve karbonik anhidraz II izoenziminin gen ekspresyonu özelinde incelendi. Böylesine yaygın bir sağlık sorununun tüketim alışkanlığındaki basit bir değişiklik ile tedavi edilebilme potansiyeli, halk sağlığını geliştirme açısından umut vericidir. Muhtemel etkilerin aydınlatılmasında bu tez çalışmasının katkı sağlayacağını düşünmekte ve umut etmekteyiz.

Bu tezin yazımında ve yüksek lisans eğitimim boyunca verdiği emekler için tez danışmanım Doç. Dr. Hülya KILIÇ YILMAZ'a; desteklerini her daim hissettiğim, bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren değerli hocalarım Prof. Dr. Hüseyin Avni UYDU ve Dr. Öğr. Üyesi Mehtap ATAĞ'a; eğitimim süresince bilgilerinden yararlandığım kıymetli hocalarım Prof. Dr. Adnan YILMAZ ve Dr. Öğr. Üyesi Medeni ARPA'ya; laboratuvar çalışmalarındaki destekleri için Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül SÜMER'e, hayvanların beslenme ve kesim sürecinde yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Esra PINARBAŞ, Arş. Gör. Eda YILMAZ KUTLU ve tüm ekip arkadaşlarıma yürekten teşekkür ederim.

Hayatımın her alanında olduğu gibi bu süreçte de en büyük dayanağım olan sevgili aileme, sabır ve destekleri için teşekkür ederim.

“Bu çalışma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü birimince desteklenmiştir. Proje Numarası: ÇİP-2020-1155” (“This work was supported by the Research Fund of Recep Tayyip Erdogan University. Project Number: ÇIP-2020-1155”)

Elif Büşra KORKMAZ
2022/RİZE

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	I
ETİK BEYAN.....	II
ÖN SÖZ	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÖZET	VII
ABSTRACT.....	VIII
KISALTMALAR.....	IX
TABLolar LİSTESİ.....	XIV
ŞEKİLLER LİSTESİ	XV
GİRİŞ	1
1. OBEZİTE.....	3
1.1. Obezitenin Tanımı ve Etiyolojisi	3
1.2. Obezitenin Sınıflandırılması	3
1.3. Obezitenin Tanı Kriterleri ve Ölçüm Teknikleri	4
1.4. Obezite Prevalansı	5
1.5. Adipoz Doku ve Metabolizmasına Genel Bakış.....	6
1.6. Obezitenin Komplikasyonları	8
1.6.1. Obezite ve Kardiyovasküler Hastalık İlişkisi	9
1.6.2. Obezite ve Diyabet İlişkisi.....	9
1.6.3. Obezite ve Hipertansiyon.....	9
1.7. Obezite Tedavisi	10
1.7.1. Tıbbi Beslenme Tedavisi	10
1.7.2. Davranış Değişikliği Tedavisi	11
1.7.3. Fiziksel Aktivite Tedavisi.....	11
1.7.4. Farmakolojik Tedavi.....	12
1.7.5. Bitkisel Diyet Takviyeleri.....	12
1.7.6. Cerrahi Tedavi	13

2. BEYAZ ÇAY	15
2.1. Çaya Genel Bakış.....	15
2.2. Çay Türleri ve Üretim Süreçleri	16
2.2.1. Soldurma.....	17
2.2.2. Isıtma	17
2.2.3. Kıvrırma	17
2.2.4. Fermantasyon.....	17
2.2.5. Kurutma	18
2.3. Çay Bileşimini Etkileyen Faktörler	18
2.4. Beyaz Çay	19
2.4.1. Beyaz Çayın Üretimi	19
2.4.2. Beyaz Çayın Kimyasal Bileşimi	20
2.4.3. Beyaz Çayın Sağlık Üzerine Etkileri	22
3. KARBONİK ANHİDRAZ (CA)	24
3.1. Enzimler Hakkında Genel Bilgilendirme	24
3.2. Genel Özellikleri ile CA	25
3.3. CA'nın Sınıflandırılması ve İzoenzimleri.....	26
3.4. CA II İzoenzim Yapısı.....	27
3.5. CA Aktivitesinin Düzenlenmesi	28
3.5.1. CA Aktivatörleri	29
3.5.2. CA İnhibitörleri.....	29
3.5.2.1. Çinko Bağlayıcı CA İnhibitörleri	30
3.5.2.2. Çinkoya Bağlı H ₂ O/OH ⁻ İyonuna/Aktif Bölge Girişine Bağlanan CA İnhibitörleri	31
3.6. Yağ Asidi Sentezinde CA'nın Rolü.....	32
4. MATERYAL METOT	34
4.1. Deney Gruplarının Oluşturulması.....	34
4.2. Beyaz Çay	35
4.3. Orlistat	35
4.4. Yemler	36
4.5. Kullanılan Ekipmanlar	37
4.6. Kullanılan Kimyasallar ve Çözeltiler	39

4.7. RNA İzolasyonu	39
4.8. Yağ Dokudan Homojenize CA Eldesi	40
4.9. Toplam CA Aktivite Tayini	41
4.10. CA II Gen Ekspresyonu	42
4.11. İstatistiksel Yöntemler	43
4.12. Bulgular	44
4.12.1. Morfolojik Bulgular	44
4.12.2. Ağırlık Artışı Sonuçları	44
4.12.3. Gen Ekspresyonu Sonuçları	45
4.12.4. CA Aktivite Tayini Sonuçları	46
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	47
5.1. Tartışma ve Sonuç	47
5.2. Öneriler	54
KAYNAKÇA	55
ETİK KURUL KARARI	67

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Anabilim Dalı : Tıbbi Biyokimya
Tez Türü : Yüksek Lisans Tezi
Danışman : Doç. Dr. Hülya KILIÇ YILMAZ
Hazırlayan : Elif Büşra KORKMAZ
Yıl : 2022
Sayfa Sayısı : 67

ÖZET

DENEYSEL OBEZİTE MODELİNDE BEYAZ ÇAYIN KARBONİK ANHİDRAZ II İZOENZİMİ ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Obezite, dünya çapında artan prevalansı ile halk sağlığını tehdit eden bir metabolik bozukluktur. Taze *Camellia sinensis* yapraklarından elde edilen beyaz çay, kilo yönetiminde tümü aydınlatılmamış çoklu etki mekanizmalarına sahiptir. Bu çalışmada; ülkemizde üretim olanaklarına sahip, toksik etki göstermeyen, günlük alışkanlığın bir parçası haline gelebilecek ve uzun süreli kullanıma izin verecek düzeyde tüketimi kolay bir içecek olan beyaz çayın obezite üzerindeki mekanizmalarını bir yönüyle aydınlatmak amaçlandı. Bunun için *de novo* lipogenez basamaklarında bikarbonat sağlayıcı olarak devreye giren karbonik anhidraz enziminin, beyaz çay ile inhibe edilebileceği ve böylelikle yağ depolanmasının azaltılabileceği varsayıldı.

Tez kapsamınca Sprague-Dawley ırkı 32 adet erkek rat 4 gruba ayrıldı. Bu gruplar 12 hafta süresince; kontrol yemi, yüksek yağlı yem, yüksek yağlı yeme ek orlistat (30 mg/kg) ve yüksek yağlı yeme ek beyaz çay (5 mg/kg) ile beslendi. Gruplar sırasıyla kontrol, vaka, pozitif kontrol ve beyaz çay olarak isimlendirildi. Belirlenen süre boyunca haftalık ağırlıklar kaydedilerek ratlar takip edildi. Süreç sonunda retroperitoneal yağ dokuları alınarak karbonik anhidraz II gen ekspresyonu ve toplam karbonik anhidraz hidrataz aktivite tayinleri yapıldı.

Çalışma sonundaki ağırlıklar kontrol gruba göre karşılaştırıldığında; vaka grubunun ağırlığı anlamlı düzeyde yüksek, beyaz çay grubunun ağırlığı ise anlamlı düzeyde düşük bulundu. Karbonik anhidraz II gen ekspresyonu; kontrol gruba göre vaka grubunda 1.15 kat, pozitif kontrol grubunda 0.94 kat, beyaz çay grubunda 0.87 kat olarak belirlendi. Toplam karbonik anhidraz hidrataz aktivitesi ise vaka ve pozitif kontrol grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulundu. Kontrol ve beyaz çay grubu arasında benzer miktarda aktivite saptandı.

Sonuç olarak beyaz çayın, *de novo* lipogenezle ilişkili karbonik anhidraz II'nin gen ekspresyonunu azalttığı görüldü. Bu yönüyle beyaz çayın, yağ depolanmasını azaltabilecek bir potansiyele sahip olduğunu düşünmekteyiz. Ancak bu etki toplam aktiviteye tam olarak yansımadığından, diğer izoenzimlerin ve lipogenezle ilişkili proteinlerin ekspresyonlarının ölçümü başta olmak üzere, bu alanda yapılacak daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Beyaz Çay, Obezite, Karbonik Anhidraz

Recep Tayyip Erdogan University Institute of Graduate Studies

Department : Medical Biochemistry

Thesis Type : Master Thesis

Supervisor : Assoc. Prof. Hülya KILIÇ YILMAZ

Author : Elif Büşra KORKMAZ

Year : 2022

Pages : 67

ABSTRACT

EXAMINING THE EFFECT OF WHITE TEA ON CARBONIC ANHYDRASE II ISOENZYME IN EXPERIMENTAL OBESITY MODEL

Obesity is a metabolic disorder that threatens public health with its increasing prevalence worldwide. White tea from fresh *Camellia sinensis* leaves has multiple mechanisms of effect in weight management, not all of which have been elucidated. In this study, it was aimed to elucidate the mechanisms on obesity of white tea, which is an easy-to-drink beverage that has production possibilities in our country with none-toxic effects, might become a part of daily habit and allows long-term use. For this, it was assumed that the carbonic anhydrase enzyme, which is activated as a bicarbonate provider in the *de novo* lipogenesis steps, can be inhibited with white tea and thus fat storage can be reduced.

Within the scope of the thesis, 32 male rats of Sprague-Dawley during 12 weeks were divided into 4 groups to be fed with control feed, high-fat feed, orlistat (30 mg/kg) added to high-fat feed, and white tea (5 mg/kg) supplemented to high-fat feed. The groups were named as control, case, positive control and white tea, respectively. The rats were followed up by recording weekly weights for the specified period. At the end of the process, retroperitoneal adipose tissues were taken and carbonic anhydrase II gene expression and total carbonic anhydrase hydratase activity were determined.

When the weights at the end of the study were compared, it was seen that the case group was significantly higher than the control group, and the white tea group was significantly lower. Carbonic anhydrase II gene expression; It was determined as 1.15 times in the case group, 0.94 times in the positive control group, and 0.87 times in the white tea group compared to the control group. Total carbonic anhydrase hydratase activity was found to be significantly lower in the case and positive control groups compared to the control group. A similar amount of activity was found between the control and white tea groups.

As a result, it was seen that white tea decreased the gene expression of carbonic anhydrase II associated with *de novo* lipogenesis. In this respect, we think that white tea has the potential to reduce fat storage. However, since this effect is not fully reflected in the total activity, more studies are needed in this area, especially the measurement of the expressions of other isoenzymes and lipogenesis-related proteins.

Keywords: White Tea, Obesity, Carbonic Anhydrase

KISALTMALAR

%	: Yüzde
μL	: Mikrolitre
$^{\circ}\text{C}$	: Derece santigrat
ACC	: Asetil koenzim A karboksilaz
ACSM	: Amerikan Spor Hekimliği Koleji
ALT	: Alanin transaminaz
AMPK	: Adenozin monofosfat ile aktiveleştirilen protein kinaz
Asn	: Asparajin
ATP	: Adenozin trifosfat
α	: Alfa
B ₁	: Tiamin
B ₁₂	: Kobalamin
B ₉	: Folik asit
BIA	: Biyoelektrik empedans analizi
BKİ	: Beden kitle indeksi
BPD	: Biliopankreatik diversiyon
BPD/DS	: Duedanal switch ile biliopankreatik diversiyon
β	: Beta
C	: Karbon
C/EBP α	: CCAAT arttırıcı-bağlayıcı protein alfa
Ca	: Kalsiyum
CA	: Karbonik anhidraz
CARP	: Karbonik anhidraz ilişkili proteinler
cDNA	: Tamamlayıcı deoksiribonükleik asit
ChREBP- β	: Karbohidrata duyarlı element bağlayıcı protein
cm	: Santimetre
CO ₂	: Karbondioksit
CoA	: Koenzim A
Cp	: Eşik döngüsü

CPT-1	: Karnitin palmitoil transferaz 1
CT	: Bilgisayarlı tomografi
ÇAYKUR	: Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü
DEPC	: Dietil pirokarbonat
dk	: Dakika
dL	: Desilitre
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DXA	: Çift enerjili x ışını absorpsiyometrisi
δ	: Delta
EC	: Epikateşin
ECG	: Epikateşin gallat
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
EGC	: Epigallokateşin
EGCG	: Epigallokateşin gallat
ER	: Endoplazmik retikulum
EU	: Enzim ünitesi
η	: Eta
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
FAS	: Yağ asidi sentaz
Fe	: Demir
g	: Gram
g	: Yerçekimi ivmesi
G6P	: Glukoz 6 fosfat
GTP	: Guanozin trifosfat
H	: Hidrojen
H ₂ O	: Su molekülü
HbA1C	: Hemoglobin A1C, glikolize hemoglobin
HCO ₃	: Bikarbonat
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein
HEPES	: 4-(2-hidroksietil)-1-piperazinetansülfonik asit
His	: Histidin

IL-6	: İnterlökin 6
K	: Potasyum
k _{cat}	: Dönüşüm sayısı
kg	: Kilogram
kcal	: Kilokalori
K _m	: Maksimum hızın yarısına ulaşmak için gerekli substrat konsantrasyonu
LAGB	: Laparoskopik ayarlanabilir gastrik bant
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
Leu	: Lösin
LPL	: Lipoprotein lipaz
m	: Metre
M	: Molarite
ME	: Merkaptotanol
Mg	: Magnezyum
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
MRI	: Manyetik rezonans görüntüleme
mRNA	: Mesajcı ribonükleik asit
N	: Azot
Na	: Sodyum
NCD Ris-C	: Bulaşıcı Olmayan Hastalık Risk Faktörü İşbirliği
NIDDM	: İnsülininden bağımsız diyabet
NIH	: Ulusal Sağlık Enstitüsü
O	: Oksijen
OH	: Hidroksil iyonu
P	: Fosfor
P	: Ürün
PC	: Pirüvat karboksilaz
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu

pH	: Potansiyel hidrojen
PPAR γ 2	: Peroksizom proliferatör ile aktive edilen reseptör γ 2
QCT	: Kantitatif bilgisayarlı tomografi
QMR	: Kantitatif manyetik rezonans
qPCR	: Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu
RNA	: Ribonükleik asit
RPM	: Dakikadaki devir sayısı
RTEÜ	: Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
RT-PCR	: Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu
RYGB	: Roux en-Y gastrik bypass
S	: Kükürt
s	: Saniye
S	: Substrat
Sirt-1	: Sirtuin 1
TBSA	: Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması
t _c	: Enzimatik reaksiyonun pH değişim süresi
TG	: Trigliserit
Thr	: Treonin
TNF- α	: Tümör nekroz faktör alfa
t ₀	: Enzimsiz reaksiyonun pH değişim süresi
Trp	: Triptofan
TURDEP	: Türkiye Diyabet, Obezite ve Hipertansiyon Epidemiyoloji Çalışması
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
Tyr	: Tirozin
θ	: Teta
Val	: Valin
VBG	: Vertikal bant gastroplastisi
VLDL	: Çok düşük dansiteli lipoprotein
VO ₂ max	: Maksimum oksijen tüketimi
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
YYD	: Yüksek yağlı diyet

Zn : Çinko

ζ : Zeta



TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 1. WHO'ya göre yetişkinler için BKİ sınıflandırması ve geliştirilmiş kesişim noktaları	4
Tablo 2. Fonksiyonlarına göre enzimlerin sınıflandırılması	25
Tablo 3. Reaksiyonunun yönüne göre CA hız değerleri	26
Tablo 4. Bazı CA izoenzimlerinin kinetik değerleri	27
Tablo 5. Deney gruplarına yönelik beslenme uygulamaları	34
Tablo 6. Çalışmada kullanılan yemler ve içerikleri	37
Tablo 7. Çalışmada kullanılan ekipmanlar.....	38
Tablo 8. Çalışmada kullanılan kimyasallar	39
Tablo 9. Çalışmada kullanılan çözeltiler.....	39
Tablo 10. Mastermix ortamı.....	42
Tablo 11. LightCycler® 480 II (Roche) cihaz ayarlamaları	43
Tablo 12. Deney gruplarının son ağırlıklarının karşılaştırılması	45
Tablo 13. Grupların CA II gen ekspresyon değerleri.....	45
Tablo 14. Gruplara ait CA aktivite sonuçları	46

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Tarihsel gelişmeler ile birlikte çay dünya haritası.....	15
Şekil 2. Farklı çay türlerinin üretimlerinde temel adımlar	16
Şekil 3. Çayda bulunan flavanoidler.....	21
Şekil 4. CA II enzimine CO ₂ bağlanmasının gösterimi ve aktif bölge yapısı	28
Şekil 5. Obezite tedavisinde CA inhibitörü olarak kullanılan topimaratın kimyasal yapısı.....	30
Şekil 6. CA II'ye fenol bağlanması	31
Şekil 7. Malonil-CoA'nın yağ asidi sentez ve oksidasyonundaki rolü.....	32
Şekil 8. CA izoenzimlerinin yağ asidi sentezindeki görevleri.....	33
Şekil 9. Orlistat yapısal gösterimi.....	35
Şekil 10. Analize ilişkin erime eğrisi grafiği örneği.....	43
Şekil 11. Hayvan kesim fotoğrafları.....	44
Şekil 12. Gruplara ait başlangıç ve son ağırlık artış yüzdeleri	45
Şekil 13. Gruplara ait CA II gen ekspresyon grafiği	46
Şekil 14. Grupların CA aktivite ortalamaları.....	46

GİRİŞ

Anormal ve aşırı yağ birikimi ile karakterize obezite, şiddetine paralel olarak artan pek çok sağlık riski ile ilişkilidir (National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2017; World Health Organization, 2021). Günümüzde artan enerji alımı ve azalan fiziksel aktivite düzeyleri, bu sorunu küresel bir boyuta taşımıştır (Abarca-Gómez vd., 2017). Öyle ki, bu hızla artmaya devam etmesi halinde 2030 yılına gelinceye kadar, dünya nüfusunun yarıya yakınının fazla kilolu veya obez olacağı öngörülmektedir. Obezite, aynı zamanda bireyler ve ülkeler için ekonomik anlamda da önemli bir yük faktörüdür (Dobbs vd., 2014). Obezitenin yönetilmesinde; bitkisel diyet takviyeleri, doğal oluşları ve toksik etki göstermeyişleri sebebiyle beslenme ve fiziksel aktivite tedavilerine ek olarak tercih edilmektedir (Conforti ve Pan, 2016; Shang vd., 2021). Bu ürünlerin yaygın bir formu olan çay, dünyada sudan sonra en fazla tüketilen içecek olma unvanını elinde taşır (Gurley, 2012; Samanta, 2022). Ülkemiz, çay üretimi için elverişli topraklara ve iklime sahip olsa da ihracat seviyesi istenilen düzeyde değildir (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2020). Taze *Camellia sinensis* bitkisinin tomurcuk ve genç yapraklarından elde edilen beyaz çay (Sanlier vd., 2018), uluslararası pazarda oldukça rağbet gören bir üründür (Sanlier vd., 2018). Bu çayın, ülkemizde üretim olanaklarına sahip olması, tüketim kolaylığının uzun süreli kullanıma imkan vermesi ve geleneksel alışkanlıklara hitap etmesi; çalışmamızda tercih etmemizin nedenlerinden olmuştur. Tüm bunlar göz önüne alındığında beyaz çay ve obeziteyi birlikte ele alacak bir çalışmanın gerek halk sağlığı gerekse ülke ekonomisine katkı sağlayacak bir yönü olduğunu düşünmekteyiz. Beyaz çayın antiobezite etkisini araştıran daha önceki çalışmalar, bu çayın besinlerin sindirimini ve emilimini azaltan, yağ asidi sentezini inhibe eden ve lipoliz aktivitesini uyaran pek çok mekanizmayı harekete geçirerek vücut ağırlığı ve yağ miktarını azalttığını göstermiştir (Dardashti pour vd., 2021; Gondoin vd., 2010; T. T. Liu vd., 2020; Söhle vd., 2009). Bu tez kapsamında; yüksek yağlı diyetle obezitenin indüklendiği ratlarda, beyaz çayın retroperitoneal yağ dokuda karbonik anhidraz toplam aktivitesi ve karbonik anhidraz II izoenzimi gen ekspresyonu üzerine etkisi incelendi. Böylelikle beyaz çayın lipogenez sürecini inhibe edici etkilerinin muhtemel nedenlerinden biri hakkında sonuçlar literatüre

sunuldu. Söz konusu karbonik anhidraz, pek çok işlevinin yanı sıra *de novo* lipogenezin mitokondri (CA VA, CA VB) ve sitozolde (CA II) gerçekleşen aşamalarında bikarbonat sağlayıcı olarak görev yapan bir enzimdir (Supuran, 2008). Dolayısıyla bu enzimin inhibe edilmesi, *de novo* lipogenez ve buna bağlı yağlanmayı azaltabilir. Daha önce, beyaz çayın ve sahip olduğu fenolik bileşenlerin insan eritrosit karbonik anhidraz aktivitesini inhibe edici etkisi *in vitro* çalışmalarla gösterilmiştir (Aktaş Karaçelik, 2018; Ekinci vd., 2013). Bu çalışmada farklı olarak beyaz çayın karbonik anhidraz enzimi üzerine obez ratlarda retroperitoneal yağ dokuda nasıl bir yanıt oluşturduğu incelendi.

Bunun için, RTEÜ deney hayvanları biriminden temin edilen 10-11 haftalık 32 adet Sprague-Dawley ırkı erkek rat çalışmaya dahil edildi. 1 haftalık alışma sürecinde tüm gruplar kontrol yemi (Bayramoğlu Yem ve Un Sanayi Tic. A.Ş) ile beslendi. Ardından ratlar arasından rastgele seçim yapılarak 4 ayrı grup oluşturuldu. Bunlardan vaka grubu yüksek yağlı yemle (Arden Araştırma Deney), kontrol grubu kontrol yemi ile beslendi. Beyaz çay grubuna, yüksek yağlı yeme ek olarak günlük 5 mg/kg beyaz çay (Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü'nden (ÇAYKUR) temin edildi); pozitif kontrol grubuna ise yüksek yağlı yeme ek olarak günlük 30 mg/kg orlistat gavaj yoluyla takviye edildi. Uygulama süresince tüm grupların ilgili yemlere serbest erişimi sağlandı ve vücut ağırlıkları haftalık olarak kaydedildi. 12 haftalık uygulama sürecinin ardından retroperitoneal yağ dokular alınarak karbonik anhidraz enzimleri ve RNA'lar (E.Z.N.A.® Total RNA Kit I) elde edildi. Elde edilen örnekler daha sonra karbonik anhidraz toplam hidrataz aktivitesi ve karbonik anhidraz II gen ekspresyonu tayinleri için kullanıldı. Toplam hidrataz aktivite tayini Wilburg-Anderson metodunun modifiye bir formu ile (Wilbur ve Anderson, 1948), gen ekspresyonları ise RT-qPCR ile analiz edildi.

Bu çalışmada, beyaz çayın retroperitoneal yağ dokuda toplam karbonik anhidraz aktivitesini ve karbonik anhidraz II gen ekspresyonunu azaltması beklenmektedir. Çalışma sonuçlarının, beyaz çayın obezite üzerindeki mekanizmalarının aydınlatılmasına katkı sağlayacağını ve bu alanla ilişkili yeni çalışmaların önünü açacağını düşünmekteyiz.

1. OBEZİTE

1.1. Obezitenin Tanımı ve Etiyolojisi

Obezite, sağlığı bozacak düzeyde anormal ve aşırı yağ birikimi olarak tanımlanır. Obezitenin ortaya çıkışındaki temel neden, harcanan kaloriyi aşan miktarda kalori alımının uzun süre devam etmesidir. Hareketsiz yaşam tarzının bireyler arasında yaygınlaşması ve enerji yoğunluğu yüksek gıdaların tüketimindeki artış, günümüzde bu sorunu yaygınlaştırmıştır (World Health Organization, 2021).

Vücut ağırlığını oluşturan yapılar kas, kemik, yağ doku, organlar ve vücut sıvılarıdır. Vücut ağırlığı normal şartlarda sinirsel, hormonal ve kimyasal mekanizmalar, enerji alım ve harcama dengesi ve genetik özellikler tarafından düzenlenerek dengede tutulur. Bu mekanizmalardaki dengesizlikler kilo anormallikleri ile sonuçlanır (Lysen ve Israel, 2017). Sağlıksız ve dengesiz beslenme, fiziksel aktivite yetersizliği, gelir düzeyi, sigara ve alkol kullanımı, bazı kimyasallara maruz kalma, etnik ve ailesel faktörler, genetik yatkınlık, bazı ilaçların kullanımı, stres, santral sinir sistemi hasarları, bazı enfeksiyöz, endokrin ve metabolik hastalıklar, vücut ağırlığını düzenleyen sistemlerde ve bağırsak mikrobiyotasındaki bozukluklar obezitenin nedenleri olarak sıralanabilir. Obezitenin ortaya çıkmasında genetik ve çevresel etmenler birlikte rol oynamakla birlikte özellikle son yıllarda obezite gelişiminde çevresel faktörlerin payı artmıştır (Ameye ve Swinnen, 2019; Macit ve Akbulut, 2018).

Obezite gerek bireysel, gerekse ülke çapında sağlık harcamalarını büyük oranda arttıran ekonomik bir yük faktörüdür (Kockaya vd., 2013; Tremmel vd., 2017). Sağlık maliyetlerinin ortalama %10'u obezite kaynaklıdır. Bunların %31.1'i doğrudan obeziteyle ilişkili, % 68.1'i ise verimliliğin ve üretimin düşmesine bağlı dolaylı maliyetlerdir. Obez bireylerin sağlık masrafları, normal kilodaki bireylere göre ortalama %32 daha fazladır (Yusefzadeh vd., 2019).

1.2. Obezitenin Sınıflandırılması

Obezitenin sınıflandırılmasında genel bir gösterge olarak BKİ (Beden Kitle İndeksi) kabul edilir. Bu değer, kilogram cinsinden vücut ağırlığının metre cinsinden boy uzunluğunun karesine bölünmesi ile elde edilir (World Health Organization, 2021). Dünya Sağlık Örgütü'nün BKİ sınıflandırması Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. WHO'ya göre yetişkinler için BKİ sınıflandırması ve geliştirilmiş kesişim noktaları

Sınıflar	BKİ (kg/m ²)	
	Temel Kesişim Noktaları	Geliştirilmiş Kesişim Noktaları
Zayıf	< 18.50	<18.50
Aşırı zayıflık	<16.00	<16.00
Orta şiddette zayıflık	16.00-16.99	16.00-16.99
Şiddetli zayıflık	17.00-18.49	17.00-18.49
Normal kilolu	18.50-24.99	18.50-22.99 23.00-24.99
Fazla kilolu (hafif şişman)	≥25.00	≥25.00
Preobez (şişmanlık öncesi)	25.00-29.99	25.00-27.49 27.50-29.99
Obez (Şişman)	≥30.00	≥30.00
1. derece obez	30.00-34.99	30.00-32.49 32.50-34.99
2. derece obez	35.00-39.99	35.00-37.49 37.50-39.00
3. derece (morbid) obez	≥40.00	≥40.00

Kaynak: World Health Organization, 2006

1.3. Obezitenin Tanı Kriterleri ve Ölçüm Teknikleri

BKİ ve vücut ağırlığı ölçümü obezitenin değerlendirilmesinde güvenilir ve en yaygın yöntemler olmakla birlikte, vücut yağ oranını göz ardı ettiklerinden farklı birtakım ölçüm teknikleriyle değerlendirme sürecinin desteklenmesinde fayda vardır. Aksi takdirde özellikle yaşlılıkta, sporcularda ve bazı hastalık durumlarında bu ölçümlerin tek başına değerlendirilmesi yanıltıcı olabilir. Örneğin; aktif olarak spor yapan bir bireyin kas kazancı dolayısıyla kazandığı ağırlık, bireyin fazla kilolu olarak sınıflandırılmasına veya yaşlı bir bireydeki kemik ve kas yoğunluğundaki azalma, mevcut adipoziteyi gizleyip bireyin zayıf olarak nitelendirilmesine yol açabilir. Bu nedenle yağ kütlesi, yumuşak doku ve kemik kütlesi gibi vücut kompozisyonlarını belirlemeyi hedefleyen çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (Litchford, 2017). Günümüzde bu amaçla vücut bileşimi analizi atomik, moleküler, hücresel, doku sistem ve tüm vücut düzeyinde yapılabilmektedir (Macit ve Akbulut, 2018). Obezitenin şiddetini ve hastalıklarla ilişkilendirilen risk düzeylerini gösteren bazı teknikler aşağıda sıralanmıştır. Tüm bu teknikler çeşitli avantaj ve dezavantajlara sahiptir (Baysal vd., 2016; Litchford, 2017; Prado ve Heymsfield, 2014).

- Antropometrik teknikler: Boy uzunluğu, bel çevresi, bel çevresi/kalça oranı, bel çevresi/boy uzunluğu oranı, boyun çevresi, deri kıvrım kalınlığı ölçümü ile yağ yüzdesi tahmini
- Hacim ve yoğunluk ölçümleri: Su altı tartımı, hava yer değıştirme pletismografisi, üç boyutlu vücut yüzeyi görüntüleme
- Hidrometrik teknikler: Toplam vücut suyu ölçümü veya seyreltme yöntemlerine dayalı izleyici ajanlarla analizler
 - Tüm vücut sayımı
 - Nötron aktivasyon tekniğı
 - Biyoelektrik empedans analizi (BIA)
 - Çeşitli görüntüleme ve ultrason teknikleri: Çift enerjili x ışını absorpsiyometrisi (DXA), bilgisayarlı tomografi (CT), manyetik rezonans görüntüleme (MRI), kantitatif manyetik rezonans (QMR), kantitatif bilgisayarlı tomografi (QCT)

1.4. Obezite Prevalansı

Son yıllarda dünya genelinde obezite prevalansında önemli bir artış yaşanmakta ve bu durum halk sağlığı açısından önemli bir sorun teşkil etmektedir. Bulaşıcı Olmayan Hastalık Risk Faktörü İşbirliği (NCD RisC)'nin verilerine göre, dünya çapında BKİ oranları 1975'den 2016'ya belirgin bir artış göstermiştir. Dünya çapında obezite prevalansı 1975 yılında kadınlarda 69 milyon iken bu rakam 2016 yılında 390 milyona yükselmiş, erkeklerde ise aynı tarihler arasında 31 milyondan 281 milyona artış göstermiştir. 2016 yılında ayrıca 213 milyon çocuk/adolesanın ve 1.3 milyar yetişkinin fazla kilolu olduğu rapor edilmiştir (Abarca-Gómez vd., 2017). Obezite prevalansındaki artışın bu hızda devam etmesi halinde, 2030 yılına gelindiğinde dünya nüfusunun yarıya yakınının fazla kilolu veya obez olacağı tahmin edilmektedir (Dobbs vd., 2014).

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) Sağlık Araştırması verileri, ülkemizde de obezite prevalansının giderek arttığını göstermektedir. Bu araştırma raporlarına göre ülkemizde 15 yaş ve üstü obez bireylerin oranı 2016 yılında %19.6 seviyelerinde iken 2019 yılında bu oran %21.1'e yükselmiştir. 2008-2019 yılları arasında kadınlarda obezite oranı %18.5'tan 24.8'e, obez öncesi oranları %27.4'ten %30.4'e

çıkmiştir. Erkeklerde ise aynı yıllar arasında obezite oranı %12.3'ten %17.3'e, obez öncesi oranları %36.9'dan %39.7'ye yükselmiştir (Türkiye İstatistik Kurumu, 2020). 2019 TBSA verilerine göre de ülkemizde 19-64 yaş grubundaki bireylerin %1.7'si zayıf, %29.3'ü normal kilolu, %36.9'u fazla kilolu, %28.4'i obez ve %3.8'i morbid obezdir. 19-64 yaş arası bireylerin BKİ ortalaması 28.0 ± 6.12 'dir (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2019). Dünya Sağlık Örgütü Türkiye Hane Halkı Sağlık Araştırması Bulaşıcı Olmayan Hastalıkların Risk Faktörleri kapsamında yaptıkları çalışmada (>15 yaş, n=6053) katılımcıların BKİ oranları şu şekilde bildirilmiştir: Tüm katılımcıların %1.8'i düşük kilolu, %33.8'i normal kilolu, %35.6'sı fazla kilolu, %28.8'i obezdir. Kadınlarda bu oranlar sırasıyla %2.2, %31.8, %30.1, %35.9 iken erkeklerde %1.5, %35.7, %41.2 ve %21.6'dır. Kadınlarda en büyük payı obez grup alırken erkeklerde en büyük pay fazla kilolu gruba aittir. Bel/kalça oranları ise erkeklerde 0.93, kadınlarda 0.86 olarak bildirilmiştir (Dünya Sağlık Örgütü Türkiye Ofisi, 2018). TURDEP II verilerine göre (>20 yaş, 15 il, 26.499 kişi arasından %92 katılım oranı) Türkiye'de obezite sıklığı %32,2'dir. Bel çevresinin erkeklerde 102 cm ve üzeri, kadınlarda 88 cm ve üzeri olması ile tanımlanan santral obezite oranı ise %46,3'tür. Benzer şekilde erkeklerde fazla kilolu, kadınlarda ise obez bireylerin oranı en yüksek seviyelerdedir (Satman vd., 2012).

1.5. Adipoz Doku ve Metabolizmasına Genel Bakış

Adipoz doku; adipositler, kollajen ve elastik lifler, fibroblastlar ve kılcal damarların meydana getirdiği bir bağ dokudur (Prado ve Heymsfield, 2014). Adiposit hücreleri, içlerinde hacimlerinin %80-95'i kadar yağ depolayabilirler. Glikojenin aksine trigliseritlerin (TG) hidrofobik yapıda bulunmaları ve suda hemen hemen hiç çözünmemeleri lipid damlacıkları şeklinde daha fazla depolanmaya imkan verir, böylelikle enerji verimli bir şekilde depolanır. Adipoz doku, bu enerji depoları sayesinde beyne ve diğer organ/dokulara sabit enerji aktarımının devamlılığını sağlar (Haczeyni vd., 2018; Lysen ve Israel, 2017). Adipoz doku enerji depolamasının yanı sıra pek çok adipokin salgılama yeteneği ile de diğer dokulardaki enerji homeostazı dahil tüm vücut metabolizmasını düzenler (Stephens, 2012).

Toplam vücut yağı esansiyel yağ (kemik iliği, akciğer, kalp, karaciğer, dalak, böbrek, sinir sistemi) ve depo yağı olmak üzere iki kısma ayrılır. Esansiyel yağ miktarı erkeklerde ortalama %3'lük, kadınlarda %12'lik bir orana karşılık gelir.

Kadınlarda bu oranın yüksekliği göğüs, pelvik bölge ve uyluklardaki yağ miktarından kaynaklanır (Lysen ve Israel, 2017). Depo yağı ise depolandığı bölgeye göre gelişimsel kökenleri ve yapısal/fonksiyonel özellikleri farklılık gösteren visceral ve subkutan adipoz doku olmak üzere iki gruba ayrılır. Visceral adipoz doku iç organların çevresinde (özellikle mezenterde) yer edinirken subkutan adipoz doku deri altında konumlanır (Haczeyni vd., 2018).

Kısmen doku rengine bağlı olarak insan vücudunda beyaz, kahverengi ve bej olmak üzere üç farklı adipoz dokudan bahsetmek mümkündür. İçeriğindeki karotenden kaynaklı sarımtırak bir renge sahip beyaz adipoz doku; enerjiyi TG formunda depolayan, mekanik bariyer göreviyle karın organlarını koruyan ve ısı yalıtımı sağlayan formdur. Kahverengi adipoz doku, beyaz adipoz dokunun aksine küçük damlacıklar şeklinde bulunur ve kahverengi renkten sorumlu demir içeren çok sayıda mitokondri barındırır. Yenidoğanda ısı üretiminden sorumlu olan bu adipoz doku, yetişkinlerde az miktarda bulunur ve enerji harcamasını kontrol eder. Bunların yanında kendine özgü öncü hücrelerden veya trans farklılaşma süreci ile beyaz adipositlerden elde edildiği düşünülen üçüncü bir form da bej adipositlerin meydana getirdiği dokudur. Genel olarak beyaz adipoz dokudaki artış sağlıklı, kahverengi ve bej adipoz doku artışı faydalı bir durumun göstergesi kabul edilir (Lysen ve Israel, 2017; Stephens, 2012). Kronik enerji alımına yanıt olarak adipoz doku, depolama yeteneğini arttırmak için kahverengi adipoz dokudan beyaz adipoz dokuya dönüşebilir. Nitekim obeziteyi önlemeye yönelik çalışmaların bir hedefi de beyaz adipoz dokudan kahverengi adipoz dokuya dönüşümü arttırmaktır (Colitti ve Grasso, 2014).

Ağırlık artışı adipositlerdeki boyut ve/veya sayı (sırasıyla hipertrofi ve hiperplazi) artışının bir sonucudur. Adipositlerdeki bu değişimler β oksidasyon, adipokin üretimi gibi fonksiyonlar üzerinde değişikliklere neden olan süreçlerdir. Aşırı enerji alımına yanıt olarak adipositler, kandaki yağ asidi ve kan şekerinin toksik düzeylere ulaşmasını önlemek için lipit depolama yeteneğini arttırmayı hedefleyerek hipertrofiye uğrarlar. Yetişkinlerde daha çok hipertrofi görülmekle birlikte aşırı enerji fazlasının sürekli olduğu durumlarda bu koruma mekanizması yetersiz kalır ve buna bağlı olarak hiperplazi de görülebilir. Bu depolama eşiğinin de aşıldığı durumlarda ise stres sinyalleri oluşmaya başlar. Hipertrofi ile yağ depoları boş alan

olduğu sürece 1000 kata kadar artabilir. Aşırı obez bireylerde herhangi bir miktardaki kilo kaybı adiposit fizyolojisini iyileştirirken adiposit boyutunda bir azalmanın oluşması için en az %5'lik bir kilo kaybı gereklidir. Kilo kaybı ile adiposit boyutunda bir azalma mümkün olsa da adiposit sayısı sabit kalmaktadır (Haczeyni vd., 2018; Lysen ve Israel, 2017). Yağ dokunun miktarı adipogenez ve apoptozun devamlı olarak işlediği bir süreçle belirlenir. Adiposit sayısındaki azalma preadiposit veya adiposit apoptozuna bağlı olabildiği gibi farklılaşma veya modifiye gen ekspresyonunun inhibisyonuna bağlı olarak da gerçekleşebilir (Colitti ve Grasso, 2014).

1.6. Obezitenin Komplikasyonları

Obezite; kardiyovasküler hastalıklar, tip 2 diyabet, uyku apnesi, yağlı karaciğer hastalıkları, osteoartrit gibi kas-iskelet sistemi hastalıkları, safra kesesi hastalıkları, bazı kanser türleri, böbrek hastalıkları, bazı hamilelik sorunları (gestasyonel diyabet, preeklamsi, sezaryen, doğum sonrası geç iyileşme gibi) ve depresyon gibi duygusal bozukluklar için risk faktörüdür (National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2017).

Obezite; yüksek kan basıncı ve şekeri, yüksek kan TG seviyeleri, düşük HDL seviyeleri ve aşırı abdominal yağ birikiminin birlikte görülmesi olarak tanımlanan metabolik sendromun bir bileşeni olabilir. Dünyadaki ölümlerin %5'i obezite kaynaklıdır ve obezite, iskemik kalp hastalığının birinci sırada olduğu diğer ölüm nedenleri ile de ilişkilidir. Bu sağlık riskleri ve mortalite riski belli düzeydeki kilo kaybı ile azaltılır (Dobbs vd., 2014; Jensen vd., 2014; World Health Organization, 2020b).

Obezitenin neden olduğu sağlık problemlerinden başlıca; adiposit hipertrofi ve hiperplazisi, endoplazmik retikulum (ER) stresi, mitokondriyal disfonksiyon gibi bozukluklar sorumludur. Adiposit disfonksiyonuna bağlı olarak karaciğerde, pankreatik hücrelerde, iskelet kasında, kalp ve damarlarda olumsuz etkilere sahip adipokin, serbest yağ asitleri ve enflamatuvar belirteçlerin miktarı artar; bu durum pek çok hastalık nedeni ile ilişkilidir (De Ferranti ve Mozaffarian, 2008).

1.6.1. Obezite ve Kardiyovasküler Hastalık İlişkisi

BKİ artışı, ölümcül ve ölümcül olmayan kardiyovasküler hastalık ve inme risklerini artırır (kanıt düzeyi orta). Obezitedeki abdominal yağ birikimi, kardiyovasküler risklerle ilişkili TG ve apolipoprotein B seviyelerini arttıran, HDL kolesterolü azaltan, LDL kolesterolde ise yapısal değişikliklere neden olan bir durumdur. Yine obezitede, karaciğere ulaşan serbest yağ asidi miktarındaki artışla birlikte TG'den zengin VLDL kolesterol sentezi de artar. Vücut ağırlığındaki 3 kg'lık bir kayıp, TG seviyelerini en az 15 mg/dL düzeylerinde azaltırken 5-8 kg'lık ağırlık kaybı LDL'yi ortalama 5 mg/dL azaltır, HDL'yi ise 2-3 mg/dL arttırır. Kardiyovasküler riskin artışında adipoz dokudan salınan adipokillerin de etkisi vardır (Jensen vd., 2014; Macit ve Akbulut, 2018).

1.6.2. Obezite ve Diyabet İlişkisi

Genetik ve obezite, diyabet gelişiminin en önemli iki nedenidir. Nitekim tip 2 diyabetli bireylerin %80'i obezdir ve fiziksel aktivite ile birlikte vücut ağırlığındaki %5-7'lik bir azalma, tip 2 diyabeti engelleyebilir veya geciktirebilir. Tip 2 diyabet riskli obez yetişkinlerde, 2 yıldan uzun süreli yılda ortalama 2.5-5.5 kg'lık kilo kaybı, tip 2 diyabet gelişme riskini %30-60 oranlarında azaltır. Yine bu bireylerde yaşam tarzı değişiklikleri ile bir yıldan uzun süreli %5-10 kilo kaybı, HbA1C seviyelerini %0.6-1 azaltır ve bu bireylerin diyabet ilaçlarına bağımlılıkları azalır. Diyabet tedavi edilmediğinde zamanla kalp hastalığı, böbrek hastalığı, felç, göz sorunları, sinir sorunları gibi problemlere yol açar (Jensen vd., 2014; National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2017).

Obezitenin diyabet gelişimi üzerindeki bir etkisi, yağ kütlesindeki artışa paralel olarak artan leptin, IL-6, TNF- α ve resistin düzeylerinin insülin direnci geliştirmesidir. Ayrıca insülin bağımsız diyabet (NIDDM) görülme sıklığı da obez bireylerde daha fazladır ve yağ yüzdesiyle paralel olarak artmaktadır. Bel/kalça oranı ve bel çevresi gibi abdominal yağlanma göstergeleri diyabet riski ve gelişimini yansıtan faktörlerdir (Macit ve Akbulut, 2018).

1.6.3. Obezite ve Hipertansiyon

Obezite, hipertansiyon gelişimi için önemli bir risk faktörüdür. Obezitede gelişen hipervolemi, renin-anjiyotensin-aldesteron sisteminin uyarımı ve besin

alımına paralel olarak tuz tüketiminin artışı, hipertansiyona sebep olur. Obeziteye bağlı insülin direncinde de, insülinin periferik vazodilatör etkisinin azalmasına bağlı oluşan vazokonstriksiyon, uyarılan renal sodyum geri emilimi ve sempatik sinir aktivitesi, kalınlaşmış arteriyel duvarı ve uyarılan renin-angiotensin sistemi hipertansiyonu tetikler (Macit ve Akbulut, 2018; National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2017).

1.7. Obezite Tedavisi

Obezite tedavisinde pek çok yöntem kullanılmaktadır. Bu süreçte genellikle bu yöntemlerden birkaçı, bireyin ihtiyacına en uygun biçimde belirlenir ve tedavi birlikte yürütülür.

Orta dereceli enerji kısıtlaması, fiziksel aktivitenin artırılması ve davranış değişikliği, obezite tedavisinin 3 önemli unsurudur. Başlangıç hedefi ilk 6 ay içerisinde %5-10'luk bir kilo kaybı sağlamaktır. İlk kilo kaybının ardından sağlanan süreklilik, kaybedilen kilonun korunmasında oldukça önemlidir (Jensen vd., 2014).

1.7.1. Tıbbi Beslenme Tedavisi

Normal şartlarda besin alımı ve harcaması arasında korunan bir denge vardır. Bu dengenin hastalıklar, sosyoekonomik durum, kültürel etmenler, duyu durumundaki değişiklikler, fizyolojik stres gibi besin alımını/emilimini arttıran faktörlerle veya enfeksiyon, ateş, büyüme, vücut onarımı gibi enerji gereksinimini arttıran faktörlerle bozulması kilo problemlerine yol açar. Obezitede bu denge, besin alımı lehine bozulmuştur (Hammond ve Mahan, 2017).

Obeziteye ilişkin tıbbi beslenme tedavisinde negatif enerji dengesi oluşturacak şekilde (günlük ortalama 500-750 kkal veya %30'luk bir enerji açığı oluşturularak) enerjiden kısıtlı, besin ögesi yönünden yeterli, dengeli ve sürdürülebilir bir diyet planlaması yapılır ve sağlıklı bir şekilde hedeflenen kilo kaybı sağlanır. Tüm bu süreç; boy, kilo, cinsiyet, hastalıklar, fiziksel aktivite düzeyi ve beslenme alışkanlıkları gibi bireye ilişkin pek çok parametre göz önünde bulundurularak yürütülür. Burada temel amaç, bireye yaşam boyu devam edebileceği doğru beslenme alışkanlıkları kazandırmak ve böylelikle kısa vadede kilo kaybı sağlarken uzun vadede de kaybedilen kiloyu koruyup vücut ağırlığını sağlıklı sınırlarda tutmaktır (Ağagündüz vd., 2018; Jensen vd., 2014). Sağlıklı bir diyet

programı besin yetersizliklerine ve diyabet, kalp hastalığı, felç, kanser gibi hastalıkların gelişimine karşı koruyucudur (World Health Organization, 2020a).

1.7.2. Davranış Değişikliği Tedavisi

Bireyin süregelen beslenme alışkanlıkları değerlendirilerek kilo vermesini engelleyen davranışların yerine, kilo vermeyi destekleyecek sağlıklı beslenme alışkanlıklarını ikame etme esasına dayanan davranış değişikliği tedavisi; obezite tedavisinde diğer tüm yöntemlere eşlik etmesi gereken bir süreçtir (Ağagündüz vd., 2018).

1.7.3. Fiziksel Aktivite Tedavisi

Fiziksel aktivite, enerji harcaması ve iskelet kaslarının kullanımını gerektiren her türlü faaliyet olarak tanımlanır (World Health Organization, 2020c). Düzenli yapılan fiziksel aktivite; mortalite, kardiyovasküler hastalıklar, hipertansiyon, diyabet, kemik sağlığı, bazı kanser türleri (mesane, meme, kolon, endometrium, özefagus, böbrek, akciğer, mide,) mental sağlık (alzheimer, demans, anksiyete, depresyon), uyku kalitesi, fiziksel fonksiyon, adipozite ve ağırlık kontrolü üzerine yarar sağlar. Tüm bu sağlık yararları fiziksel aktivite süresine paralel olarak artar (Piercy vd., 2018; World Health Organization, 2020c).

Fiziksel aktivitenin sıklığı ve miktarı hakkında dünya otoriteleri birtakım öneriler geliştirmiştir. ACSM (Amerikan Spor Hekimliği Koleji) sağlık yararları için yetişkinlerde haftalık en az 150 dk orta şiddetli aerobik fiziksel aktivite yapılmasını önermiş, 300 dk orta şiddetli aerobik aktivitenin ise ek yararlar (sadece fiziksel aktivite ile kilo kaybı ve bazı kanser risklerinin daha fazla azaltılması gibi) sağlayacağını belirtmiştir. Bunun yanında haftada 2 kez kas güçlendirme egzersizleri yapılmasını da tavsiye etmiştir (Piercy vd., 2018). Dünya Sağlık Örgütü de benzer şekilde sağlık yararları için yetişkinlere 150 dk orta şiddetli aerobik fiziksel aktivite veya 75-150 dk kuvvetli anaerobik aktivite yapılmasını ve hareketsiz kalınan sürenin mümkün olduğunca kısıtlanmasını önermiştir (World Health Organization, 2020c).

2019 TBSA katılan verilerine göre ülkemizde 19-64 yaş grubu bireylerin %36.4'ü sedanter-hafif aktiviteli, %46.5'i aktif-orta aktif, %13.9'u çok aktif yaşam tarzına sahiptir. Türkiye'de 19 yaş ve üzeri bireylerin %37.6'sı Dünya Sağlık

Örgütü'nün önerdiği düzeyde fiziksel aktivite yapmamaktadır. 2017 STEPS çalışmasına göre ise bu rakam %43.6'dır (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2019).

1.7.4. Farmakolojik Tedavi

Diğer tedavi yöntemlerine tek başına yanıt vermeyen, belli bir BKİ değerinin üzerindeki bireylere ilaç tedavisi uygulanabilir. İlaç tedavisi için gerekli BKİ şartları, Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH) tarafından belirlenmiştir. Buna göre; BKİ değeri 30 kg/m²'den fazla olan veya 27 kg/m² ve üzeri BKİ değerine eşlik eden bir hastalığa sahip bireyler bu kriterleri karşılamaktadır. Ancak bu tedavi yöntemi uzun süreli uyulması gereken maliyetli bir süreçtir. Ayrıca ilaç tedavisinin güvenilirliği tartışmalıdır ve bu durum çeşitli sağlık problemleri için risk teşkil edebilir. Bu nedenle güvenilirliği onaylanmış, doğrudan obeziteye neden olan faktörü hedef alan, kısa ve uzun süreçte ciddi yan etkiler göstermeyen bir ilacın hekim kontrolünde kullanımı oldukça önemlidir (Ağagündüz vd., 2018; T. T. Liu vd., 2020).

Obezite tedavisinde kullanılan ilaçlar temel olarak iştahı baskılayıp besin alımını azaltarak veya doğrudan bağırsaklardan emilimi azaltarak etki gösterirler (T. T. Liu vd., 2020). Yaygın kullanılan ilaçlardan orlistat, pankreatik lipazı inhibe ederek bağırsaklardan yağ emilimini azaltırken; sibutramin iştah kesici etkiye sahiptir. Ancak yukarıda değinildiği gibi bu ilaçların kan basıncını arttırma, ağız kuruluğu, kabızlık, baş ağrısı, uykusuzluk gibi sahip oldukları yan etkiler, kullanımlarının güvenilirliğini sorgulatmaktadır (Yun, 2010).

1.7.5. Bitkisel Diyet Takviyeleri

Diyet takviyeleri; vitamin, mineral, şifalı bitki, aminoasit, diyet ek olarak alınan bir diyet bileşeni veya bunların kombinasyonları şeklinde tüketilen ürünler olarak tanımlanır (DSHEA, 1994). İlaçlardan farklı olarak bir hastalığı tedavi etme veya önleme amacı gütmeyen diyeti desteklemeyi hedeflerler (Food and Drug Administration, 2022). Şifalı bitkiler ve bu bitkilerin biyoaktif bileşenleri, düşük toksisiteye sahip olduklarından (veya toksik olmadıklarından) kronik hastalıkların önlenmesi ve yönetiminde tercih edilmektedir. Besin takviyesi pazarında en büyük payı alan gruptan biri ise kilo kaybı sağlayan ürünlerdir. Bu nedenle çok sayıda bitki, obezitenin önlenmesi ve yönetiminde halihazırda kullanılmaktadır. Bitkiler; kilo kaybı sağlama yönündeki etkilerini lipit ve karbohidratların emilimini azaltarak,

adipogenez ve lipogenezi inhibe ederek, lipid metabolizmasını düzenleyerek, iştahı ve enerji alımını azaltıp enerji harcanmasını arttırarak, bağırsak mikrobiyotasını düzenleyerek gerçekleştirirler (Shang vd., 2021).

Bitkisel diyet takviyeleri çay (sulu ekstrakt), tentür (alkol ekstraktı), kapsül ve tablet gibi farklı formlarda bulunabilir ve içeriğinde belirtilen faydalarından sorumlu polifenoller, alkaloidler, protein olmayan aminoasitler, polipeptitler, terpenler, steroidler, flavonoidler gibi çok sayıda sekonder metabolit barındırırlar. Kimyasal bileşimlerinin bu düzeyde çeşitli olması, farmakokinetik özelliklerini incelemeyi güçleştirir. Aynı zamanda bu ürünlerin üretimlerinin standardize edilememesi de içeriklerini etkilediği için barındırdıkları metabolitlerin sabit bir dozajda alımını ve etkilerini saptamayı zorlaştırır. Nitekim aynı tür bitkisel ürün, markalar arasında; hatta aynı markanın üretim partileri arasında farklı kimyasal bileşimler sergileyebilmektedir. Bu farkın oluşmasında bitkinin türü ve kullanıldığı kısmı, menşe ülke, üretim yöntemi, iklim koşulları, hasat ve depolama koşulları, ürün formu gibi pek çok faktör devrededir (Gurley, 2012; Weber ve Hopp, 2020).

1.7.6. Cerrahi Tedavi

Bariatrik cerrahi yöntemler, obezite tedavisinde temel olarak iki hedefe yönelik uygulanır: Birincisi, besinlerin gastrointestinal sistemde emilimlerini azaltarak enerji alımını azaltmaya yönelik bir hedef iken; ikincisi, vücuttan lokal yağ uzaklaştırarak daha çok estetik görüntüyü hedefler. BKİ değeri 40 kg/m²'nin üzerinde komorbid hastalığa (tip 2 diyabet, kalp hastalığı, uyku apnesi gibi obeziteyle ilişkili ciddi hastalıklar) sahip olmayan veya BKİ değeri 35 kg/m² ve üzerinde komorbid hastalığa sahip bireyler bariatrik cerrahi uygulaması için gerekli şartları sağlar (Ağagündüz vd., 2018; Jensen vd., 2014; National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2020).

Bariatrik cerrahide vertikal bant gastroplastisi (VBG), gastrik bant, silastik halka gastroplastisi, laparoskopik ayarlanabilir gastrik bant (LAGB), Roux en-Y gastrik bypass (RYGB), biliopankreatik diversiyon (BPD), duodenal switch ile biliopankreatik diversiyon (BPD/DS), aşamalı restriktif (kısıtlayıcı) ve malabsorbtif teknikler kullanılır. İşlem sonrası metabolik asidozis/alkolozis, ketozis, bakteriyel hastalıklar, elektrolit düzensizlikleri (Ca, K, Mg, Na, P mineral eksiklikleri, aritmiler, miyopati), bazı vitamin ve diğer mineral yetersizlikleri (A,D,E,K, B₁, B₁₂, Fe, B₉),

osteoporoz, oksaloz, sekonder hiperparatiroidi gibi komplikasyonlar açığa çıkabilir. Bu nedenle cerrahi öncesi ve sonrası kontroller, gerekli besin takviyelerinin sağlanması ve beslenme eğitimi verilmesi bu süreçte oldukça önemlidir (Ağagündüz vd., 2018).

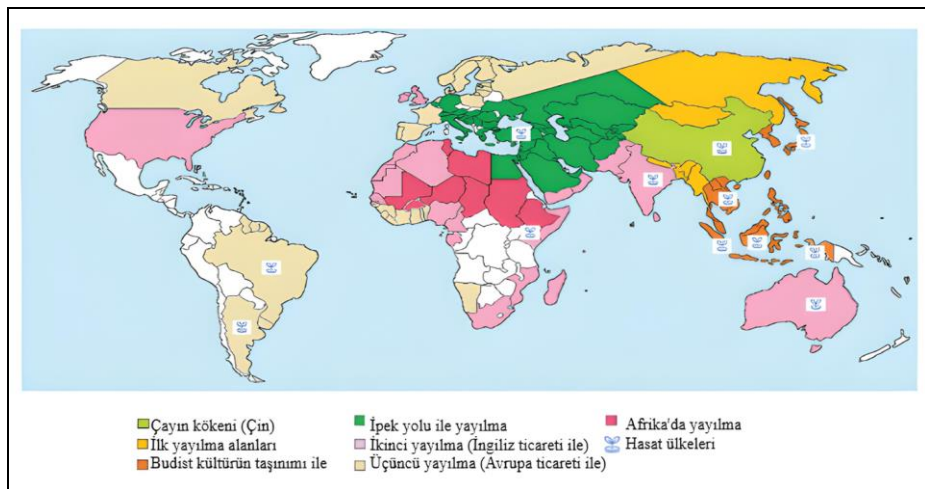


2. BEYAZ ÇAY

2.1. Çaya Genel Bakış

Çay, *Camellia sinensis* bitkisinin yapraklarından elde edilen ve işleme yöntemine göre pek çok çeşidi mevcut bir içecektir. Bilinen yaklaşık 300 farklı çay türü olmakla birlikte tüketimi yaygın olanlar siyah, yeşil, beyaz, oolong, pu-erh ve sarı çaylardır. Çay, katkı maddesi ve enerji içermediğinden alkol ve kahveye alternatif olarak doğal, güvenilir, geleneksel bir ürün olarak tercih edilir. İçecek olarak kullanımının yanı sıra birçok çay türünü gıdadan kozmetiğe pek çok ticari formülasyonda görmek de mümkündür (Ruchi vd., 2013; Sanlier vd., 2018).

Kökeni 3000 yıl öncesine dayanan çay, tarih boyunca yaşanan gelişmeler ile anavatanı Çin topraklarından tüm dünyaya geniş bir yayılma olanağı bulmuştur (Şekil 1). Günümüzde de Çin başta olmak üzere Hindistan, Sri Lanka, Kenya, Vietnam, Türkiye, Endonezya gibi 30'u aşkın ülkede üretilmektedir. Çay için en iyi yetişme alanları subtropikal iklime sahip, dağlık, yağışlı, hafif asitli toprağa sahip bölgelerdir (Hinojosa-Nogueira vd., 2021). Dünya genelinde çay üretimi yıllık ortalama 2.9 milyar tondur (Samanta, 2022). FAO verilerine göre, 2018 yılında ülkemiz dünyadaki toplam çay üretiminde %4'lük bir pay almıştır. En büyük paya sahip ülkeler %41 oranıyla Çin ve onu takiben %21 oranıyla Hindistan olmuştur. Türkiye; çay ihracatında 31, ithalatında ise 25. sıradaki ülke konumundadır (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2020).



Şekil 1. Tarihsel gelişmeler ile birlikte çay dünya haritası

Kaynak: Hinojosa-Nogueira vd., 2021

Sudan sonra en fazla tüketilen içecek olan çay, dünya genelinde günlük ortalama 18-20 milyar bardak tüketilmektedir (Samanta, 2022). Ülkemizde de 2019 TBSA verilerine göre, yenilebilen otlar arasında en fazla tüketim %46.6 oranı ile “çay olarak tüketilen tıbbi bitkiler” e aittir. Yine bu araştırmaya göre bireylerin %88.3’ü siyah çayı, %3.3’ü yeşil çayı, %4.1’i ise diğer bitki çaylarını her gün tüketmektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2019).

2.2. Çay Türleri ve Üretim Süreçleri

Camellia Sinensis yapraklarının hasadı ile üretim sürecine başlayan çay, sonrasında gördüğü işlemlere bağlı olarak kimyasal bileşimleri ve organoleptik özellikleri farklılık gösteren çok sayıda forma ayrışır (Samanta, 2022). Şekil 2’de, yaygın olarak tüketilen çay türlerinin üretiminde takip edilen süreçler gösterilmiştir.



Şekil 2. Farklı çay türlerinin üretimlerinde temel adımlar

Kaynak: D. Hinojosa vd.,2021, C. Liu vd., 2019

Tüm bu çay türlerinin üretiminde gerçekleştirilen uygulamalar, bunların amaç ve etkilerine aşağıda değinilmiştir:

2.2.1. Soldurma

Çay yaprakları kalın ve mumlu bir yapıdadır. Bu yapının sertliğini kırmak için soldurma işlemi ile yaprak nemi uzaklaştırılır ve yapraklar yuvarlama için hazır hale getirilir. Soldurma, normal sıcaklıklarda gerçekleştiğinden uçucu organik bileşiklerin çoğunu etkilemez. Bu esnada epikateşin oksidasyonu ve teaflavinlerin üretimi başlar. İşlem süresi arttıkça gallik asit içeriği de artar. Soldurma ile polifenol oksidaz enzimi korunur (Samanta, 2022). Hücre duvarı matrisinin bozulmasından kaynaklı meydana gelen kısmi oksidasyon nedeniyle, çayın fenolik içeriğinde ve dolayısıyla antioksidan aktivitesinde bir azalma meydana gelir. Proteinler de enzimatik aktivite ile yıkıldığı için bu süreçte çayın serbest aminoasit içeriğinde bir artış söz konusudur. (Hinojosa-Nogueira vd., 2021; Yılmaz vd., 2020; C. N. Zhao vd., 2019).

2.2.2. Isıtma

Bu aşamada çay yaprakları endojen enzimleri denatüre etmek için ısıtılır. Böylelikle oksidasyon ve yaprakların kahverengileşmesi durdurulur. Bu durum, antioksidan seviyenin korunmasını sağlar. Uygulanan sıcaklık derecesi bileşenlerin miktarını etkiler. Isıl işlem, aroma maddelerinde artış sağlayabilir. L teanin, D teanine dönüşürken genel teanin içeriği azalır. Cis kateşinler, trans kateşinlere dönüşür; epikateşin miktarları ise azalır (Samanta, 2022; C. N. Zhao vd., 2019).

2.2.3. Kırırma

Kırırma, yaprakların küçük parçalara ayrılmasını ve yuvarlanmasını ifade eden bir süreçtir. İşlem sonucunda yapraklar daha küçük parçalara ayrıldığından polifenol oksidaz enzimi ile polifenollerin temas yüzeyi arttırılmış olur. Aminoasit miktarları bu süreçte değişik şekillerde etkilenebilir (Samanta, 2022; Yılmaz vd., 2020).

2.2.4. Fermantasyon

Çay üretiminde kritik bir basamaktır. Tam bir oksidasyon, ortalama 26 °C’de yarım ila 2 saatlik bir sürede tamamlanır. Bu aşamadaki enzimatik esmerleşme

tepkimelerinden çay yapraklarında bulunan polifenol oksidaz ve peroksidaz enzimleri sorumludur. Kivırma işlemi, hücre içi enzimleri açığa çıkardığından hava ile etkileşim halinde oksidasyon seviyelerini artırır. Isıtma işlemi ise bu enzimleri denatüre eder ve esmerleşmeyi durdurur. Isıl işlem uygulanmayan siyah çay üretiminde ise oksidasyon, en son kurutma aşamasında yavaş yavaş durdurulur (Samanta, 2022).

Fermantasyonla birlikte EGCG, ECG, EC, flavonol ve aminoasitlerin miktarı azalırken teaflavin ve tearubigin miktarları artar (Ruchi vd., 2013; C. N. Zhao vd., 2019). Bununla birlikte fermantasyon sıcaklığı, bileşenleri değişik şekillerde etkileyebilir. Örneğin; düşük sıcaklıktaki oksidasyon, toplam fenollerini artırırken daha yüksek sıcaklıktaki oksidasyon (30 °C) tearubigin seviyelerini arttırabilir (Samanta, 2022). Aminoasitlerin bu süreçte strecker bozunması yoluyla aroma aldehytlerini meydana getirmesi, miktarlarındaki azalmanın bir nedeni olarak düşünülebilir (Yılmaz vd., 2020).

2.2.5. Kurutma

Yaprakların kurutulması, çay üretiminde son basamaktır. Bu aşamada yapraklardaki son nem uzaklaştırılır ve yaprak nemi ortalama %3-5 aralığına düşürülür. Bu sayede üretimi tamamlanan çay, uzun süreli depolamaya uygun hale getirilir. Aminoasitlerin çoğu kurutma işlemi sırasında azalır (Samanta, 2022; Yılmaz vd., 2020).

2.3. Çay Bileşimini Etkileyen Faktörler

Çayın biyoaktif içeriği pek çok koşula bağlı olarak değişir ancak bu hususta en önemli etmen bölüm 2.2’de değinilen işleme yöntemlerindeki farklılıklardır (Ruchi vd., 2013). Yöntemsel farklılık, doğrudan ayrı adımların uygulanmasından kaynaklanabileceği gibi bu adımlara maruziyet sürelerindeki farklılardan da kaynaklanabilir (Chen vd., 2019).

Üretimdeki uygulamaların önemli etkisi olmakla birlikte çay metabolitleri üzerinde henüz bu aşamaya gelmeden enlem, coğrafya, iklim, mevsim, rakım, çay tipi, yaprak yaşı, hasat zamanı gibi çevresel pek çok faktör devrededir ve tüm bu etmenlere bağlı olarak çayın teanin, kafein, kateşin ve serbest aminoasit düzeyleri şekillenmeye başlamıştır. Örneğin yükselti, çay yapraklarında serbest aminoasit

düzeylerini arttırırken alçak kesim yapraklarında kateşinler daha boldur. Sıcaklık ve yağışın fazla olduğu dönemler -özellikle ilkbahar ayları- serbest aminoasit miktarları daha fazladır. Genç yapraklarda kateşin ve kafein seviyesi daha yüksek miktarlarda seyrederken güneş ışığına maruz kalma süresine paralel olarak da kateşin içeriği artar (Hinojosa-Nogueira vd., 2021; Lee vd., 2015).

Ekstraksiyon koşulları, çay bileşimini etkileyen bir başka faktördür. Bu koşullara bağlı olarak çayın antioksidan seviyeleri, toplam flavonoid ve toplam fenolik madde miktarları, serbest radikal süpürme etkileri, antioksidan gücü azaltan ferrik indirgeme kapasiteleri değişiklik gösterir. Ayrıca demleme süresi ve sıcaklıkla ilgili farklı uygulamalar, çay türüne bağlı olarak da farklı etkilere sebebiyet verebilir. Örneğin beyaz çayın antioksidan etkisi demleme süresine paralel olarak artarken siyah çayda bu durum tam tersidir. Yine beyaz çay sıcaklığa değil zamana bağlı bu değişimi gösterirken yeşil çay hem sıcaklık hem de zamandan etkilenmekte ve en yüksek antioksidan etkiyi soğuk suda uzun süreli demleme ile göstermektedir (Hajiaghaalipour vd., 2016). Yine çay çeşidine bağlı olarak farklı sıcaklıkta demleme uygulamaları toplam polifenol düzeyi, antioksidan etki, LDL oksidasyonunu geciktirme etkisi ve metal şelatlama aktivitesi üzerinde farklı etkiler meydana getirir. Örneğin beyaz çayda toplam polifenol içeriği, antioksidan kapasite ve LDL oksidasyonunu önleme kapasitesi soğuk demlemede; metal şelatlama aktivitesi ise sıcak demlemede artış gösterir (Venditti vd., 2010). Beyaz çayın üretiminden sonra yıllandırılması, toplam polifenolleri azaltırken tearubigin ve teabrownin seviyelerini arttırır (F. Zhao vd., 2022). Ekstraksiyon verimleri açısından çay türleri karşılaştırıldığında en yüksek verimin siyah çayda, en düşük verimin ise beyaz çayda olduğu görülür. Aynı zamanda çözücü de ekstraksiyon verimini etkileyen bir diğer faktördür (Rohadi vd., 2019).

2.4. Beyaz Çay

2.4.1. Beyaz Çayın Üretimi

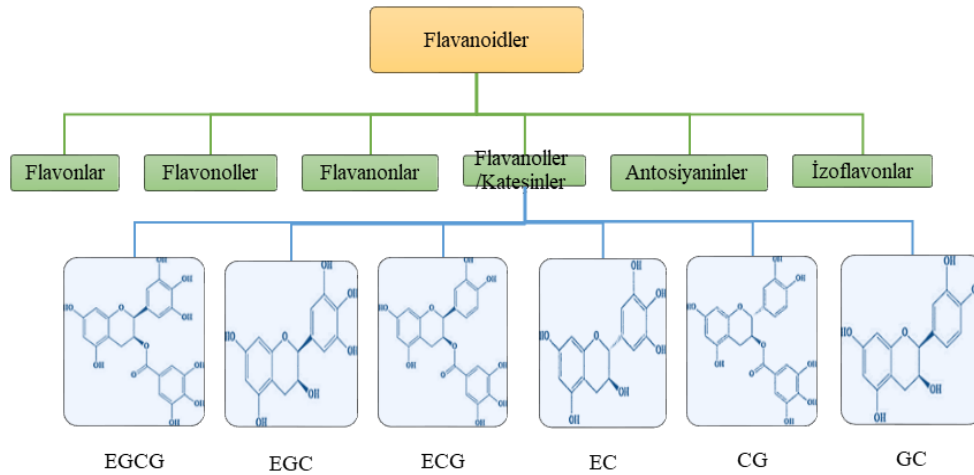
Beyaz çay üretimi için senede bir defa, ilkbahar başlangıcında, *Camellia sinensis* bitkisinin genç yaprakları ve bu çaya adını veren ipeksi gümüş/beyaz tüylerle kaplı filizleri hasat edilir. Herhangi bir enzim aktivitesi ve fermentasyon sürecine dahil edilmeden yalnızca uzun süreli soldurma (renk açma) ve kurutma

işlemleri ile üretimi tamamlanır (Şekil 2). Bu yönüyle beyaz çay, çay türleri arasında en az işlem gören gruba oluşturur (Sanlier vd., 2018; Taylerson, 2012).

2.4.2. Beyaz Çayın Kimyasal Bileşimi

Çaylar genel olarak işleme yöntemine göre farklı düzeylerde polifenoller (flavonoidler), amino asitler, enzimler, pigmentler, karbohidratlar, alkaloidler, metilksantinler (kafein, teofilin, teobromin), polisakkaritler, lignin, organik asitler, vitaminler, mineraller ve aromatik bileşenler içerir (Samanta, 2022; Sanlier vd., 2018).

Toplam fenolik madde içeriği ticari çaylarda kalite standartlarından biridir ve çay flavonoidleri çayın sağlığa katkılarında en yüksek payı alır (Rohadi vd., 2019). Flavonoidler; heterosiklik halkanın oksidasyonu ve doymunluğuna göre flavonlar, flavonoller, flavanonlar, flavanoller/kateşinler, antosiyaninler, izoflavonlar olarak 6 temel gruba ayrılmıştır (D. Song vd., 2019). 4000'i aşkın çeşidi bulunan flavonoidler, çayın yararlı etkilerinin çoğunun atfedildiği fenolik bileşiklerdir. Çay yapraklarında bulunan ana fenolik bileşikler kateşinler (flavan-3-oller) ve bunların türevleridir. Epigallokateşin gallat (EGCG), epigallokateşin (EGC), epikateşin (EC) ve epikateşin gallat (ECG) beyaz çayda bulunan başlıca kateşin gruplarıdır (Şekil 3). EGCG, çay yapraklarında en fazla bulunan kateşindir ve kateşinlerin sağlık yararlarının çoğundan sorumludur (Dias vd., 2013; Sanlier vd., 2018; Teixeira vd., 2012). Bunun yanında EC ve kateşinin biyoyararlanımları EGCG'den daha yüksektir. Teaflavinlerin ise biyoyararlanımı oral alımla yok denecek kadar azdır (Yang vd., 2016).



Şekil 3. Çayda bulunan flavanoidler

Beyaz çayın buğulama gibi işlemlerle ısıya maruz bırakılmaması, yapısında polifenol oksidaz ve peroksidazları aktif bırakır ve buna bağlı olarak soldurma sırasında enzimatik ve enzimatik olmayan oksidasyonlar gerçekleşebilir. Başka bir ifade ile beyaz çay fermente edilmez ancak doğal yollarla hafif (% 15-80) okside olduğu söylenebilir. Bu oksidasyonlar nedeni ile polifenol düzeyleri azalır, dolayısıyla beyaz çay fermente edilen çaylarla benzer antioksidan seviyeye sahip olabilir (Ruchi vd., 2013; C. N. Zhao vd., 2019). Nitekim beyaz çayı fenolik bileşenler yönünden diğer çay gruplarıyla karşılaştıran çalışma sonuçları farklılık göstermektedir. Çoğu fenolik madde içeriğinin beyaz çayda daha yüksek seviyelerde olduğunu bildiren çok sayıda çalışma bulunmakla birlikte aksi yönde sonuçlar da literatürde mevcuttur. Dolayısıyla fenolik madde içeriği çay türleri arasında önemli bir farklılaşma kriteri olmayabilir. Sonuçların birbiriyle uyuşmamasında bölüm 2.3'te değinilen çay içeriğini etkileyen pek çok faktör etkili olmuş olabilir (Dias vd., 2013; Hilal ve Engelhardt, 2007; C. Liu vd., 2019; Tang vd., 2019; C. N. Zhao vd., 2019). Bununla birlikte tüm çaylar fenolik bileşikler açısından iyi birer kaynaktır ve beyaz çay minimum işleme tabi tutulduğundan toplam polifenol, kateşin, kafein, gallik asit, teobromin, EGC, ECG ve ECGG yönünden oldukça zengindir. Bu bileşenlerin bazılarının adipositler üzerinde biyolojik etkileri olduğu bilinmektedir (Sanlier vd., 2018; Söhle vd., 2009; C. N. Zhao vd., 2019).

Beyaz çayın üretiminde maruz kaldığı uzun süreli soldurma ve kurutma işlemleri, uçucu aroma bileşenlerinde önemli değişiklikler – özellikle de bir artış-meydana getirir. Bu durum beyaz çayın kendine has yumuşak bir içime, tat ve

aromaya sahip olmasını sağlar (Chen vd., 2019). Beyaz çayın kafein seviyesi kahvenin dörtte biri düzeyindedir. Bu durum onu kafeine duyarlı bireylerce de tercih edilebilir kılar (Samanta, 2022).

2.4.3. Beyaz Çayın Sağlık Üzerine Etkileri

Beyaz çayın sağlık üzerine antidiyabetik, antiobezite, antiinflamatuvar, kardivasküler düzenleyici pek çok faydası olduğu bilinmektedir. Bu hususta beyaz çay kan glukozunu ve insülini azaltarak diyabet belirteçlerini iyileştirir. Kardiyovasküler sistemle ilişkili olarak da LDL ve TG'yi azaltıp HDL'yi arttırarak lipid profilini düzenler, aerobik kapasite ile ilişkili maksimum oksijen tüketimini (VO_2 max) arttırır ve kan basıncını azaltır (Dardashti pour vd., 2021; C. Liu vd., 2019). Akut oksidatif hasarı önler (Espinosa Ruiz vd., 2018). Çay türleri arasında en yüksek antioksidan ve serbest radikal temizleyici etkiyi gösterir (Rohadi et al., 2019). İnflamasyonla ilişkili olarak IL-6 ekspresyonunu azaltır (C. Liu et al., 2019). Beyaz çay polifenolleri, yeşil ve siyah çaya nazaran hücreye kolesterol alımını azaltmada önemli ölçüde daha aktiftir ve daha yüksek hipokolesterolemik, hipolipidemik, hipoglisemik potansiyele sahiptir (Z. Liu vd., 2016; Mohamed, 2014). Polifenollerce zengin beyaz çay aynı zamanda antimikrobiyal etkiye sahiptir. Polifenoller ayrıca hücredeki DNA hasarını azaltarak kanseri önlemede de önemli bir rol oynar (Sanlier vd., 2018).

Beyaz çayın obeziteyi önlemede de pek çok faydalı etkisi vardır ve bu alanda araştırmalar hızla sürdürülmektedir. Bu hususta beyaz çayın yüksek yağlı diyetin (YYD) neden olduğu ağırlık artışını önlediği, BKİ ve vücut yağ yüzdesini azalttığı bilinmektedir (Dardashti pour vd., 2021; C. Liu vd., 2019). Beyaz çay, adipogenez etkili bir biçimde inhibe eder ve lipoliz aktivitesini uyarır. Bu nedenle, adiposit yaşam döngüsünün farklı seviyelerini düzenlemek için kullanılabilir. Beyaz çay adipogenez sırasında hücre canlılığını etkilemeden insan preadipositlerinde TG birikimini azaltır, adipositlerden gliserol salınımını arttırır. Sirt-1 gibi adipogenezle ilişkili transkripsiyon faktörlerinin mRNA ekspresyon seviyelerini azaltır. (Söhle vd., 2009). Karaciğer ve epididimal yağ dokuda adipositleri hem boyut hem de sayı olarak azaltır ve karaciğeri steatozdan korur. Ayrıca pararenal, bağırsak ve toplam adipoz doku kütlelerini azaltır. Pankreatik lipaz aktivitesini inhibe ederek yağ depolanmasını önler (Gondoin vd., 2010; T. T. Liu vd., 2020). Karaciğer dokusunda

FAS enzimini yeşil ve siyah çaya nazaran daha güçlü bir biçimde inhibe ederek yağ asidi sentezini azaltır, CPT-1 seviyelerini arttırarak yağ asidi oksidasyonunu arttırır (Gondoin vd., 2010; C. Liu vd., 2019).

Beyaz çayda da bulunan çay bileşenlerinin ayrı ayrı etkilerine bakmak da beyaz çayın sağlığa etkileri hakkında fikir verebilir. Bu noktada flavonoidler obezite üzerine besin alımını azaltıp besin emilimini, adipogenezi, adiposit yaşam döngüsünü ve bağırsak mikrobiyotasını düzenleyerek etki eder. EGCG; beyaz yağ dokusunda adipogenezin inhibe edilmesi, adipositlerde apoptozun desteklenmesi, tekli doymamış yağ asitleri sentezi, hormonlarla ilişkili gen ekspresyonu aracılığıyla vücut ağırlığını ve kan glukozunu azaltır. Mide boşalmasını geciktirebilir. Çay kateşinleri PPAR γ 2 ve C/EBP α gen ekspresyonlarını azaltarak, adiposit farklılaşması ve çoğalmasını engelleyerek, lipid birikimini azaltarak adipogenez ve adiposit yaşam döngüsünü düzenler (Fernandes vd., 2018; Li vd., 2020; D. Song vd., 2019). Kafein, doza bağlı bir şekilde vücut yağını ve BKİ'yi azaltabilir. Ancak kafeinin kilo yönetimindeki etkilerini araştıran çalışmalar kafeini genellikle kilo kaybı sağlayan diğer maddelerle birlikte incelemiştir. Tek başına kafein alımının antiobezite etkisinin daha zayıf olduğu düşünülmektedir (Mah vd., 2022). Bu konuda sadece kafein alımının enerji harcamasını arttırırken kafein ve kateşinin birlikte alımının hem enerji harcamasını hem de yağ asidi oksidasyonunu arttırdığı bildirilmiştir (Hursel vd., 2011).

Tüm çay türleri, faydalı etkilerinin yanında bazı ilaçlarla etkileşime girebilir veya gastrointestinal yolda çözünmeyen bileşikler oluşturarak demir emilimini azaltabilirler. Dolayısıyla tüketimlerinde bunlar da göz önünde bulundurulmalıdır (Ruchi vd., 2013).

3. KARBONİK ANHİDRAZ (CA)

3.1. Enzimler Hakkında Genel Bilgilendirme

Enzimler, canlılarda gerçekleşen kimyasal reaksiyonların hızını arttıran ve bu reaksiyonların tam bir ürün verimiyle gerçekleşmesini sağlayan biyokatalizörlerdir. RNA molekülü şeklindeki ribozimlerin küçük bir kısmı hariç protein yapı gösterir ve DNA tarafından kodlanırlar. Enzimler, reaksiyonlara etkisinde sistemin denge halini korurken reaksiyonun dengeye ulaşma zamanını kısaltırlar. Bu sayede reaksiyon hızlarını 10^9 - 10^{16} kat arttırabilirler. Enzimler bu hızlandırıcı etkilerini aktivasyon enerjisini azaltarak gösterirler. Diğer katalizörlerden farklı olarak, substratla (S) etkileştiklerinde enzim-substrat formunda ara bir bileşik oluştururlar. Sonrasında substrata etki ederek ürünü (P) oluşturur ve reaksiyondan değişmeden ayrılırlar. Aşağıda, temel bir enzim işleyiş mekanizması gösterilmiştir:



Enzimler protein yapılarına ek olarak bünyelerinde bir metal iyonu "kofaktör" ve/veya çoğunluğu suda çözünebilen vitaminler olan organik bileşikler "koenzim" barındırır. Metal iyonları enzim ve substrat arasında köprü vazifesi görerek bu iki yapıyı birbirine bağlar. Ayrıca metal iyonunun kendisi de katalitik etki gösterebilir. Koenzimler ise elektron, atom ve fonksiyonel grup transferi gerçekleştirirler. Yapısında kofaktör ya da koenzim bulundurmayan, enzimin protein kısmı "apoenzim" olarak tanımlanır ki bu form katalitik olarak inaktiftir. Enzimle birlikte kofaktör veya koenzim yapı bir bütün olarak "haloenzim" olarak adlandırılır ve bu yapı katalitik aktiviteye sahiptir. Enzimler fonksiyonları itibarıyla 6 temel gruba ayrılır. Bu gruplar Tablo 2’de sıralanmıştır (Bekpınar ve Ünlüçerçi, 2019; Keha ve Kùhrevioğlu, 2020).

Tablo 2. Fonksiyonlarına göre enzimlerin sınıflandırılması

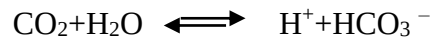
Gruplar	Katalizledikleri Reaksiyon	Örnek
Oksidoredüktazlar	İndirgenme yükseltgenme	Alkol dehidrogenaz Laktat dehidrogenaz
Transferazlar	Substratlar arası fonksiyonel grup transferi	Kolin açıl transferaz ALT
Hidrolazlar	Molekül içi bağların hidrolizi	Asetil kolin esteraz Üreaz
Liyazlar	Hidrolizden farklı bir yolla grupları uzaklaştırarak C-C, C-S, C-N arasında çift bağ oluşumu veya kaldırılması	Karbonik anhidraz Pirüvat dehidrogenaz
İzomerazlar	Geometrik, optik, yapı izomerlerin birbirine dönüşümü	Trioz fosfat izomeraz
Ligazlar	ATP, GTP gibi moleküllerdeki fosfat bağlarının koparılmasından çıkan enerji ile iki molekülün birbirine bağlanması	Glutamin sentetaz Pirüvat karboksilaz

İzoenzimler, gelişmiş organizmalarda bulunup aynı reaksiyonu katalizleyen ancak farklı kimyasal formlarda bulunan enzimlerdir. Kimyasal yapıdaki bu farklılık, genelde polipeptit zincirindeki değişikliklerden ileri gelir. İzoenzimlerin düzenleyici faktörlere olan duyarlılıklarında, şartlara uyum sağlamak için substratlara olan afinitelerinde ve aktivitelerinde farklılık görülebilir. Bunların dışında izoenzimler, organizmada hayati öneme sahip bir enzime yedek alternatif olarak da tutulabilir (Keha ve Kührevioğlu, 2020; Kennelly ve Rodwell, 2015).

Enzim aktivitesi; sıcaklık, pH, enzim miktarı, substrat konsantrasyonu, iyonik şiddet, aktivatör/inhibitör konsantrasyonu ve kofaktör konsantrasyonu faktörlerinden etkilenir (Keha ve Kührevioğlu, 2020).

3.2. Genel Özellikleri ile CA

CA, ilk olarak 1933 yılında Meldrum ve Roughton tarafından memeli kırmızı kan hücrelerinden izole edilmiştir (Meldrum ve Roughton, 1933). Sistemik adı karbonik hidrolizaz, Enzim Komisyon Sınıflaması ise E.C.4.2.1.1.'dir (Keha ve Kührevioğlu, 2020). Bir metaloenzim olan CA, yapısında kofaktör olarak çinko (Zn) iyonu barındırır ve temel fonksiyon olarak aşağıdaki tepkime ile geri dönüşümlü şekilde CO₂'nin hidrasyonunu katalizler. CA, enzimsiz de gerçekleşebilen bu reaksiyonun hızını önemli ölçüde artırır (Tablo 3) (Gilmour, 2010).



Tablo 3. Reaksiyonunun yönüne göre CA hız değerleri

Substrat	k_{cat} (s^{-1})	K_m (M)	K_{cat}/K_m ($M^{-1}s^{-1}$)
CO ₂	1×10^6	1.2×10^{-2}	8.3×10^7
HCO ₃ ⁻	4×10^5	2.6×10^{-2}	1.5×10^7

Kaynak: Nelson vd., 2021

Belirtilen tepkime, aynı zamanda CA'nın katalizlediği bilinen tek fizyolojik reaksiyonudur. CA, bu fonksiyonu ile lipid membranlarında H⁺/HCO₃⁻ taşınımını kolaylaştırır. CO₂ ve pH dengesi, elektrolit sekresyonu, iyon, gaz ve sıvı transferi sağlar. Ayrıca solunum, glukoneogenez, lipogenez, ürogenez, kemik yıkımı, kalsifikasyon, onkogeneze/kanser metastazı ve nöronal fonksiyonu etkileyen pek çok metabolik yola katılır. Karboksilik asit esterleri, sülfonik asit esterleri, fosfat esterleri ve tioesterlerin hidroksilasyonunu katalizlemesi yönünde esterase aktivitesi bildirilmişse de bunların fizyolojik öneme sahip olup olmadığı bilinmemektedir. Diğer organizmalara bakıldığında CA'nın bitkiler, algler ve siyanobakterilerde fotosentez; bakterilerde ise HCO₃⁻ ve CO₂ taşınımı ile ilgili süreçlerde rol aldığı görülür (Chegwidden ve Carter, 2000; Ruusuvuori ve Kaila, 2014; Supuran, 2016b).

3.3. CA'nın Sınıflandırılması ve İzoenzimleri

CA enziminin α , β , γ , δ , ζ , η ve θ şeklinde yapısal kıvrımlarına göre ayrılmış bilinen 7 ailesi mevcuttur. Bunlardan α , omurgalı ve alglerde; β , bitki ve prokaryotlarda; γ ve δ , arkelerde; ζ , deniz diatomlarında; η , protozoalarda bulunur. Yaklaşık 29 kDa molekül ağırlığına sahip α -CA'ların, insanlarda 13 tanesi aktif olmak üzere 16 izoformu bilinmektedir. Bunlardan CA I, II, III, IV, VA, VB, VI, VII, IX, XII, XIII, XIV, XV aktif; CA VIII, X ve XI ise CA ilişkili proteinler (CARP) olarak da bilinen inaktif formlardır. Ayrıca, memelilerden kemirgenlerde bulunup insanlarda bulunmayan izoform XV de aktif yapıdadır (Chegwidden ve Carter, 2000; Lomelino vd., 2016; Supuran, 2018a).

CA izoformları; ifade edildikleri dokular, hücre içi yerleşimleri ve katalitik özellikleri itibarıyla birbirinden ayrılırlar. Memelilerde bu izoenzimlerden CA I ve CA II eritrositlerde, CA III iskelet kasında, CA IV insan böbreklerinde, CA VA ve CA VB bazı dokuların mitokondrilerinde, CA VI tükürük bezlerinde ve kolostrumda, CA I, II, III, VII, XIII sitozolde, CA IV, IX, XII, XIV ve XV ise membrana bağlı bulunur (Keha ve Kührevioğlu, 2020; Lomelino vd., 2016). Katalitik özellikleri

açısından CA II izoformu, $1.4 \times 10^6 \text{ s}^{-1} k_{\text{cat}}$ değeri ile aktivitesi en yüksek enzimlerden biridir. Nitekim memeli eritrositlerinde CA I, CA II'den daha yüksek konsantrasyonlarda bulunmasına rağmen CA II'nin CO_2 hidrasyon aktivitesi çok daha yüksektir. Aşağıdaki tabloda CA izoenzimlerinin CO_2 hidrasyonu için kinetik değerleri verilmiştir. Bu açıdan değerlendirildiğinde özellikle CA II ve CA IV'ün hızlı enzimler olduğunu söylemek mümkündür (Chegwidden ve Carter, 2000):

Tablo 4. Bazı CA izoenzimlerinin kinetik değerleri

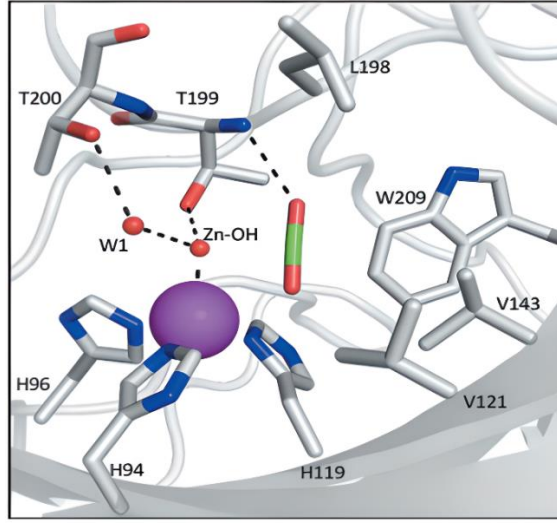
İzoenzimler	$k_{\text{cat}} (\text{s}^{-1})$	$k_{\text{cat}}/K_M \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$
CA I	2×10^5	5×10^7
CA II	1.4×10^6	1.5×10^8
CA III	1×10^4	3×10^5
CA IV	1.1×10^6	5.1×10^7
CA V	3.2×10^5	3×10^7

Kaynak: Chegwidden ve Carter, 2000

3.4. CA II İzoenzim Yapısı

CA II izoenziminin merkezinde yer alan çinko, üç histidin (His94, His96, His119) ve bir $\text{H}_2\text{O}/\text{OH}^-$ ile tetrahedral bir yapı oluşturur. Çinkonun bir tarafı hidrofobik (Val121, Val143, Leu198, Thr199CH₃, Val207, Trp209), diğer tarafı ise hidrofilik (Tyr7, Asn62, His64, Asn67, Thr199Oγ1, Thr200Oγ1) aminoasitlerle çevrilidir. Birbirinden farklı özellikteki bu iki aktif bölge ortamı, katalitik döngünün sürekliliğine ve hızına katkı sağlar (Domsic vd., 2008). Hidrofilik kısım komut verirken hidrofobik kısım CO_2 'yi stabilize eder (Andring vd., 2020).

CA II'nin substratı CO_2 , çinkoya bağlı $\text{H}_2\text{O}/\text{OH}^-$ üzerinden enzime bağlanır. Hidrofobik yarıyı oluşturan Val121, Val143, Leu198 ve Trp209 rezidüleri ile etkileşime girerek stabilize edilir. Bu esnada Thr199 aminoasidinin azotu ile de bir hidrojen bağı kurar (Andring vd., 2020). CA II izoenzimine ait aktif bölge yapısı ve CO_2 bağlanımı, Şekil 4'te gösterilmiştir:



Şekil 4. CA II enzimine CO₂ bağlanmasının gösterimi ve aktif bölge yapısı

Kaynak: Andring vd., 2020

3.5. CA Aktivitesinin Düzenlenmesi

CA'nın yapısında üç histidin halkasına bağlı bulunan Zn iyonu, enzimin katalitik mekanizmasında önemli rol oynar.



Bu tepkimenin devamlılığı için ZnH₂O'dan çözelti ortamına proton transfer edilerek tekrar ZnOH⁻ elde edilir:



Bu proton transferi özellikle yüksek aktivite gösteren CA II, CA IV ve CA VII izoenzimleri için hız sınırlayıcı basamaktır. Histidinin 64. rezidüsü proton alıcı-verici bir mekik görevi görerek bu proton transferini daha elverişli ve kolay hale getirir. Nitekim CA III izoformunun düşük aktivitesinden, histidinin 64. rezidüsünden yoksun oluşu sorumlu tutulabilir. Dolayısıyla bu gibi yapısal özellikler, izoenzimler arasındaki aktivite düzeylerindeki farklılıkları belirler (Chegwidden ve Carter, 2000; Lomelino vd., 2016).

CA aktivitelerinde ve düzeylerindeki anormallikler pek çok hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle, pek çok hastalığın tedavisinde CA modülatörleri halihazırda kullanılmakta ve bu alanda çalışmalar devam etmektedir (Kupriyanova vd., 2017).

3.5.1. CA Aktivatörleri

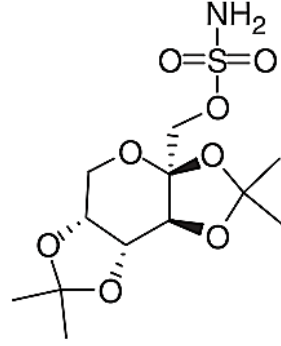
CA aktivatörleri, enzimle kompleks oluşturarak aktif bölge ile reaksiyon ortamı arasında proton geçişini kolaylaştırırlar. Böylelikle, enzimin aktif bölgesinde $ZnOH^-$ türevinin geri kazanımını hızlandırarak reaksiyonun devir hızını artırır ve katalitik mekanizmayı desteklerler. Bu aktivatörlere histidin, diğer bazı amino asitler ve peptitler örnek olarak verilebilir (Kupriyanova vd., 2017; Supuran, 2018a).

CA I, II, IV, VA, XII, XIV izoenzimlerinin aktivitelerindeki yetersizlik osteoporoz, serebral kalsifikasyonlar, retinal bozukluklar, hiperamonemi, hiperklorhidroz gibi durumlarla ilişkilendirilmiştir. CA aktivatörlerinin ayrıca hafıza tedavisi, uzaysal hafıza ve öğrenmenin geliştirilmesi, kemik mineralizasyonu ve yapay doku geliştirilmesi gibi alanlarda fayda sağlayabileceği de çalışmalarda gösterilmiştir. Ancak bu doğrultuda aktivatörler henüz kullanımda değildir. Bunun önemli bir sebebi CA gibi etkili ve yaygın katalizörlerin aktive edilmesine gerek olmadığı yönündeki görüşlerdir. Bir başka neden ise izoenzime özgü aktivatörlerin henüz belirlenememiş olmasından dolayı kontrolsüz bir aktivite artışının yan etkilere sebebiyet verebileceğinin düşünülmesidir. Bu endişelere rağmen son yıllarda CA aktivatörlerine yönelik araştırmalar sürdürülmektedir (Supuran, 2018a).

3.5.2. CA İnhibitörleri

CA enziminin, pH düzenlemesi ve katıldığı metabolik süreçler yoluyla bazı hastalıkların gelişiminde etkili olduğu bilinmektedir. CA inhibitörleri, bu doğrultuda aktivatörlerine kıyasla daha uzun yıllardır üzerinde çalışılan bir alandır ve klinikte diüretik, antiepileptik ve antiglokom ilaçları olarak kullanımdadır. Ayrıca nöropatik ağrı, uyku apnesi, migren, intrakraniyal hipertansiyon ve serebral iskemi tedavilerinde de yeni uygulamaları bildirilmiştir. Farmakolojik olarak kullanımda olan bazı CA inhibitörlerine asetazolamid, metazolamid, topimarat örnek olarak verilebilir (Supuran, 2018b).

Topimarat gibi halihazırda kullanılan bazı CA inhibitörü ilaçların, hastalarda belirgin kilo kaybı sağladığının fark edilmesiyle birlikte; özellikle lipogenezle ilişkili CA izoenzimlerinin seçici inhibitörleri hakkında çalışmalar, obezite tedavisinde umut verici yeni bir yaklaşım olarak benimsenmiştir (Scozzafava vd., 2013).



Şekil 5. Obezite tedavisinde CA inhibitörü olarak kullanılan topimaratin kimyasal yapısı

Kaynak: Scozzafava vd., 2013

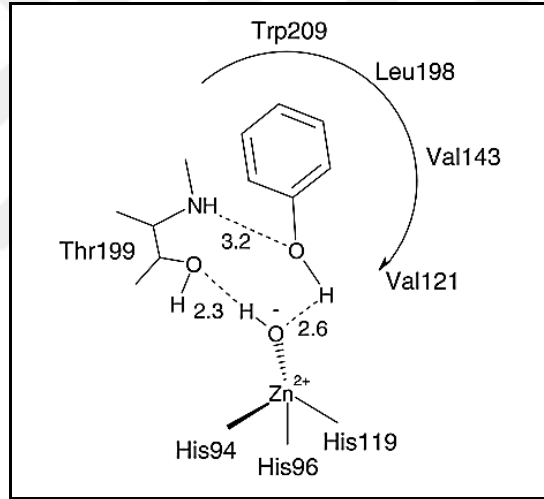
CA inhibitörleri, inhibisyon etkilerini enzime farklı şekillerde bağlanarak (katalitik çinko iyonunu etkileyecek şekilde veya aktif bölge girişini tıkayarak çinko iyonunu etkilemeden) gerçekleştirebilirler (Ekinci vd., 2013). Bu inhibisyon mekanizmaları tüm izoenzimler için ortak olmakla birlikte, izoenzimlerin bu inhibitörlere duyarlılığı farklı olabilir (Kupriyanova vd., 2017). Etkinliği bilinen CA inhibitör sınıfı ve etki mekanizmalarına aşağıda temel olarak değinilmiştir:

3.5.2.1. Çinko Bağlayıcı CA İnhibitörleri

Klasik tip inhibitörler olarak tanımlanan bu grubun en bilinen ve en önemli temsilcileri oldukça güçlü inhibitör etkiye sahip sülfonamidler ve bunların izoesterleri olan sülfamatlar ve sülfamitlerdir. Bu grup inhibitörler glokom, ödem, epilepsi gibi hastalıkların tedavisinde onlarca yıldır klinik kullanımdadır. Ancak bu inhibitörlerin hedefi katalitik çinkoyu çevreleyen aktif bölge kalıntılarıdır ki bu bölge izoenzimler arasında benzerdir. Dolayısıyla bu tip inhibitörler izoenzim seçici özellikten yoksundur ve buna bağlı olarak kullanımları bulantı, yorgunluk, epidermis döküntüsü, akut solunum yetmezliği gibi sorunlardan anaflaktik şoka varacak yelpazede yan etkilere sebebiyet verebilir. Bu durum, izoenzim seçici inhibitörlerin geliştirilmesinin önemini artırır (Lomelino vd., 2016; Supuran, 2016a). Sülfonamid grubu bir CA inhibitörü olarak topimaratin kimyasal yapısı şekil 5’te gösterilmiştir.

3.5.2.2. Çinkoya Bağlı H₂O/OH⁻ İyonuna/Aktif Bölge Girişine Bağlanan CA İnhibitörleri

Bu grup inhibitörler, klasik inhibitörlerden farklı olarak metal iyonuna bağlanmazlar. Bunun yerine etkilerini substrat girişini engellemek için, aynı zamanda izoenzimler arasında en seçici özellik gösteren bölgeye -aktif bölge girişindeki seçici cebe- bağlanarak veya çinkoya bağlı H₂O molekülü/OH⁻ iyonuna bağlanarak gerçekleştirirler. Fenoller, poliaminler, karboksilik asitler, kumarinler ve bunların türevleri bu grup inhibitörler arasındadır. Nitekim fenollerde bulunan OH⁻, bir hidrojen bağı ile çinkoya bağlı H₂O/OH⁻ iyonuna tutunurken fenil grubu; aktif bölgenin hidrofobik yarısı ile Van der Waals etkileşimlerine girer ve buraya CO₂ bağlanmasını önler. Şekil 6'da CA II izoenzimine örnek bir fenol bağlanımı gösterilmiştir.



Şekil 6. CA II'ye fenol bağlanması

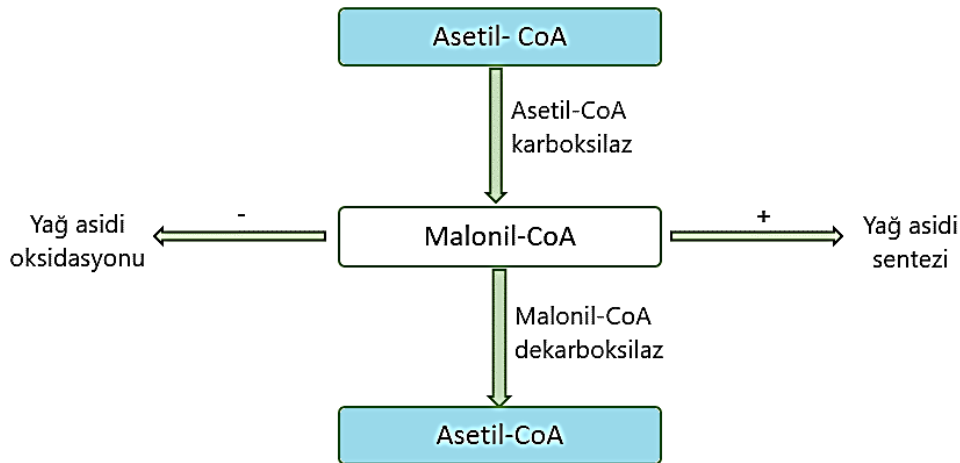
Kaynak: McKenna ve Supuran, 2014

Sonuçta fenolik bileşikler yapılarına bağlı olarak farklı düzeylerde etkili olmakla birlikte, CA için mikromolar afiniyete sahip bir rekabetçi substrat görevi görür ve insanlarda bulunan katalitik aktif 13 izoformun tamamını farklı afinitelerle inhibe ederler. Fenollerin doğal bileşenler olarak diyetle alınmaları, toksik olmamaları ve izoenzim seçimine olanak vermeleri, CA inhibitörü olarak kullanımları konusundaki çalışmaları yoğunlaştırmıştır (Karioti vd., 2016; Lomelino vd., 2016; Supuran, 2016a).

3.6. Yağ Asidi Sentezinde CA'nın Rolü

Vücutta depolanan yağın en büyük kaynağı doğrudan diyetle alınan TG'lerdir. Ancak diyetle fazla miktarda alınan karbohidrat ve proteinler de ihtiyaç durumunda kullanılmak üzere karaciğerde yağ asitlerine dönüştürülerek depolanma sürecine katılırlar. Bu süreç, uzun zincirli yağ asitleri sentezi (*de novo* lipogenez) ve TG oluşumunu kapsar (Lysen ve Israel, 2017).

De novo lipogenezin ilk reaksiyonu, sitozolde asetil-CoA'nın malonil-CoA'ya karboksilasyonudur. Elde edilen malonil-CoA, yağ asidi sentezinin substratı; aynı zamanda yağ asidi oksidasyonunun da bir inhibitörüdür. Dolayısıyla bu basamak, yağ asidi sentezi için önemli bir düzenleyicidir (Şekil 7). Reaksiyon, asetil-CoA karboksilaz enziminin katalizlenir. Gerekli bikarbonat ise CA II izoenziminin katalizlediği reaksiyon olan CO₂'nin bikarbonata dönüşümü ile elde edilir (Foster, 2012; Supuran, 2008).

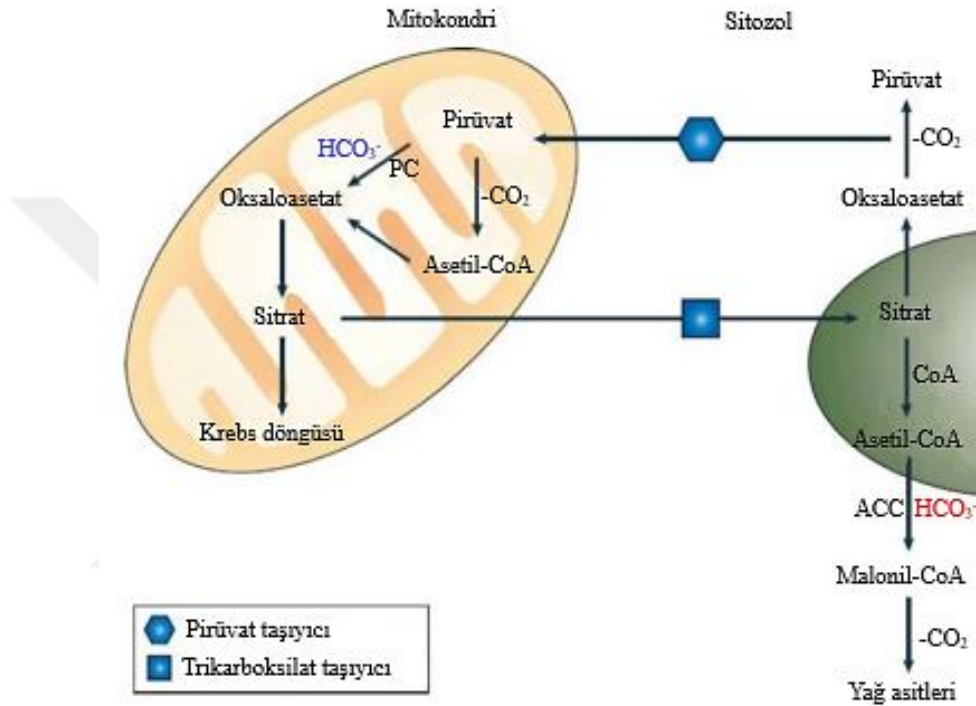


Şekil 7. Malonil-CoA'nın yağ asidi sentez ve oksidasyonundaki rolü

Kaynak: Foster, 2012

Asetil-CoA'nın malonil-CoA'ya dönüşümü sitozolde gerçekleştiğinden, öncesinde asetil-CoA'nın mitokondriden sitozole taşınımı gerekir. Ancak mitokondri membranı asetil-CoA'ya geçirgen değildir. Bu durumda taşınma, asetil-CoA formunda gerçekleşmez. Bunun yerine mitokondride asetil-CoA ve oksaloasetat birleştirilerek sitrat elde edilir ve trikarboksilik asit taşıyıcıları ile taşınım bu formda gerçekleşir. Bu aşama öncesinde sitrat oluşumu için gerekli oksaloasetat, pirüvat karboksilaz enzimi aracılığıyla pirüvattan sentezlenir ve bu reaksiyon için gerekli

bikarbonat da CA'nın mitokondriyal izoenzimleri CAVA ve CAVB tarafından sağlanır. Sentezlenip sitozole geçen sitrat, burada ATP sitrat liyaz tarafından tekrar asetil-CoA ve oksaloasetata parçalanır; asetil-CoA, malonil coA'ya karboksile edilip yağ asidi sentezine ilerlerken oksalat, dekarboksilasyon ile tekrar pirüvata dönüştürülür ve pirüvat taşıyıcıları ile mitokondriye gönderilir. Tüm bu reaksiyonlar neticesinde yağ asidi zinciri uzatılır (Supuran, 2008; Wakil ve Abu-Elheiga, 2009).



Şekil 8. CA izoenzimlerinin yağ asidi sentezindeki görevleri

Kaynak: Supuran vd., 2008

Sonuç olarak CA izoenzimlerinin yağ asidi biyosentezinde bikarbonat sağlayıcılar olarak görev aldığı söylenebilir. Bu bakış açısıyla CA izoenzimlerinin inhibisyonu günümüzde pek çok antiobezite ilacının da hedefinde olmuştur (Supuran vd., 2008).

4. MATERYAL METOT

4.1. Deney Gruplarının Oluşturulması

Bu çalışma, RTEÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 2020/27 nolu kararı ile onaylanmıştır. Onayın ardından başlatılan çalışmada, RTEÜ deney hayvanları biriminden temin edilen 32 adet, 10-11 haftalık, 200-328 g Sprague-Dawley ırkı erkek rat kullanılmıştır. Erkek rat tercih edilmesinde hormonların stabilitesinin yanı sıra, yüksek yağlı ve normal diyetle yanıt olarak kasık adipoz dokuda CA II miktarının erkek ratlarda dişilere göre daha fazla olduğunu bildiren daha önceki bir çalışma da etkili olmuştur (Mukherjee vd., 2012). CA II'nin adipoz dokuda düşük miktarlarda seyrettiği bilindiğinden (Alver vd., 2004), erkek ratların ölçümlerimizin etkinliği için daha uygun olacağı düşünülmüştür. Hayvanların barınma ve beslenmeleri; %55-60 nem ve 22±2 °C sıcaklık koşullarındaki deney hayvanları ünitesinde, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüde gerçekleştirilmiştir. Vücut sıcaklıkları 36- 37 °C'de sabit tutulacak şekilde rektal probe ile takip edilmiştir. Su ve yemler, cerrahi işlemin 12 saat öncesine kadar verilmeye devam edilmiştir (*ad libitum*). Tüm hayvanlar, sürece adapte edilmek için öncelikle 1 hafta boyunca kontrol yemi (Bayramoğlu Yem ve Un Tic. A.Ş) ile beslenmiştir. Daha sonra aralarından rastgele seçilerek her biri 8'er hayvandan oluşan 4 ayrı grup oluşturulmuş ve 12 hafta süresince bu gruplara tablo 5'te sunulan işlemler uygulanmıştır. Gavaj uygulaması her gün saat 09.00-11.00 arasında gerçekleştirilmiştir. Deney süresince biri kontrol, diğeri pozitif kontrol grubundan 2 rat ölümü gerçekleşmiştir.

Tablo 5. Deney gruplarına yönelik beslenme uygulamaları

Gruplar	Hayvan Sayısı		Diyet	Ek İşlemler
	Başlangıç	Deney Sonu		
Kontrol	8	7	Kontrol diyet <i>ad libitum</i> 15-20 g/gün/rat	Haftada 1 su gavajı
Vaka	8	8	Yüksek yağlı diyet <i>ad libitum</i> 15-20 g/gün/rat	Haftada 1 su gavajı
Pozitif Kontrol	8	7	Yüksek yağlı diyet <i>ad libitum</i> 15-20 g/gün/rat	30 mg/kg/gün orlistat gavaj
Beyaz Çay	8	8	Yüksek yağlı diyet <i>ad libitum</i> 15-20 g/gün/rat	5 mg/kg/gün beyaz çay gavaj

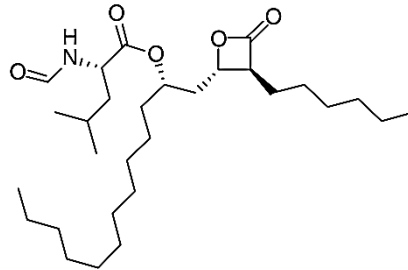
Ağırlık artışlarını gözlemlemek amacıyla her bir rat haftalık olarak tartılmış ve sonuçlar kaydedilmiştir. Obezite kriteri olarak, vaka grubunda kontrol grubuna nazaran en az %20'lik bir ağırlık artışı hedeflenmiştir (Buettner vd., 2007). 12 hafta sonunda tüm gruplar için deney sonlandırılmıştır. Bu aşamaya gelindiğinde her bir gruptaki ratlara 12 saatlik açlık süresinin ardından ketamin ile anestezi uygulanmış, hayvanların kanları aorttan alınıp katkısız serum tüplerine aktarılmıştır. Sonrasında ratlar dekapite edilmiştir. Her bir hayvanın retroperitoneal yağ dokusu alınıp tartılmış ve ependorf tüplerine alınarak çalışma gününe dek -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

4.2. Beyaz Çay

Beyaz çay örnekleri ÇAYKUR (Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü) tarafından temin edilmiştir. Çaylar demlenerek her gavaj öncesi taze hazırlanmış ve uygulamadan önce oda sıcaklığına soğutulmuştur. Gavaj ile verilecek beyaz çay miktarı 5 mg/kg olarak belirlenmiştir. Tartımı yapılan çay yaprakları, miktarı rat başına 1 mL düşecek şekilde ayarlanmış kaynamış suda 10 dk bekletilmiştir. Dozajlar, haftalık tartım sonuçlarına göre düzenli olarak revize edilmiştir.

4.3.Orlistat

Orlistat, Alli (60 mg orlistat) ve Xenical (120 mg orlistat) adları ile piyasada bulunan, FDA onaylı, pankreatik lipaz inhibitörü bir antiobezite ilacıdır. BKİ'si 30 kg/m²'nin üzerinde olan veya 27 kg/m²'nin üzerinde olup diyabet, hipertansiyon, dislipideminin eşlik ettiği yetişkinlerde kullanımı uygun bulunmuştur (Food and Drug Administration, 2015; National ve Pillars, 2003; Yun, 2010).



Şekil 9. Orlistat yapısal gösterimi

Kaynak: Scozzafava vd., 2013

Çalışmamızda gavaj ile verilecek orlistat miktarı 30 mg/kg üzerinden hesaplanmıştır. Dozajlar haftalık tartım sonuçlarına göre düzenli olarak revize edilmiştir. Her bir rat için 1 mL verilecek şekilde içme suyu ile hacim tamamlanarak her gavaj öncesi günlük hazırlanmıştır.

4.4. Yemler

Sıçanlarda obezite geliştirmek için pek çok model bulunmakla birlikte bunlardan en basit olanı ve insandaki obezite gelişimine en fazla benzerlik sunanı, karbohidrat veya yağ ile zenginleştirilmiş hiperkalorik diyetlerdir (Diemen vd., 2014). Çalışmamızda yüksek yağlı ve kontrol yemi olmak üzere iki farklı yem kullanılmıştır. Tablo 6'da bu yemler, içerikleri ve temin edildikleri firmalar ile birlikte sunulmuştur.

Tablo 6. Çalışmada kullanılan yemler ve içerikleri

Firma	İsim/Kod	İçerik	
		Bileşen	Miktar/Kalori
Bayramoğlu Yem ve Un Sanayi Tic. A.Ş.	Kontrol yemi	Nem	%12.8
		Ham protein	%23
		Ham yağ	%1.7
		Ham selüloz	%3.7
		Ham kül	%8.3
		Sodyum	%0.5
		Vitamin A	12.000.000 IU/kg
		Manganez (mangan sülfat)	95 mg/kg
		Demir (demir sülfat monohidrat)	31 mg/kg
		Çinko (çinko oksit)	95 mg/kg
		Kobalt (kobalt karbonat)	0.5 mg/kg
		Selenyum (sodyum selenit)	0.3 mg/kg
		İyot (kalsiyum iyodat anhidrit)	2.28 mg/kg
		Mısır, Mısır gluteni	
		Soya küspesi	
		Şeker pancarı melası	
		Di kalsiyum fosfat	
		Kalsiyum karbonat	
		Sodyum klorür/bikarbonat	
		Vitamin ve mineraller	
Arden Araştırma Deney	Yüksek yağlı diyet yemi (%22 yağ %20 proteinli toplam 4500 kkal)	Kazein	200 g (800 kkal)
		Mısır nişastası	109 g (410.9 kkal)
		Dekstrinize nişasta	193 g (780 kkal)
		Şeker	121.5 g (486 kkal)
		Palmiye yağı	220 g (1980 kkal)
		Selüloz	50 g
		Mineral karışımı (S10026)	10 g
		Vitamin karışımı (V10001)	10 g (40 kkal)
		L-sistin	3 g
		Kolin bitartarat	2.5 g (12 kkal)
		DCP (dikalsiyum fosfat)	13 g
		Kalsiyum karbonat	5.5 g
		Potasyum sitrat monohidrat	16.5 g
		Metil paraben	0.014 g
		Aromatik kimyasallar	48 g

4.5. Kullanılan Ekipmanlar

Çalışmaların tamamı, RTEÜ deney hayvanları ünitesi ve RTEÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya araştırma laboratuvarında yapılmış olup yine bu birimlerde bulunan ekipmanlardan yararlanılmıştır. Bunlar, Tablo 7’de kullanım amaçları ile birlikte sunulmuştur:

Tablo 7. Çalışmada kullanılan ekipmanlar

Ekipmanlar	Model/Firma	Kullanım Amacı
Derin dondurucu (-20 °C)	Uğur	Numunelerin saklanması
Derin Dondurucu (-80 °C)	NÜVE DF 590	Numunelerin saklanması
Hassas terazi	Ohaus (Pioneer™)	Çözelti hazırlama, örneklerin tartımı
Manyetik Karıştırıcı	Wisd Laboratory Instruments (WiseStir)	Çözelti hazırlama
Vorteks	Velp Scientifica	Çözelti hazırlama, RT-PCR, CA aktivite tayini
pH metre	Thermo Scientific (Orion Star A211)	Çözelti hazırlama, CA aktivite tayini
Real-Time PCR	LightCycler® 480 II (Roche)	RT-PCR ölçümleri
Mikro Santrifüj	Microfuge® 16 (Beckman Coulter)	RT-PCR ölçümleri
Santrifüj	Thermo Scientific (Heraeus Multifuge 3SR+ Centrifuge)	CA izolasyonu
El homojenizatörü	Kasweld®	CA izolasyonu
CO ₂ tüpü		CA aktivite tayini
Cam tüpler	ISOLAB	CA aktivite tayini
Mikro santrifüj tüpleri		CA izolasyonu ve aktivite tayini, RNA izolasyonu
Otomatik pipetler	Brand Transferpette® (10 µL, 100 µL, 200 µL, 1000 µL)	CA izolasyonu ve aktivite tayini, RNA izolasyonu, RT-PCR ölçümleri
Şarjlı pipet pompası	Vitlab (Pipeo®)	CA aktivite tayini, çözelti hazırlama
Hibind RNA Mini Column	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I	RNA izolasyonu
2 mL Collection Tubes	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I	RNA izolasyonu
RNase free pipet uçları	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I	RNA izolasyonu
RNase free mikrosantrifüj ve homojenizatör tüpleri	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I	RNA izolasyonu

4.6. Kullanılan Kimyasallar ve Çözeltiler

Çalışmada kullanılan kimyasallar, kullanım aşamaları ve üretici firmalar Tablo 8’de sunulmuştur:

Tablo 8. Çalışmada kullanılan kimyasallar

Kimyasallar	Firma	Kullanım aşaması
HEPES	Sigma	CA aktivite tayini, CA izolasyonu
Etanol	ISOLAB® chemicals	CA aktivite tayini, CA izolasyonu, RNA izolasyonu
Kloroform	J.T. Baker	CA aktivite tayini, CA izolasyonu
TRK Lysis Buffer	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I	RNA izolasyonu
Wash Buffer I	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I	RNA izolasyonu
Wash Buffer II	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I	RNA izolasyonu
Nuclease-free Water	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I	RNA izolasyonu
14.3 M 2-merkaptoetanol (β-ME)		RNA izolasyonu

Çalışmada kullanılan çözeltiler, kullanım aşamaları ve hazırlama prosedürleri Tablo 9’da sunulmuştur:

Tablo 9. Çalışmada kullanılan çözeltiler

Çözeltiler	Kullanım Aşaması	Hazırlama
%70 etanol	RNA izolasyonu	Tek kullanımlık steril pipetler ile 35 mL etanol alınarak 15 mL otoklavlanmış saf su ile hacmi tamamlanır.
HEPES (25 mM pH:8.8)	CA aktivite tayini	3.26 g HEPES tartılır. Behere alınarak yaklaşık 300 mL saf suda manyetik karıştırıcı ile çözündürülür. pH 8.8’e ayarlanır. Balon jojeye aktarılarak hacmi 500 mL’ye tamamlanır. +4 °C’de muhafaza edilir.
Doygun CO ₂ çözeltisi	CA aktivite tayini	250 mL soğuk saf su içerisinde 45-60 dk süresince CO ₂ gazı geçirilir.

4.7. RNA İzolasyonu

İzolasyon için kit dışında kullanılacak tüm malzemeler önceden otoklavlanmış veya çalışma için tek kullanımlık steril malzemeler temin edilmiştir. %70 etanol ile ortam ve cihazlar da çalışma öncesi sterilize edilmiştir. İzolasyon Omega BIO-TEK E.Z.N.A.® Total RNA Kit I kullanılarak protokole uygun gerçekleştirilmiştir.

Çalışmaya başlamadan önce kit önerisine uygun olarak (her 1 mL TRK Lysis Buffer için 20 µL 14.3 M 2-merkaptoetanol (β -ME) eklenmesine uygun olarak) 40 mL'lik TRK Lysis Buffer'a 800 µL β -ME ilave edilmiştir. Yine önerilere uygun olarak Wash Buffer II üzerine de 48 mL %100 etanol ilave edilmiştir. Tüm gruplardan 30 mg retroperitoneal yağ doku tartılmış ve steril homojenizatör tüplerine aktarılmıştır.

Çalışma sırasında her bir örnek için şu adımlar takip edilmiştir: Steril tüpteki dokulara önceden hazır edilmiş TRK Lysis Buffer- β -ME karışımından 700 µL ilave edilmiştir. Otoklavlanmış homojenizasyon boncukları, steril bir cımbız yardımıyla tüplere aktarılıp tüplerin ağızları parafilm ile kapatılmıştır. Tüpler 3 dk süresince homojenize edilmiştir. Parafilmli çıkarıldıktan sonra içindeki boncuklarla beraber 13.000xg'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Her bir örnekten 650 µL süpernatant, 1.5 mL'lik steril mikrosantrifüj tüplerine aktarılmıştır (yağlı üst tabaka alınmamıştır) . Üzerlerine aynı miktarda (650 µL) %70 etanol ilave edilip vortekslenmiştir. 2 mL'lik toplama tüplerine filtre kolonlar yerleştirilmiştir. Vortekslenen tüplerden 700'er µL numune bu kolonlara aktarılmış, 10.000 g'de 1 dk santrifüj edilmiş ve süzüntü atıldıktan sonra toplama tüpü tekrar takılmıştır (Bu işlem tüm numune aktarılan kadar tekrar edilmiştir). Sonrasında 500 µL RNA Wash Buffer I eklenerek 10.000 g'de 30 s santrifüj edilmiştir. Süzüntü atılmış ve kolon tekrar toplama tüpüne yerleştirilmiştir. Daha önce 48 mL %100 etanol eklenen Wash Buffer II'den 500 µL kolona ilave edilip 10.000 g'de 1 dk santrifüj edilmiştir. Süzüntü atılmış ve kolon tekrar toplama tüpüne yerleştirilmiştir. Wash Buffer II ile yıkama işlemi ikinci kez tekrarlanmıştır. Süzüntü tekrar atılıp kolon toplama tüpüne yerleştirildikten sonra boş halde 13.000 g'de 2 dk santrifüj edilerek kolonun kuruması sağlanmıştır. Sonrasında kolon temiz 1.5 mL'lik mikrosantrifüj tüplerine yerleştirilmiştir. 60 µL Nuclease-free Water eklenmiş ve 13.000 g'de 2 dk santrifüj edilmiştir. Elde edilen RNA örnekleri daha sonra cDNA'ya çevrilmek üzere -80 °C'ye kaldırılmıştır.

4.8. Yağ Dokudan Homojenize CA Eldesi

Bunun için öncelikle her bir hayvana ait retroperitoneal yağ doku örneklerinden 150 mg tartılıp örnekler cam tüplere alınmıştır. Üzerlerine 2 mL 25 mM pH:8.8 soğuk HEPES tamponu ilave edildikten sonra el homojenizatörü ile homojenizasyonları yapılmıştır. Tüplerin ağzı parafilmle +4 °C'de 3000 rpm'de

10 dk santrifüj edilmiştir. Üstteki yağ tabakanın altında kalan süpernatant kısımdan 800 µL alınarak temiz ependorf tüplerine aktarılmıştır. Her bir süpernatantın üzerine 3:2 etanol/kloroform karışımından 400'er µL ilave edilmiştir. Vortekslelendikten sonra +4 °C'de 15.000 rpm'de 30 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası oluşan üç fazdan en üstteki faz pipetle alınarak temiz bir ependorf tüpüne aktarılmıştır. Homojenize enzim örnekleri, aktivite tayininde kullanılmak üzere +4 °C'ye kaldırılmıştır. İzolasyona ilişkin tüm süreç buz üzerinde yürütülmüştür.

4.9. Toplam CA Aktivite Tayini

CA II hidrataz aktivitesi, Wilburg-Anderson metodu baz alınarak - yöntemdeki küçük bir değişikliklerle beraber- potansiyometrik olarak tayin edilmiştir. Yöntemin prensibi CO₂'nin hidrasyonu sonucu açığa çıkan H⁺'nin ortam pH'sını düşürürken geçen sürenin ölçümüne dayanmaktadır. Süresi ölçülecek pH aralığı, 8.1'den 7'ye düşüş şeklinde stabilize edilmiştir (Wilbur ve Anderson, 1948).

Çalışma öncesinde kullanılacak tüm malzemeler (cam pipetler, tüpler, çözeltiler, pH metre probu) soğutulmuş, 0°C'ye yakın bir sıcaklığa getirilmiştir. Ölçüm esnasında da enzim aktivitesinin sıcaklıktan etkilenmesini engellemek için tüm işlemler buz üzerinde gerçekleştirilmiştir. Ölçüm sırasında CO₂ kaçağını ve havayla teması önlemek için pH metre probunun çevresi, daldırıldığında tüpün ağzını sıkıca kapatacak şekilde parafilm ile sarılmıştır.

Ölçüm için buz banyosu içindeki cam tüpe 100 µL izole edilmiş CA örneği alınmıştır. Üzerine soğutulmuş 2.4 mL (25 mM, pH:8.8) HEPES tamponu ilave edilmiştir. Cam tüpe, buz içerisindeki CO₂ çözeltisinden 2.5 mL eklenerek reaksiyon başlatılmıştır. pH metre probu hemen tüpe daldırılmış ve pH'nın 8.1'den 7'ye düşüşü için geçen süre kronometre ile ölçülmüştür. Kör ölçümü için 800 µL HEPES tamponu, 96 µL etanol, 64 µL kloroform karışımından 100 µL cam tüplere alınıp aynı işlemler gerçekleştirilmiştir. Ortam şartlarındaki değişimi yansıtmayı amacıyla kör ölçümleri belirli aralıklarla tekrar edilmiştir. Ölçümler her bir numune ve kör için en az 3 kez tekrar edilmiş ve hesaplamada bu sürelerin ortalaması kullanılmıştır.

Ölçümler tamamlandıktan sonra enzim aktivitesi enzim ünitesi (EU) birimi şeklinde aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır:

$$EU = \frac{t_0 - t_c}{t_0} \quad \text{Denklem (1)}$$

Enzim ünitesi (EU), enzim aktivitesini ifade eden bir gösterimdir. 25 C’de ideal şartlar altında 10^{-6} mol substratı 1 dk’da ürüne çeviren enzim miktarı 1 EU olarak kabul edilir (Keha ve Kührevioğlu, 2020). Formülde t_0 , enzimsiz reaksiyonun pH değişim süresini; t_c ise enzimatik reaksiyonun pH değişim süresini ifade etmektedir.

4.10. CA II Gen Ekspresyonu

CA II gen ekspresyonu için mastermix ortamı (abm BrightGreen 2X qPCR MasterMix) aşağıdaki tabloda belirtilen miktarlar üzerinden hesaplanarak hazırlanmıştır. Bunun için, tablodaki 1 örnek için gerekli miktarlar; çalışılacak numune sayısı (CA II ve G6P için), kör ve yedek miktarlar üzerinden oranlanarak hesaplanıp mastermix ortamı hazırlanmıştır. Bu aşamada her pipetleme sonrası parmak vorteks yapılmıştır. Çalışma çift tekrar yürütülmüştür. Kör olarak DEPC su kullanılmış, tüm süreç buz üzerinde yürütülmüştür.

Tablo 10. Mastermix ortamı

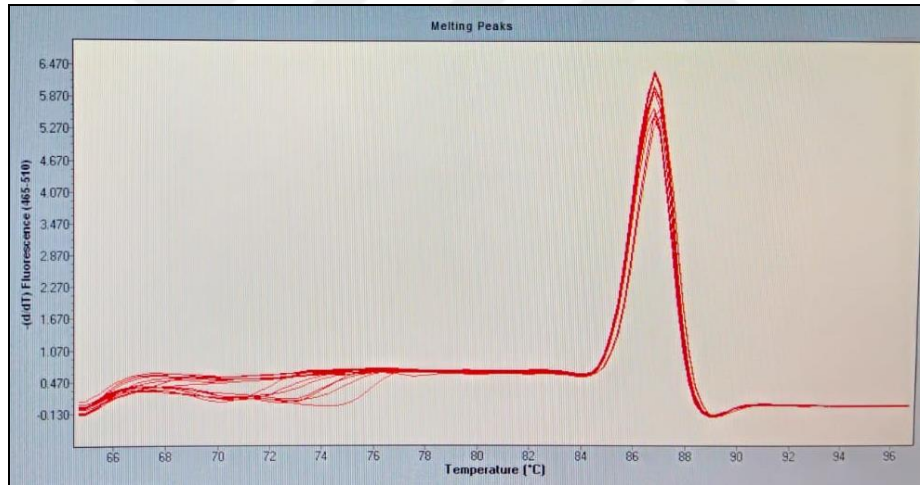
Eklenen Reaktifler	1 Örnek İçin Eklenen Miktar
BrightGreen 2X qPCR MasterMix	5 µL
Forward Primer (10 µM)	0.3 µL
Reverse Primer (10 µM)	0.3 µL
cDNA (100 ng/mL)	1.5 µL
Nuclease free H ₂ O	2.9 µL

Pipetleme aşamasında, öncelikle her bir pleyt kuyucuğuna 8.5 µL mastermix malzemeleri pipetlenmiştir (100 µL 96 Well PCR Plate (NEST), LightCycler 480 Multiwell Plate 96, White (Roche)). Sonrasında ambalajlı steril pipet uçları kullanılarak 1.5 µL cDNA örnekleri pipetlenmiş ve pipetaj yapılmıştır. Pipetlemeler tamamlandıktan sonra pleytin üzeri dikkatlice bastırılarak kapatılmış (NEST PCR Sealing Film), kısa süreli santrifüj edildikten sonra üzeri açılarak cihaza yerleştirilmiştir (LightCycler® 480 II (Roche)). Cihaza ilişkin ayarlamalar Tablo 11’de sunulmuştur. Tabloya ek olarak Reaction volüme 10, amplifikasyon 40 ve analiz Tm seçilmiştir.

Tablo 11. LightCycler® 480 II (Roche) cihaz ayarlamaları

Program	Döngü	Analiz Modu	Hedef Sıcaklık		
			Elde Etme Modu	Süre (saat:dk:s)	Sıcaklık Artışı (°C/s)
Ön inkübasyon	1	Yok			
95			Yok	00:08:00	4.4
Amplifikasyon	55	Miktar tayini			
95			Yok	00:00:10	4.4
58			Yok	00:00:15	2.2
72			Tek	00:00:20	4.4
Erime eğrisi	1	Erime eğrisi			
95			Yok	00:00:05	4.4
65			Yok	00:01:00	2.2
97			Sürekli	Yok	0.11
Soğuma	1	Yok			
40			Yok	00:00:30	1.5

Analiz sonucunda grafikler ve Cp üzerinden değerlendirmeler/ilgili hesaplamalar yapılmıştır. Analize ilişkin bir erime eğrisi grafiği Şekil 10'da verilmiştir.

**Şekil 10.** Analize ilişkin erime eğrisi grafiği örneği

4.11. İstatistiksel Yöntemler

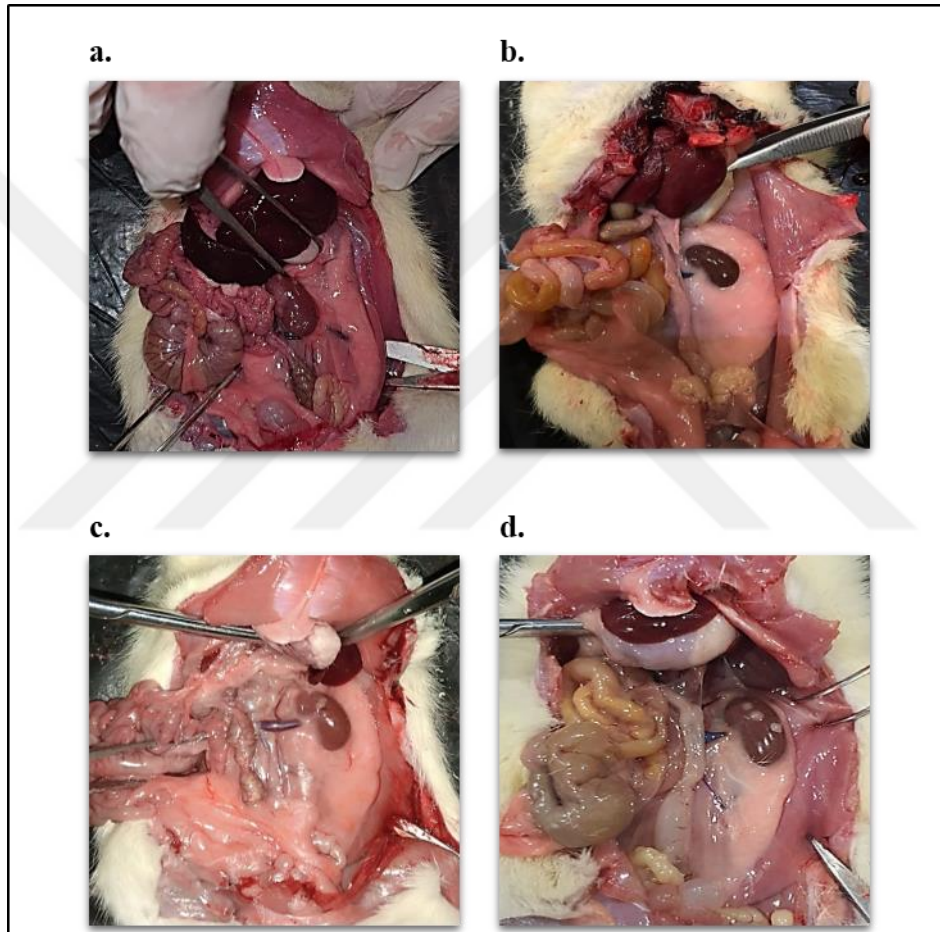
Elde edilen sonuçlar ortanca ve standart sapma olarak verilmiştir. Grup ortalamalarının karşılaştırılması için bağımsız örnekler arasında Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Gen ekspresyonu hesabında kat değişim değeri (Fold Change) kullanılmıştır. Kat değişim değeri hesabı için öncelikle tüm grupların ortalaması alınmıştır. Sonrasında kontrol grubu ortalamasından vaka grubu ortalaması çıkarılmıştır. Çıkan değer $2^{\Delta\text{ortalama}}$ formülünde yerine koyularak kat değişim değerine ulaşılmıştır.

4.12. Bulgular

4.12.1. Morfolojik Bulgular

Makroskopik olarak bakıldığında vaka grubunun retroperitoneal yağ dokusu diğer gruplara göre oldukça fazla artış göstermişken; beyaz çay grubu, kontrol grubuna yakın bir şekilde sınırları daha net olarak gözlemlenmiştir. Hayvanların retroperitoneal yağ dokuları rezekte edilip tartılmamıştır.

Deney gruplarını temsilen, kesime ait fotoğraflar Şekil 10'da sunulmuştur.



Şekil 11. Hayvan kesim fotoğrafları. (a) Kontrol grubu (b) Vaka grubu (c) Pozitif kontrol grubu (d) Beyaz çay grubu

4.12.2. Ağırlık Artışı Sonuçları

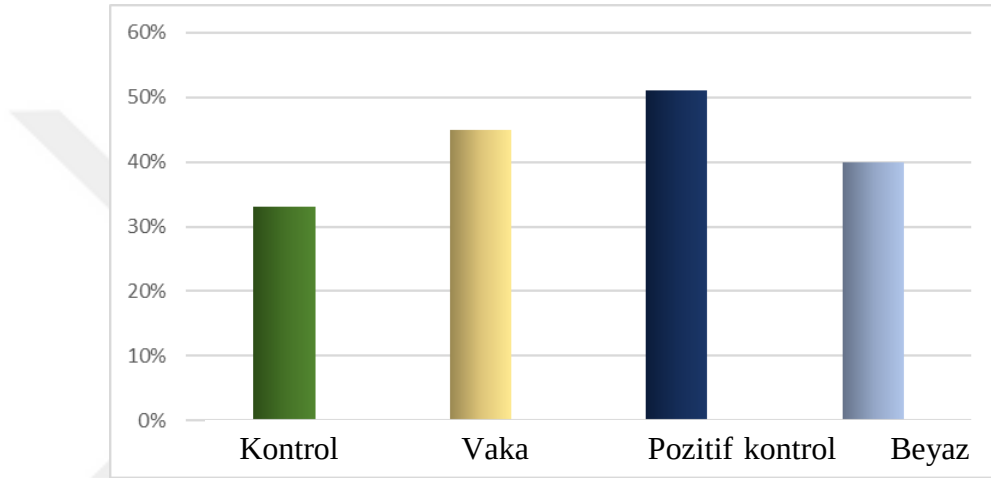
Çalışmamızda uyguladığımız beslenme periyodu sonunda grupların son ağırlık ortalamaları Tablo 12'de verilmiştir. Grupların son ağırlıkları kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında; vaka grubu anlamlı düzeyde yüksek, beyaz çay grubu ise anlamlı düşük bulunmuştur. Beyaz çay grubunun ortalama son ağırlığı, pozitif

kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur.

Tablo 12. Deney gruplarının son ağırlıklarının karşılaştırılması. (*) Kontrol ve diğer gruplar arası (^Δ) Pozitif kontrol ve beyaz çay (+) Vaka ile beyaz çay

Gruplar	Ortalama son ağırlık (g)	Standart sapma	p
Kontrol	464	26.9	
Vaka	550	22.1	0.001*+
Pozitif kontrol	483	52.7	0.535*
Beyaz çay	429	29.1	0.04* ^Δ

Şekil 12’de grupların başlangıç ve son vücut ağırlık artış oranları verilmiştir.



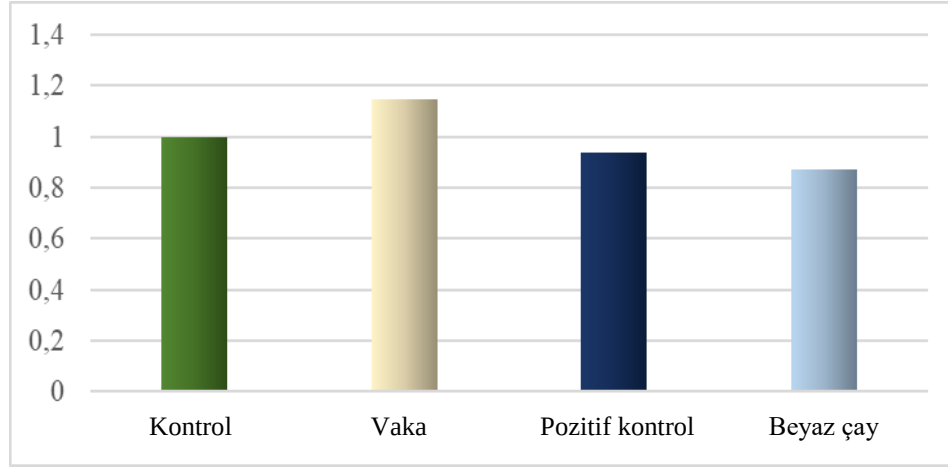
Şekil 12. Gruplara ait başlangıç ve son ağırlık artış yüzdeleri

4.12.3. Gen Ekspresyonu Sonuçları

Çalışma sonucunda retroperitoneal yağ dokuda CA II gen ekspresyonu, vaka grubunda kontrol grubuna göre 1.15 kat yüksek bulunmuştur. Bu değer pozitif kontrol grubunda 0.94; beyaz çay grubunda 0.87 kat bulunmuştur. Gen ekspresyon değerleri Tablo 13’te, grafikler Şekil 13’te gösterilmiştir.

Tablo 13. Grupların CA II gen ekspresyon değerleri

Gruplar	Ekspresyon Değerleri
Kontrol	1
Vaka	1.15
Pozitif kontrol	0.94
Beyaz çay	0.87



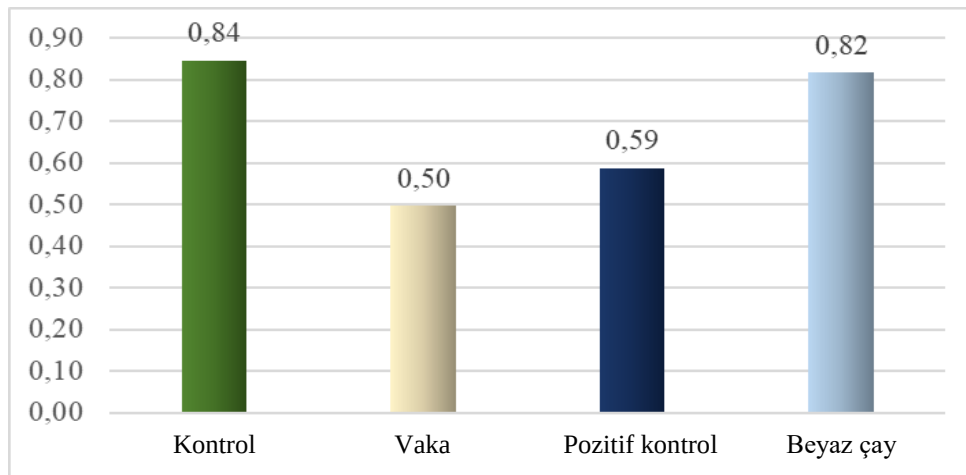
Şekil 13. Gruplara ait CA II gen ekspresyon grafiği

4.12.4. CA Aktivite Tayini Sonuçları

Çalışma sonucunda CA aktiviteleri açısından kontrol ve beyaz çay grubu arasında anlamlı farklılık bulunamamıştır. Ancak kontrol grubun aktivitesi vaka ve pozitif kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Sonuçlar Tablo 14 ve Şekil 14’te verilmiştir.

Tablo 14. Gruplara ait CA aktivite sonuçları. (*) Kontrol ile karşılaştırma

Gruplar	Aktivite	p
Kontrol	0,84±0,14	
Vaka	0,50±0,05	0.001*
Pozitif kontrol	0,59±0,14	0.002*
Beyaz Çay	0,82±0,15	0.397*



Şekil 14. Grupların CA aktivite ortalamaları

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. Tartışma ve Sonuç

Obezite; diyabet, inme, hipertansiyon, kalp hastalığı, kolon kanseri, safra taşı gibi pek çok hastalık ve bunlara bağlı ölüm riskini arttıran önemli bir halk sağlığı sorunudur (Field vd., 2001). Obezitenin ortaya çıkışında genetik, endokrin, metabolik, nörolojik, farmakolojik, çevresel pek çok faktör etkilidir ve tüm bu faktörler birlikte enerji alımı ve harcaması arasındaki dengeyi düzenler (Conforti ve Pan, 2016).

Obezitenin tedavisinde ve gelişiminin önlenmesinde beslenme ve davranış değişikliği tedavilerinin yanında çeşitli bitki polifenollerinin düzenleyici gücünden de yararlanılmaktadır (Meydani ve Hasan, 2010). Bu kapsamda bitkilerdeki biyoaktif bileşenlerin yağ dokusu üzerinde pek çok düzenleyici etkisinin olduğu bilinmektedir. Bunlar başlıca lipit emilimini, enerji alımını, lipogenezi, preadiposit farklılaşmasını ve çoğalmasını azaltmak; enerji harcamasını ve lipolizi arttırmak şeklindeki etkilerdir (Colitti ve Grasso, 2014). Bitkisel diyet takviyelerinin oldukça popüler ve halk tarafından rağbet gören ürünler olması “bitkisel” başlığı altında çok sayıda kontrolsüz üretimin de önünü açmaktadır. Bu nedenle bu alanda yapılacak bilimsel çalışmalar, etkilerini gözlemlemek ve bilinçli bir tüketimi desteklemek açısından oldukça önemlidir.

Günümüzde çay türleri ve bileşenleri, obezite tedavisi için araştırılan bir alandır. Çay bileşenlerinin obeziteyi önleme üzerindeki mekanizmaları temel olarak gastrointestinal sistemde makro besin öğelerinin sindirimini ve emilimini azaltmak, bağırsak mikrobiyotasını değiştirmek, karaciğer, kas ve yağ dokuda enerji metabolizması üzerinde anabolik yolları inhibe ederken katabolik yolları uyarmaktır. Çay türlerinin kilo kaybı üzerinde etkisi biliniyor olsa da bu mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamıştır (Yang vd., 2016). Benzer şekilde beyaz çayın iyileştirici etkilerine dair çalışmalar da az sayıdadır ve lipit metabolizması üzerindeki etkilerini aydınlatacak çalışmalara ihtiyaç vardır (Gondoin vd., 2010; Söhle vd., 2009). Bu mekanizmaların aydınlatılması aynı zamanda farklı mekanizmalara etki eden ürünlerin kombine kullanımının geliştirebileceği sinerjik etkilerle daha güçlü antiobezite ürünleri elde edilmesini sağlayabilir (Yun, 2010). Nitekim farklı mekanizmaları harekete geçirerek veya inhibe ederek kilo kaybı sağlayacak

kombinasyonlar doğal ürünler üzerinden sorgulanmakta ve literatüre öneriler sunulmaktadır (Watanabe vd., 2020). Farklı çay türlerinin, obezite gelişimini önleme üzerinde farklı mekanizmaları harekete geçirmesi sebebiyle, bu kombinasyon önerileri çay türleri için de dile getirilmiştir (Heber vd., 2014). Bununla ilişkili olarak yapılan bir çalışmada çay polifenollerinden EGCG, ECG ve orlistat kombinasyonunun, iyi bir sinerjik etki sergilediği ve orlistatin antiobezite etkisini arttırdığı gösterilmiştir (George vd., 2020). Ayrıca adipoz doku genişlemesini önlemek, obezite için terapötik bir yaklaşım olsa da enerji alımını azaltmadan yalnızca adipositlerde yağ depolanmasını kısıtlamak adipoz olmayan organlarda ektopik yağlanmayla sonuçlanabilir. Bunun yanında adipoz dokunun salgıladığı hormonlarla düzenleyici işlevlerini de göz önünde bulundurmak gerekir. Dolayısıyla enerji harcaması ve yağ depolanmasını hedef alan çalışmalara ayrı ayrı ihtiyaç vardır ve birbirini desteklemeleri daha sağlıklı bir yaklaşım olabilir (Colitti ve Grasso, 2014; Stephens, 2012). Beyaz çayın yağ depolanması üzerine etkisini ele aldığımız çalışmamızın literatüre bu noktada katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Beyaz çayın antiobezite etkisine yönelik daha önceki çalışmalar beyaz çayın; lipaz, amilaz ve FAS enzimlerini inhibe ettiğini (Gondoin vd., 2010; C. Liu vd., 2019; Roberto vd., 2016), adipogenezle ilişkili proteinlerin mRNA ekspresyonunu azalttığını, preadipositlerde TG birikimini azaltırken adipositlerden gliserol salımını arttırdığını (Söhle vd., 2009), yüksek yağlı diyetin neden olduğu ağırlık artışını önlediğini, BKİ ve vücut yağ yüzdesini azalttığını (Dardashti pour vd., 2021; C. Liu vd., 2019) göstermiştir. Dolayısıyla beyaz çayın adipogenezle ilgili süreçleri inhibe eden, lipolizi uyaran bir içecek olduğu yönündeki yaygın kanaate ulaşılmıştır (Söhle vd., 2009). Bu konuda beyaz çayı diğer çaylarla karşılaştıran bir çalışma sonucunda; beyaz çayın adipogenezini siyah, yeşil ve mate çay türlerine göre daha yüksek oranda inhibe ettiği de gösterilmiştir (Roberto vd., 2016). Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular; beyaz çayın YYD'nin neden olduğu ağırlık artışını orlistattan daha etkili düzeyde azalttığını ve YYD'ye eklenen beyaz çayın, kontrol grupla karşılaştırıldığında dahi daha düşük vücut ağırlığı ile sonuçlandığını gösterdi. Bu sonuçlar, beyaz çayın vücut ağırlığını azalttığı yönündeki mevcut literatürü desteklemektedir.

Beyaz çayda da bulunan bazı bileşenler antiobezite çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır. Bunlardan flavanoidlerin obeziteyi önleyici etkisi iyi bilinmektedir ve bu etki sayesinde fonksiyonel gıdalar ve antiobezite ilaçlarında flavanoidlerin gücünden yararlanılmaktadır (D. Song vd., 2019). Bununla ilişkili olarak siyah, yeşil ve oolong çay polifenolleri ile yapılan daha önceki bir çalışma; 3 grup çay polifenollerinin de karaciğer toksisitesine neden olmadan yüksek yağ ve yüksek şekerle beslenen farelerde vücut ağırlığını, abdominal visceral yağ kütlesini azalttığını bildirmiştir (Heber vd., 2014). İlgili bir derlemede YYD ile beslenen çeşitli hayvan çalışmalarında EGCG ve diğer çay polifenollerinin; lipogenezle ilişkili genlerin ekspresyonunu azaltarak, besinlerin sindirim ve emilimlerini azaltarak, AMPK'yı aktive ederek, FAS gibi enzimleri inhibe ederek vücut ağırlığı ve yağın azalttığını gösteren birçok çalışma bildirilmiştir (Yang vd., 2016). Çay bileşenlerinden kateşin ve EGCG'nin iştaha (açlık, tokluk, doygunluk) etkisi de daha önce araştırılmıştır ancak bu çalışmalar ortak bir sonuç sunmamaktadır (Stubby vd., 2019). Bir metaanaliz raporunda insanlarda sadece kafein alımının enerji harcamasını artırırken kafein ve kateşin takviyesinin birlikte alımının hem enerji harcamasını hem de yağ asidi oksidasyonunu arttırdığı bildirilmiştir (Hursel vd., 2011). Bu da kafeinin yanında zengin kateşin içeriğine de sahip beyaz çayın obezite üzerindeki etkilerini arttırabilecek bir avantaj olabilir. Nitekim Söhle ve arkadaşları (2009), çalışmalarında beyaz çayın adipogenez sırasında hücre canlılığını etkilemeden TG depolanmasını önlediğini; tek başına EGCG takviyesinin ise TG birikimini önlerken hücre canlılığında bir miktar bozulmaya yol açtığını bildirmiş ve bu durumun beyaz çayda görülmemesi nedeniyle bu çayda bulunan diğer bileşenlerle olan etkileşim ile ilişkilendirmişlerdir (Söhle vd., 2009). Dolayısıyla bileşenlerin ayrı ayrı etkilerinin çalışılması oldukça önemli olmakla birlikte bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar, beyaz çayın bir bütün olarak takviye edilmesinden elde edilen sonuçlarla farklılık gösterebilir. Çalışma sonuçlarındaki farklılıkta bileşenleri etkileyen çay türü, menşei, infüzyon tekniği ve analiz yöntemleri gibi faktörler de etkili olabilir (Karak vd., 2017). Ayrıca dozaj, başlangıç BKİ'si ve uygulama süresi de sonuçlar üzerinde belirleyicidir (Lin vd., 2020).

Bu çalışmada YYD ile obezite indüklenmiş ratlarda, *de novo* lipogenezde bikarbonat sağlayıcı işlev gören CA üzerine beyaz çayın etkisi değerlendirildi.

Retroperitoneal yağ dokuda yapılan analizlerde CA II gen ekspresyonları en yüksek vaka; onu takiben sırasıyla kontrol, pozitif kontrol ve beyaz çay gruplarında ölçüldü. Yine aynı dokuda toplam CA aktivitesi değerlendirildiğinde ise en yüksek aktivitenin sırasıyla kontrol, beyaz çay, pozitif kontrol ve vaka gruplarında olduğu görüldü. Vaka ve pozitif kontrol gruplarının toplam aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük iken beyaz çay grubu kontrol grubu ile anlamlı bir farklılık göstermedi hatta benzer miktarda aktivite saptandı. Sonuçta beyaz çayın, YYD ile obezite geliştirilen ratlarda CA II gen ekspresyonunu orlistattan daha etkili düzeyde azalttığı; ancak toplam CA aktivitesini vaka grubuna göre artırıp kontrol grubun artan seviyelerine yaklaştırdığı görüldü. Vaka grubundaki CA II gen ekspresyonu artışı da bu grupta toplam CA aktivitesinde bir artışla sonuçlanmadı. Bu sonuçlar, CA II izoenziminin gen ekspresyonu seviyelerinin, toplam CA aktivitesini yansıtmadığını göstermektedir. Bu durum, toplam aktiviteden sorumlu diğer izoenzimlerin aktivitesindeki değişimden kaynaklanıyor olabilir. CA III'ün yağ metabolizması üzerindeki etkisi henüz bilinmemekle birlikte, diğerlerine benzer şekilde, glikolitik yolun ara ürünlerinin oksaloasetat ve sitrata dönüşümünün hızlanmasında etkili olabileceği; bu yolla yağ asidi sentezine katkı sağlayabileceği düşünülmüştür (G. Kim ve Levine, 2005). CA III'ün adipoz dokudaki başlıca CA izoformu olduğu bilinmektedir ve bu dokudaki ekspresyonu obezite ile birlikte azalmaktadır (Alver vd., 2004; Stanton vd., 1991). Dolayısıyla bizim çalışmamızda vaka grubunda gözlemlediğimiz toplam CA aktivitesindeki düşüklüğün; adipoz dokudaki baskın izoform olan CA III'ün azalmasının, diğer izoformlardaki olası aktivite artışını gölgelemesinden kaynaklanabileceğini düşündürmüştür. Ancak CA III'ün hidrataz aktivitesinin (CA II'nin %1'i) oldukça düşük olduğu bilinmektedir (Nishimori vd., 2009; Wistrand, 2009). Dolayısıyla obezite ile birlikte miktarında bir azalma olsa da, bunun aktivite azalmasından sorumlu tutulabilecek düzeyde bir etkisi olmayabilir. Nitekim bu konuda Renner ve arkadaşları (2017), yüksek yağlı diyetle beslenen CA III nakavt farelerle yaptıkları çalışmada CA III ekspresyonunun *de novo* lipogenez üzerinde herhangi bir etkisi olmadığını ve bu süreçte bikarbonat sağlamadığını göstermişlerdir (Renner vd., 2017). CA III, bu dokuda yalnızca lipid birikimini gösteren bir belirteç olabilir. Ayrıca bu izoenzim, oksidatif hasarın önlenmesi ile de ilişkilendirilmiştir (Renner vd., 2017; Wistrand, 2009). Bunun

yanında son yıllarda yapılan başka bir çalışma, yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda kahverengi adipoz dokuda CA III ekspresyonunun beş kat arttığını göstermiştir. Ayrıca bu çalışmada yüksek yağlı diyet ile obezite geliştirilmiş sıçanlarda toplam CA aktivitesi de kontrol grubuna göre anlamlı olmayan düzeyde yüksek bulunmuştur. Sonuçların birbirine uymamasında beyaz ve kahverengi adipoz doku farklılıkları etkili olabilir (Kahraman vd., 2018). Ayrıca CA'ların katalitik olarak inaktif olsalar da proton toplayıcı bir anten olarak davranabilecekleri ve katalitik aktiviteye bağlı olmadan da H^+ akışına müdahale edebilecekleri bildirilmiştir (Ruusuvuori ve Kaila, 2014). Bu durum CA III'ü düşük aktivitesine rağmen önemli hale getirebilir. CA II gen ekspresyonunun toplam aktivitedeki değişimi tam olarak yansıtmamasının diğer bir nedeni, CA II'nin adipoz dokuda çok düşük seviyelerde bulunması da olabilir (Alver vd., 2004). Bu izoenzimler dışında CA V izoenzimlerindeki değişim de toplam aktivite üzerinde belirleyici olmuş olabilir. Nitekim bu izoenzimler, *de novo* lipogenezin mitokondride gerçekleşen aşamasında bikarbonat sağlaması yönüyle önemlidir (Supuran, 2008). Bu kapsamda CA VA ve VB izoenzimlerinin inhibisyonu, obezite tedavisi için çalışmalarda hedeflenmiştir. Topimarat, zonisamid gibi ilaçların da antiobezite etkilerini CA'nın mitokondriyal izoenzimlerini inhibe ederek gerçekleştirdikleri düşünülmektedir (Arechederra vd., 2013).

Topimarat gibi ilaçlar dahil günümüzde klinik kullanımda olan CA inhibitörlerinin hiçbiri izoenzim seçici özellik göstermemektedir. Çünkü bu ajanlar enzime, izoenzimler için ayırt edici olmayan aktif bölgeden bağlanırlar (Scozzafava vd., 2013). Bu durum pek çok izoenzimin birden inhibe edilmesiyle ve sonuçta birtakım yan etkilerle sonuçlanabilmektedir (Lomelino vd., 2016; Supuran, 2016a). Bu yan etkileri bertaraf etmek için CA I, II, V gibi izoenzime özgü inhibitör geliştirme çalışmaları obezite tedavisi için ilgi görmüştür (Arechederra vd., 2013; Costa vd., 2019; Güzel vd., 2009). Fenolik bileşenlerin CA enzimini inhibe ettiği bilinmektedir (Huyut vd., 2016). Fenolik bileşikler bu etkilerini aktif bölge girişindeki seçici cebe (izeozimler arasında en seçici özellik gösteren bölgeye) veya çinkoya bağlı H_2O molekülü/ OH^- iyonuna bağlanarak gerçekleştirirler (Karioti vd., 2016; Lomelino vd., 2016; Supuran, 2016a). Nitekim pek çok fenolik bileşenin CA II, VA, VB gibi lipogenez süreciyle ilişkili izoenzimleri farklı düzeylerde inhibe

ettiği daha önce gösterilmiştir (Poulsen ve Davis, 2014). Dolayısıyla CA inhibitörü olarak kullanımları, izoenzim ayırt etmeleri bakımından daha avantajlı olacaktır. Bu çalışmada da fenolik bileşenler yönünden zengin beyaz çayın, CA enzimini hangi yönde etkilediği araştırılmıştır. Bununla ilişkili olarak daha önceki bir çalışma, içerisinde beyaz çayın da yer aldığı çeşitli besin örneklerinin (mantar, bal, çay türleri gibi) fenolik madde içeriklerinin, CA I ve II inhibitör etkilerini *in vitro* incelemiş ve çalışmada kullanılan tüm fenolik bileşiklerin belli düzeylerde enzim aktivitesini engellediğini rapor etmiştir. Yine aynı çalışmada beyaz çayın fenolik madde içeriği ve CA inhibitör etkisi siyah ve yeşil çay ile karşılaştırıldığında daha yüksek bulunmuştur (Sahin vd., 2012). Bir diğer çalışmada polifenollerden kateşin, kuarsetin gibi bileşenlerin CA II inhibe edici etkisi farklı düzeylerde gösterilmiştir (Ekinci vd., 2013). CA enzim aktivitesi tayini için esteraz aktivitesini baz alan daha önceki bir çalışmada *in vitro* ortamda beyaz çayın gerek sığır CA, gerekse insan eritrosit CA II izoenziminin esteraz aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Ancak bu etki diğer çay türleri ile karşılaştırıldığında daha düşük seviyede kalmıştır (Aktaş Karaçelik, 2018).

Yüksek yağ alımının ChREBP- β aktivasyonunu bloke ettiği ve adipoz dokuda *de novo* lipogenezi inhibe ettiği bilinmektedir (Z. Song vd., 2018). Kontrol diyetlerinde gözlenen *de novo* lipogenez artışından; bu diyetlerde artan karbohidrat oranı sorumlu tutulabilir. Nitekim obezitenin YYD ile indüklendiği ratlarda karaciğerdeki artan TG seviyelerinden büyük ölçüde *de novo* lipogenez değil, diyetle alınan yağların tekrar esterleşmesi sorumludur. Hayvan çalışmalarında diyet bileşiminde yağ ve karbohidratların hangi kaynaklardan oluştuğu da bu süreci etkileyen bir başka faktördür (Duarte vd., 2014). Yağı azaltılmış bir diyetin, karbohidratça zengin bir diyetin ve insülinin ACC aktivitesini arttırdığı; açlık, leptin ve AMPK'nın ise ACC aktivitesini azalttığı literatüre sunulmuştur. Ayrıca karbohidratça zengin bir diyetin FAS ve ACC transkripsiyonunu da indüklediği bilinmektedir (Wakil ve Abu-Elheiga, 2009). Dolayısıyla diyet içeriğine bağlı olarak asetil-CoA'dan malonil-CoA dönüşümünü etkileyen önemli bir etmen de ACC aktivitesindeki değişim olabilir. Bizim çalışmamızda da vaka grubunda gözlenen aktivite düşüklüğü, bu grupta yağ depolanmasında *de novo* sentezden ziyade diyet TG'lerinin öncelikli kullanımı ile açıklanabilir. YYD'nin lipogenezi baskılaması CA

aktivitesini azaltmış olabileceği gibi, tam tersi bir bakış açısıyla bakacak olursak, vaka grubunda CA aktivitesinin azalması; YYD'nin lipogenezi baskılamasının altında yatan mekanizmalardan biri de olabilir.

Yüksek yağlı diyetin CA enzimi üzerine etkilerini inceleyen çok az çalışma vardır ve mevcut sonuçlar birbirinden farklıdır. Bu konuda Sarışın (2018); yüksek yağlı diyetle obezite geliştirilen C57BL/6J erkek farelerinde karaciğer CA aktivitesinin, standart yemle beslenen farelere göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düştüğünü bildirmiştir. YYD'nin lipogenezi baskılamasına yönelik değindiğimiz nedene ek olarak YYD'nin neden olduğu insülin direncinin ve adipoz dokudan salgılanan leptin gibi hormonların da CA aktivitesindeki düşüşten sorumlu olabileceğini dile getirmiştir (Sarışın, 2018). S. Kim ve arkadaşları (2004) ise uzun süreli yüksek yağlı diyetin hepatik CA II ekspresyonunu arttırdığını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada YYD'ye bağlı FAS, asetil CoA sentaz gibi yağ asidi sentezi ile ilişkili genlerin ekspresyonunun da karaciğerde azaldığı bildirilmiştir (S. Kim vd., 2004). Yüksek yağlı ve normal diyetle beslenmenin subkutan, abdominal ve kasık adipoz doku proteinleri üzerindeki etkilerini, cinsiyet farklılıklarını baz alarak karşılaştıran başka bir çalışmada; CA II miktarının kasık beyaz adipoz dokusunda hem normal hem yüksek yağlı diyetle erkek ratlarda dişilere göre anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Çalışmanın amacı cinsiyet yönünden bir karşılaştırma yapmak olduğundan analizi yapılmamış olup anlamlı bir farklılık olup olmadığı bildirilmese de erkek ratlarda YYD'ye yanıt olarak bu dokuda CA II miktarının arttığı görülmektedir (Mukherjee vd., 2012).

Bu çalışmada beyaz çay grubunda enzimin gen ekspresyonu kontrol grupla hemen hemen aynı düzeyde ve vaka grubundan düşük olduğundan beyaz çay; *de novo* sentezin azaltılması yönünde bir etkiye sahip olabilir. Bununla birlikte beyaz çay grubunda ağırlık kaybının belirgin olması ve morfolojik görüntü, etkinin sadece *de novo* senteze bağlı olmayıp yağ asidinin yağ dokusuna alımı, bağırsaklardan emilimin önlenmesi ve iştah üzerindeki etki mekanizmalarının da devrede olabileceğini göstermektedir. Zira beyaz çay grubu ratların beslenme esnasında daha az yem tükettikleri gözlemlenmiştir.

Bu çalışma sonucunda beyaz çayın vücut ağırlığını belirgin düzeyde azalttığı gösterildi. Bu bağlamda beyaz çayın CA üzerine etkisi hem aktivite bazında hem de

gen ekspresyonu düzeyinde incelendi ve sonuçta toplam aktivitenin, CA II gen ekspresyonu seviyeleri ile paralellik göstermediği tespit edildi. Sonuç olarak, beyaz çayın antiobezite etkilerini hem CA II gen ekspresyon düzeyini bir miktar azaltması yönüyle hem de bahsedilen diğer mekanizmalarla gösterebileceği öngörülebilir.

5.2. Öneriler

Çalışmada bakılan aktivite toplam aktiviteyi yansıttığından doku düzeyinde doğrudan CA II miktarının bakılması önerilir. CA III, CAVA, CAVB, FAS ve dolaşımdaki yağ asitlerinin yağ dokusuna alınmasında görevli lipoprotein lipaz (LPL) enzimi gibi lipogenezle bağlantılı diğer proteinlerin gen ekspresyonu ve doku miktarlarının tayin edilmesi *de novo* sentez ve dolaşımdan yağ asidi alımı ile ilgili mekanizmaları anlamamız ve daha doğru bir değerlendirme yapmak açısından faydalı olacaktır. Ayrıca bağırsaklardan yağ emiliminin kontrolü de önerilir. Böylece beyaz çayın kilo kontrolündeki etkileri ayrıntılı olarak ortaya çıkarılmış olacaktır.

Ek olarak bu çalışmada yapılan analizlerin karaciğer dokusunda ve insan çalışmalarında yinelenmesi, beyaz çayın diğer çay türleri ile birlikte incelenip karşılaştırma yapılması tavsiye edilir. Bunun haricinde; CA inhibitörü olduğu ve kilo kaybı sağladığı bilinen bir ilaç olan topimarat, daha sonra yapılacak çalışmalarda pozitif kontrol grubu olarak belirlenebilir. Ayrıca diyet etkilerini belirlemek için yüksek karbohidratla indüklenmiş obezite modeli üzerinden de bir çalışma planlaması yapılması faydalı olacaktır.

KAYNAKÇA

- Abarca-Gómez, L., Abdeen, Z. A., Hamid, Z. A., Abu-Rmeileh, N. M., Acosta-Cazares, B., Acuin, C., Adams, R. J., Aekplakorn, W., Afsana, K., Aguilar-Salinas, C. A., Agyemang, C., Ahmadvand, A., Ahrens, W., Ajlouni, K., Akhtaeva, N., Al-Hazzaa, H. M., Al-Othman, A. R., Al-Raddadi, R., Al Buhairan, F., ... Ezzati, M. (2017). Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128·9 million children, adolescents, and adults. *The Lancet*, 390(10113), 2627–2642. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32129-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32129-3)
- Ağagündüz, D. T., Mortaş, H., ve Akbulut, G. (2018). Bariatrik ve metabolik cerrahide tıbbi beslenme tedavisi. G. Akbulut (Ed.), *Tıbbi beslenme tedavisinde güncel uygulamalar* (1. baskı, ss. 116–156). Nobel Tıp Kitabevleri.
- Aktaş Karaçelik, A. (2018). Bitkisel çay bileşenlerinin ve gıda katkılarının karbonik anhidraz aktivitesi üzerine etkileri. [Yayımlanmamış doktora tezi]. Karadeniz Teknik Üniversitesi.
- Alver, A., Keha, E.E., Uçar, F., ve Ovalı, E. (2004). The effect of carbonic anhydrase inhibition on leptin secretion by rat adipose tissue. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 19(2), 181–184. <https://doi.org/10.1080/14756360310001650228>
- Ameye, H., ve Swinnen, J. (2019). Obesity, income and gender: The changing global relationship. *Global Food Security*, 23, 267–281. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2019.09.003>
- Andring, J. T., Kim, C. U., ve McKenna, R. (2020). Structure and mechanism of copper–carbonic anhydrase II: a nitrite reductase. *IUCrJ*, 7, 287–293. <https://doi.org/10.1107/S2052252521000208>
- Arechederra, R. L., Waheed, A., Sly, W. S., Supuran, C. T., ve Minter, S. D. (2013). Effect of sulfonamides as carbonic anhydrase VA and VB inhibitors on mitochondrial metabolic energy conversion. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 21(6), 1544–1548. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2012.06.053>
- Baysal, A., Aksoy, M., Besler, H. T., Bozkurt, N., Keçecioğlu, S., Mercanlıgil, S. M., Merdol, T. K., Pekcan, G., ve Yıldız, E. (2016). *Diyet El Kitabı* (9. baskı). Hatiboğlu Yayıncılık.
- Bekpınar, S., ve Ünlüçerçi, Y. M. Y. (2019). Enzimler. F. Gürdöl (Ed.), *Tıbbi biyokimya* (4. baskı, ss. 113–125). Nobel Tıp Kitabevleri.
- Buettner, R., Schölmerich, J., ve Bollheimer, L. C. (2007). High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity*, 15(4), 798–808.

<https://doi.org/10.1038/oby.2007.608>

- Chegwidden, W.R., ve Carter, N. D. (2000). The carbonic anhydrases. W. Richard Chegwidden, N. D. Carter, ve Y. H. Edwards (Ed.), *The carbonic anhydrases new horizons* (ss. 13–29). Birkhäuser. <https://doi.org/10.1007/978-3-0348-8446-4>
- Chen, Q., Zhu, Y., Dai, W., Lv, H., Mu, B., Li, P., Tan, J., Ni, D., ve Lin, Z. (2019). Aroma formation and dynamic changes during white tea processing. *Food Chemistry*, 274, 915–924. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.072>
- Colitti, M., ve Grasso, S. (2014). Nutraceuticals and regulation of adipocyte life: Premises or promises. *BioFactors*, 40(4), 398–418. <https://doi.org/10.1002/biof.1164>
- Conforti, F., ve Pan, M. H. (2016). Natural products in anti-obesity therapy. *Molecules*, 21(12), 1750. <https://doi.org/10.3390/molecules21121750>
- Costa, G., Carta, F., Ambrosio, F. A., Artese, A., Ortuso, F., Moraca, F., Rocca, R., Romeo, I., Lupia, A., Maruca, A., Bagetta, D., Catalano, R., Vullo, D., Alcaro, S., ve Supuran, C. T. (2019). A computer-assisted discovery of novel potential anti-obesity compounds as selective carbonic anhydrase VA inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 181, 111565. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111565>
- Dardashti pour, E., Yaghobian, F., Dehghan, F., ve Azarbayjani, M. A. (2021). Forecast of ameliorating effect of dietary flavonol consumption in white tea with or without aerobic training on type 2 diabetes (T2D) in females. *Clinical Nutrition ESPEN*, 45, 134–140. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2021.08.025>
- De Ferranti, S., ve Mozaffarian, D. (2008). The perfect storm: Obesity, adipocyte dysfunction, and metabolic consequences. *Clinical Chemistry*, 54(6), 945–955. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2007.100156>
- Dias, T. R., Tomás, G., Teixeira, N. F., Alves, M. G., Oliveira, P. F., ve Silva, B. M. (2013). White tea (*Camellia sinensis* (L.)): antioxidant properties and beneficial health effects. *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics*, 2(2), 19–26. <https://doi.org/10.19070/2326-3350-130005>
- Diemen, V. Von, Trindate, E., Lu, M., Pang, X. D., Xie, M. Q., ve Liu, J. (2014). Experimental model to induce obesity in rats. *Jisuanji Xuebao/Chinese Journal of Computers*, 37(8), 1658–1668. <https://doi.org/10.3724/SP.J.1016.2014.01658>
- Dobbs, R., Sawers, C., Thompson, F., Manyika, J., Woetzel, J., Child, P., McKenna, S., ve Spatharou, A. (2014). Overcoming obesity: An initial economic analysis discussion paper. McKinsey Global Institute, Kasım, 1–71. https://www.mckinsey.com/~media/mckinsey/business_functions/economic_studies/temp/our_insights/how_the_world_could_better_fight

obesity/mgi_overcoming_obesity_full_report.ashx

- Domsic, J. F., Avvaru, B. S., Kim, C. U., Gruner, S. M., Agbandje-McKenna, M., Silverman, D. N., ve McKenna, R. (2008). Entrapment of carbon dioxide in the active site of carbonic anhydrase II. *Journal of Biological Chemistry*, 283(45), 30766–30771. <https://doi.org/10.1074/jbc.M805353200>
- DSHEA. (1994). Dietary supplement health and education act of 1994 public law 103-417 103rd congress. National Institutes of Health Office of Dietary Supplements. https://ods.od.nih.gov/About/DSHEA_Wording.aspx
- Duarte, J. A. G., Carvalho, F., Pearson, M., Horton, J. D., Browning, J. D., Jones, J. G., ve Burgess, S. C. (2014). A high-fat diet suppresses de novo lipogenesis and desaturation but not elongation and triglyceride synthesis in mice. *Journal of Lipid Research*, 55(12), 2541–2553. <https://doi.org/10.1194/jlr.M052308>
- Dünya Sağlık Örgütü Türkiye Ofisi. (2018). Türkiye hanehalkı sağlık araştırması: bulaşıcı olmayan hastalıkların risk faktörleri prevalansı (STEPS). T.C. Sağlık Bakanlığı, Dünya Sağlık Örgütü Avrupa Bölge Ofisi. <http://www.euro.who.int/pubrequest>
- Ekinci, D., Karagoz, L., Ekinci, D., Senturk, M., ve Supuran, C. T. (2013). Carbonic anhydrase inhibitors: in vitro inhibition of α isoforms: hCA I, hCA II, bCA III, hCA IV) by flavonoids. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 28(2), 283–288. <https://doi.org/10.3109/14756366.2011.643303>
- Espinosa Ruiz, C., Cabrera, L., López-Jiménez, J. Á., Zamora, S., ve Pérez-Llamas, F. (2018). Effects of long-term ingestion of white tea on oxidation produced by aging and acute oxidative damage in rats. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 74(1), 171–177. <https://doi.org/10.1007/s13105-017-0591-z>
- Fernandes, R., Araújo, V., Giglio, B., Marini, A., Mota, J., Teixeira, K.-I.-S., Monteiro, P., Lira, F., ve Pimentel, G. (2018). Acute epigallocatechin 3 gallate (EGCG) supplementation delays gastric emptying in healthy women: a randomized, double-blind, placebo-controlled crossover study. *Nutrients*, 10(8), 1122. <https://doi.org/10.3390/nu10081122>
- Field, A. E., Coakley, E. H., Must, A., Spadano, J. L., Laird, N., Dietz, W. H., Rimm, E., ve Colditz, G. A. (2001). Impact of overweight on the risk of developing common chronic diseases during a 10-year period. *Archives of Internal Medicine*, 161(13), 1581–1586. <https://doi.org/10.1001/archinte.161.13.1581>
- Food and Drug Administration. (2015). Information, orlistat (marketed as alli and xenical). <https://www.fda.gov/drugs/postmarket-drug-safety-information-patients-and-providers/orlistat-marketed-alli-and-xenical-information>
- Food and Drug Administration. (2022). Questions and answers on dietary supplements. <https://www.fda.gov/food/information-consumers-using-dietary-supplements/questions-and-answers-dietary-supplements>

- Foster, D. W. (2012). Malonyl-CoA: the regulator of fatty acid synthesis and oxidation. *The Journal of Clinical Investigation*, 122(6), 1958–1959. <https://doi.org/10.1172/JCI63967>
- George, G., S.N.C, S., ve Paul, A. T. (2020). Investigation of synergistic potential of green tea polyphenols and orlistat combinations using pancreatic lipase assay-based synergy directed fractionation strategy. *South African Journal of Botany*, 135, 50–57. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.08.009>
- Gilmour, K. M. (2010). Perspectives on carbonic anhydrase. *Comparative Biochemistry and Physiology- A Molecular and Integrative Physiology*, 157(3), 193–197. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.06.161>
- Gondoin, A., Grussu, D., Stewart, D., ve McDougall, G. J. (2010). White and green tea polyphenols inhibit pancreatic lipase in vitro. *Food Research International*, 43(5), 1537–1544. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.04.029>
- Gurley, B. J. (2012). Pharmacokinetic herb-drug interactions (part 1): Origins, mechanisms, and the impact of botanical dietary supplements. *Planta Medica*, 78(13), 1478–1489. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1298273>
- Güzel, Ö., Innocenti, A., Scozzafava, A., Salman, A., ve Supuran, C. T. (2009). Carbonic anhydrase inhibitors. Aromatic/heterocyclic sulfonamides incorporating phenacetyl, pyridylacetyl and thienylacetyl tails act as potent inhibitors of human mitochondrial isoforms VA and VB. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17(14), 4894–4899. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2009.06.006>
- Haczeyni, F., Bell-Anderson, K. S., ve Farrell, G. C. (2018). Causes and mechanisms of adipocyte enlargement and adipose expansion. *Obesity Reviews*, 19(3), 406–420. <https://doi.org/10.1111/obr.12646>
- Hajiaghaalipour, F., Sanusi, J., ve Kanthimathi, M. S. (2016). Temperature and time of steeping affect the antioxidant properties of white, green, and black tea infusions. *Journal of Food Science*, 81(1), H246–H254. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13149>
- Hammond, K. A., ve Mahan, L. K. (2017). Intake: analysis of the diet. L. K. Mahan ve J. L. Raymond (Ed.), *Krause's food & the nutrition care process* (14. baskı, ss. 52–64). Elsevier.
- Heber, D., Zhang, Y., Yang, J., Ma, J. E., Henning, S. M., ve Li, Z. (2014). Green tea, black tea, and oolong tea polyphenols reduce visceral fat and inflammation in mice fed high-fat, high-sucrose obesogenic diets. *The Journal of Nutrition*, 144(9), 1385–1393. <https://doi.org/10.3945/jn.114.191007>
- Hilal, Y., ve Engelhardt, U. (2007). Characterisation of white tea - comparison to

- green and black tea. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 2(4), 414–421. <https://doi.org/10.1007/s00003-007-0250-3>
- Hinojosa-Nogueira, D., Pérez-Burillo, S., Pastoriza De La Cueva, S., ve Rufián-Henares, J. Á. (2021). Green and white teas as health-promoting foods. *Food and Function*, 12(9), 3799–3819. <https://doi.org/10.1039/d1fo00261a>
- Hursel, R., Viechtbauer, W., Dulloo, A. G., Tremblay, A., Tappy, L., Rumpel, W., ve Westerterp-Plantenga, M. S. (2011). The effects of catechin rich teas and caffeine on energy expenditure and fat oxidation: a meta-analysis. *Obesity Reviews*, 12(7), e573–e581. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2011.00862.x>
- Huyut, Z., Beydemir, Ş., ve Gülçin, İ. (2016). Inhibitory effects of some phenolic compounds on the activities of carbonic anhydrase: from in vivo to ex vivo. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31(6), 1234–1240. <https://doi.org/10.3109/14756366.2015.1117459>
- Jensen, M. D., Ryan, D. H., Apovian, C. M., Ard, J. D., Comuzzie, A. G., Donato, K. A., Hu, F. B., Hubbard, V. S., Jakicic, J. M., Kushner, R. F., Loria, C. M., Millen, B. E., Nonas, C. A., Pi-Sunyer, F. X., Stevens, J., Stevens, V. J., Wadden, T. A., Wolfe, B. M., ve Yanovski, S. Z. (2014). 2013 AHA/ACC/TOS guideline for the management of overweight and obesity in adults: A report of the American college of cardiology/American heart association task force on practice guidelines and the obesity society. *Circulation*, 129(25 SUPPL. 1), 102–138. <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000437739.71477.ee>
- Kahraman, C., Alver, A., Şentürk, A., ve Akça, İ. İ. (2018). The relationship between carbonic anhydrase-III expression and oxidative stress in brown adipose tissue. *Dicle Tıp Dergisi*, 45, 361–368. <https://doi.org/10.5798/dicletip.497874>
- Karak, T., Kutu, F. R., Nath, J. R., Sonar, I., Paul, R. K., Boruah, R. K., Sanyal, S., Sabhapondit, S., ve Dutta, A. K. (2017). Micronutrients (B, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, and Zn) content in made tea (Camellia sinensis L.) and tea infusion with health prospect: A critical review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(14), 2996–3034. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1083534>
- Karioti, A., Carta, F., ve Supuran, C. T. (2016). Phenols and polyphenols as carbonic anhydrase inhibitors. *Molecules*, 21(12), 1649. <https://doi.org/10.3390/molecules21121649>
- Keha, E. E., ve Kührevioğlu, Ö. İ. (2020). *Biyokimya* (E. E. Keha ve Ö. İ. Kührevioğlu (ed.); 13. baskı). Aktif Yayınevi.
- Kennelly, P. J., ve Rodwell, V. W. (2015). *Enzimler: Etki mekanizması*. G. G.

- Akdoğan, B. Ersöz, ve N. Turgan (Ed.), Harper'ın biyokimyası (29. baskı, ss. 57–70). Nobel Tıp Kitabevleri.
- Kim, G., ve Levine, R. L. (2005). Molecular determinants of s -glutathionylation of carbonic anhydrase 3. *Antioxidants & Redox Signaling*, 7(7–8), 849–854. <https://doi.org/10.1089/ars.2005.7.849>
- Kim, S., Sohn, I., Ahn, J. I., Lee, K. H., Lee, Y. S., ve Lee, Y. S. (2004). Hepatic gene expression profiles in a long-term high-fat diet-induced obesity mouse model. *Gene*, 340(1), 99–109. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2004.06.015>
- Kockaya, G., Tatar, M., Ergin, G., ve Atikeler, K. (2013). Cost of obesity and economic value of obesity surgery for Turkey (CEVOS-T). *Value in Health*, 16(7), A381. <https://doi.org/10.1016/j.jval.2013.08.340>
- Kupriyanova, E., Pronina, N., ve Los, D. (2017). Carbonic anhydrase — a universal enzyme of the carbon-based life. *Photosynthetica*, 55(1), 3–19. <https://doi.org/10.1007/s11099-017-0685-4>
- Lee, J. E., Lee, B. J., Chung, J. O., Kim, H. N., Kim, E. H., Jung, S., Lee, H., Lee, S. J., ve Hong, Y. S. (2015). Metabolomic unveiling of a diverse range of green tea (*Camellia sinensis*) metabolites dependent on geography. *Food Chemistry*, 174, 452–459. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.086>
- Li, X., Wang, W., Hou, L., Wu, H., Wu, Y., Xu, R., Xiao, Y., ve Wang, X. (2020). Does tea extract supplementation benefit metabolic syndrome and obesity? A systematic review and meta-analysis. *Clinical Nutrition*, 39(4), 1049–1058. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2019.05.019>
- Lin, Y., Shi, D., Su, B., Wei, J., Găman, M., Sedanur Macit, M., Borges do Nascimento, I. J., ve Guimaraes, N. S. (2020). The effect of green tea supplementation on obesity: A systematic review and dose–response meta-analysis of randomized controlled trials. *Phytotherapy Research*, 34(10), 2459–2470. <https://doi.org/10.1002/ptr.6697>
- Litchford, M. D. (2017). Clinical: biochemical, physical, and functional assessment. L. K. Mahan ve J. L. Raymond (Ed.), *Krause's food & the nutrition care process* (14. baskı, ss. 98–122). Elsevier.
- Liu, C., Guo, Y., Sun, L., Lai, X., Li, Q., Zhang, W., Xiang, L., Sun, S., ve Cao, F. (2019). Six types of tea reduce high-fat-diet-induced fat accumulation in mice by increasing lipid metabolism and suppressing inflammation. *Food and Function*, 10(4), 2061–2074. <https://doi.org/10.1039/c8fo02334d>
- Liu, T. T., Liu, X. T., Chen, Q. X., ve Shi, Y. (2020). Lipase inhibitors for obesity: a review. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 128, 110314–110322. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110314>
- Liu, Z., Chen, Z., Guo, H., He, D., Zhao, H., Wang, Z., Zhang, W., Liao, L., Zhang, C., ve Ni, L. (2016). The modulatory effect of infusions of green tea, oolong

- tea, and black tea on gut microbiota in high-fat-induced obese mice. *Food and Function*, 7(12), 4869–4879. <https://doi.org/10.1039/c6fo01439a>
- Lomelino, C. L., Supuran, C. T., ve McKenna, R. (2016). Non-classical inhibition of carbonic anhydrase. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(7), 1150–1162. <https://doi.org/10.3390/ijms17071150>
- Lysen, L. K., ve Israel, D. A. (2017). Nutrition in weight management. L. K. Mahan ve J. L. Raymond (Ed.), *Krause's food & the nutrition care process* (14. baskı, ss. 383–407). Elsevier.
- Macit, M. S., ve Akbulut, G. (2018). Vücut ağırlığı denetimi: obezite ve yeme bozukluklarında tıbbi beslenme tedavisi. G. Akbulut (Ed.), *tıbbi beslenme tedavisinde güncel uygulamalar* (1. baskı, ss. 380–408). Nobel Tıp Kitabevleri.
- Mah, E., Chen, O., Liska, D. J., ve Blumberg, J. B. (2022). Dietary supplements for weight management: a narrative review of safety and metabolic health benefits. *Nutrients*, 14(9), 1787. <https://doi.org/10.3390/nu14091787>
- McKenna, R., ve Supuran, C. T. (2014). Carbonic anhydrase inhibitors drug design. S. C. Frost ve R. McKenna (Ed.), *Subcellular Biochemistry* (1. baskı, C. 75, ss. 291–323). Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-007-7359-2_15
- Meldrum, N. U., ve Roughton, F. J. W. (1933). Carbonic anhydrase. Its preparation and properties. *The Journal of Physiology*, 80(2), 113–142. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1933.sp003077>
- Meydani, M., ve Hasan, S. T. (2010). Dietary polyphenols and obesity. *Nutrients*, 2(7), 737–751. <https://doi.org/10.3390/nu2070737>
- Mohamed, S. (2014). Functional foods against metabolic syndrome (obesity, diabetes, hypertension and dyslipidemia) and cardiovascular disease. *Trends in Food Science and Technology*, 35(2), 114–128. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.11.001>
- Mukherjee, R., Choi, J. W., Choi, D. K., Oh, T. S., Liu, H., ve Yun, J. W. (2012). Gender-dependent protein expression in white adipose tissues of lean and obese rats fed a high fat diet. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 29(3–4), 617–634. <https://doi.org/10.1159/000338515>
- National, G., ve Pillars, H. (2003). Statistical review and evaluation clinical studies. Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research, 3–24. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/pediatric/020766s018_orlistat_Xenical-StatsRev.pdf
- National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. (2017). Health risks of overweight & obesity. National Institutes of Health. <https://www.niddk.nih.gov/health-information/weight-management/adult->

- National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. (2020). Potential candidates for weight-loss surgery who is a good adult candidate for bariatric surgery? National Institutes of Health. <https://www.niddk.nih.gov/health-information/weight-management/bariatric-surgery/potential-candidates>
- Nelson, D. L., Cox, M. M., ve Hoskins, A. A. (2021). Enzyme kinetics as an approach to understanding mechanism. *Lehninger principles of biochemistry* (8. baskı, ss. 770–822). W.H. Freeman.
- Nishimori, I., Minakuchi, T., Onishi, S., Vullo, D., Cecchi, A., Scozzafava, A., ve Supuran, C. T. (2009). Carbonic anhydrase inhibitors. cloning, characterization and inhibition studies of the cytosolic isozyme III with anions. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 24(1), 70–76. <https://doi.org/10.1080/14756360801907143>
- Piercy, K. L., Troiano, R. P., Ballard, R. M., Carlson, S. A., Fulton, J. E., Galuska, D. A., George, S. M., ve Olson, R. D. (2018). The physical activity guidelines for Americans. *JAMA*, 320(19), 2020–2028. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.14854>
- Poulsen, S.-A., ve Davis, R. A. (2014). Natural products that inhibit carbonic anhydrase. S. C. Frost ve R. McKenna (Ed.), *Subcellular biochemistry* (1. baskı, ss. 325–347). Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-007-7359-2_16
- Prado, C. M. M., ve Heymsfield, S. B. (2014). Lean tissue imaging: A new era for nutritional assessment and intervention. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 38(8), 940–953. <https://doi.org/10.1177/0148607114550189>
- Renner, S. W., Walker, L. M., Forsberg, L. J., Sexton, J. Z., ve Brenman, J. E. (2017). Carbonic anhydrase III (Car3) is not required for fatty acid synthesis and does not protect against high-fat diet induced obesity in mice. *PLOS ONE*, 12(4), e0176502. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176502>
- Roberto, B. S., Macedo, G. A., Macedo, J. A., Martins, I. M., Nakajima, V. M., Allwood, J. W., Stewart, D., ve McDougall, G. J. (2016). Immobilized tannase treatment alters polyphenolic composition in teas and their potential anti-obesity and hypoglycemic activities in vitro. *Food & Function*, 7(9), 3920–3932. <https://doi.org/10.1039/C6FO00373G>
- Rohadi, Lelita, D. I., ve Putri, A. S. (2019). Antioxidant capacity of white tea (*Camelia sinensis*) extract: compared to green, oolong and black tea. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 292. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/292/1/012018>
- Ruchi, V., Lalit, K., Bhaskar, K. V., ve G.K, S. (2013). An overview on tea. *International Journal of Pharmacological Research*, 3(3), 36–41. <https://doi.org/10.7439/ijpr>

- Ruusuvuori, E., ve Kaila, K. (2014). Carbonic anhydrases and brain pH in the control of neuronal excitability. S. C. Frost ve R. McKenna (Ed.), Sub-cellular biochemistry (C. 75, Sayı January 2014, ss. 271–290). Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-007-7359-2_14
- Sahin, H., Can, Z., Yildiz, O., Kolayli, S., Innocenti, A., Scozzafava, G., ve Supuran, C. T. (2012). Inhibition of carbonic anhydrase isozymes I and II with natural products extracted from plants, mushrooms and honey. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 27(3), 395–402. <https://doi.org/10.3109/14756366.2011.593176>
- Samanta, S. (2022). Potential bioactive components and health promotional benefits of tea (*camellia sinensis*). *Journal of the American College of Nutrition*, 41(1), 65–93. <https://doi.org/10.1080/07315724.2020.1827082>
- Sanlier, N., Atik, İ., ve Atik, A. (2018). A minireview of effects of white tea consumption on diseases. *Trends in Food Science & Technology*, 82, 82–88. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.10.004>
- Sarışın, P. (2018). Yüksek yağlı diyetin karaciğer karbonik anhidraz aktivitesi üzerine etkisinin incelenmesi. [Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi]. Recep Tayyip Erdoğan üniversitesi.
- Satman, I., İmamoğlu, Ş., Yılmaz, C., Ayvaz, G., ve Çömlekçi, A. (2012). Türkiye’de ve dünyada diyabet türkiye endokrinoloji ve metabolizma derneği (TEMD) diabetes mellitus çalışma ve eğitim grubu raporu. *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism*.
- Scozzafava, A., Supuran, C. T., ve Carta, F. (2013). Antiobesity carbonic anhydrase inhibitors: a literature and patent review. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 23(6), 725–735. <https://doi.org/10.1517/13543776.2013.794788>
- Shang, A., Gan, R. Y., Xu, X. Y., Mao, Q. Q., Zhang, P. Z., ve Li, H. Bin. (2021). Effects and mechanisms of edible and medicinal plants on obesity: an updated review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(12), 2061–2077. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1769548>
- Söhle, J., Knott, A., Holtzmann, U., Siegner, R., Grönniger, E., Schepky, A., Gallinat, S., Wenck, H., Stäb, F., ve Winnefeld, M. (2009). White tea extract induces lipolytic activity and inhibits adipogenesis in human subcutaneous (pre)-adipocytes. *Nutrition and Metabolism*, 6(20), 1–10. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-6-20>
- Song, D., Cheng, L., Zhang, X., Wu, Z., ve Zheng, X. (2019). The modulatory effect and the mechanism of flavonoids on obesity. *Journal of Food Biochemistry*, 43(8), 1–13. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12954>
- Song, Z., Xiaoli, A., ve Yang, F. (2018). Regulation and metabolic significance of de novo lipogenesis in adipose tissues. *Nutrients*, 10(10), 1383.

<https://doi.org/10.3390/nu10101383>

- Stanton, L. W., Ponte, P. A., Coleman, R. T., ve Snyder, M. A. (1991). Expression of CA III in rodent models of obesity. *Molecular Endocrinology*, 5(6), 860–866. <https://doi.org/10.1210/mend-5-6-860>
- Stephens, J. M. (2012). The fat controller: adipocyte development. *PLoS Biology*, 10(11), 11–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001436>
- Stubby, J., Gravestock, I., Wolfram, E., Pichierri, G., Steurer, J., ve Burgstaller, J. M. (2019). Appetite-suppressing and satiety-increasing bioactive phytochemicals: a systematic review. *Nutrients*, 11(9), 2238. <https://doi.org/10.3390/nu11092238>
- Supuran, C. T. (2008). Carbonic anhydrases: Novel therapeutic applications for inhibitors and activators. *Nature Reviews Drug Discovery*, 7(2), 168–181. <https://doi.org/10.1038/nrd2467>
- Supuran, C. T. (2016a). How many carbonic anhydrase inhibition mechanisms exist? *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31(3), 345–360. <https://doi.org/10.3109/14756366.2015.1122001>
- Supuran, C. T. (2016b). Structure and function of carbonic anhydrases. *Biochemical Journal*, 473(14), 2023–2032. <https://doi.org/10.1042/BCJ20160115>
- Supuran, C. T. (2018a). Carbonic anhydrase activators. *Future Medicinal Chemistry*, 10(5), 561–573. <https://doi.org/10.4155/fmc-2017-0223>
- Supuran, C. T. (2018b). Carbonic anhydrase inhibitors and their potential in a range of therapeutic areas. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 28(10), 709–712. <https://doi.org/10.1080/13543776.2018.1523897>
- Supuran, C. T., Di Fiore, A., ve De Simone, G. (2008). Carbonic anhydrase inhibitors as emerging drugs for the treatment of obesity. *Expert Opinion Emerging Drugs*, 13(2), 383–392. <https://doi.org/10.1517/14728210802002822>
- T.C. Sağlık Bakanlığı. (2019). Türkiye beslenme ve sağlık araştırması (TBSA). (Sağlık Bakanlığı Yayın No. 1132). T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/saglikli-beslenme-hareketli-hayat-db/Yayinlar/kitaplar/TBSA_RAPOR_KITAP_20.08.pdf
- Tang, G. Y., Meng, X., Gan, R. Y., Zhao, C. N., Liu, Q., Feng, Y. Bin, Li, S., Wei, X. L., Atanasov, A. G., Corke, H., ve Li, H. Bin. (2019). Health functions and related molecular mechanisms of tea components: An update review. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(24), 1–38. <https://doi.org/10.3390/ijms20246196>
- Tarım ve Orman Bakanlığı. (2020). Çay değerlendirme raporu. https://www.tarimorman.gov.tr/BUGEM/Belgeler/MİLLÎ_TARIM/Ürün

- Taylorson, M. (2012). The health benefits of tea varieties from *Camellia sinensis*. The Plymouth Student Scientist, 05(1), 304–312. <http://hdl.handle.net/10026.1/13977>
- Teixeira, L. G., Lages, P. C., Jascolka, T. L., Aguilar, E. C., Soares, F. L. P., Pereira, S. S., Beltrão, N. R. M., Matoso, R. de O., Nascimento, A. M. do, Castilho, R. O. de, ve Leite, J. I. A. (2012). White tea (*Camellia sinensis*) extract reduces oxidative stress and triacylglycerols in obese mice. Food Science and Technology, 32(4), 733–741. <https://doi.org/10.1590/s0101-20612012005000099>
- Tremmel, M., Gerdtham, U. G., Nilsson, P. M., ve Saha, S. (2017). Economic burden of obesity: A systematic literature review. International Journal of Environmental Research and Public Health, 14(4), 435. <https://doi.org/10.3390/ijerph14040435>
- Türkiye İstatistik Kurumu. (2020). Türkiye sağlık araştırması, 2019. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Turkey-Health-Survey-2019-33661>
- Venditti, E., Bacchetti, T., Tiano, L., Carloni, P., Greci, L., ve Damiani, E. (2010). Hot vs. cold water steeping of different teas: Do they affect antioxidant activity? Food Chemistry, 119(4), 1597–1604. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.049>
- Wakil, S. J., ve Abu-Elheiga, L. A. (2009). Fatty acid metabolism: target for metabolic syndrome. Journal of Lipid Research, 50(Supplement), S138–S143. <https://doi.org/10.1194/jlr.R800079-JLR200>
- Watanabe, M., Risi, R., Masi, D., Caputi, A., Balena, A., Rossini, G., Tuccinardi, D., Mariani, S., Basciani, S., Manfrini, S., Gnessi, L., ve Lubrano, C. (2020). Current evidence to propose different food supplements for weight loss: a comprehensive review. Nutrients, 12(9), 1–43. <https://doi.org/10.3390/nu12092873>
- Weber, W. J., ve Hopp, D. C. (2020). National center for complementary and integrative health perspectives on clinical research involving natural products. Drug Metabolism and Disposition, 48(10), 963–965. <https://doi.org/10.1124/dmd.120.000071>
- Wilbur, K. M., ve Anderson, N. G. (1948). Electrometric and colorimetric determination of carbonic anhydrase. The Journal of biological chemistry, 176(1), 147–154. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)51011-5](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)51011-5)
- Wistrand, P. J. (2009). Carbonic anhydrase III in liver and muscle of male rats purification and properties. Upsala Journal of Medical Sciences, 107(2), 77–88. <https://doi.org/10.3109/2000-1967-131>

- World Health Organization. (2006). Global database on body mass index. <http://www.assessmentpsychology.com/icbmi.htm>
- World Health Organization. (2020a). Healthy diet. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/healthy-diet>
- World Health Organization. (2020b). The top 10 causes of death. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
- World Health Organization. (2020c). WHO guidelines on physical activity and sedentary behaviour.
- World Health Organization. (2021). Obesity and high weight. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- Yang, C. S., Zhang, J., Zhang, L., Huang, J., ve Wang, Y. (2016). Mechanisms of body weight reduction and metabolic syndrome alleviation by tea. *Molecular Nutrition & Food Research*, 60(1), 160–174. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500428>
- Yılmaz, C., Özdemir, F., ve Gökmen, V. (2020). Investigation of free amino acids, bioactive and neuroactive compounds in different types of tea and effect of black tea processing. *Lwt-Food Science and Technology*, 117, 108655. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108655>
- Yun, J. W. (2010). Possible anti-obesity therapeutics from nature - A review. *Phytochemistry*, 71(14–15), 1625–1641. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.07.011>
- Yusefzadeh, H., Rashidi, A., ve Rahimi, B. (2019). Economic burden of obesity: a systematic review abstract. *Social Health and Behavior*, 2(1), 7–12. https://doi.org/10.4103/SHB.SHB_37_18
- Zhao, C. N., Tang, G. Y., Cao, S. Y., Xu, X. Y., Gan, R. Y., Liu, Q., Mao, Q. Q., Shang, A., ve Li, H. Bin. (2019). Phenolic profiles and antioxidant activities of 30 tea infusions from green, black, oolong, white, yellow and dark teas. *Antioxidants*, 8(215), 9–13. <https://doi.org/10.3390/antiox8070215>
- Zhao, F., Chen, M., Jin, S., Wang, S., Yue, W., Zhang, L., ve Ye, N. (2022). Macrocomposition quantification combined with metabolomics analysis uncovered key dynamic chemical changes of aging white tea. *Food Chemistry*, 366, 130593. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130593>

ETİK KURUL KARARI

T.C. RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞI ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI (Republic of Turkey Recep Tayyip Erdogan University Local Ethics Committee for Animal Experiments)						
BAŞVURU BİLGİLERİ (Application Information)	ETİK KURUL DOSYA NO(REFERENCE):29					
	ÇALIŞMANIN ADI	Deneyisel Obezite Modelinde Beyaz Çayın Karbonik Anhidraz İzoenzimleri Üzerine Etkisi				
	Title	Effect Of White Tea On Carbonic Anhydrase Isoenzymes In Experimental Obesity Model				
	SORUMLU ARAŞTIRMACI (Director of Project)	Doç.Dr.Hülya KILIÇ YILMAZ				
	DİĞER GÖREVLİLER (Researchers)	Elif Büşra KORKMAZZ, Esra PINARBAŞ				
	BAŞVURULAN ETİK KURUL	Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	☒ Tek Merkez Ulusal	☐ Çok Merkezli Ulusal	☐ Çok Merkezli Uluslararası			
KARAR BİLGİLERİ	Karar No(Decision No):2020/27		Tarih (Date): 26.06.2020			
	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden, Doç.Dr.Hülya KILIÇ YILMAZ'ın sorumluluğunda yürütülen ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Hayvan Deneyleri Araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler, araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına katılan üyelerin oy birliğiyle karar verilmiştir.					
Decision Information	The study above has been approved by the Local Ethics Committee of R.T.E.University.					
	☒ Accepted			☐ Rejected		
ÜYELER (Members)						
Ünvanı/ Adı/ Soyadı Ek Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof.Dr. Fikri BALTA (Başkan, Müdür)	Su Ürünleri (Veteriner Hekim)	R.T.E. Üniversitesi Su Ürünleri Fak.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç.Dr. Levent TÜMKAYA (Başkan Vekili)	Histoloji Embriyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç.Dr. Ayşe ERTÜRK (Üye)	Enfeksiyon Hast. Ve Klinik Mikr.	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç.Dr. Serkan GÜL (Üye)	Biyoloji	R.T.E. Üniversitesi Fen Edebiyat Fak.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç.Dr.Kazım ŞAHİN (Üye)	Tıbbi Mikrobiyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç.Dr. Hülya KILIÇ YILMAZ (Üye)	Tıbbi Biyokimya	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	☒ E ☐ H	☒ E ☐ H	
Dr.Öğr.Üyesi Hatice SEVİM NALKIRAN (Üye)	Tıbbi Biyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Dr.Öğr.Üyesi Murat ALKURT (Üye)	Protetik Diş Tedavisi	R.T.E. Üniversitesi Diş Hekimliği Fak.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Şenay ÇAKIROĞLU (Üye)	Veteriner Hekim	R.T.E. Üniversitesi Deney Hay.Uy.ve Arş.	K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	Katılmadı
Şevket ÇAKMAKÇI (Üye)	Sağlık Çalışanı	Sendika Üyesi	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Rukiye ÜLGER (Üye)	Serbest Çalışan	Sivil Üye	K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	Katılmadı
*Araştırma ile ilişki(Relation to the project, E: Yes, H: No)						
**Toplantıda Bulunma(Attendance, E: Yes, H: No)						