

**T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIÇANLARDA ERKEN BAŞLANGIÇLI YÜKSEK YAĞLI
DİYETE BAĞLI OBEZİTEDE SİRULİNA PLATENSİS'İN
METABOLİK VE DAVRANIŞSAL PARAMETRELER İLE
KOGNİTİF FONKSİYON ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

**GİZEM USLUEL
0000-0001-9683-9705**

**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
FİZYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**İZMİR
TEMMUZ 2021**

TEZ KODU: DEU.HSI.MSc2017970223

**T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIÇANLARDA ERKEN BAŞLANGIÇLI YÜKSEK YAĞLI
DİYETE BAĞLI OBEZİTEDE SPİRULİNA PLATENSİS'İN
METABOLİK VE DAVRANIŞSAL PARAMETRELER İLE
KOGNİTİF FONKSİYON ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

**GİZEM USLUEL
0000-0001-9683-9705**

**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
FİZYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Müge KIRAY
0000-0001-5072-0100**

**Bu araştırma DEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü
tarafından 2020.KB.SAG.007 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**İZMİR
TEMMUZ 2021**

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
ETİK BEYANI

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlayıp sunduğum “Sıçanlarda Erken Başlangıçlı Yüksek Yağlı Diyete Bağlı Obezitede Spirulina Platensis’in Metabolik ve Davranışsal Parametreler İle Kognitif Fonksiyon Üzerine Etkisinin İncelenmesi” başlıklı Yüksek Lisans tezim için elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım eserlere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışının olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

İmza

Gizem USLUEL

15.06.21

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca bilgi ve deneyimlerimi artırmamı sağlayan ve tez aşamasında da her daim çözüm odaklı yaklaşımıyla süreci daha kolay geçirmemi sağlayan çok sevgili danışman hocam Prof. Dr. Müge KİRAY'a ve sakrifikasyon aşamalarında büyük yardımları olan Prof. Dr. Amaç KİRAY ve Doç. Dr. İlkey AKSU'ya, teşekkürlerimi borç bilirim.

Ders aşamalarında bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım sevgili Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine ve proje uygulama sürecinde yardımlarını esirgemeyen Burcu AÇIKGÖZ, Bahar DEMİRBAŞ ve Talha Başar KOÇ başta olmak üzere Fizyoloji Anabilim Dalı asistanlarına,

Deney hayvanı çalışmalarında ve deneylerimde her an yardıma hazır olan Ferhan Oral'a,

Her daim yanımda olduğunu bildiğim aileme çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN

TEŞEKKÜR

TABLolar DİZİNİ..... i

ŞEKİLLER DİZİNİ..... ii

KISALTMALAR..... iii

ÖZETiv

ABSTRACTv

1.GİRİŞ VE AMAÇ 1

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Obezite	4
2.1.1 Tanımı ve Epidemiyolojisi.....	4
2.1.2 Obezitenin Etiyolojisi	5
2.1.3 Yüksek Yağlı diyet ve Metabolik Etkileri.....	5
2.1.4 Leptin	6
2.1.5 Yüksek Yağlı Diyetin Nöronal ve Davranışsal Etkileri.....	7
2.2 Öğrenme ve Bellek.....	8
2.2.1 Bellekte Rol Alan Beyin Bölgeleri.....	8
2.2.2 Bellek Türleri.....	8
2.2.2.1 Kısa Süreli Bellek	9
2.2.2.2 Uzun Süreli Bellek	9
2.2.2.2.1 Deklaratif Bellek (Eksplisit Bellek).....	9
2.2.2.2.2 Non-Deklaratif Bellek (İmplicit Bellek).....	10
2.3 Depresyon	10
2.3.1 Depresyonun Epidemiyolojisi.....	10
2.3.2 Depresyonun Etiyolojisi.....	10
2.3.3 Depresyon ve Obezite	11
2.4 Sirtuinler	11
2.4.1 SIRT-1 Yapısı ve Fonksiyonu.....	13
2.5 Spirulina Platensis	14
2.5.1 Spirulinanın Besinsel Değeri ve Yapısı.....	15
2.5.2 Spirulinanın Obezite Üzerine Etkisi.....	15
2.5.3 Spirulinanın Antidiyabetik Etkisi.....	16
2.5.4 Spirulinanın Beyin ve Bilişsel Fonksiyonlara Etkisi.....	17
2.6 Deney Hayvanlarında Öğrenme Bellek ve Davranışın Değerlendirilmesi	17
2.6.1 Morris Su Tankı.....	17
2.6.2 Açık Alan Testi (Open Field Test).....	18
2.6.3 Yükseltilmiş Artı Labirent Testi (Elevated Plus Maze Test).....	18
2.6.4 Zorlu Yüzme Testi (Forced Swim Test).....	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
3.1 Araştırmanın Tipi.....	20
3.2 Araştırmanın Yeri ve Zamanı.....	20

3.3 Araştırmanın evreni ve örnekleme	20
3.4 Çalışma materyali	21
3.5 Araştırma değişkenleri	21
3.6 Veri toplama araçları	21
3.6.1 Çalışma Grupları	22
3.6.2 Yüksek Yağlı Diyet Uygulaması	22
3.6.3 Spirulina Uygulanması	24
3.6.4 Davranış Deneyleri	24
3.6.4.1 Morris Su Labirenti Deneyi	24
3.6.4.2 Açık Alan Testi	25
3.6.4.3 Yükseltilmiş Artı Labirent Testi	26
3.6.4.4 Zorlu Yüzme Testi	26
3.6.5 Sakrifikasyon ve Dokuların Ayrımı	27
3.6.6 Biyokimyasal Değerlendirme	27
3.6.6.1 Leptin Ölçümü	27
3.6.6.2 Sirt-1 Ölçümü	28
3.6.6.3 TNF- α Ölçümü	29
3.6.6.4 HDL Ölçümü	30
3.6.6.5 LDL Ölçümü	30
3.6.7 İmmünohistokimyasal İnceleme	31
3.6.7.1 Doku Takibi	31
3.6.7.2 Boyama	31
3.6.8 Kullanılan Cihazlar, Sarf Malzemeler ve Gereçler	33
3.8 Verilerin değerlendirilmesi	34
3.9 Araştırmanın sınırlılıkları	35
3.10 Etik Kurul Onayı	35
4. BULGULAR	
4.1 Vücut Ağırlığı Takibi	36
4.2 Serum Leptin Düzeyleri	38
4.3 Plazma HDL Düzeyleri	38
4.4 Serum LDL Düzeyleri	39
4.5 Davranış Deneyleri Bulguları	39
4.5.1 Morris Su Labirenti Testi Bulguları	39
4.5.2 Açık Alan Testi Bulguları	41
4.5.3 Yükseltilmiş Artı Labirent Testi Bulguları	42
4.5.4 Zorlu Yüzme Testi Bulguları	44
4.6 Doku Leptin Seviyeleri	44
4.7 Doku TNF- α Ölçümleri	45
4.8 Doku SIRT-1 Ölçümleri	46
4.9 İmmünohistokimyasal Değerlendirme	47
5. TARTIŞMA	48
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	57
7. KAYNAKLAR	58
8. EKLER	71

Etik Onay Belgesi	71
Özgeçmiş	72
Katkı	74



TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1. Sirtuin proteinlerinin lokalizasyon ve fonksiyonları	12
Tablo 2. Araştırma planı ve takvimi	20
Tablo 3. Yüksek yağlı diyet yemi içeriği.....	23
Tablo 4. Standart kontrol yemi içeriği.....	24
Tablo 5. Çalışmada Kullanılan Cihazlar	33
Tablo 6. Çalışmada Kullanılan Sarf Malzemeler	34
Tablo 7. Sıçanların Ağırlık Ölçümleri.....	37
Tablo 8. Prefrontal korteks SIRT1 immunreaktivitesi	47

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. Sirtuinlerin enzimatik aktivitesi; Deasetilasyon ve ADP Ribozilasyon.....	13
Şekil 2. Çalışmanın akış şeması.....	21
Şekil 3. Sıçanların 12 haftalık ortalama ağırlıkları (gr)	36
Şekil 4. Serum leptin düzeyleri	38
Şekil 5. Serum HDL kolesterol düzeyleri	38
Şekil 6. Serum LDL kolesterol düzeyleri.....	39
Şekil 7. Sıçanların 1. ve 4. günler platformu bulma süreleri.....	40
Şekil 8. Morris su labirenti testi 4 günlük platformu bulma süreleri	40
Şekil 9. Morris probe testi; hafızanın değerlendirildiği 5. günde sıçanların platform bölgesinde bulunma süreleri	41
Şekil 10. Açık alan testi katedilen mesafe	42
Şekil 11. Açık alan testi orta alanda geçirilen süre	42
Şekil 12. Yükseltilmiş artı labirent testinde katedilen mesafeler	43
Şekil 13. Açık kollarda geçirilen zaman	43
Şekil 14. Zorlu yüzme testi hareketsiz durma zamanı.....	44
Şekil 15. Prefrontal korteks leptin seviyeleri... ..	45
Şekil 16. Doku TNF- α seviyeleri.....	46
Şekil 17. Doku Sirt-1 seviyeleri.....	46
Şekil 18. Beyin bölgelerinde SIRT1 immunhistokimyasal boyama görüntüleri.....	47

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADP	Adenozin difosfat
AMPK	Adenozin monofosfat aktive edilmiş protein kinaz
BKİ	Beden kitle indeksi
Cm	Santimetre
DSÖ	Dünya sağlık örgütü
HDL	Yüksek dansiteli lipoprotein
HFD	High fat diet
HPA	Hipotalamo-pitüiter-adrenal aks
İL-1 β	İnterlökin-1 beta
IL-6	İnterlökin-6
SP	Spirulina
Sirt-1	Sirtuin-1
PFC	Prefrontal korteks
PGC1- α	Peroksizom proliferatör-aktive edilmiş reseptör gama ko-aktivatör 1-alfa
K	Kontrol
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
MDB	Major depresyon bozukluk
NAD	Nikotinamid Adenozin Dinükleotit
Ng	Nanogram
TNF- α	Tümör Nekrozis Faktör Alfa
YYD	Yüksek yağlı diyet

SIÇANLARDA ERKEN BAŞLANGIÇLI YÜKSEK YAĞLI DİYETE BAĞLI OBEZİTEDE SPİRULİNA PLATENSİS'İN METABOLİK VE DAVRANIŞSAL PARAMETRELER İLE KOĞNİTİF FONKSİYON ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Yüksek Lisans Tezi

Gizem Usluel

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Fizyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Obezite nedenli metabolik değişimler öğrenme ve bellek bozuklukları ve depresyon gibi davranışsal bozukluklara yol açabilir. Spirulina Platensis (SP) antioksidan, antiinflamatuvar, nöroprotektif, antidiyabetik ve antiobezite özelliklere sahip mavi-yeşil bir mikroalgdir. Sirtuinler yaşlanma, apoptoz, enerji metabolizması, gen transkripsiyonu, hücre farklılaşması gibi çeşitli biyolojik fonksiyonları düzenleyen enzimlerdir. Bu çalışma yüksek yağlı diyetle bağlı obezitede SP'in öğrenme ve bellek, depresyon gibi davranış parametreleri ve beyin TNF- α ve SIRT-1 seviyelerinde doza bağımlı etkisini belirlemek için yapıldı.

4 haftalık Sprague Dawley erkek ratlar 4 gruba ayrıldı; kontrol, yüksek yağlı diyet (YYD), YYD+SP150 (150mg/kg/gün), YYD+SP450 (450 mg/kg/gün). Kontrol grubu dışında ratlar 12 hafta boyunca %60 yüksek yağlı diyetle maruz kaldı. Son 6 hafta SP ya da saline oral gavajla uygulandı. Öğrenme ve bellek Morris Su tankı testi kullanılarak değerlendirildi ve davranışsal performans yükseltilmiş artı labirent testi, açık alan ve zorunlu yüzme testleri kullanılarak değerlendirildi. Davranışsal testlerden sonra, ratlar sakrifiye edildi ve kan ve beyin dokuları alındı. Biyokimyasal değerlendirmeler ve Elisa testleri yapıldı.

YYD grubu kontrol ve YYD+SP450 grubundan daha fazla ağırlık kazandı ($p<0.05$). YYD grubunda leptin anlamlı olarak daha yüksektir. Morris su labirenti testinde 12 haftalık YYD bilişsel bozulmaya neden olmadı. Açık alan ve yükseltilmiş artı labirent testinde katedilen mesafede anlamlı farklılık bulunmadı. Zorlu yüzme testinde hareketsiz geçirilen zaman YYD grubunda kontrol, YYD+SP150 ve YYD+450SP gruplarına göre anlamlı olarak yüksektir ($p<0.05$). Beyin bölgelerinde Sirt-1 seviyelerinde anlamlı farklılık bulunmadı. TNF- α seviyeleri YYD+SP450 grubunda prefrontal kortekste daha düşük bulundu. Amigdala ve hipokampusta anlamlı farklılık bulunmadı.

Çalışmanın sonuçlarına göre kronik yüksek yağlı diyet ve Spirulina tedavisi öğrenme ve bellek fonksiyonunu etkilememektedir. Spirulina tedavisi Sirtuin-1 seviyelerini etkilemeden yüksek yağlı diyet nedenli depresif davranışı olumlu olarak etkilemektedir.

Anahtar Sözcükler: davranış, obezite, sirtuin-1, spirulina, yüksek yağlı diyet

Tezin Sayfa Adedi: 86

Danışman: Prof. Dr. Müge Kiray

**INVESTIGATION OF EFFECT SPIRULINA PLATENSIS ON
METABOLIC, BEHAVIOURAL PARAMETERS AND COGNITIVE
FUNCTION ON EARLY ONSET HIGH FAT DIET INDUCED OBESITY
IN RATS**

Master Thesis

Gizem USLUEL

DOKUZ EYLUL UNIVERSITY HEALTH SCIENCE INSTITUTE

Department of Physiology

ABSTRACT

Obesity-induced metabolic changes can lead learning and memory impairment and behavioral disorders. *Spirulina Platensis* (SP) is a blue-green microalgae, which has antioxidant, antiinflammatory, neuroprotective, antidiabetic and antiobesity properties. Sirtuins are enzymes, which modulate various biologic functions as gene transcription, cell differentiation, energy metabolism, aging and apoptosis. This study was made to investigate the dose-dependent effects of SP on learning and memory, behavior parameters as depression, brain TNF- α and Sirtuin-1 levels in high fat-induced obesity.

4 weeks old Sprague Dawley male rats were divided into four groups; control, high fat diet (HFD), HFD+SP150 (150 mg/kg/day), HFD+SP450 (450 mg/kg/day). Rats except for the control group exposed to 60% high fat diet along 12 weeks. Last 6 weeks SP or vehicle administered by oral gavage. Learning and memory was assessed using the Morris water maze and behavioral performance was assessed using the T-maze, Open field test and forced swimming test. After the behavioral tests, rats were sacrificed and blood samples and brain regions were taken. Biochemical assessments and Elisa tests were made.

HFD group gained more weight than control and HFD+SP450 groups ($p<0.05$). Leptin for HFD significantly higher than control in plasma. HFD for 12 weeks did not induced cognitive impairment in MWM test. The OFT and T-maze test showed no significant difference between groups in distance traveled. In FST, immobile time for HFD group significantly higher than control, HFD+SP150 and HFD+SP450 group ($p<0.05$). No significant difference was found between the groups in Sirtuin-1 levels in the brain regions. TNF- α for HFD+SP450 was lower than control in prefrontal cortex. No significant difference was found amygdala and hippocampus.

The result of our study shows chronic high fat diet and SP treatment does not affect learning and memory function. *Spirulina* treatment positively affects chronic high fat-induced depressive behavior without affecting Sirtuin-1 levels.

Key words: behaviour, high fat diet, obesity, sirtuin-1, spirulina

Page Number: 86

Advisor: Prof. Dr. Müge Kiray

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre çocukluk çağında obezite ve fazla kiloluluk prevalansı tüm ülkeleri etkileyen boyutlara ulaşmış ve evrensel bir halk sağlığı problemi haline gelmiştir. Çocukluk çağında oluşan fazla kiloluluk ve obezite yetişkinlikte de devam edip çeşitli komplikasyonlar ve ilişkili hastalık psikopatolojilerine neden olabilmektedir (1). Obezite düşük dereceli bir inflamasyon durumu olarak da tanımlanabilmektedir. Obezite nedenli inflamasyon nöronal süreçlerde değişikliklere neden olarak kognitif bozukluklara, depresyon ve anksiyeteye neden olmaktadır (2). Hayvan modellerinde de yüksek yağlı diyetler ve bilişsel fonksiyon bozukluğu arasındaki ilişki birçok çalışmayla gösterilmiştir. Metabolik hastalıklar nöronal süreçleri etkileyerek önemli davranışsal ve kognitif bozukluklara yol açabilir ayrıca obezite klinik olarak da azalmış hafıza performansı ile ilişkilidir (3,4). Çocukluk döneminde adipozitenin daha zayıf kognitif fonksiyonla ilişkisi gösterilmiştir hayvan modellerinde özellikle kognisyonla ilişkili olan hipokampus gibi beyin yapılarının olgunlaşması için hassas bir dönem olan çocukluk ve adolesan dönemde yüksek yağlı diyet tüketiminin kognitif bozulmaya ve azalmış nörojeneze yol açtığı gösterilmiştir (5,6).

Beyin gelişiminin hassas olduğu bir periyot olan erken yaşta yüksek yağlı ve batı tarzı yüksek yağlı, yüksek şekerli diyetlerle beslenme tam olarak aydınlatılamamış olsa da azalmış nöroenez, bozulmuş sinaptik plastisite, nöroinflamasyon, iştahı etkileyen hormonlar ve leptin gibi hormonlardaki fonksiyon bozukluğu ile ilgili olarak kognitif bozuklukları da beraberinde getirmektedir (7,8). Hayvan modellerinde batı tarzı, yüksek yağlı ve şeker içerikli diyet tüketimlerinin hipokampal disfonksiyon aracılı öğrenme ve bellek bozukluklarına neden olduğu gösterilmiştir (8–10). Hipokampus esas olarak öğrenme ve bellek süreçlerinde rol alan bir beyin bölgesidir ve kısa süreli diyet müdahalelerine bile duyarlıdır (11).

Merkezi sinir sisteminin programlanmasını değiştirebilecek özellikle erken yaşamda yapılan yüksek yağlı diyetle beslenme ve stres gibi müdahaleler yetişkinlikte oluşabilecek psikopatolojilere hassasiyet oluşturur ve ayrıca depresyon gibi duygu durum bozukluklarına da yol açabilir (12). Yüksek yağlı diyete bağlı öğrenme ve

bellek problemlerinin altında yatan mekanizma belirsizdir ancak proinflamatuvar sitokinlerin neden olduğu inflamasyon da bu süreçte rol alabilir (13). Yüksek yağ ve şeker içerikli, yüksek enerjili diyetlerin hipokampusta proinflamatuvar sitokinlerin seviyelerinde artışa yol açtığı dolayısıyla hipokampal inflamasyonla ilişkisi gösterilmiştir (14,15). Obezite önlenebilir bir hastalıktır. Gittikçe artan obezite prevalansının önlenmesi oluşabilecek komplikasyonların ve artan hastalık yükünün azaltılması açısından önemlidir (1).

Sirtuinler histon nikotinamid adenozin dinükleotit (NAD)-bağımlı deasetilazlar ve adenozin difosfat (ADP)-ribozil transferaz faaliyetindeki protein ailelerindendir (16). 7 memeli sirtuini (SIRT1-SIRT7) bulunmaktadır ve Sirtuin-1 (SIRT-1) merkezi sinir sisteminde; özellikle beynin nörodejeneratif durumlara duyarlı olan prefrontal korteks, hipokampus ve bazal gangliya gibi bölümlerine genişçe dağılmış olup en çok çalışılan sirtuindir (17). SIRT-1; hücre farklılaşması (18) yaşlılık (19), sirkadiyen ritm (20), apoptoz (21) metabolizma (22) gibi süreçlerde düzenleyici rol alır. Beyinde SIRT-1 ekspresyonunun bellek ve sinaptik plastisite ile ilişkisi gösterilmiştir (23). SIRT-1 yokluğu anlık bellek, klasik koşullanma ve spasyal öğrenme gibi kognitif fonksiyonların bozulmasıyla ilişkili bulunmuştur ve SIRT-1 hipokampusta öğrenme, bellek ve sinaptik plastisiteyi düzenlemekte olup normal kognitif performans ve sinaptik plastisite için gereklidir (24). Ayrıca obezite ilişkili bellek problemlerinin hipokampusta SIRT-1 ekspresyonu ile ilişkisi gösterilmiştir ve obezite ilişkili bellek bozukluklarında terapötik müdahaleler için SIRT-1'in potansiyel bir hedef olabileceği düşünülmektedir (25).

Spirulina alkali su kaynaklarında yetişen yüksek besin değeri zengin besin içeriği bulunan filamentoz mavi yeşil bir mikroalgdir. Alg B-kompleks vitaminleri, mineraller, proteinler, γ -linolenik asit ve β -karoten, E vitamini gibi antioksidanlar, eser elementler ve biyoaktif bileşikler bulundurduğundan dolayı koruyucu ve tedavi edici özelliğe sahiptir (26,27). Spirulina son yıllarda gıda endüstrisi tarafından ilgi çekmekte ve yiyecek olarak da dünyanın bazı yerlerinde hala devam eden açlık ve malnütrisyonun azaltılması için birincil önem taşır (28,29). Spirulinanın hipolipidemik, antioksidan, antiinflamatuvar, hipoglisemik ve antihipertansif özellikleri çeşitli araştırmalarla gösterilmiştir (30–32). Diyetle bağlı obezitede de hayvan modellerinde anti obezite etkisi gösterilmiştir (33,34).

Bu çalışmanın amacı yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda Spirulina tedavisinin obeziteye, depresyon ve anksiyete gibi davranışsal parametrelere, hipokampus aracılı öğrenme ve belleğe ve hipokampusta SIRT-1 zerine olan etkisini araştırmaktır.

Yüksek yağlı diyetle bağlı obezitede oluşan bellek bozukluklarında SIRT-1'in ilişkisi olabilir. Spirulina yüksek yağlı diyetle bağlı obezite ve bunun neden olduğu öğrenme bellek bozukluğu ve depresyon gibi davranışsal parametrelere antioksidan, antiinflamatuvar özellikleri ile etki gösterebilir. Ayrıca spirulinanın yüksek yağlı diyetle bağlı spasyal bellek bozukluğunda hipokampusta SIRT-1 ekspresyonu üzerine etkisi olabilir. Spirulina obezite ve obezite ilişkili komorbiditelerin önlenmesi için potansiyel bir fonksiyonel gıdadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Obezite

2.1.1 Tanımı ve Epidemiyolojisi

Obezite adipoz dokuda aşırı miktarda triağılglicerol birikimi ile enerji harcamasına kıyasla aşırı enerji alımıyla karakterize bir hastalıktır (35). Dünya Sağlık Örgütüne (DSÖ) göre de obezite ve fazla kiloluluk sağlığı bozabilecek miktarda anormal ve aşırı yağ birikimi olarak tanımlanır (1).

Obezite yaygın olarak beden kitle indeksi (BKI) ölçümü ile belirlenir ve beden kitle indeksi, kişinin kilogram cinsinden ağırlığının metre cinsinden boyunun karesine bölünmesi ile elde edilen basit bir indekstir. Yetişkinler için BKI'nin 25.0 kg/m^2 ve 29.9 kg/m^2 arasında olması fazla kiloluluk, 30 kg/m^2 ve üzerinde olması obezite göstergesidir (1).

Dünya çapında obezite 1980'den bu yana 2 katına ulaşmış ve şu anda yaklaşık dünyanın 3'te biri obez veya fazla kilolu olarak sınıflandırılır. Ülkeler arasında farklı prevelans oranlarına sahip olmasına rağmen obezite tüm yaş gruplarında ve cinsle etnik kökene, sosyoekonomik durum ve coğrafi konuma bağlı kalmaksızın artmıştır (36). 2005'te dünya yetişkin nüfusunun %33'ü fazla kilolu veya obezdir ve artma eğilimi devam ederse 2030'a kadar yetişkin nüfusunun %57.8'inin fazla kilolu veya obez olması beklenmektedir (37).

Türkiye'de ise beden kitle indeksi verilerine göre 15 yaş ve üstü obezite prevelansı 2016'da %19,6'yken 2019 yılında %21,1 olarak belirlenmiştir. 2019 yılında kadınların %24,8'i obez ve %30,4'ü fazla kilolu, erkeklerin ise %17,3'ü obez ve %39,7'si fazla kilolu olarak belirlenmiştir (38). Ayrıca çocukluk çağı obezitesi 21. yüzyılın en önemli halk sağlığı sorunlarından birisidir. 2019'da 5 yaş altındaki 38 milyon çocuk fazla kilolu veya obezdir ve çocukluk çağı obezitesi yetişkinlikte de devam etmeye eğilimli olup çeşitli sağlık sorunlarına yol açtığından ayrıca önemlidir (1).

2.1.2 Obezitenin Etiyolojisi

Obezite en sık enerji tüketiminin enerji harcamasını geçmesiyle pozitif enerji dengesizliği sonucu oluşsa da obezitenin etiyolojisi komplekstir; genetik, fizyolojik, çevresel, psikolojik, sosyal, ekonomik birçok faktörü ve bunların etkileşimlerini kapsar (39). Beslenme alışkanlıkları dışında fiziksel aktivite azlığı, uyku yetersizliği, endokrin bozucular, kilo alımına neden olan ilaçlar gibi çeşitli faktörler obezite epidemisine katılır (40).

Obezite ve fazla kiloluluk; tip 2 diyabet, hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar, bazı kanser türleri, inme, astım gibi çeşitli hastalık komorbiditelerine neden olmakta ve hastalık yükünü artırmaktadır (41). Obezite ayrıca depresyon gibi psikolojik rahatsızlıklarla da ilişkilidir (42).

2.1.3 Yüksek Yağlı Diyet ve Metabolik Etkileri

Yüksek yağlı diyet obezite araştırmaları için laboratuvar hayvanlarında uygulanan insan obezitesi modellerinden biridir (43). Besinlerin aşırı tüketimi ile oluşan metabolik durumlar obezite, insülin direnci, tip-2 diyabet, non-alkolik steatohepatit ve dislipidemidir. Obezitenin yanı sıra hiperglisemi, insülin direnci ve hipertansiyon gibi komorbiditelere yol açan yüksek yağlı diyet metabolik sendrom modeli için de sıklıkla kullanılır (44,45).

Yüksek yağlı diyetle birlikte adipoz doku kütlesi artar ve periferel dokularda inflamasyon gelişir ve organizma boyunca metainflamasyon da denilen düşük dereceli kronik bir inflamasyona neden olur (46). Adipoz dokudaki metabolik ve endokrin değişikliklerle birlikte yüksek yağlı diyet adipoz dokudan tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α), interlökin-1 beta (İL-1 β), interlökin 6 (İL-6) gibi proinflamatuvar sitokinler, serbest yağ asitleri ve leptin salınımına neden olur (47). Karaciğer ve adipoz doku gibi dokularda immün hücrelerin aktivasyonu inflamatuvar mediatörlerin üretimine, doku stresinin güçlenmesine ve dolaşımdaki proinflamatuvar sitokinlerin artışına neden olur (46). Proinflamatuvar sitokinlerin artışının da metabolizma üzerine etkisi vardır ve TNF- α 'nın adipozitlerde lipolizi uyardığı gösterilmiştir (48). Adipoz doku nedenli

insülin direncine sekonder olarak artan lipoliz durumundan serbest yağ asitlerinin artması karaciğerde, kasta insülin direncine neden olur veya insülin direncini şiddetlendirir. Yüksek miktarda lipoliz ile karaciğer, beyin, kas ve pankreasta kronik bir serbest yağ asidi akışı oluşur. Bu da yağ asidi oksidasyonunun bozulmasına ve ektopik yağ depolanmasına neden olup insülin direnci ile karakterizedir (49).

Yüksek yağlı diyet tüketimi ve obezitenin dislipidemiyle ilişkisi gösterilmiştir ve yapılan araştırmalarda yüksek yağlı diyet tüketiminin serum total kolesterol, serum LDL seviyelerinde ve trigliserid miktarında artış ve HDL düzeyinde azalışa neden olduğu belirtilmektedir (50,51).

Kalori alımı, enerji harcaması, periferik glikoz, yağ metabolizması merkezi sinir sisteminde nöronal olarak düzenlenir (52). Obezogenik diyetler enerji homeostazını düzenleyen hipotalamusta periferik dokulardan önce gelen inflamatuvar bir duruma neden olur. İnsülin ve adipoz dokudan salgılanan leptin hormonu hipotalamusta arkuat nükleusta enerji homeostazının düzenlenmesine katılır. Obezite ve metabolik sendromda gelişen insülin ve leptin sinyallerine direnç besin ve kilo alımının artmasına neden olur (53,54).

2.1.4. Leptin

'Obese' gen olarak adlandırılan leptin adipositlerden salgılanan protein yapıda bir hormondur (55). İnsan leptin geninin mutasyonunda erken başlangıçlı morbid obeziteye neden olduğu gösterilmiştir (56). *Ob* proteinin, adipoz doku kütleini düzenlediği; diyet kaynaklı obez farelerde periferik leptin uygulanmasıyla kilo kaybı sağlandığı ancak bu farelerin zayıf farelere göre daha duyarlı oldukları ve bunun leptin direncine bağlı olduğu gösterilmiştir (57). Endokrin işlev de gösterdiği farkedilen leptin hipotalamusa negatif geri besleme ile etki eder ve enerji alımını düzenleyerek obezitenin patogeneğinde önemli rol alır (58). Adipoz dokunun yanı sıra bu hormonun akciğerler, bağırsaklar, böbrek, karaciğer, cilt, mide, kalp, dalak ve çeşitli organlarda da eksprese edildiği gözlenmiştir (59). Dolaşımdaki leptin seviyesi vücut yağ kütlesiyle ilişkilidir ve obezlerde yüksek olduğu görülmüştür (60).

Leptin kan beyin bariyerini geçerek hipotalamik nükleusta anoreksik etkiyi artırması ve oreksijenik aktiviteyi baskılamasıyla iştahın ve besin alımının azalmasını ve enerji harcamasının artmasını sağlar. Enerji alımının ve beslenme davranışının nöronal olarak düzenlenmesine beyinde bulunan reseptörleri aracılığıyla katılır (61).

2.1.5 Yüksek Yağlı Diyet ve Nöronal ve Davranışsal Etkileri

Yüksek yağlı beslenme beyinde nörokognitif bozukluklara neden olur ayrıca diyet kaynaklı obezite depresyon gibi davranış bozuklukları ile ilişkili bulunmuştur (62,63). Özellikle gelişimsel periyot olan erken dönemde yüksek yağlı diyet tüketimi gibi erken yaşam müdahaleleri yetişkinlikte depresyon gibi psikopatolojilere yatkınlığı artırıp uzun süreli kalıcı etkilere yol açabilir (12). Önemli miktarda araştırmaya göre adolesan/jüvenil dönemde yüksek yağlı diyet tüketimi yetişkinlikte hipokampal bellek ve nöronal işlevler üzerinde negatif etkilere sebep olur (64). Adölesan dönem yüksek yağlı diyetin zararlı nörokognitif etkilere hassasiyetini artıran bir dönemdir ve bu etkiler diyet kompozisyonu, diyetin süresi, başlama yaşı, test yaşı ve farklı bellek ölçümleri gibi çalışmalar arası farklılıklara rağmen yaygın olarak gözlemlenmektedir (7).

Jüvenil dönemde de yüksek yağlı diyetin proinflamatuvar sitokinleri artırıp spasyal öğrenme ve bellekte bozulmaya neden olduğu gösterilmiştir (14).Yüksek yağlı diyet nedenli kognitif bozukluklarda esas olarak ileri sürülen mekanizmalar; azalmış nöroenez, nöroinflamasyon, değişmiş sinaptik plastisite, leptin gibi iştah düzenleyen hormonların fonksiyon kaybıdır (7,65).

Yüksek yağlı diyet beyinde morfolojik değişimlerle depresyon benzeri davranışlara neden olur (66).

2.2 Öğrenme ve Bellek

Öğrenme dünya hakkında yeni bilgi edinilmesi ile ilgili biyolojik süreçleri kapsarken ilgilien bellek ise bilginin alınıp depolanıp daha sonra yeniden hatırlanması ve yeniden yapılandırılması ile ilgilidir (67). Öğrenme ve bellek birbirleriyle alakalı olup insan ve hayvanların bağımsız bir şekilde yaşayabilmesi için önemlidir. Öğrenme ve bellek bu açıdan davranışsal olarak da değışen çevresel etkenlere uyum sağlamayı sağlar. Beyinde öğrenme ve bellek işlevinin oluşumunda ve belleğin alt türlerine göre birbirleriyle de ilişkili olarak değışik rollere sahip birçok beyin yapısı ve yolak bulunmaktadır (68,69).

2.2.1. Bellekte Rol Alan Beyin Bölgeleri

Bellek işlevlerinde beyinde birçok bölge ve yolağın rolü bulunmakta olup özellikle de medial prefrontal korteks, amigdaloid nüklear kompleks, hipokampal formasyon, nükleus akübensten oluşan limbik sistemin de rolü vardır (70). Bu yapılar arasından hipokampal formasyon uzun süreli bellek oluşumu ve bilginin depolanmasına katılır. Medial temporal lobta yer alan hipokampal kompleksinde hasar bulunan hastalarda geriye dönük hafıza kaybı geliştiğı ve bunun yaşam boyu da devam edebildiğı görülmüştür. Ayrıca yapılan çeşitli hayvan çalışmalarıyla da hipokampal formasyonun ve alakalı yapıların bellek oluşumuna katıldığı gösterilmiştir (71).

Limbik sistemin bir parçası olan amigdala da bilgi işleme sürecinin farklı aşamalarında ortaya çıkabilen emosyonel belleğe aracılık eder ve emosyonel deneyimlerin uzun süreli belleğe dönüşümünde önemli yer alır (72).

2.2.2 Bellek Türleri

Bellek türleri genel ve en yaygın olarak kısa süreli bellek, orta- uzun süreli bellek ve uzun süreli bellek olarak sınıflandırılır. Kısa süreli bellek türü, saniyeler ve dakikalarla ölçölüp orta- uzun süreli bellek günler ve haftalar arası bir süre ile uzun süreli bellek türünde ise anı yıllarca ve yaşam boyunca hatırlanır (73).

2.2.2.1. Kısa Süreli Bellek

Kısa süreli bellek duysal bilgilerin kısa dönem belleğe dönüştürülmesi ve saniyelerle saatler arası bir zaman diliminde hatırlanması ile ilgilidir. Kısa dönemli belleğin oluşumu sinapslarda oluşan geçici kimyasal değişikliklerle ilişkilidir ancak protein sentezi ve yapısal değişiklikleri içermez. Öğrenme sürecinin başlangıç fazı nöronal mekanizmada protein sentezini içeren yapısal değişiklikler oluşmadan kısa dönemli bellek oluşumudur (74).

Kısa dönemli bellek oluşumu sinaptik iletideki kısa süredeki değişiklikler, sinaptik bağlantının güçlenmesi ve presinaptik nöronlardan nörotransmitterlerin salınması yoluyla gerçekleşir (67).

2.2.2.2 Uzun Süreli Bellek

Bilginin edinildikten sonra günler, haftalar, aylar ve yıllar gibi bir süreçte kalıcı olarak uzun süreli depolanması ve saklanması uzun süreli belleğin oluşumunun altında atan moleküler mekanizmalarına bağlıdır. Uzun dönemli bellek oluşumu gen transkripsiyonu, yeni protein oluşumu gibi yapısal değişiklikler ve sinaptik güçlenme gibi nöronal ağlarda yeniden düzenlenmeyi içerir (74,75).

Uzun süreli bellek olaylar, gerçekler, insanlar, yerler ve nesnelerle ilişkili olan deklaratif bellek (eksplisit bellek) ve algısal ve motor becerilerle ilişkili olan non-deklaratif bellek (implisit bellek) olarak da 2 major tipe ayrılır (68).

2.2.2.2.1 Deklaratif Bellek (Eksplisit Bellek)

Deklaratif bellek, yerler, meydana gelen olaylar ve gerçeklerle ilgili olan bilgilerin hatırlanmasıdır. Deklaratif bellek oluşumu bilinçli farkındalığı gerektirir ve özellikle hipokampus deklaratif bellek oluşumuna katılır. Epizodik bellek ve semantik bellek olarak ikiye ayrılmaktadır. Semantik bellek genel bilgiler ve gerçeklerle ilgili bilgilerin hatırlanması olup epizodik bellek meydana gelen olaylardan oluşur (67,76).

2.2.2.2 Non-Deklaratif Bellek (*İmplisit Bellek*)

Deklaratif olmayan bellek bilinçli farkındalığı gerektirmez ve eksplisit bellek gibi hipokampusa bağlı olmayıp neokorteks, serebellum, striatum, amigdala gibi beyin yapılarına ve bazı omurgasız hayvanlarda refleks yollarına bağlıdır. Non-deklaratif bellek beceri ve alışkanlıkları içeren prosedürel öğrenme, algısal öğrenme, emosyonel yanıtları ve iskelet yanıtını içeren klasik koşullanma ve refleks yollarını içeren non-asosiyatif bellek başlıkları altında sıralanabilir (68).

2.3 Depresyon

Depresyon yüksek prevalans oranlarına sahip en sık rastlanan psikiyatrik bozukluklardandır. Depresyonun belirtileri başlıca çökkünlük, ilgi ve istek azalması ile yorgunluk, değersizlik ve suçluluk gibi düşüncelere sahip olma, iştahsızlık, uyku bozukluğu gibi psikofizyolojik bozukluklar ile karakterizedir. Depresyon kronikleşme eğilimi gösterip intihar vakalarına da neden olabildiğinden toplum sağlığı açısından oldukça önemlidir (77).

2.3.1 Depresyonun Epidemiyolojisi

Küresel olarak depresyondan her yaştan toplam 264 milyondan fazla insan etkilenmektedir (78). Metaanaliz çalışmasına göre de yaşam boyu yaygınlık oranı %10.8 bulunmuş olup kadınlarda daha yüksek prevalansa sahiptir (79).

2.3.2 Depresyonun Etiyolojisi

Depresyonun etiyolojisi ve oluşma mekanizması sıklıkla araştırılmasına rağmen henüz aydınlatılamamıştır. Depresyonun genetik, biyolojik ve psikososyal etkenlerin etkileşimine bağlı olarak gelişmesi olasıdır. En yaygın olarak görülen psikiyatrik bozukluklardan olan major depresyon bozukluğun (MDB) gelişimine genetik, nörolojik, immünolojik, hormonal, nöroendokrinolojik mekanizmalar gibi biyolojik faktörler, çevresel ve kişisel yatkınlıklar ve eşlik eden hastalıklar katılır (80,81).

2.3.3 Depresyon ve Obezite

Meta analiz çalışmalarına göre depresyon ve obezite arasında pozitif korelasyon vardır. Depresyon ve obezite ilişkisi çift yönlü olup ortak biyolojik mekanizmalar ve bunların aydınlatılması tedavisi açısından önem taşımaktadır. Depresyon ve obezite komorbiditesine genetik etkenler, hipotalamo-pitüiter-adrenal (HPA) aksının hiperaktivasyonu, leptin-melanokortin yolağı ve insülin yolağındaki değişimler gibi nöroendokrinolojik mekanizmalar ve merkezi sinir sistemindeki iştah ve homeostatik mekanizmalardaki biyolojik değişiklikler neden olabilir (82).

2.4 Sirtuinler

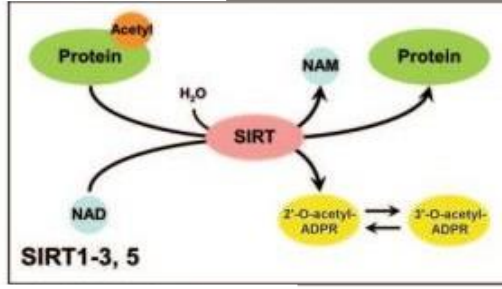
Sirtuinler, transkripsiyonda önemli bir rol alan histon deasetilaz ailesi içinde yer alırlar ve her deasetilasyon döngüsü boyunca bir NAD⁺ molekülü kullanan histon III tip deasetilazlardır (83) (Şekil 1). Sirtuinler katalitik yapıda bir çekirdekle (NAD bağlayıcı) terminal bölümlerinde farklılık bulunan bir alandan oluşur. Memelilerde sirtuinlerin SIRT1-7 olarak adlandırılan 7 tipi vardır. Sirtuinler hücre içinde farklı bölümlerde bulunur (Tablo 1). SIRT1, SIRT6 ve SIRT7 başlıca nükleusta yerleşmiş olup bu yüzden epigenetik olarak gen ekspresyonlarını etkiler. SIRT2 başlıca sitoplazmada bulunur (84). SIRT3, SIRT4 ve SIRT5 ise mitokondride bulunmakta olup başlıca metabolizma, apoptoz ve hücre sinyalinde rol alır (85). Sirtuinler biyolojik olarak kromatin yapısı ve transkripsiyonu, apoptoz ve hücre yaşamı, DNA onarımı, iyon kanalı düzenlenmesi, gelişim, inflamasyon, enerji metabolizmasının düzenlenmesi gibi önemli fonksiyonlara katılır (16).

Sirtuinlerin fonksiyonları hücrel metabolizma ile bağlantılı olup sirtuinler sadece enerji durumunun algılayıcı olarak değil ayrıca metabolik streslere karşı hücreleri koruyucu fonksiyona sahiptir (22).

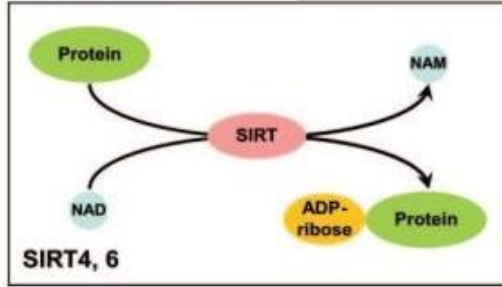
Tablo 1. Sirtuin proteinlerinin lokalizasyon ve fonksiyonları (86).

Sirtuinler	Hücre İçindeki Lokalizasyonu	Aktivitesi	Fonksiyonu
SIRT 1	Çekirdek Sitoplazma	Deasetilaz	Fakültatif ve yapısal kromatin oluşumu Mitokondriyal Biyogenez Yağ asidi oksidasyonu Kolesterol ve safra asit homeostazının düzenlenmesi
SIRT 2	Sitoplazma Nükleus (geçici olarak)	Deasetilaz Demiristolaz	Hücre döngüsü düzenlenmesi Adipositlerde lipolizi artırma Tümör baskılama ve artırma Nörodejenerasyon
SIRT 3	Mitokondri	Deasetilaz Dekrotonilaz	Mitokondriyal aktivitenin düzenlenmesi Oksidatif strese karşı koruyucu Tümör baskılayıcı
SIRT 4	Mitokondri	ADP-ribozilaz Lipoamidaz	Glikoz metabolizması Amino asit katabolizması Tümör baskılayıcı
SIRT 5	Mitokondri Sitoplazma Nükleus	Deasetilaz Demalonilaz Desüksinilaz Deglutarilaz	Üre döngüsü Yağ asidi metabolizması Amino asit metabolizması
SIRT 6	Çekirdek	ADP-ribozilaz Deasetilaz Deačilaz	DNA onarımı Glikoz ve lipid metabolizması İnflamasyon
SIRT 7	Çekirdek	Deasetilaz	Ribozom biyogenezi Tümör başlatıcı

Deasetilasyon



ADP-Ribozilasyon



Şekil 1. Sirtuinlerin enzimatik aktivitesi; Deasetilasyon ve ADP Ribozilasyon (87).

2.4.1 SIRT1 Yapısı ve Fonksiyonu

SIRT1 proteini en çok araştırılan ve en iyi tanımlanan sirtuinlerdendir. SIRT1 karaciğer, kas, adipoz doku, kalp, endotelyum gibi çeşitli hedef dokularda tanımlanmış olup güçlü deasetilasyon aktivitesi ile metabolik olarak önemli bir role sahiptir (22).

SIRT1 hem yapısal hem fakültatif kromatin oluşumunda görev alır ve kanser oluşumunda baskılayıcı ve başlatıcı olarak 2 farklı role sahiptir (88). SIRT1 enerji metabolizması ve stres cevabı gibi önemli hücresel işlevlere katılır (89).

SIRT1 nöronal gelişim boyunca yapısal olarak beyin morfolojisini etkiler. Sinaptik plastisiteyi etkileyerek bellek oluşumuna katılır ve hipotalamik olarak da beslenme davranışını, endokrin fonksiyonu ve sirkadiyen ritmi düzenler. Alzheimer, Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklar, anksiyete ve MDB gibi yaygın psikiyatrik bozukluklarla da ilişkisi bulunmaktadır (90).

Transgenik ve nakavt fare modellerinde insülin hassasiyeti, hepatik lipid metabolizması, pankreatik insülin salgılanması, yağ hücrelerinin olgunlaşması ve yeniden modellenmesi, inflamatuvar cevap, sirkadiyen gen ekspresyonunda oluşan

değişiklikler SIRT1'in sistemik enerji homeostazının düzenlenmesinde önemli rolünü gösterir (89).

SIRT1 aktivitesindeki azalma diyet nedenli kognitif bozulmaya eşlik edebilir ve uzun dönemli yüksek enerjili diyet nedenli bellek bozukluklarında SIRT1 aktivitesini artıran moleküllerin araştırılması ve keşfi bu yüzden önemlidir (91).

Resveratrol ve kalori kısıtlaması SIRT1 aktivitesinde artışa ve azalmış reaktif oksijen türleri, korunmuş mitokondriyal fonksiyon ve genişlemiş insülin büyüme faktörü sinyal yolağına neden olmaktadır (92). Nöronal gelişim sırasında SIRT1'in aksonal uzama, nörit büyümesi, dendritik dallanmayı teşvik ederek beyin yapısını etkilediği gösterilmiştir. SIRT1 sinaptik plastisiteyi düzenleyerek hafıza oluşumuna da katılabilir. Ayrıca SIRT1 Alzheimer, Parkinson, motor nöron hastalıklarını kapsayan çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda koruyucu bir role sahiptir (90). Yapılan çalışmalar sirtuin protein ailesinin enerji metabolizması ve inflamasyon ile ilgili önemli bağlantılarını ortaya koymuştur (93,94). SIRT1 metabolizmayı artırma etkisi bulunan PGC1 α 'yı aktive eder ve resveratrol gibi moleküller ile aktive edilmesinin yüksek yağlı diyetin neden olduğu metabolik bozukluklara karşı koruyuculuğu gösterilmiş olup metabolik sendromun tedavisinde de SIRT aktivasyonunun yeni bir strateji olabileceği düşünülmektedir (95).

2.5 Spirulina Platensis

Spirulina filamentöz mavi yeşil alg olup çoğu türleri dünyada bilinen en eski yaşam olan 3,5 milyon yıldan beridir değişmeden kalan siyanobakteri türüne aittir ve bazı Afrika toplumları tarafından gıda olarak da tüketilmiştir. Spirulina doğal olarak alkali sularda yetişir ve ayrıca kontrollü koşullarda üretilebilir. Spirulina Maxima ve Spirulina Platensis besin endüstrisinde takviye amaçlı ve araştırmalarda da en yaygın kullanılan türleridir. Spirulina Platensis özellikle Afrika'da yayılmış olup Spirulina Maxima türü Meksika'ya özgüdür (26).

2.5.1 Spirulinanın Besinsel Değeri ve Yapısı

Spirulina, protein, çeşitli vitamin ve mineraller, polisakkaritler, esansiyel aminoasitler ve esansiyel yağ asitleri içeren yüksek besin değeri olan bir mikroalgdır ve %60-70 protein içeriğiyle soyanın iki, et ve balığın 3 kattan daha fazlası protein içeriğine sahip bitki kökenli olarak da bilinen en zengin içeriğe sahip gıdalardandır (26,27). Spirulina hücre duvarlarında selüloz bulundurmaz bu nedenle kolay sindirilebilir ve sindirilebilirliği %85-90'dır. Spirulina yüksek miktarda B vitamini, kalsiyum, magnezyum, demir, manganez, potasyum, çinko ve fikosiyenin gibi çeşitli bileşenlere sahiptir. Spirulina daha yüksek oranda omega-6 olmak üzere omega-3 ve omega-6 gibi esansiyel yağ asitleri ve esansiyel amino asitleri içerir (96,97). Spirulina ayrıca A vitamini kaynağıdır (98). Spirulinanın yüksek β -karoten içeriği ile özellikle serbest radikallere karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (99). Spirulina doğal bir B12 vitamini kaynağıdır bu da özellikle vejeteryanlar ve değişen besin alışkanlığı ve sağlık durumlarına göre ihtiyacı olan bireylerde günlük B12 vitaminin karşılanması için önemlidir (100). Spirulina α -tokoferol içerir (101). Spirulina fikosiyenin olarak adlandırılan bir protein-pigment kompleksi içerir. Fikosiyenin in vitro ve in vivo çalışmalarda serbest radikallere karşı etkili olduğu gösterilmiştir ve bu da Spirulinanın antioksidan ve antiinflamatuvar özelliğini açıklar (102,103).

Spirulina akut, kronik veya subkronik bir toksisiteye neden olmamaktadır. Malnütrisyonu veya besin yetersizliği olan çocuklarda Spirulina tedavi edici olarak kullanılabilecek fonksiyonel bir gıdadır (28,97).

2.5.2 Spirulinanın Obezite Üzerine Etkisi

Spirulinanın antiobezite etkisi çeşitli çalışmalarla gösterilmiş olup bir metanaliz çalışmasında spirulinanın vücut ağırlığı, vücut yağ yüzdesi ve bel çevresini düşürmede anlamlı olarak etki gösterdiği ortaya konmuştur (104). Bir hayvan çalışmasında yüksek yağlı diyetle bağlı obez ratlarda Spirulina AMPK (adenozin monofosfat aktive edilmiş proein kinaz) ve SIRT1 yolağının aktivasyonu ile vücut ağırlığı gibi parametrelerle obez fenotipinde iyileşme serum metabolik parametrelerinde düzelme ve adipozit büyüklüğünde azalmayı sağlamıştır (34).

Obeziteye inflamatuvar süreç eşlik eder ve obezite düşük dereceli bir inflamasyon durumu olarak da düşünülebilir (46). Spirulinanın antiobezite etkisi de fenolik bileşikler, fikosiyanın, β -karoten gibi içeriklerinin sağladığı antioksidan, antiinflamatuvar ve immün düzenleyici etki ile olabilir (104).

2.5.3 Spirulinanın Antidiyabetik Etkisi

Spirulinanın glikoz düzeyleri üzerine etkisi bulunmaktadır. Diyabetik ratlarda hiperglisemi, oksidatif stres ve alloxan nedenli karaciğer hasarı spirulina suplementasyonu ile düzelmiştir (105). Yüksek yağlı ve şekerli diyetle beslenen ratlarda 8 haftalık spirulina suplementasyonu bozulmuş glikoz toleransını düzeltmiştir (106).

Bazı çalışmalarda diyabetin oksidatif stresle birlikte pankreas langerhans adacıklarında bütölme ve adacıklarda azalmaya neden olduğunu göstermiştir. Ratlarda diyabet nedenli pankreas β hücrelerinin azalmasında spirulina suplementasyonu apoptozu engellemiştir ve glikoneogeneze karşı savaşarak glikoz düşürücü etki göstermiştir, benzer bir çalışmada da yine diyabet nedenli pankreas langerhans adacıklarındaki değişimler Spirulina suplementasyonu ile düzelmiş ve β hücrelerinden insülin salınımı artmıştır (32,107).

Spirulinanın önemli bileşenlerinden olan C-fikosiyanın insüline dirençli hepatositlerde hepatik glikoneogenezi azalttığı ve glikojen sentezini artırarak hepatik insülin direncini düzenlediği gösterilmiştir (108). 2 ay boyunca haftada 2 kez 500 mg/kg Spirulina Platensis uygulaması streptozotocin nedenli diyabette serum glikozunu anlamlı olarak düşürmüş ve serum insülinini anlamlı olarak artırmıştır. Spirulina antidiyabetik etkisini oksidatif stresi düşürerek ve antioksidan enzimleri artırarak göstermiştir (32).

2.5.4 Spirulinanın Beyin ve Bilişsel Fonksiyonlara Etkisi

Maternal protein malnütrisyonunun beyin gelişiminde negatif etkilere yol açtığı ve depresyon ve anksiyete gibi davranışsal bozukluklara da yol açtığı gösterilmiştir (109). Ratlarda maternal protein malnütrisyonuna karşı gebelik ve laktasyon döneminde Spirulina uygulanması yavrularda yavru boyu, ağırlığını artırmış ve maternal protein malnütrisyonunun yavrularda neden olduğu spasyal öğrenme ve bellek bozuklukları spirulina suplementasyonu alınması ile engellenmiştir (110).

İnflamasyonun neden olduğu nöronal süreçlerde bozukluklara karşı Spirulinanın nöroprotektif etkisinin antiinflamatuvar ve antioksidan özellikleriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir (111). Literatürde çeşitli çalışmalarla da spirulinanın bu süreçlerdeki nöroprotektif etkisi gösterilmiştir. Lipopolisakkarit uygulanan ratlarda Spirulina ile zenginleştirilmiş diyet hipokampüste progenitör/kök hücrelerdeki lipopolisakkarit nedenli azalan proliferasyonu artırmıştır (112).

Parkinson hastalığı modelinde de spirulinanın nöroinflamasyonla savaşarak nöroprotektif özellikler gösterdiği ortaya konmuştur (111,113). Spirulinanın içerdiği C-fikosiyanin ratlarda antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleriyle glial hücre aktivitesini düzenleyerek akut nörotoksositeye karşı koruyuculuğu gösterilmiştir (114).

Yaşlanma nedenli β adrenerjik reseptörlerindeki bozulma Spirulina suplementasyonu ile düzelip, yaşlanma nedenli artan proinflamatuvar sitokinler Spirulina uygulanması ile anlamlı olarak azalmıştır (115). Hepatoksisite oluşturulan ratlarda spirulinanın antiinflamatuvar ve antioksidan etkileri gösterilmiştir (116). Spirulina antihipertansif de etkiye sahiptir (30). Bir çalışmada spirulinanın içeriğindeki fikosiyaninin antihipertansif etkisi gözlenmiştir (117).

2.6 Deney Hayvanlarında Öğrenme Bellek ve Davranışın Değerlendirilmesi

2.6.1 Morris Su Tankı

Morris su tankı testi RICHARD G. MORRIS tarafından 1981'de sıçanlarda spasyal belleği değerlendirmek amacıyla tanımlanan bir testtir. Test dairesel içi opaklaştırılmış su dolu ve gizli bir kaçma platformu bulunan su tankına bırakılan

ratların tekrarlı denemeler sonunda kaçma platformunu öğrenmesine dayanır (118). Morris su tankı testi, sıçan ve farelerde spasyal bellek, uzun dönemli spasyal bellek ve hipokampal öğrenmenin değerlendirilmesi için sıklıkla kullanılmaktadır (119). Öğrenme ve belleğin değerlendirilmesi için sıklıkla kullanılan pasif sakınma gibi diğer modellere göre Morris su tankı test modeli daha fazla avantaja sahiptir ve bu yüzden öğrenme ve bellek araştırmalarında ‘altın standart’ haline gelmiştir. Ayrıca su tankı testi hipokampus disfonksiyonunun değerlendirilmesi için kullanılabildiği için araştırmacılar tarafından öğrenme ve bellek sistemlerinin çalışılmasına olanak tanır. (120). Sıçanlarda hipokampal sinaptik plastisitede değişikliklerin bozulmuş morris su tankı performansına neden olduğu gösterilmiştir (121).

2.6.2 Açık Alan Testi (Open Field Test)

Açık alan testi duygusal davranış durumlarının ölçümü ve değerlendirilmesi için tasarlanan bir testtir. Yabancı ve yeni bir uyarana maruz kalınmasıyla donma davranışı sergilenir ve otonom sinir sistemi tetiklenir. Böyle bir durumda hayvanlar emosyonel olarak yeni bir uyarana birlikte hareket edemez ve defekasyon sayısı artar (122).

Prosedür dairesel, kare veya dikdörtgen ışılandırılmış bir alana yerleştirilen hayvanların 2-20 dk arası ve genellikle 5 dk olmak üzere stresli bir durum karşısındaki davranışını horizontal hareketleri, şahlanma, kendi kendini temizleme frekanslarının ölçümünün kaydedilmesine dayanır. Hayvanlar böyle bir durumda merkeze göre alanın kenarlarında durmayı tercih ederler ve merkez alanda geçirilen zamanın artması ve merkez alana giriş latansının azalması anksiyozisi gösterir. Anksiyolitik tedaviler keşfetme davranışının stres nedeniyle inhibisyonunu azaltırlar (123).

2.6.3 Yükseltilmiş Artı Labirent Testi (Elevated Plus Maze Test)

Yükseltilmiş artı labirent testi yükseltilmiş 2 açık ve 2 kapalı kola sahip artı şeklindeki bir düzenden oluşur. Hayvanların normalde kapalı kollarda daha fazla zaman geçirme eğilimi vardır ve açık kollardan daha sık olarak kapalı kollara girerler bu da korku ve anksiyete ile açık kollardan kaçınma davranışını yansıtmaktadır (124). Anksiyete davranışı yeni ve farklı bir ortama konulan hayvanın keşif davranışı ile

ölçülür. Yükseltilmiş artı labirent testinde orta alandan bırakılan hayvan 5 dakika boyunca gözlemlenir ve hayvanın açık kollara giriş, açık kollarda kalma süresinin yüzdesi ve açık kollarda toplam kalma süresi gibi parametrelerle anksiyete davranışı değerlendirilir. Genel aktivitenin ölçülmesi için kapalı kollara giriş de değerlendirilir. Anksiyolitik ilaçlar ile hayvanların açık kollarda geçirilen zaman oranının arttığı anksiyojenik ilaçlar ise bu ölçümün azaldığı görülmekte olup yükseltilmiş artı labirent testi hem anksiyolitik hem de anksiyojenik etkinin değerlendirilmesini sağlayabilir (125,126).

2.6.4 Zorlu Yüzme Testi (Forced Swim Test)

Porsolt testi olarak da adlandırılan zorunlu yüzme testi depresyon araştırmalarında ve antidepresanların etkinliğini ölçmek için hayvanlarda sıklıkla kullanılan bir depresyon test modelidir. Zorlu yüzme testinde içi su dolu silindir bir kaba konulan sıçan veya farenin belirli bir süre içerisinde yüzme davranışı ve hareketsiz kalma süresi gibi parametrelerin ölçülmesine dayanır. Stresli ortama maruz kalmış olan hayvanlar öğrenilmiş çaresizliğe benzer şekilde bir süre sonra kaçma çabasını sona erdirir. Hareketsiz kalıncaya kadar olan süre ve hareketsizlik süresi depresyon davranışının yorumlanmasını sağlar. Antidepresan tedavi ile hareketsiz kalıncaya kadar geçen sürenin uzaması ve hareketsizlik süresinin azalmasıyla antidepresan etkinlik gözlenir (127,128).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Araştırmanın Tipi

Deneyisel bir çalışmadır.

3.2 Araştırmanın Yeri ve Zamanı

Araştırma, Dokuz Eylül Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı Deney Araştırma laboratuvarında Aralık 2019- Mayıs 2021 tarihleri arasında gerçekleştirildi (Tablo 2).

Tablo 2. Araştırma Planı ve Takvimi

Projelerin planlanması	Mart 2019-Haziran 2019
Etik Kurul Onayı	Mayıs 2019- Temmuz 2019
Bap Projesi Giriş ve Onayı	Temmuz 2019 -Ocak 2020
Sarfların ve analizler için gerekli malzemelerin alımı	Mart 2020 -Aralık 2020
Deney gruplarında yüksek yağlı diyet uygulanması	Nisan 2020- Temmuz2020
Deney hayvanlarına Spirulina uygulaması	Haziran 2020 – Temmuz 2020
Davranış deneyleri	Temmuz 2020
Biyokimyasal ve moleküler deney aşamaları	Eylül 2020- Kasım 2020
Bulguların değerlendirilmesi ve istatistiksel analizler	Ekim 2020- Ocak 2021
Tez ve Yayın Yazımı	Kasım 2020- Mayıs 2021

3.3 Araştırmanın evreni ve örnekleme

Araştırma deney hayvanları ile yapıldığından araştırmanın evreni ve örnekleme yoktur.

3.4 Çalışma materyali

Araştırmada Dokuz Eylül Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı Deneysel Araştırmalar Birimi laboratuvarından temin edilen aynı yaş grubundan 28 adet Sprague Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık siklusunda ve $22\pm2^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta standart kafeslerde standart koşullarda barındırılmıştır. Sıçanlar kontrol yemi ve yüksek yağlı diyet ile ad libitum olarak beslenmiştir. Sıçanların ağırlıkları haftalık olarak kaydedilmiştir.

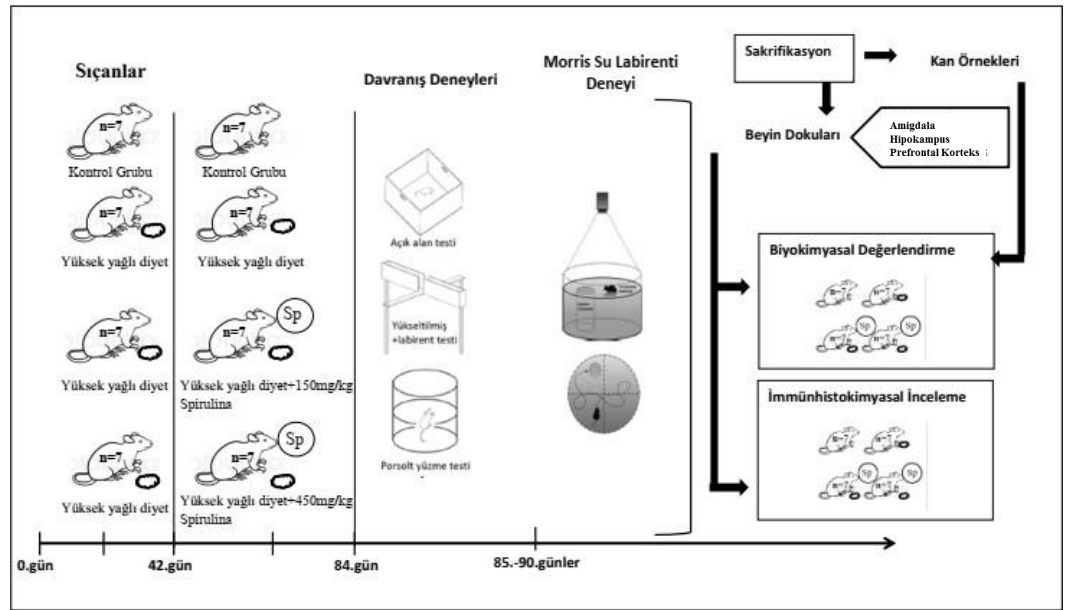
3.5 Araştırmanın Değişkenleri

Bağımlı değişkenler: Öğrenme ve bellek, depresyon ve anksiyete değerlendirme test sonuçları, plazmada leptin ve HDL, LDL, doku leptin, TNF- α ve SIRT-1 ölçümleri

Bağımsız değişkenler: Yüksek yağlı diyet ve Spirulina uygulamaları

3.6. Veri Toplama Araçları

Çalışmanın akış şeması Şekil 2’de gösterilmiştir.



Şekil 2. Çalışmanın akış şeması

3.6.1 Çalışma Grupları

Toplam 28 sıçan rastgele seçilerek 7'şer olarak 4 gruba ayrılmıştır. Grup dağılımları şu şekildedir:

Grup Kontrol (K): Sıçanlar 12 hafta ve Morris su tankı testi boyunca ad libitum olarak standart kontrol yemi ve çeşme suyu aldı. Ayrıca ilk 6 hafta sonundan deney sonuna kadar sıçanlara gavajla 2 ml salin verilmiştir.

Grup Yüksek Yağlı Diyet Grubu (YYD): 12 hafta boyunca ve Morris su tankı testi boyunca yüksek yağlı diyetle beslendi ve ilk 6 hafta sonundan deney sonuna kadar sıçanlara gavajla 2 ml salin verilmiştir.

Grup Yüksek Yağlı Diyet + 150 mg Spirulina Grubu (YYD+SP150): 12 hafta boyunca ve Morris su tankı testi boyunca yüksek yağlı diyetle beslendi ve ilk 6 hafta sonundan deney sonuna kadar sıçanlar 150 mg/kg/gün Spirulina 2 ml salinde çözdürülerek gavajla verilmiştir.

Grup Yüksek Yağlı Diyet + 450 mg Spirulina Grubu (YYD+SP450): 12 hafta boyunca ve Morris su tankı testi boyunca yüksek yağlı diyetle beslendi ve ilk 6 hafta sonundan deney sonuna kadar sıçanlara 450 mg/kg/gün Spirulina 2 ml salinde çözdürülerek gavajla verilmiştir.

3.6.2 Yüksek Yağlı Diyet Uygulaması

Hayvan yemleri deney başlamadan önce Arden Araştırma Deneysel Tıp Malzemeleri firmasından standart ve yüksek yağlı yem şeklinde 2 çeşit olarak temin edilmiştir (Tablo 3-4). Sıçanlar deney süresince ad libitum olarak beslenmiş ve düzenli olarak günlük yem alımları hesaplanmıştır. Sıçanlar 12 hafta boyunca ve davranış testleri süresince diyet içeriği %60 yağ, %20 protein ve %20 karbonhidrat olan yüksek yağlı yem ve standart kontrol yemi ile beslenmiştir.

Tablo 3. Yüksek yağlı diyet yemi içeriği.

YÜKSEK YAĞLI YEM ENERJİ- BESİN ÖĞELERİ (%)		
Besin Yapı Taşları	Gr (%)	Kcal (%)
Protein	26.2	20
Karbonhidrat	26.3	20
Yağ	34.9	60
YEM İÇERİĞİ		
Casein, 30 Mesh	200	2000
L-Cystine	3	30
Mısır Nişastası	0	0
Maltodekstrin		500
Sükroz	125	275,2
Selüloz, BW200	68.8	200
Soya fasulyesi yağı	50	
Palmiye yağı	245	1080
Mineral karışımı S10026	10	40
Dikalsiyum Fosfat	13	52
Kalsiyum karbonat	5,5	22
Potasyum sitrat,1 H2O	16,5	66
Vitamin karışımı V1001	10	40
Kolin Bitartrate	2	8
Toplam	773.8	3095,2

Tablo 4. Standart kontrol yemi içeriği.

TAM YEM ENERJİ- BESİN ÖĞELERİ (%)	
Ham Protein (%)	24
Ham Selüloz (%)	2,8
Ham Yağ (%)	5,5
Ham Kül (%)	7,48
Kalsiyum (%)	1,1
Fosfor (%)	0,76
Magnezyum (%)	0,23
Lizin (%)	1,38
Methionin (%)	0,63
Sistin (%)	0,41
A vitamini (iu/kg)	35000
D vitamini (iu/kg)	6500
E vitamini (mg/kg)	90
Hammaddeler	Soya küspesi, bonkalit, mısır, pirinç kepeği, bitkisel yağ, melas, kalsiyum karbonat, DCP, vitamin mineral premiksi, tuz, toksin bağlayıcı, küf önleyici, maya.

3.6.3 Spirulina Uygulaması

Egert Doğal Ürünler Üretim Ltd.Şti. tarafından Ege Üniversitesi Egert ortaklığı ile Ege Üniversitesinde üretilen Spirulina Platensis %100 saf toz şeklinde temin edildi. Spirulina sıçanlara verilmeden önce salin içerisinde 15 dk boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılarak homojenize edildi. Spirulina, spirulina grubundaki sıçanlara salinde çözündürülerek yüksek yağlı diyetle beslenmenin son 6 haftası ve davranış ve öğrenme ve bellek testleri süresince 150 mg/kg/gün ve 450 mg/kg/gün olacak şekilde 2 ml olarak oral gavaj yoluyla verildi.

3.6.4 Davranış Deneyleri

3.6.4.1 Morris Su Labirenti Deneyi:

Sıçanlarda spasyal öğrenme ve bellek değerlendirilmesi amacıyla Morris labirenti testi yapıldı. Morris su tankı testi davranışsal nörobilimde altın standartlardan

biri olması sebebiyle seçilmiştir (129). Morris su tankı, 140 cm çapında, 75 cm yüksekliğine sahip kuzey, güney, batı, doğu olarak hayali olarak dört kadrana bölünmüş bir tanktır. Morris su tankı su seviyesinden 1 cm aşağıya yerleştirilmiş bir kaçma platformuna sahiptir ve $22\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklıktaki su ile dolduruldu. Tank deney sonrası boşaltılıp tankın suyu her gün deney öncesi yeniden dolduruldu. Yer bulma öğrenmesinin değerlendirilmesi için; ardışık 5 gün süresince, günde 4 deneme yapılarak sıçanların su içindeki platformu bulma süreleri ve platformlu kadranda geçirdikleri süre kaydedildi. Tankın çevresine hayvanların çevreyi tanıyabilmelerini sağlamak için renkli objeler yerleştirildi. Su içerisine bırakılan hayvanın kaçma platformunu bulması için 1 dakika yüzmesine izin verildi. Bir dakikalık sürede hayvanın platformu bulamaması durumunda hayvan platforma yönlendirilerek platform üzerine alınıp 15 sn süresince etrafı tanınması sağlandı. Yüzdürme denemelerinin tümünde, her bir sıçan için platformu bulana kadar geçen toplam süre ve platformlu kadranda geçirdikleri süre ölçüldü. Deneyin beşinci gününde platform kaldırılıp ve hayvanın 60 sn yüzmesine izin verilerek bu süre içerisinde önceden platformun bulunduğu kadranda ne kadar süre geçirdiği değerlendirildi (probe trial). Sıçanların önceden platform bulunan kadranda geçirdikleri sürenin toplam süreye (60 sn) göre yüzdesi cinsinden değerleri hesaplandı.

3.6.4.2 Açık Alan Testi:

Sıçanlarda lokomotor aktivitenin ve anksiyetenin değerlendirilmesi amacıyla açık alan testi yapıldı. Açık alan testi havanların genel lokomotor aktivite ve anksiyete ilişkili duygusal davranışların ölçümü için hızlı ve göreceli olarak basit bir test olması nedeniyle seçilmiştir (130). Açık alan test özellikle anksiyetenin değerlendirilmesi için kullanılan yaygın testlerden biri olması nedeniyle seçilmiştir. Deney hayvanı, 35 lükslük bir ışık ile aydınlatılan 1mx1m'lik bir alanın tam ortasına bırakılarak toplamda 5 dakika boyunca alan içerisindeki hareketleri kaydedildi. Zemin 12 kare kenarlarda (%75) ve 4 kare merkezde (%25) olmak üzere 16 kareye bölünmüş bir zemindir. Deney sonunda hayvanların hareketlerinin kaydedilmesiyle analiz edilen test alanının kenarlarında ve orta alanda geçirdiği süreler, yürüme süresi, toplam katedilen mesafeler ile kullanılan hücre sayısı ve yüzdesi değerlendirildi.

3.6.4.3 Yükseltilmiş Artı Labirent Testi:

Yükseltilmiş artı labirent testi, sıçanlarda anksiyetenin test edilmesi için yapıldı. Yükseltilmiş artı labirent testi davranışsal bilimde yaygın kullanılan testlerden biri olması nedeniyle seçilmiştir (131). Labirent; yerden yüksekliği 50 cm olan merkezde 5x5 cm'lik bir alan ile iki açık (50 cm uzunluğunda, 10 cm genişliğinde ve 0,5 cm kenar yüksekliğinde) ve iki kapalı (açık kollar ile aynı ölçüde, yalnız kenar yüksekliği 40 cm) koldan meydana gelmiştir. Sıçanlar açık kollara dönük olarak platforma konuldu ve 5 dk süreyle gözlenerek analiz edildi. Açık ve kapalı kollara girme sayısı ve açık ve kapalı kollar ile merkezde geçirilen süreler ölçülüp değerlendirildi.

3.6.4.4 Zorlu Yüzme Testi:

Depresyon davranışının değerlendirilmesi için zorlu yüzme testi yapıldı. Zorlu yüzme testi depresyon benzeri davranışların ölçümünde yaygın kullanılan ve yüksek geçerliliğe ve hassasiyete sahip bir test olduğu için seçilmiştir (132). Porsolt yüzme testi için sıçanlar ayrı ayrı 50 cm yükseklik ve 30 cm çapında olan suyla dolu silindir şeklindeki bir kaba bırakıldı. Suyun seviyesi sıçanların dışarıya atlamasına olanak tanımayacak şekilde ayarlandı (38-40 cm). Silindirdeki suyun ısı 25°C ayarlandı ve sıçanların davranışları bir video kamera ile izlendi. Toplam 5 dk süresince toplam hareketsiz durma süresi ile hareketsiz ve hareketli durma sayıları ölçüldü.

Deneylerin tamamlanmasının ardından tüm sıçanlar hafif eter anestezisi altında sakrifiye edildi ve kan alımını takiben beyin dokusu hızla çıkarıldı. Buzla soğutulmuş ortamda bilişsel fonksiyonlar ve davranışla ilişkili beyin bölgesi olan hipokampus ve prefrontal korteks disseke edildi. Beyin dokularının yarısı ELISA ve biyokimyasal ölçümler için diğer yarısı da immunhistokimyasal değerlendirme için ayrıldı.

3.6.5 Sakrifikasyon ve Dokuların Ayrımı

Davranış deneyleri tamamlandıktan sonra tüm sıçanlara hafif eter anestezisi uygulanıp sakrifiye edildi ve kan alımından sonra beyin dokuları çıkarıldı. Buzla soğutulmuş ortamda davranışla ilgili beyin bölgelerinden amigdala, prefrontal korteks ve hipokampus alındı.

3.6.6 Biyokimyasal Değerlendirme:

Sakrifikasyondan sonra tüm hayvanların kanları intrakardiyak olarak alınarak plazmaları ilgili analizler yapılınca kadar -80°C 'de saklandı. Alınan örneklerde leptin, LDL, HDL seviyeleri ölçüldü. Doku SIRT-1 seviyeleri ticari ELISA kitleri ile kit protokolüne göre ölçüldü. İnflamasyonla ilişkili sitokinlerden TNF-alfa seviyeleri ticari ELISA kitleri ile kit protokolüne göre ölçüldü.

3.6.6.1 Leptin ölçümü

Leptin seviyeleri, Elabscience Rat Leptin ELISA Kit (Katalog numarası: E-EL-R0582, USA) kullanılarak ölçüldü.

Kitin duyarlılığı 0.1 ng/mL , ölçüm aralığı ise $0.16-10 \text{ ng/mL}$ 'dir. Kitler protokoldeki aşamalara göre uygulandı:

- ELISA plağındaki ilk sütuna $100 \mu\text{l}$ standartlar yerleştirildi ve diğer kuyucuklara örnekler yerleştirildi. Her kuyucuğa $100 \mu\text{l}$ örnek konulup plağın üzeri kapatılarak 37°C 'de 90 dk inkübasyona bırakıldı.
- Inkübasyondan sonra kuyucuklardaki solüsyon dökülerek her kuyucuğa $100 \mu\text{l}$ biotinize çalışma solüsyonu eklenerek plağın üzeri kapatılıp 37°C 'de 1 saat inkübasyona bırakıldı.
- Inkübasyon sonrası kuyucuklardaki solüsyon dökülerek kuyucuklar $350 \mu\text{l}$ yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkandı.
- Plaktaki bütün kuyucuklara $100 \mu\text{l}$ HRP konjugat çalışma solüsyonu koyuldu ve plağın üzeri plak filmi ile kapatılıp 37°C 'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı.

- İnkübasyon sonrası kuyucuklardaki solüsyon dökülerek kuyucuklar 350 µl yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.
- Plaktaki bütün kuyucuklara 90 µl substrakt reaktifi koyuldu. Plağın üzeri yeni bir plak filmi ile kaplanarak 37°C'de 15 dakika inkübasyonda bekletildi. Plağın ışıktan korunmasına dikkat edildi.
- İnkübasyon sonrası kuyucuklara 50 µl stop solüsyonu koyuldu.
- Absorbans ölçümleri mikropalak okuyucu ELISA cihazında 450 nm dalga boyunda yapıldı. Konsantrasyonlar ng/mL olarak hesaplandı.

3.6.6.2 SIRT-1 Ölçümü

SIRT1 seviyeleri, Elabscience Rat SIRT (Sirtuin 1) ELISA Kit (Katalog numarası: E-EL-R1102, USA) kullanılarak ölçüldü.

Kitin duyarlılığı 0.1 ng/mL, ölçüm aralığı ise 0.16-10 ng/mL'dir. Kitler protokoldeki aşamalara göre uygulandı:

- ELISA plağındaki ilk sütuna 100 µl standartlar yerleştirildi ve diğer kuyucuklara örnekler yerleştirildi. Her kuyucuğa 100 µl örnek konulup plağın üzeri kapatılarak 37°C'de 90 dk inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyondan sonra kuyucuklardaki solüsyon dökülerek her kuyucuğa 100 µl biotinize çalışma solüsyonu eklenerek plağın üzeri kapatılıp 37°C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrası kuyucuklardaki solüsyon dökülerek kuyucuklar 350 µl yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkandı.
- Plaktaki bütün kuyucuklara 100 µl HRP konjugat çalışma solüsyonu koyuldu ve plağın üzeri plak filmi ile kapatılıp 37°C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrası kuyucuklardaki solüsyon dökülerek kuyucuklar 350 µl yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.
- Plaktaki bütün kuyucuklara 90 µl substrakt reaktifi koyuldu. Plağın üzeri yeni bir plak filmi ile kaplanarak 37°C'de 15 dakika inkübasyonda bekletildi. Plağın ışıktan korunmasına dikkat edildi.

- İnkübasyon sonrası kuyucuklara 50 µl stop solüsyonu koyuldu.
- Absorbans ölçümleri mikropalak okuyucu ELISA cihazında 450 nm dalga boyunda yapıldı. Konsantrasyonlar ng/mL olarak hesaplandı.

3.6.6.3 TNF- α Ölçümü

TNF- α seviyeleri, Elabscience Rat TNF- α (Tumor Necrosis Factor Alpha) ELISA Kit (Katalog numarası: E-ELR0019, USA) kullanılarak ölçüldü.

Kitin duyarlılığı 46.88 pg/mL, ölçüm aralığı ise 78.13- 5000 pg/mL'dir. Kitler protokoldeki aşamalara göre uygulandı:

- ELISA plağındaki ilk sütuna 100 µl standartlar yerleştirildi ve diğer kuyucuklara örnekler yerleştirildi. Her kuyucuğa 100 µl örnek konulup plağın üzeri kapatılarak 37°C'de 90 dk inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyondan sonra kuyucuklardaki solüsyon dökülerek her kuyucuğa 100 µl biotinize çalışma solüsyonu eklenerek plağın üzeri kapatılıp 37°C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrası kuyucuklardaki solüsyon dökülerek kuyucuklar 350 µl yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkandı.
- Plaktaki bütün kuyucuklara 100 µl HRP konjugat çalışma solüsyonu koyuldu ve plağın üzeri plak filmi ile kapatılıp 37°C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrası kuyucuklardaki solüsyon dökülerek kuyucuklar 350 µl yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.
- Plaktaki bütün kuyucuklara 90 µl substrakt reaktifi koyuldu. Plağın üzeri yeni bir plak filmi ile kaplanarak 37°C'de 15 dakika inkübasyonda bekletildi. Plağın ışıktan korunmasına dikkat edildi.
- İnkübasyon sonrası kuyucuklara 50 µl stop solüsyonu koyuldu.
- Absorbans ölçümleri mikropalak okuyucu ELISA cihazında 450 nm dalga boyunda yapıldı. Konsantrasyonlar ng/mL olarak hesaplandı.

3.6.6.4 HDL ölçümü

HDL Roche Reflotron HDL test kitleri kullanılarak ölçüldü. Ölçüm aralığı 10-100 mg/dL veya 0.26-2.59 mmol/L'dir.

HDL test şeritleri Reflotron cihazına yerleştirildikten sonra 30 µl plazma örneği şeridin üzerine pipetlenip HDL ölçümleri yapıldı.

3.6.6.5 LDL Ölçümü

LDL ölçümü AFG Bioscience Rat low density lipoprotein (LDL) ELISA kiti (katalog numarası: EK720763) ile yapıldı. Kitin duyarlılığı: 0.1 ng/mL ve ölçüm aralığı; 1 ng/mL-80 ng/mL'dir.

- ELISA plağına 50 µl standartlar yerleştirildi ve diğer kuyucuklara 40 µl örnek dilüenti ve daha sonra 10 µl örnek yerleştirildi.
- Plağın üzeri kapatılıp 37°C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Yıkama solüsyonu distile su ile 30 kat dilüe edildi.
- İnkübasyon sonrası kuyucuklardaki solüsyon dökülerek kuyucuklar yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.
- Plaktaki kör dışındaki bütün kuyucuklara 50 µl HRP konjugat çalışma solüsyonu koyuldu
- Plağın üzeri plak filmi ile kapatılıp 37°C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrası kuyucuklardaki solüsyon dökülerek kuyucuklar yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.
- Plaktaki bütün kuyucuklara 50 µl Chromogen A solüsyonu ve 50 µl Chromogen B solüsyonu koyuldu. Plağın üzeri yeni bir plak filmi ile kaplanarak 37°C'de 15 dakika inkübasyonda bekletildi. Plağın ışıktan korunmasına dikkat edildi.
- İnkübasyon sonrası kuyucuklara 50 µl stop solüsyonu koyuldu.
- Absorbans ölçümleri mikropalak okuyucu ELISA cihazında 450 nm dalga boyunda yapıldı. Konsantrasyonlar ng/mL olarak hesaplandı.

3.6.7. İmmunhistokimyasal İnceleme:

Dokular rutin takip sonrası parafine gömüldü. 5 mikron kalınlığında kesilen dokulara, SIRT-1 proteininin davranışla ilişkili farklı beyin bölgelerindeki immunreaktivitesini göstermek için immunhistokimyasal inceleme yapıldı. Bu amaçla rat spesifik SIRT-1 antikorları kullanıldı. İmmunhistokimyasal yöntemle boyanan parafin kesitlerde antikor reaktiviteleri ışık mikroskopik görüntülemesi değerlendirildi ve semikantitatif olarak skorlandı.

3.6.7.1 Doku Takibi

- 1-Fiksasyon: Alınan dokular oda ısısında %10'luk formalin içerisinde 48 saat bekletildi.
- 2-Fiksatiften uzaklaştırma: Dokular 1 gece boyunca fiksatiften uzaklaştırmak amacıyla akan su altında bırakıldı.
- 3-Dehidrasyon: Dokular sırasıyla 20'şer dakika %70-%80-%96 etil alkol serisinden geçirildi.
- 4-Postfiksasyon: Dokular sırasıyla 20'şer dakika Aseton I-II-III-IV'ten geçirildi
- 5-Şeffaflandırma: Dokular 30'ar dakika Ksilol I ve Ksilol II 'den geçirildi.
- 6-Parafinizasyon: Dokular 60 °C'lik etüvde erimiş parafin I ve parafin II'de 1'er saat bekletilip sert parafin içerisine gömüldü. Hazırlanan doku bloklarından daha sonra mikrotom ile (Finesse ME +, Thermo Scientific) ile lizinlenmiş lamlara 5 mikrometre kesitler alındı.

3.6.7.2 Boyama

- 1-Deparafinizasyon: Lamlı kesitler 1 gece 60 °C etüvde bekletildi. Ksilol I'de etüvde 20 dakika bekletildikten sonra Ksilol II ve Ksilol III'te oda sıcaklığında 10'ar dakika bekletildi.

2-Rehidratasyon: Kesitler sırasıyla absolu alkol ve %96-%80-%70'lik alkollerde 1'er dakika geçirilip rehidratasyonu sağlandı.

3- Yıkama: Kesitler 5 dakika distile suda bekletildi.

4- Boyama: Kesitler Proteinaz K solüsyonu (Digest-All 4, Life Technologies) içinde 15 dakika tutuldu. Daha sonra doku endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 5 dk %3'lük Hidrojen peroksit uygulandı. Kesitler 3 defa 5'er dakika fosfat tampon solüsyonu ile yıkandıktan sonra 20 dk oda sıcaklığında bloklama solüsyonu (Histostain Plus Broad Spectrum, Life Technologies) ile inkübe edildi. Ardından rat spesifik anti-SIRT-1 (1:200, Bioss Antibodies) antikoru ile 1 gece 4°C'de bekletildi. Ertesi gün fosfatlı tampon solüsyonu ile 3 defa yıkanan kesitler biyotinlenmiş sekonder antikor solüsyonu (Histostain Plus Broad Spectrum, Life Technologies) eklenerek 30 dk bekletildi. Sekonder antikor enzimle işaretli (peroksidaz) avidin-biyotin kompleksi (streptavidin) solüsyonu (Histostain Plus Broad Spectrum, Life Technologies) ile bağlandıktan sonra antikor-biyotin-avidin-peroksidaz kompleksi %0.02 Diaminobenzidin (DAB) kullanılarak görünür hale getirildi. Mayer's hematoksilen ile zemin boyaması yapıldı. Kesitler, dereceli alkollerde dehidratasyon ve ksilol ile şeffaflaştırma işlemlerinden sonra entellan ile kapatıldı. Boyanan parafin kesitlerde antikor reaktiviteleri ışık mikroskopik görüntüleme sistemi ile değerlendirildi (Olympus CX-41, Olympus DP21) ve semikantitatif olarak skorlandı.

3.6.8 Kullanılan Cihazlar, Sarf Malzemeler ve Gereçler

Tablo 5. Çalışmada kullanılan cihazlar

Adı/Modeli	Çalışmada Kullanılma Amacı
Soğutmalı Santrifüj Cihazı (Hetric Mikro 200R)	Deneylerde çöktürme İşlemleri
Vorteks (IKA VF2)	Karıştırma İşlemleri
Buzdolabı	Örneklerin, kimyasalların ve kitlerin saklanması
Derin Dondurucu (-80 °C)	Örneklerin Saklanması
Nothus Ethovison XT Video Tracking Sistem	Davranış Testleri
Terazi (Kern EMB 1200-1)	Hayvanların Tartımı
Hassas Terazi (Kern ABS 220-4)	Dokuların tartımı
Ultrasonik Homojenizatör (Bandelin Sonopuls)	Homojenat Hazırlanması
İnkübatör (JP Selecta)	İmmunhistokimyasal İnceleme
Mikrotom (Finessa ME+, Thermo Scientific)	İmmunhistokimyasal İnceleme
Işık Mikroskobu (Olympus CX41RF)	İmmunhistokimyasal İnceleme
Elektrofotometrik Plak Okuyucu (BiotekELX 800)	ELISA
Manyetik Karıştırıcı (VELP Scientifica)	Çözelti homojenizasyonunun sağlanması
Reflotron Plus (Roche)	HDL ölçümü

Tablo 6. Çalışmada kullanılan sarf malzemeler

Malzeme Adı	Kullanım Amacı
Sekabol (C. Erba)	Dezenfeksiyon amacıyla
Dietil Eter (VWR)	Sakrifikasyon sırasında
Serum Fizyolojik	Sakrifikasyon sırasında ve çözelti hazırlanması
PBS (phosphate buffered saline) (Panbiotech)	Doku homojenizasyonu için
2 ml eppendorf tüp (Kirgen)	ELISA yönteminde
15 mL falcon tüp (Kirgen)	Santrifüj işlemi için
50 mL falcon tüp (Kirgen)	Santrifüj işlemi için
Reflotron test strips for Cholesterol (Roche)	Kolesterol ölçümü
Eldiven nitril (İSOLAB)	Deney aşamalarında
Doku takip kasedi (kapaklı, mega boy) (Biooptica)	Doku takip aşamalarında
Deney tüpü polistren 5 ml (BD)	Ölçüm amacıyla
Rat LEP (Leptin) ELISA Kit (Elabscience)	Leptin ölçümü
Rat LDL (Low Density Lipoprotein) (Elabscience)	LDL ölçümü
Rat SIRT1 ELISA Kit (Elabscience)	Sirt-1 proteini ölçümü
Rat TNF- α ELISA Kit (Elabscience)	TNF- α ölçümü
Rat SIRT1 antibody (Bioss Antibodies)	Sirt-1 immünreaktivitesi ölçümü

3.7 Verilerin Değerlendirilmesi

Veriler IBM SPSS Statistics 24 Programı ile tek yönlü ANOVA ile değerlendirildi. Veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak eklendi. Grupların ortalamaları arasındaki farklar SPSS 22.0 programıyla One-way ANOVA Post-hoc

LSD testiyle incelendi. Bağımsız gruplarda ikili grupların karşılaştırmaları t-testi ile yapıldı (133). Anlamlılık $p<0.05$ olarak alındı.

3.10 Araştırmanın Sınırlılıkları

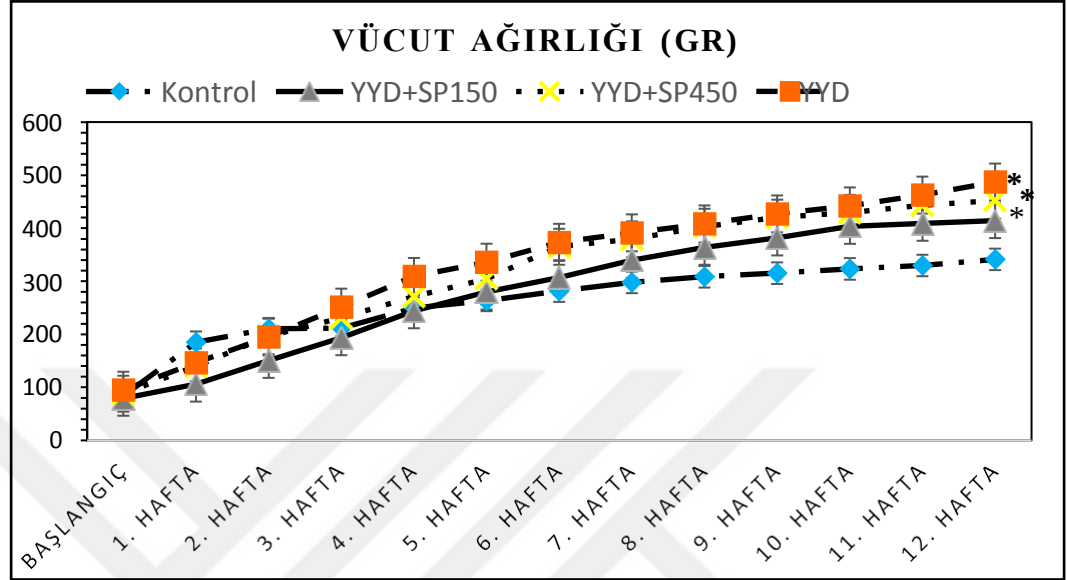
Destek yetersizliği nedeniyle yapılması planlanan trigliserit ve kortikosteron ölçümleri yapılamamıştır.

3.11 Etik Kurul Onayı

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (DEÜ-TF HADYЕК) tarafından kurulun 04.07.2019 tarihli toplantısında gerçekleştirilmesinin uygun olduğuna karar verilmiştir (karar no 68/2019).

4. BULGULAR

4.1 Vücut Ağırlığı Takibi



Şekil 3. Sıçanların 12 haftalık ortalama ağırlıkları (gr)

* $p < 0.05$ 12. Haftada kontrol grubuyla karşılaştırıldığında

Deney sonunda gruplar arası karşılaştırmada YYD grubu, YYD+SP150 ve YYD+SP450 gruplarının ağırlıkları kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha fazladır ($p < 0.05$). Ayrıca YYD+SP150 grubunun ağırlığı YYD göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (Şekil 3).

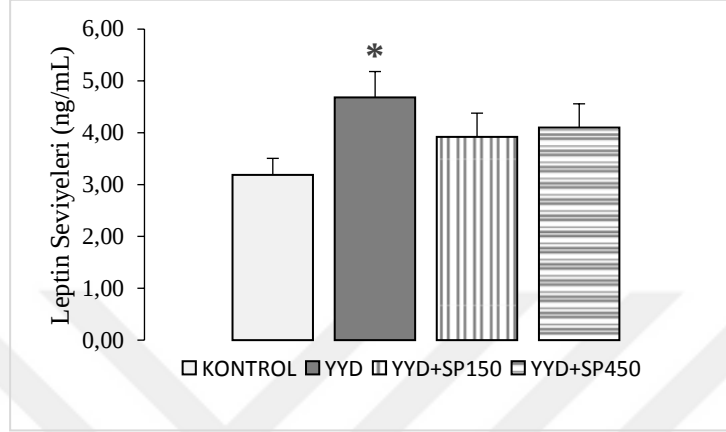
Tablo.7 Sıçanların Ağırlık Ölçümleri.

Gruplar	Grup 1 KONTROL	Grup 2 YYD	Grup3 YYD+SP150	Grup4 YYD+SP450	p
Başlangıç Ağırlıkları (g)	83.6857	94.6286	78.8429	88.1143	p= 0.269
Son ağırlıklar (g)	340.9429	487.0429	414.1286	452.0714	1-2 için p=0.000 1-3 için p=0.005 1-4 için p=0.000 2-3 için p=0.006
6. – 12. Hafta ağırlık kazanımı (g)	59.5857	115.3571	106.1571	87.1571	1-2 için p=0.024 1-3 için p=0.000 1-4 için p=0.000 2-4 için p=0.020
Toplam Ağırlık Kazanımı (g)	257.2571	392.4143	335.9000	364.0714	1-2 için p=0.000 1-3 için p=0.002 1-4 için p=0.000 2-3 için p=0.028

Spirulina uygulamasının yapıldığı 6. ve 12. Hafta ağırlık kazanımı karşılaştırıldığında YYD, YYD+SP150 ve YYD+SP450 grupları kontrole göre anlamlı olarak daha fazla kilo artışı olup YYD+SP450 grubu YYD grubundan anlamlı olarak daha az kilo artışına sahiptir (p=0.020). YYD+SP450 grubu ve YYD grubunun 12 haftalık toplam ağırlık kazanımları anlamlı olarak farklı olmayıp spirulina uygulamasının yapıldığı 6. ve 12. hafta son 6 hafta YYD+SP450 grubu YYD grubuna kıyasla 28.2 gr ve %24,4 daha az kilo artışına sahip bulunmuştur (Tablo 7).

4.2 Serum Leptin Düzeyleri

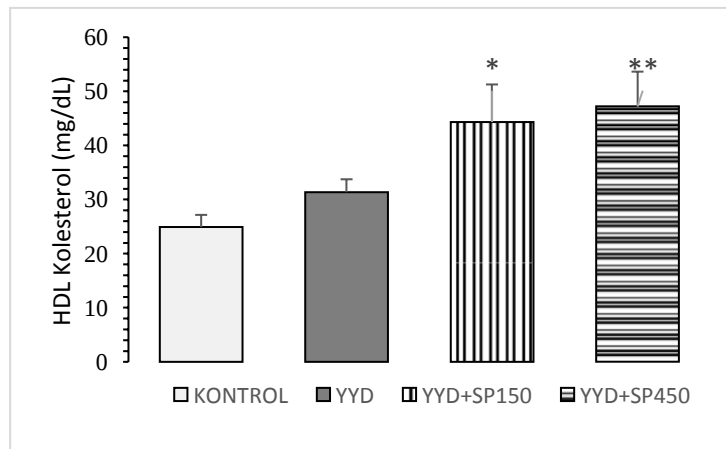
Serum leptin düzeyleri YYD grubunda kontrol grubuna göre daha yüksektir. ($p<0.05$) (Şekil 4).



Şekil.4 Serum Leptin Düzeyleri (ng/mL). * $p<0.05$; kontrole göre.

4.3 Serum HDL Kolesterol Düzeyleri

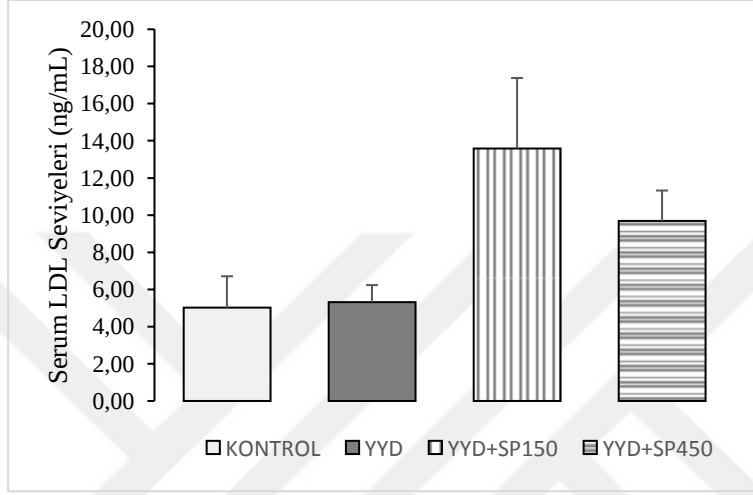
Serum HDL kolesterol değerleri gruplar arasında anlamlı olarak farklıdır ($p<0.05$). YYD+SP450 grubu kontrole ve YYD grubuna göre ve YYD+SP150 grubu kontrole göre anlamlı olarak daha yüksek HDL seviyesine sahiptir ($p<0.05$) (Şekil 5).



Şekil.5 Serum HDL Kolesterol Düzeyleri. ** $p<0.05$ kontrol ve YYD grubuyla karşılaştırıldığında.

4.4 Serum LDL Düzeyleri

Serum LDL seviyeleri gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0.05$) (Şekil 6).



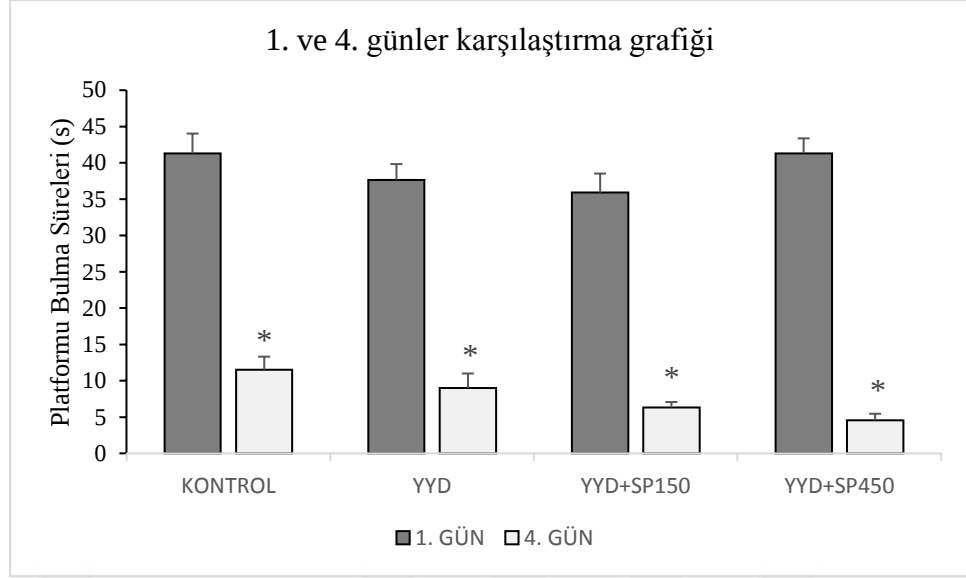
Şekil 6. Serum LDL Seviyeleri (ng/mL).

4.5 Davranış Deneyleri Bulguları

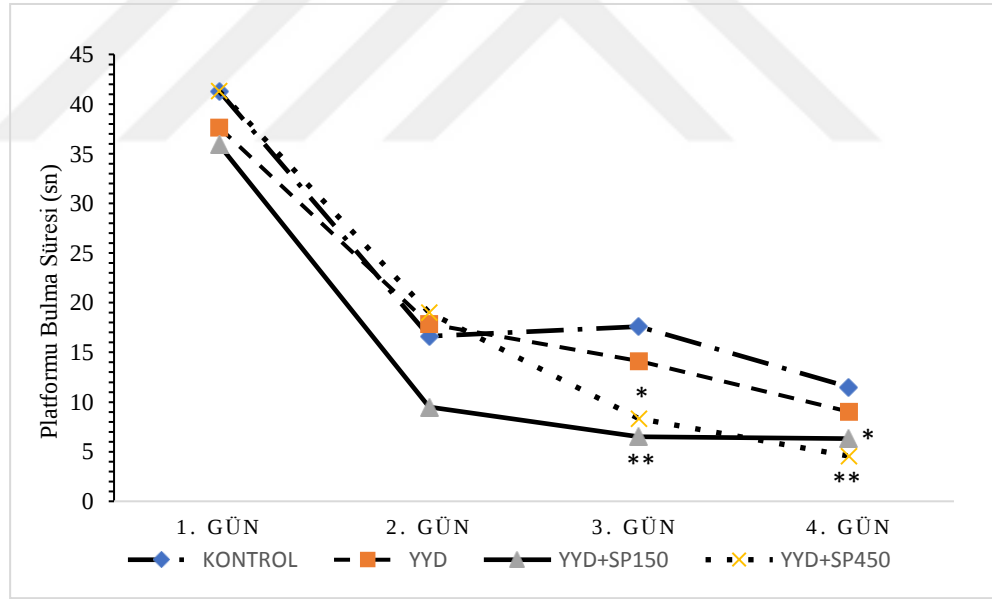
4.5.1 Morris Su Labirenti Bulguları

Öğrenmeyi değerlendirdiğimiz, platformu bulma süreleri tüm gruplarda 1.güne göre azalmış ve öğrenme güne bağlı olarak artmıştır ($p<0.05$) (Şekil 7).

YYD+SP150 grubunun platformu bulma süresi 3. gün kontrol ve YYD grubuna göre ve 4. Gün kontrole göre anlamlı olarak düşüktür ($p<0.05$). YYD+SP450 grubunun platformu bulma süresi 4. Gün kontrol ve YYD grubuna göre ve 3. Gün kontrole anlamlı olarak düşüktür ($p<0.05$) (Şekil 8).

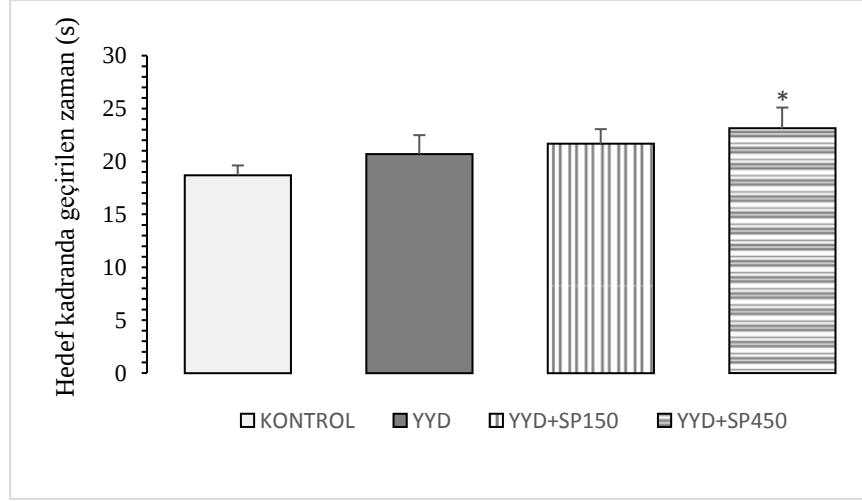


Şekil 7. Sıçanların 1. ve 4. günler platformu bulma süreleri.
* $p < 0.05$; Tüm gruplarda 1. Güne göre karşılaştırıldığında.



Şekil 8. Morris su labirenti testi 4 günlük platformu bulma süreleri.

* $p < 0.05$; kontrole göre, ** $p < 0.05$; kontrole ve YYD'ye göre.

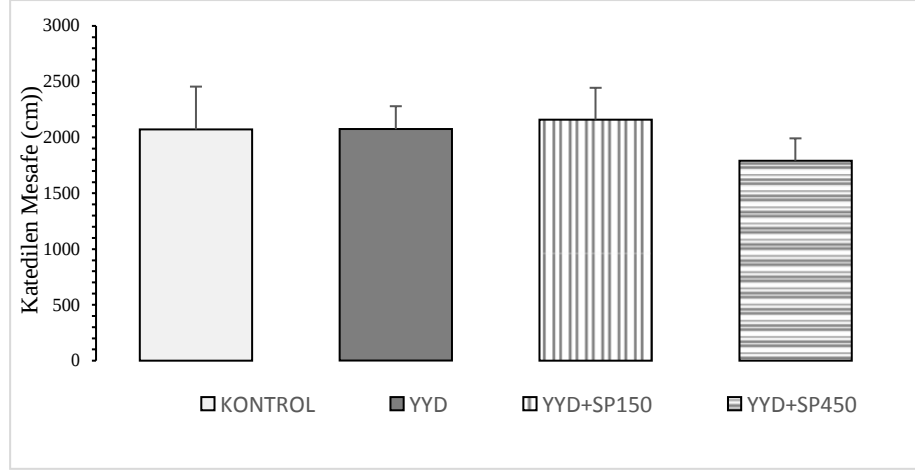


Şekil 9. Morris probe testi; hafızanın değerlendirildiği 5. günde sıçanların platform bölgesinde bulunma süreleri (s).

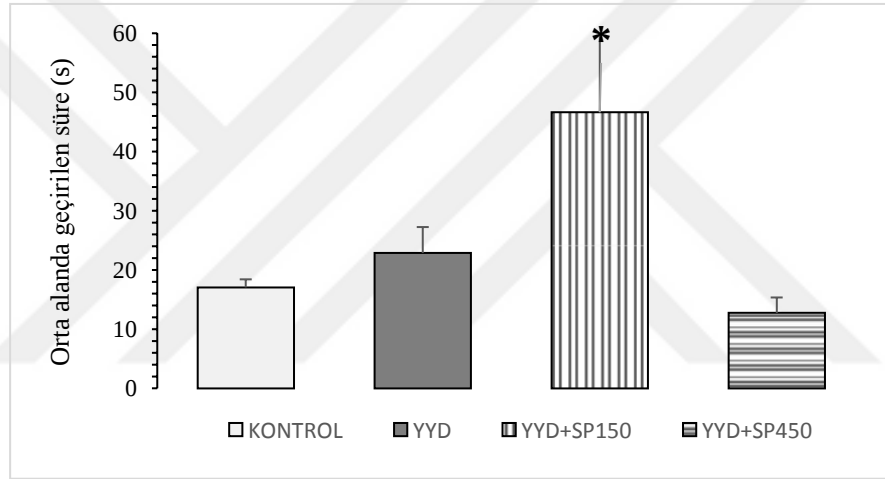
Morris su labirentinde probe denemesinde hedef kadranda geçirilen süreler arasında gruplar arası farklılık gözlenmemiştir ($p < 0.05$) (Şekil 9). İkili grup karşılaştırmalarında YYD+SP450 grubu kontrole göre hedef kadranda daha az zaman geçirmiştir ($p < 0.05$).

4.5.2 Açık Alan Testi Bulguları

Açık alan testinde katedilen mesafeler karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$) (Şekil 10).



Şekil 10. Açık alan testi katedilen mesafe.

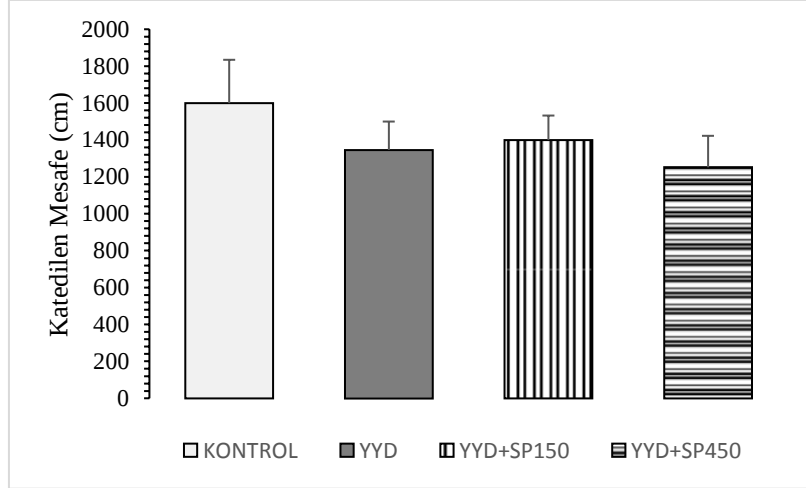


Şekil 11. Orta alanda geçirilen süre. * $p < 0.05$; kontrol ve YYD+450SP'ye göre.

Açık alan testinde, orta alanda geçirilen süre YYD+SP150 grubunda kontrol ve YYD+SP450 gruplarına göre anlamlı olarak farklıdır ve YYD+SP150 grubunun orta alanda daha fazla zaman geçirdiği gözlenmiştir ($p < 0.05$) (Şekil 11).

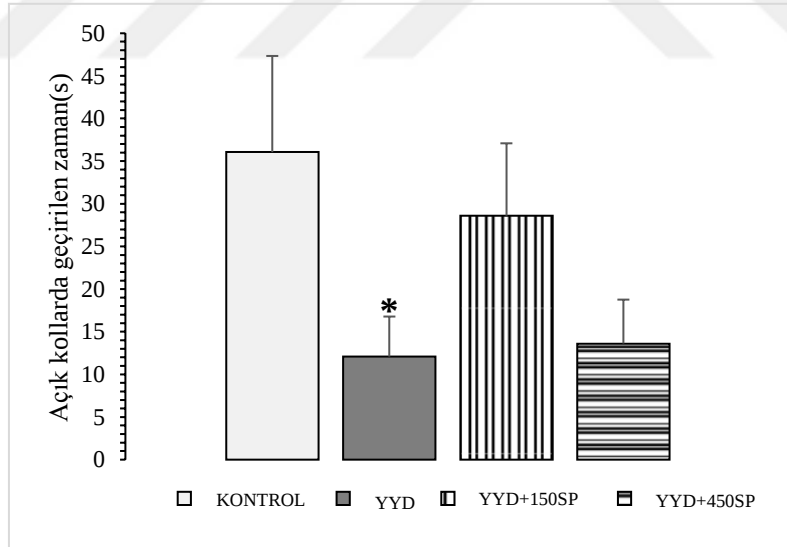
4.5.3 Yükseltilmiş Artı Labirent Testi Bulguları

Yükseltilmiş artı labirent testinde katedilen mesafelerde gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p < 0.05$) (Şekil 12).



Şekil 12. Yükseltilmiş artı labirent testinde katedilen mesafeler.

Yükseltilmiş artı labirent testine göre açık kollarda YYD grubu kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha az zaman geçirmiştir ($p<0.05$) (Şekil 13).

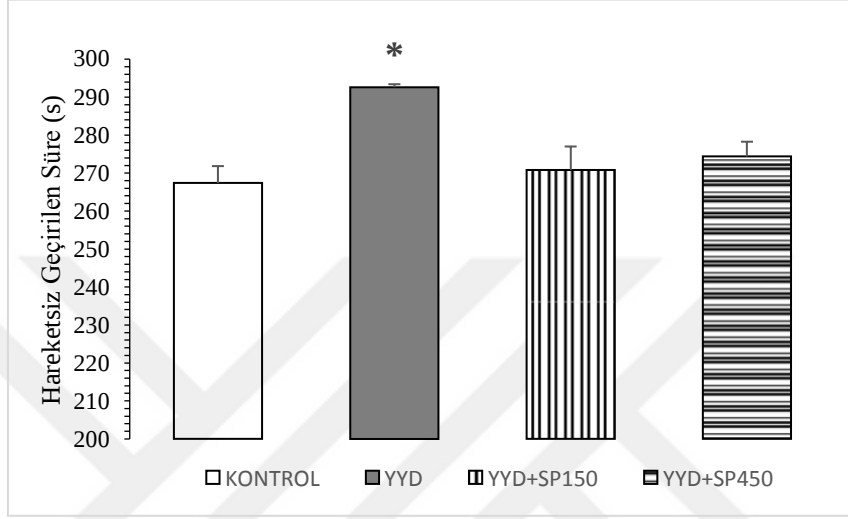


Şekil 13. Açık kollarda geçirilen zaman.

* $p<0.05$; kontrole göre.

4.5.4 Zorlu Yüzme Testi Bulguları

Zorlu yüzme testinde hareketsiz geçirilen süre gruplar arasında anlamlı olarak farklıdır ($p=0.002$). Yüksek yağlı diyet grubunun kontrol, YYD+SP150 ve YYD+SP450 gruplarına göre anlamlı olarak daha fazla hareketsiz zaman geçirdiği gözlemlendi ($p<0.05$) (Şekil 14).

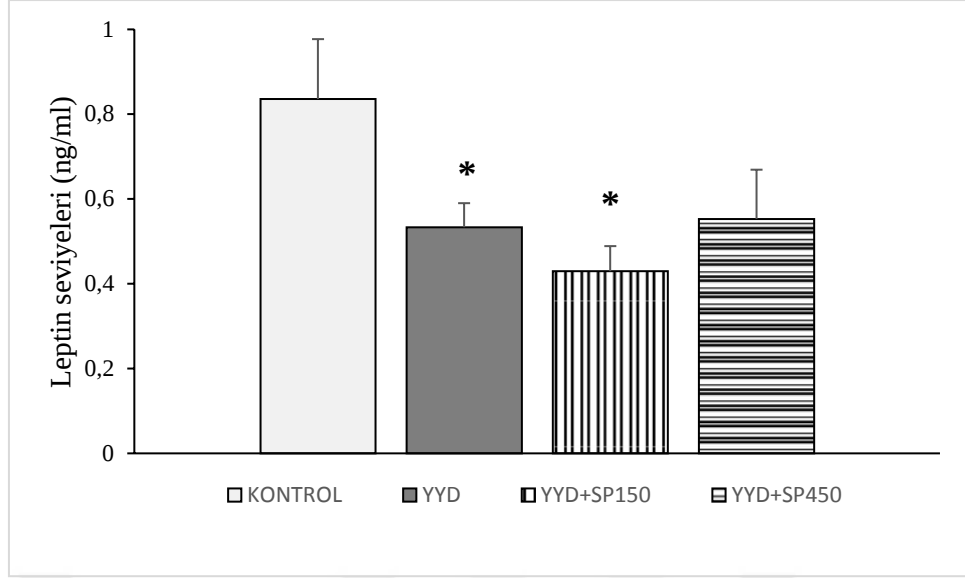


Şekil 14. Zorlu yüzme testi hareketsiz durma zamanı.

* $p<0.05$; kontrol, YYD+SP150 ve YYD+SP450'ye göre.

4.6 Doku Leptin Seviyeleri

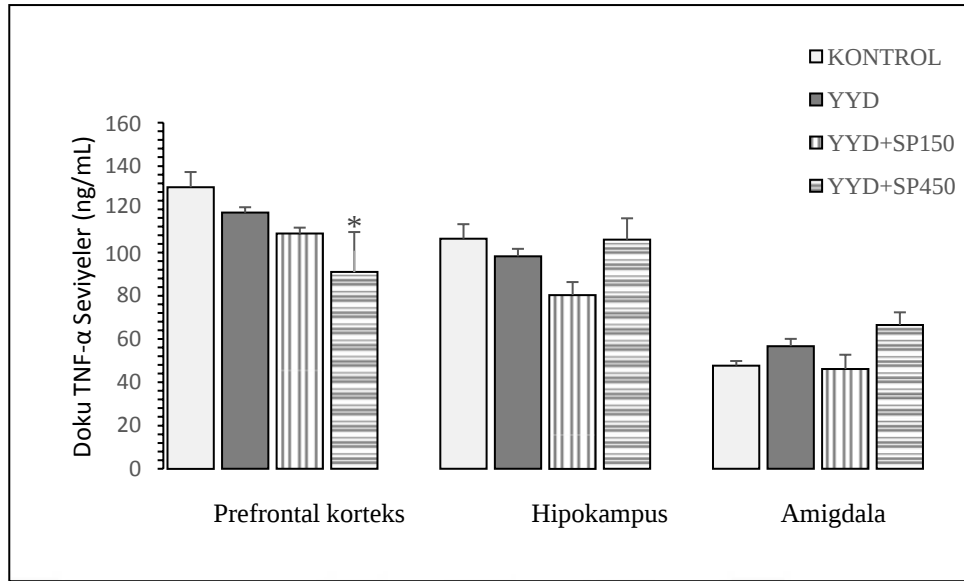
Prefrontal korteks leptin düzeyleri karşılaştırıldığında kontrol, YYD ve YYD+SP150 grupları arasında anlamlı fark olduğu görüldü. YYD ve YYD+SP150 gruplarında leptin düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulundu (sırasıyla $p=0.045$ ve $p=0.009$). YYD grubu ile YYD+SP150 ve YYD+SP450 grupları arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$) (Şekil 15).



Şekil 15. Prefrontal korteks leptin seviyeleri. * $p<0.05$; kontrole göre.

4.7 Doku Tnf- α Ölçümleri

Prefrontal korteks TNF- α düzeylerinde gruplar arası anlamlı farklılık bulunmaktadır. YYD+SP450 grubu kontrol grubuna göre ($p<0.001$) ve YYD grubuna göre ($p=0.012$) anlamlı olarak düşüktür. YYD+SP150 grubu TNF- α kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktür. Hipokampus TNF- α düzeylerinde gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$). İkili grup karşılaştırmalarında YYD+SP150 grubunda kontrole göre düşüktür. Amigdalada TNF- α düzeylerinde gruplar arasında anlamlı fark bulunmamaktadır ($p>0.05$) (Şekil 16).

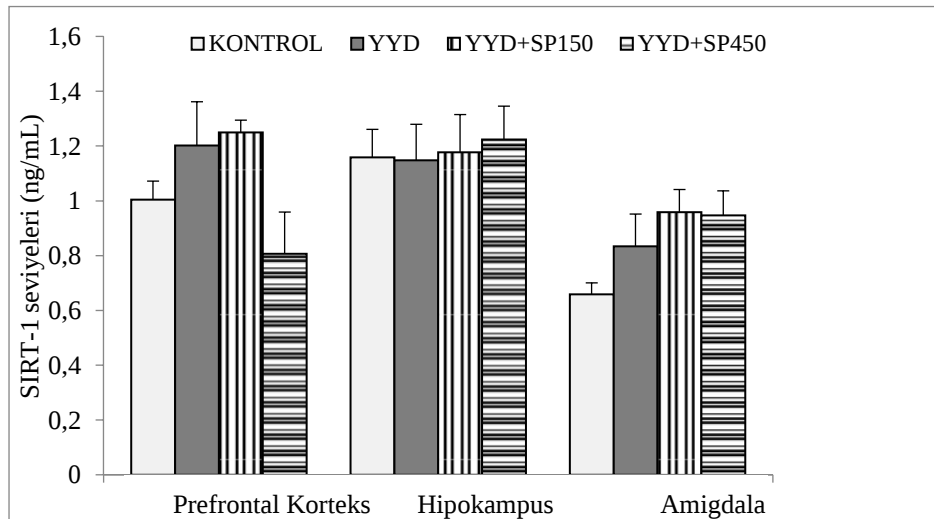


Şekil 16. Doku TNF- α Seviyeleri.

* $p < 0.05$; YYD ve kontrole göre.

4.8 Doku SIRT-1 Ölçümleri

Prefrontal korteks SIRT-1 seviyeleri gruplar arasında anlamlı olarak farklılık bulunmamaktadır ($p > 0.05$). Hipokampus SIRT-1 seviyelerinde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$). Amigdala SIRT-1 seviyelerinde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$) (Şekil 17).



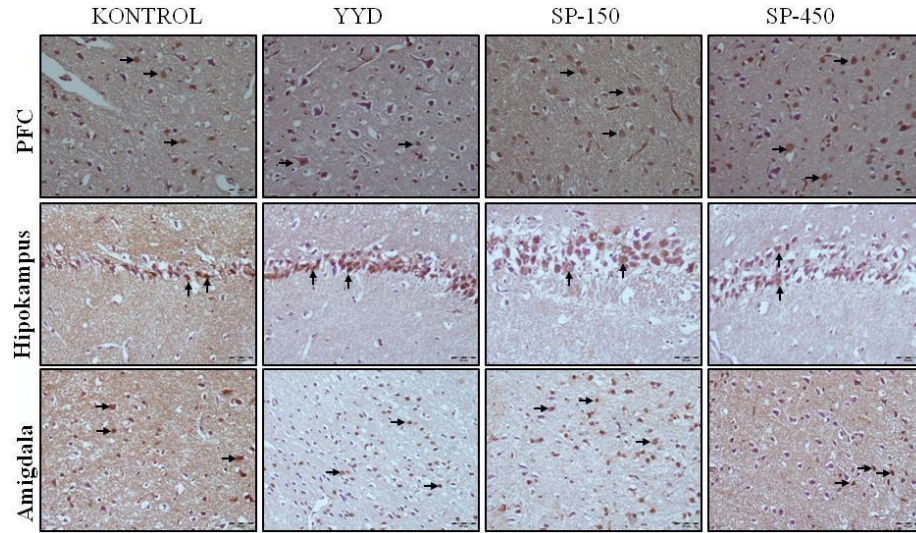
Şekil 17. Doku SIRT-1 Seviyeleri.

4.9 İmmunhistokimyasal değerlendirme

Beyinde prefrontal korteks, hipokampus ve amigdala SIRT-1 immünhistokimyasal yapılmıştır (Şekil 18). İncelenen beyin bölgelerinde SIRT-1 immunreaktivitesi semikantitatif olarak skorlanmış ve gruplar arasında anlamlı fark olmadığı görülmüştür ($p>0.05$) (Tablo 8).

Tablo 8. Prefrontal korteks SIRT1 immunreaktivitesi.

Gruplar	SIRT1
KONTROL	2.50 ± 0.22
YYD	2.0 ± 0.25
YYD+SP150	2.33 ± 0.30
YYD+SP450	2.16 ± 0.21



Şekil 18. Beyin bölgelerinde SIRT1 immünhistokimyasal boyama görüntüleri.

5. TARTIŞMA

Günümüzde yetersiz ve dengesiz beslenme, değişen yaşam koşulları, azalmış fiziksel aktivite, genetik ve çevresel faktörlerin etkileri ile obezite ve fazla kiloluluk artmaktadır. Obezitenin de ana nedenlerinden biri de yüksek yağlı ve şeker içerikli sağlıksız gıdaların aşırı tüketimidir (134). Hayvanlarda çeşitli obezite modelleri bulunsada diyet kaynaklı olarak yüksek enerjili ve yüksek yağlı diyetler sıklıkla kullanılmaktadır ve sıklıkla kullanılan diyetler %45-%60 yağlı diyetlerdir (43). %30 ve üzeri yağlı diyetler kolaylıkla obeziteye neden olmaktadır (135).

Ratlarda yağ alımı, vücut yağ ve kilo kazanımı arasında pozitif bir ilişki vardır. Bununla birlikte alınan yağ yüzdesi arttıkça kilo alımının arttığı görülmüştür (136). Enerji değerinin %60'ı yağlardan meydana gelen yüksek yağlı diyetle beslenen Sprague Dawley sıçanlar ile yapılan 12 haftalık bu çalışmada YYD grubunda kilo alımı kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır. Literatürde de kemirgenlerde yüksek yağlı diyetle birlikte belirgin kilo artışı gözlenen çalışmalar bulunmaktadır (135). Kemirgenlerde yüksek yağlı diyet ile beslenmeyle belirgin ağırlık artışı oluştuğunu gösteren çalışmalar olmasına rağmen Omagari ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada yüksek yağlı diyetle beslenmeyle ağırlıkta anlamlı bir artışın olmadığını göstermişlerdir (137).

Bu çalışmada ağırlık değişim farkları YYD, YYD+150SP ve YYD+450SP olmak üzere 3 grupta da başlangıca ve kontrole göre 12 haftanın sonunda artmış ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). En fazla ağırlık değişimi YYD grubunda gözlenmiştir. Araştırmacılara göre kilo alımının kontrol ratlara göre vücut ağırlığının %10-25 daha fazla olması ılımlı obezite olarak değerlendirilebilir (138,139). Bizim çalışmamızda SP uygulamasının yapıldığı 6. haftada kontrol grubuna göre diğer gruplarda obezitenin geliştiği görülmektedir.

Bir obezite tedavisinin etkinliği daha çok kilo alımını önlediğinde, başlangıçtaki ağırlıktan %5-10 kilo kaybı oluşumuna neden olduğunda ve kilo kaybı uzun süreli sağlandığında başarılı kabul edilmiştir (140). Çalışmamızda 12 haftalık yüksek yağlı diyet tüketimi ile YYD grubu kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha fazla kilo almıştır. YYD+SP150 ve YYD+SP450 grubu da kontrol grubuna göre daha fazla kilo kazanmıştır. Spirulina uygulamasının yapıldığı 6-12. haftalar arasında kilo

alımlları gruplar arasında karşılaştırıldığında YYD+SP450 grubunun YYD grubuna göre anlamlı olarak daha az kilo alımına sahip olduğu gözlenmiştir. Spirulina uygulaması ile ağırlıkta azalma olmamış ancak YYD+SP450 grubunda kilo alımının YYD grubuna göre %24,4 oranında baskılandığı görülmektedir. Literatürde spirulinanın obezite, vücut ağırlığı ve metabolik parametreler üzerine olumlu etkisi hakkında klinik ve hayvan çalışmaları bulunmaktadır (141). Bir metaanaliz çalışmasına göre spirulina tüketimi obezlerde vücut ağırlığı, vücut yağ yüzdesi ve bel çevresi kalınlığını anlamlı olarak düşürmüştür (104). 10 hafta yüksek yağlı diyet tüketen ratlarda 4 hafta 250 mg/kg Spirulina maxima uygulaması kilo alımını doz bağımlı olarak anlamlı olarak düşürmüştür (34). YYD tüketen farelerde 2 g/kg Spirulina platensis protein hidrolizatı vücut ağırlığı kazanımı %39,8 oranında baskılamıştır (142). Zucker ratlarda ise 12 hafta 28,5 mg/kg Spirulina platensis uygulaması vücut ağırlığı üzerinde bir etkiye neden olmamıştır (143). 8 hafta boyunca yüksek yağlı ve şükroz içerikli diyetle beslenen ratlara 150 mg/kg Spirulina Platensis %55 ethanol ekstratı verilmiş ve kilo kazanımının yüksek yağlı diyet grubuna göre bu grupta daha az olduğu görülmüştür (144). 6 hafta boyunca 150 mg/kg ve 450 mg/kg Spirulina Maxima uygulaması anlamlı olarak anti-obezite etki göstermiştir (33). Klinik olarak da 52 obez hastada yapılan çalışmada 12 hafta boyunca kalori kısıtlamalı diyetle günlük 2 gr Spirulina alımı vücut ağırlığını, vücut yağını, BKİ ve bel çevresini anlamlı olarak düşürmüştür (145). Bizim çalışmamıza göre de 12 haftalık yüksek yağlı diyet alan ratlarda 6 hafta 150 mg/kg SP uygulaması kilo kazanımı üzerinde etki göstermemiş ancak 450 mg/kg SP kilo alımını baskılamıştır. Mikroalglerin antiobezite etkisi bilinmektedir (146) ve bizim çalışmamızda literatür verilerine benzer şekilde 450 mg/kg SP kilo alımı üzerinde olumlu etki göstermiştir.

Obezite dislipidemi ile ilişkili olup literatürde bir çalışmada 16 haftalık yüksek yağlı diyet ile beslenen ratlar normal diyetle beslenen ratlarda göre serum trigliserid, total kolesterol, LDL kolesterol ve VLDL kolesterol seviyeleri artmış HDL kolesterol seviyesi ise azalmıştır (147). Amin ve Nagy (2009)'nin çalışmasına göre 14 hafta yüksek yağlı diyetle beslenen ratların daha yüksek serum trigliserid, total kolesterol, LDL kolesterol seviyelerine ve daha düşük HDL kolesterol seviyesine sahip olduğunu bildirmişlerdir (148). Bu çalışmada YYD grubunda HDL seviyeleri kontrole göre farklı bulunmamıştır. Çalışmamızda serum LDL seviyelerinde ise anlamlı farklılık

bulunmamıştır. Yüksek yağlı diyetle beslenmiş ratlarda 8 haftalık 150 mg/kg Spirulina platensis proteaz hidrolizatı yüksek trigliserit, total kolesterol ve LDL seviyelerinin düşmesini, HDL seviyelerinin ise artmasını sağlamıştır (149). Ayrıca Li ve arkadaşları yüksek yağlı diyetle beslenmede 8 haftalık Spirulina uygulamasının HDL kolesterolü artırdığını ve LDL kolesterol trigliserit ve total kolesterol seviyelerini düşürdüğünü göstermiştir (144). Çalışmamızda SP'nın LDL seviyeleri üzerinde etkisi gözlenmemiş olup YYD+SP450 grubu HDL seviyeleri kontrol ve YYD grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Klinik olarak da 62 obez hastada yapılan çalışmada 12 hafta boyunca günlük 1 gr Spirulina uygulaması HDL kolesterolü anlamlı olarak artırmıştır (150).

Yüksek yağlı diyetin neden olduğu obezite ve metabolik bozukluklar sonucunda depresyon ve bilişsel fonksiyonlarda bozulma gibi psikopatolojiler oluşabilmektedir. İnsan ve hayvan çalışmalarına göre obezite azalmış bilişsel fonksiyonlar ile ilişkili bulunmaktadır (5,14,15,151).

Çalışmamızın ana hipotezlerinden biri de yüksek yağlı diyet ile beslenmenin kontrol grubuna göre öğrenme ve bellek bozukluğu göstereceği ve yüksek yağlı diyet ile beslenen ratlarda Spirulina uygulamasının ile öğrenme kabiliyetlerinin anlamlı şekilde gelişeceği üzerine kuruldu. Literatürde yüksek yağlı diyet maruziyetinin kognisyon üzerinde olumsuz etkisi ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Morris su tankı testi de hipokampal bağımlı spasyal belleği değerlendirmek için sıklıkla kullanılan testlerden biridir (62). Morris su tankı testi özellikle Alzheimer gibi nörokognitif bozukluklarda spasyal öğrenme ve belleği değerlendirmek için kullanılmaktadır (119).

Çalışmamızda 12 haftalık yüksek yağlı diyet ve 6 hafta Spirulina uygulamasının spasyal bellek üzerindeki etkisi Morris su labirenti testi ile değerlendirildi. Çalışmamızda ratlarda 4 günlük öğrenme periyodunda tüm gruplarda 1. Gün ve 4. Gün karşılaştırmalarında anlamlı farklılık bulunmuş olup ratların platformu öğrenmiştir ancak probe test periyodunda hedef kadranda bulunma süresinde gruplar arasında farklılık gözlenmemiştir. Çalışmamızda Morris su labirenti testi verilerine göre sıçanlarda 12 hafta yüksek yağlı diyet tüketimi öğrenme ve bellek bozukluğu göstermemiştir. Literatürde birçok çalışmaya göre yüksek yağlı diyetin Morris su tankı

testinde hipokampal belleği bozduğu gösterilmiştir (8). Ancak literatürde yüksek yağlı diyet tüketimi ile öğrenme ve bellek bozukluğu gerçekteştiği görülmeyen az sayıda çalışma da bulunmaktadır. Mielke ve arkadaşlarının uzun süreli 5 ve 10 ay %45 yüksek yağlı diyet tüketimi ile farelerde anlamlı olarak kilo alımına neden olmuş, ancak Morris su tankı verilerine göre spasyal öğrenme ve bellek bozukluğuna neden olmamıştır. Spasyal performansa genetik eğilim göz önünde bulundurulursa C57BL/6 farelerde morris su tankı testinin yeteri kadar hassas olamayabileceği düşünölmüştür (152). %60 YYD ve %55 yüksek fruktoz içerikli diyetin karşılaştırıldığı bir çalışmada yüksek fruktozlu diyet morris su tankı performansını bozarken 10 haftalık YYD morris su tankı testinde bir etkiye neden olmamıştır (153). Yüksek yağlı diyet ile kognitif bozulma arasında güçlü bir ilişki bulunmasına rağmen kullanılan hayvan cinsi, yaşı, diyet uzunluğu, diyet içeriğinin farklı olduğu çeşitli araştırmalar bulunduğu için bu farklılıklar bunlardan kaynaklanıyor olabilir (62,64). Ayrıca öğrenme ve bellek üzerinde ve depresyon gibi davranış bozuklukları üzerinde Spirulinanın etkinliği hakkında literatürde oldukça az çalışma bulunmaktadır ve diyete bağlı spasyal bellek bozukluğuunda Spirulinanın etkisi hakkındaki çalışmalar sınırlıdır.

Kainik asit uygulaması ile nörotoksisite ve spasyal öğrenme bellek eksikliği gelişen farelerde Spirulina maxima uygulaması Morris su tankına göre doz bağımlı olarak (200,400,800 mg/kg) spasyal öğrenmeyi artırmıştır ve Spirulina uygulaması oksidatif stresi azaltıp nöroprotektif etkiler göstermiştir (154). Scopolamine nedenli demans oluşturulan farelere 50, 100, 200 ve 400mg/kg fermente Spirulina Maxima ekstratı uygulanmış ve 200 ve 400 mg/kg Spirulina maxima ekstratının benzer olarak morris su tankı performansını artırdığı gösterilmiştir. Spirulinanın kognitif fonksiyonu artırıcı etkisinin içeriğinde β -karotenin antioksidan özelliğe bağlı olduğu düşünölmektedir (155). SAMP8 türü farelerde 12 hafta 50 mg/kg ve 200 mg/kg Spirulina Platensis uygulaması pasif sakınma testinde spirulina gruplarında pasif sakınma zamanını artırmıştır. Hipokampüste de β -amiloid birikimini doza bağımlı olarak azaltarak bellek kaybını azalttığı bildirilmiştir (156). A β 1–42 enjeksiyonu yapılan farelerde 4 hafta boyunca 150 mg/kg ve 450 mg/kg %70 Spirulina Maxima etanol ekstratı uygulanmış Spirulina uygulamaları morris su tankında platformu bulma zamanını azaltmıştır (157). Adolesan dönemde stres uygulanan ratlarda 2 haftalık 200 mg/kg Spirulina platensis uygulaması morris su tankında hedef kadranda geçirilen

zamanı artırmıştır. Ayrıca pasif sakınma testinde 200 mg/kg ve 400 mg/kg Spirulina uygulamasında 200 mg/kg Spirulininin daha etkili olduğu görülmüştür (158).

Anksiyetenin değerlendirilmesi için yapılan açık alan testinde literatürde bir çalışmada 12 ve 16 haftalık YYD, kontrol grubuna göre merkezde geçirilen zamanı azaltmıştır (159). Başka bir çalışmada 12 hafta %58 yağ içerikli diyet tüketen farelerde açık alan testinde merkezde geçirilen zaman ve merkez alana giriş sayısını azaltmıştır (63). Bir diğer çalışmada ise 4 haftalık YYD açık alan testinde anksiyolitik etkiye neden olmuş ancak 12 haftalık YYD tüketimi açık alan testinde bir farklılık yaratmamıştır (160). Çalışmamızda açık alan test bulgularına göre buna benzer şekilde katedilen mesafelerde anlamlı bir fark bulunmayıp YYD+SP150 grubu kontrole göre orta alanda daha fazla zaman geçirmiştir. Literatürde bir çalışmada adolesan stres nedenli anksiyetede açık alan testinde 2 haftalık 200 mg/kg Spirulina Platensis uygulaması merkezde geçirilen zamanı anlamlı olarak artırmıştır (161).

Çalışmamızda anksiyeteyi değerlendirdiğimiz bir diğer test olan yükseltilmiş artı labirent testinde katedilen mesafelerde anlamlı bir fark bulunmayıp YYD grubu açık kollarda daha az zaman geçirmiştir. 12 haftalık %58 yağ içerikli diyet tüketen farelerde yükseltilmiş artı labirent testinde açık kollara giriş sayısı etkilenmezken çalışmamızla benzer olarak açık kollarda geçirilen zamanı azaltmıştır (63). 4 aylık yüksek yağlı diyet tüketimi yükseltilmiş artı labirent testinde yüksek yağlı diyet tüketenler açık kollarda daha az zaman geçirmişlerdir bu da yüksek yağlı diyetin anksiyete benzeri davranışa neden olduğunu göstermektedir (162). Bunların aksine bir diğer çalışmada ise 4 haftalık YYD yükseltilmiş artı labirent testinde anksiyolitik etkiye neden olmuş ancak 12 haftalık YYD tüketimi yükseltilmiş artı labirent testinde bir farklılık yaratmamıştır (160). Yüksek yağlı diyetin anksiyete üzerine etkisi hakkında literatürde çelişkili çalışmalar bulunmakta olup bu farklılıklar kullanılan hayvan cinsi ve diyetin uzunluğu gibi farklılıklardan kaynaklanmaktadır (163,164). Çalışmamızda SP'nin anksiyete benzeri davranışa etkisi gözlenmemiş olup bu konuda az çalışma bulunmaktadır. Spirulininin anksiyolitik etkisinin incelendiği bir çalışmada 300 mg/kg ve 400 mg/kg Spirulina Platensis yükseltilmiş artı labirent testinde açık kollarda geçirilen zamanı anlamlı olarak artırmıştır ve anti-anksiyete etkiye neden olmuştur (165). Diğer bir çalışmada adolesan stres nedenli anksiyetede 15 gün 200 mg/kg SP uygulaması açık alan testinde merkezde geçirilen zamanı ve yükseltilmiş

artı labirent testinde açık kollarda geçirilen zamanı artırmıştır ve anti-anksiyete etkisi gözlenmiştir (161). Ancak yüksek yağlı diyetle bağlı anksiyete üzerine *Spirulina Platensis*'in etkisini inceleyen bir çalışma bulunmamakta olup çalışmamızda da *Spirulina*'nın anti-anksiyete etkisi gözlenmemiştir.

Zorlu yüzme testi hayvan modellerinde depresyon davranışını değerlendirmek için sıklıkla kullanılan bir test (132) olup çalışmamızda zorlu yüzme testine göre kronik yüksek yağlı diyetle maruz kalan hayvanlarda depresyon benzeri davranış gözlenmiştir. Literatürde de yüksek yağlı diyet tüketimi depresyon benzeri davranışlar oluşturan çalışmalar bulunmaktadır. Bir çalışmaya göre 12 haftalık %58 yağlı diyet tüketen farelerde YYD grubunda zorlu yüzme testinde hareketsizlik zamanı artmıştır (63). Buna benzer olarak çalışmamızda zorlu yüzme testinde yüksek yağlı diyet grubunda immobilité zamanı kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır. Yüksek yağlı diyetle beslenen ve 150 mg/kg ve 450 mg/kg *Spirulina Platensis* uygulanan gruplarda immobilité zamanı YYD grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bu da yüksek yağlı diyet grubunda artan depresyon benzeri davranışların *Spirulina* uygulaması ile düzeldiğini göstermektedir.

Literatürde *Spirulina*'nın depresyon üzerindeki etkisini inceleyen az sayıda çalışma vardır ve yüksek yağlı diyetle bağlı depresyonda *Spirulina*'nın etkisini inceleyen çalışma bulunmamaktadır. 14 gün süreyle 10ml/kg/gün *Spirulina* uygulaması zorunlu yüzme testinde kontrol grubuna göre immobilité zamanını anlamlı olarak düşürmüştür ve antidepresan etkisi olabileceği düşünülmektedir (166). Deneysel depresyon oluşturulmuş farelerde 7 günlük 100, 200 ve 400 mg/kg *Spirulina Platensis* tedavisi zorunlu yüzme testinde immobilité zamanını anlamlı olarak düşürmüştür ve *Spirulina Platensis*'in antidepresan etkisi gösterilmiştir (167). Başka bir çalışmada adolesan stres nedenli depresyon benzeri davranışlarda 15 günlük 200 mg/kg SP uygulaması zorunlu yüzme testinde hareketsizlik zamanını anlamlı olarak düşürmüştür ve depresyon benzeri davranışlar üzerinde olumlu etki göstermiştir (161). Çalışmamızda da bu çalışmalarla benzer şekilde *Spirulina* tedavisi depresyon benzeri davranışlar üzerinde olumlu etkiye neden olmuştur.

Adipoz dokudan salınan leptin besin alımı ve vücut ağırlığının düzenlenmesi süreçlerine katılan önemli role sahip bir hormondur (168). Çalışmamızda yüksek yağlı

diyet (YYD) grubunda serum leptin seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış; YYD+SP150 ve YYD+SP450 gruplarında ise YYD grubuna göre daha düşük gözlenmiş olup anlamlı bir fark bulunmamıştır. Leptin hormonu beyinde nöroplastisitede önemli bir rol oynar ve beynin prefrontal korteks ve hipokampus gibi bölümlerinde fonksiyonel ve yapısal değişiklikler ile ruh hali ve kognisyonu etkileyebilmekte olup ayrıca antidepresan özellikler gösterir (169). Geçici ve arkadaşları atipik semptomlara sahip depresif hastaların serum leptin seviyelerinin kontrole göre daha yüksek bulunduğunu göstermişlerdir (170). Bazı depresyon vakalarında gözlemlenen hiperleptinemi bozulan leptin hassasiyetine bağlı olarak adipozite ve metabolik bozukluklarla birlikte oluşan leptin direnciyle ilişkilidir. Ruh hali bozuklukları ve metabolik sendrom birlikte ortaya çıkıp patofizyolojik süreçlerde de ilişkili olduklarından dolayı artmış leptinin depresyona bağlı metabolik anormalliklerin dolaylı bir aracısı gibi görülebileceği düşünülmektedir (169). Leptinin düşük seviyeleri rodent ve insanlarda depresyonla ilişkili bulunmuştur leptin hayvan modellerinde depresif davranışları önlediği için leptin direnci obezlerde daha yüksek depresyon oranına neden olabilir ve leptin direncinin obezite ve depresyon komorbiditesinde ortak bir biyolojik faktör olabileceği düşünülmektedir (171). Ayrıca obezite ilişkili depresyonun hipokampusta bozulmuş leptin aktivitesine bağlı olabileceği de düşünülmektedir (172). Bu çalışmada yüksek yağlı diyet grubunda leptinin plazma seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış olup prefrontal kortekste ise yüksek yağlı diyet grubunda ve YYD+SP150 grubunda leptin seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. Bu da yüksek yağlı diyet grubunda oluşan leptin direncini gösterebilir. Spirulina uygulanan gruplarda ise leptinin plazma seviyelerinde farklılık bulunmamıştır. Ayrıca çalışmamızda depresyonu belirten zorlu yüzme testinde YYD grubunda kontrol grubuna göre immobilitate zamanı artmış olup depresif davranışlar göstermiştir. YYD+SP150 ve YYD+SP450 grupları ise YYD grubuna göre immobilitate zamanı anlamlı olarak farklı olup kontrol grubu seviyelerindedir. Bu da spirulina uygulaması ile YYD grubunda görülen depresyon benzeri davranışların düzeldiğini kontrol seviyelerine geldiğini göstermektedir. Leptinin plazma seviyeleri YYD+SP150 ve YYD+SP450 gruplarında YYD grubuna göre daha düşük olmasına rağmen anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ve spirulinanın

zorlu yüzme testinde depresif davranışlar üzerindeki etki mekanizması leptine bağlı olmayabilir ve daha çok araştırmaya ihtiyaç vardır.

Sirtuinler yaşlanma, inflamasyon ve stres direnci dahil çeşitli hücresel süreçleri düzenler. Nöronal sistemlerin korunmasında ve yaşlanma sürecinde de önemli bir rol oynadığı görülmektedir. Beyinde SIRT1, kalori kısıtlaması ve egzersiz ile artıp yaşla ve yüksek yağlı diyet tüketimiyle birlikte azalmaktadır (173). SIRT1 beyinde sinaptik plastisite ve bellek düzenlenmesiyle ilişkili bulunmuştur ve merkezi sinir sistemi bozukluklarının tedavisinde terapötik bir hedef olabileceği öne sürülmüştür (23). Yüksek yağlı diyet beyinde SIRT1 düzeylerinde azalmaya yol açmaktadır (174). Bir çalışmada farelerde 27 haftalık yüksek yağlı tüketimiyle diyetle bağlı obez farelerde hipokampüste azalmış SIRT-1 gen ekspresyonuna neden olmuştur (175). Diğer bir çalışmada da 13 haftalık yüksek yağlı diyetle bağlı obez farelerde hipokampüste PGC1- α ekspresyonunu azaltırken SIRT-1 ekspresyonunda azalma eğilimine neden olmuş ancak anlamlı bir fark yaratmamıştır. Ayrıca bellek üzerinde bir etki yaratmamıştır ancak 20 haftalık YYD ile diyetle bağlı obez farelerde ise SIRT-1 ekspresyonunda azalma ve spasyal bellek bozukluğu gözlenmiştir (25).

Biz de çalışmamızda prefrontal korteks, hipokampus ve amigdala SIRT1 seviyelerini ölçtük. Beyin bölgelerinde SIRT1 seviyeleri üzerinde anlamlı bir fark gözlenmedi. SIRT1'in ayrıca depresyonla da ilişkisi bulunmakta olup SIRT1 ekspresyonunun azalmasının depresyon benzeri davranışlar ile ilişkili olduğu gözlemlendiği gibi SIRT1'in overekspresyonun anksiyete ve depresyonu artırdığını gösteren çelişkili çalışmalar da bulunmaktadır (176,177). Medial prefrontal kortekste SIRT1 knock down erkek fareler depresif benzeri davranışlar göstermiştir. SIRT-1'in ön beyin eksisatör nöronlarda depresyon benzeri davranışlarda cinsiyete bağlı olarak önemli bir düzenleyici olduğu gösterilmiştir. SIRT1'in kaybı ile mitokondriyal biyogenezde azalma, artmış asetilasyon ve azalmış PGC1- α 'ya yol açabileceği düşünülmektedir (178). Bu çalışmalarla çelişkili olarak başka bir çalışmada nukleus akumbenste SIRT-1'in ekspresyonunun artışı açık alan, yükseltilmiş artı labirent ve zorunlu yüzme testlerine göre depresyon ve anksiyete davranışlarında artışla ilişkisi gözlenmiştir (179).

4 haftalık yüksek yağlı diyet tüketimi farelerde medial prefrontal korteks ve amigdada SIRT1 düzeylerinde azalma ve anksiyolitik etkiye neden olmuştur ancak 12 haftalık yüksek yağlı diyet ile medial prefrontal korteks ve amigdalada SIRT1 düzeylerinde bir etki gözlenmemiş ve anti-anksiyete etkisi oluşmamıştır (160). Bizim çalışmamızda da buna benzer şekilde 12 haftalık yüksek yağlı diyet tüketimi ile hipokampus, prefrontal korteks ve amigdala SIRT1 seviyelerinde anlamlı bir değişiklik oluşmamıştır. Çalışmamızda beyin bölgelerinde incelenen SIRT-1 immünohistokimyasal sonuçlara göre de bir farklılık gözlenmemiştir.

Obezitede inflamatuvar sitokinlerden olan TNF- α 'nın aşırı üretilmesi obezitenin önemli bir özelliği olarak ortaya çıkmakta ve insülin direncine de neden olabilmektedir (180). Ayrıca obezitenin neden olduğu kronik inflamasyon beyin dokularını da etkilemekte olup obeziteyle ilişkili anksiyete gibi duygu-durum bozukluklarına yol açabilir (181). Biz de bu sebeple prefrontal korteks, hipokampus ve amigdala TNF- α seviyelerini ölçtük. Prefrontal korteks TNF- α düzeylerinde YYD+450SP grubu kontrol ve YYD grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Hipokampus ve amigdalada TNF- α düzeylerinde gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Bir çalışmada 16 haftalık %60 YYD tüketimi ile hipokampus TNF- α düzeyleri anlamlı olarak artmıştır (164). Literatürde bir çalışmaya göre LPS nedenli sitotoksitede *Spirulina Platensis* mikrogial hücrelerde TNF- α gibi inflamatuvar sitokinleri azaltmıştır (182). İki hafta süreyle 5 mg *Spirulina* uygulanan yaşlanmış ratlarda serebellumda artan proinflamatuvar sitokinlerden TNF- α ve TNF- β mRNA seviyeleri *Spirulina* uygulaması ile anlamlı olarak azalmıştır (115). *Spirulina*'nın TNF- α üzerindeki olası etkisi antiinflamatuvar özelliklerinden kaynaklanmaktadır (183).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Günümüzde önemli bir sağlık sorunu haline gelen obezite sadece yaşam standartlarını düşürmekle kalmayıp birçok ek hastalığa ve hastalık yüküne neden olmaktadır. Bu bağlamda obezitenin tedavisinde ve kilo kontrolünün sağlanmasında diyet tedavisinin yanında alternatif tedavilere ihtiyaç duyulmaktadır. SP'nın yüksek yağlı diyetle bağlı obezite ve obezite nedenli oluşabilecek spasyal öğrenme bozukluğu ve depresyon gibi durumlara etkisi incelenmiştir.

Bu çalışmada kronik yüksek yağlı diyet tüketimi obeziteye neden olmuştur ve 450 mg/kg SP uygulanması YYD'e göre kilo kazanımını %24,4 oranında baskılamış olup SP kilo kontrolünde etkili olabilir. Çalışmamızda yüksek yağlı diyet öğrenme ve bellek bozukluğuna neden olmamıştır ve yüksek yağlı diyet tüketimine bağlı bilişsel fonksiyon bozukluğu ve Spirulinanın öğrenme ve bellek üzerine etkisi hakkında daha fazla araştırmaya ihtiyaç bulunmaktadır. Çalışmamızda yüksek yağlı diyetle bağlı SIRT-1 düzeylerinde anlamlı bir farklılık bulunmamış olup obezite ve SIRT-1 ilişkisi hakkında daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Yüksek yağlı diyet tüketen hayvanlar depresyon benzeri davranışlar göstermiştir ve 150 mg/kg ve 450 mg/kg Spirulina uygulaması ile depresyon benzeri davranışlarda düzelme gözlenmiştir. Ancak yüksek yağlı diyetle bağlı depresyon benzeri davranışta Spirulinanın depresyon üzerindeki etki mekanizması hakkında daha fazla araştırmaya ihtiyaç bulunmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. WHO. Obesity and overweight [Internet]. 2020 [Erişim Tarihi 20 Mayıs 2021]. Erişim Adresi: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
2. Guillemot-Legris O, Muccioli GG. Obesity-Induced Neuroinflammation: Beyond the Hypothalamus. *Trends Neurosci.* 2017;40(4):237–53.
3. Gunstad J, Paul RH, Cohen RA, Tate DF, Gordon E. Obesity is associated with memory deficits in young and middle-aged adults. *Eat Weight Disord.* 2006;11(1):15–9.
4. Hommel JD. Neurocognitive and developmental perspectives of obesity. *Int J Dev Neurosci.* 2018;64:1.
5. Boitard C, Etchamendy N, Sauvant J, Aubert A, Tronel S, Marighetto A, vd. Juvenile, but not adult exposure to high-fat diet impairs relational memory and hippocampal neurogenesis in mice. *Hippocampus.* 2012;22(11):2095–100.
6. Kamijo K, Khan NA, Pontifex MB, Scudder MR, Drollette ES, Raine LB, vd. The relation of adiposity to cognitive control and scholastic achievement in preadolescent children. *Obesity.* 2012;20(12):2406–11.
7. Murray S, Chen EY. Examining Adolescence as a Sensitive Period for High-Fat, High-Sugar Diet Exposure: A Systematic Review of the Animal Literature. *Front Neurosci.* 2019;13(1108).
8. Kanoski SE, Davidson TL. Western diet consumption and cognitive impairment: Links to hippocampal dysfunction and obesity. *Physiol Behav.* 2011;103(1):59–68.
9. Lindqvist A, Mohapel P, Bouter B, Frielingsdorf H, Pizzo D, Brundin P, vd. High-fat diet impairs hippocampal neurogenesis in male rats. *Eur J Neurol.* 2006;13(12):1385–8.
10. Kosari S, Badoer E, Nguyen JCD, Killcross AS, Jenkins TA. Effect of western and high fat diets on memory and cholinergic measures in the rat. *Behav Brain Res.* 2012;235(1):98–103.
11. Beilharz JE, Maniam J, Morris MJ. Short exposure to a diet rich in both fat and sugar or sugar alone impairs place, but not object recognition memory in rats. *Brain Behav Immun.* 2014;37:134–41.
12. Arcego DM, Toniazzo AP, Krolow R, Lampert C, Berlitz C, dos Santos Garcia E, vd. Impact of High-Fat Diet and Early Stress on Depressive-Like Behavior and Hippocampal Plasticity in Adult Male Rats. *Mol Neurobiol.* 2018;55(4):2740–53.
13. Beilharz JE, Maniam J, Morris MJ. Diet-induced cognitive deficits: The role of fat and sugar, potential mechanisms and nutritional interventions. *Nutrients.* 2015;7(8):6719–38.
14. Boitard C, Cavaroc A, Sauvant J, Aubert A, Castanon N, Layé S, vd. Impairment of hippocampal-dependent memory induced by juvenile high-fat

- diet intake is associated with enhanced hippocampal inflammation in rats. *Brain Behav Immun.* 2014;40:9–17.
15. Hsu TM, Konanur VR, Taing L, Usui R, Kayser BD, Goran MI, vd. Effects of sucrose and high fructose corn syrup consumption on spatial memory function and hippocampal neuroinflammation in adolescent rats. *Hippocampus.* 2015;25(2):227–39.
 16. Michan S, Sinclair D. Sirtuins in mammals: Insights into their biological function. *Biochem J.* 2007;404(1):1–13.
 17. Zakhary SM, Ayubcha D, Dileo JN, Jose R, Leheste JR, Horowitz JM, vd. Distribution analysis of deacetylase SIRT1 in rodent and human nervous systems. *Anat Rec.* 2010;293(6):1024–32.
 18. Fulco M, Cen Y, Zhao P, Hoffman EP, McBurney MW, Sauve AA, vd. Glucose Restriction Inhibits Skeletal Myoblast Differentiation by Activating SIRT1 through AMPK-Mediated Regulation of Nampt. *Dev Cell.* 2008;14(5):661–73.
 19. Kida Y, Goligorsky MS. Sirtuins, Cell Senescence, and Vascular Aging. *Can J Cardiol.* 2016;32(5):634–41.
 20. Bellet MM, Masri S, Astarita G, Sassone-Corsi P, Della Fazia MA Della, Servillo G. Histone deacetylase SIRT1 controls proliferation, circadian rhythm, and lipid metabolism during liver regeneration in Mice. *J Biol Chem.* 2016;291(44):23318–29.
 21. Busch F, Mobasheri A, Shayan P, Stahlmann R, Shakibaei M. Sirt-1 is required for the inhibition of apoptosis and inflammatory responses in human tenocytes. *J Biol Chem.* 2012;287(31):25770–81.
 22. Chang HC, Guarente L. SIRT1 and other sirtuins in metabolism. *Trends Endocrinol Metab.* 2014;25(3):138–45.
 23. Gao J, Wang WY, Mao YW, Gräff J, Guan JS, Pan L, vd. A novel pathway regulates memory and plasticity via SIRT1 and miR-134. *Nature.* 2010;466(7310):1105–9.
 24. Michán S, Li Y, Chou MMH, Parrella E, Ge H, Long JM, vd. SIRT1 is essential for normal cognitive function and synaptic plasticity. *J Neurosci.* 2010;30(29):9695–707.
 25. Heyward FD, Gilliam D, Coleman MA, Gavin CF, Wang J, Kaas G, vd. Obesity weighs down memory through a mechanism involving the neuroepigenetic dysregulation of Sirt1. *J Neurosci.* 2016;36(4):1324–35.
 26. Ciferri O. Spirulina, the edible microorganism. *Microbiol Rev.* 1983;47(4):551–78.
 27. Seyidoglu N, İnan S ve Aydın C. A Prominent Superfood: Spirulina platensis. *Intech.* 2017;32(July):137–44.
 28. Simpore J, Kabore F, Zongo F, Dansou D, Bere A, Pignatelli S, ve ark. Nutrition rehabilitation of undernourished children utilizing Spiruline and Misola. *Nutr J.* 2006;
 29. Lafarga T, Fernández-Sevilla JM, González-López C, Acién-Fernández FG.

- Spirulina for the food and functional food industries. *Food Res Int*. 2020;137:109356.
30. Suetsuna K, Chen JR. Identification of antihypertensive peptides from peptic digest of two microalgae, *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis*. *Mar Biotechnol*. 2001;3:305–9.
 31. Deng R, Chow TJ. Hypolipidemic, antioxidant, and antiinflammatory activities of microalgae spirulina. *Cardiovasc Ther*. 2010;28(4):33–45.
 32. Sadek KM, Lebda MA, Nasr SM, Shoukry M. *Spirulina platensis* prevents hyperglycemia in rats by modulating gluconeogenesis and apoptosis via modification of oxidative stress and MAPK-pathways. *Biomed Pharmacother*. 2017;92:1085–94.
 33. Seo YJ, Kim KJ, Choi J, Koh EJ, Lee BY. *Spirulina maxima* extract reduces obesity through suppression of adipogenesis and activation of browning in 3T3-L1 cells and high-fat diet-induced obese mice. *Nutrients*. 2018;10(6):1–15.
 34. Heo MG, Choung SY. Anti-obesity effects of *Spirulina maxima* in high fat diet induced obese rats via the activation of AMPK pathway and SIRT1. *Food Funct*. 2018;9(9):4906–15.
 35. Sikaris KA. The clinical biochemistry of obesity. *Clin Biochem Rev*. 2004;25(3):165–81.
 36. Chooi YC, Ding C, Magkos F. The epidemiology of obesity. *Metabolism*. 2019;92:6–10.
 37. Kelly T, Yang W, Chen CS, Reynolds K, He J. Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *Int J Obes*. 2008;32(9):1431–7.
 38. Türkiye Sağlık Araştırması, 2019 [Internet]. 2020 [Erişim Tarihi 20 Mayıs 2021]. Erişim adresi: <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Turkiye-Saglik-Arastirmasi-2019-33661>
 39. Aronne LJ, Nelinson DS, Lillo JL. Obesity as a disease state: A new paradigm for diagnosis and treatment. *Clin Cornerstone*. 2009;9(4):9–29.
 40. Wright SM, Aronne LJ. Causes of obesity. *Abdom Imaging*. 2012;37:730–2.
 41. Guh DP, Zhang W, Bansback N, Amarsi Z, Birmingham CL, Anis AH. The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: A systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health*. 2009;9:1–20.
 42. Wiltink J, Michal M, Wild PS, Zwiener I, Blettner M, Münzel T, vd. Associations between depression and different measures of obesity (BMI , WC , WHtR , WHR). *BMC Psychiatry*. 2013;(Cvd).
 43. Nilsson C, Raun K, Yan FF, Larsen MO, Tang-Christensen M. Laboratory animals as surrogate models of human obesity. *Acta Pharmacol Sin*. 2012;33(2):173–81.
 44. Brown L, Panchal SK. Rodent models for metabolic syndrome research. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011.
 45. Small L, Brandon AE, Turner N, Cooney GJ. Modeling insulin resistance in

- rodents by alterations in diet: What have high-fat and high-calorie diets revealed? *Am J Physiol - Endocrinol Metab.* 2018;314(3):E251–65.
46. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol.* 2011;29:415–45.
 47. De Souza CT, Araujo EP, Bordin S, Ashimine R, Zollner RL, Boschero AC, vd. Consumption of a fat-rich diet activates a proinflammatory response and induces insulin resistance in the hypothalamus. *Endocrinology.* 2005;146(10):4192–9.
 48. Zhang HH, Halbleib M, Ahmad F, Manganiello VC, Greenberg AS. Tumor Necrosis Factor-Stimulates Lipolysis in Differentiated Human Adipocytes Through Activation of Extracellular Signal-Related Kinase and Elevation of Intracellular cAMP. *Diabetes* 2002 51(10): 2929-2935.
 49. Delarue J, Magnan C. Free fatty acids and insulin resistance. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care,* 2007 10(2):142-8.
 50. Miller M, Stone NJ, Ballantyne C, Bittner V, Criqui MH, Ginsberg HN, vd. Triglycerides and cardiovascular disease: A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2011;123(20):2292–333.
 51. Klop B, Elte JWF, Cabezas MC. Dyslipidemia in Obesity: Mechanisms and Potential Targets. *Nutrients.* 2013;5(4):1218–40.
 52. Belgardt BF, Brüning JC. CNS leptin and insulin action in the control of energy homeostasis. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1212:97–113.
 53. Jais A, Brüning JC, Saltiel AR, Olefsky JM. Hypothalamic inflammation in obesity and metabolic disease. *J Clin Invest.* 2017;127(1):24–32.
 54. Könner AC, Brüning JC. Selective insulin and leptin resistance in metabolic disorders. *Cell Metab.* 2012;16(2):144–52.
 55. Denver RJ, Bonett RM, Boorse GC. Evolution of leptin structure and function. *Neuroendocrinology.* 2011;94(1):21–38.
 56. Clément K, Vaisse C, Lahlou N, Cabrol S, Pelloux V, Cassuto D, vd. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature.* 1998;392(6674):398–401.
 57. Halaas JL, Boozer C, Blair-West J, Fidathusein N, Denton DA, Friedman JM. Physiological response to long-term peripheral and central leptin infusion in lean and obese mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94(16):8878–83.
 58. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body composition. *Nature.* 1998;395:763–70.
 59. Dal Farra C, Zsürger N, Vincent JP, Cupo A. Binding of a pure 125I-monoiodoleptin analog to mouse tissues: A developmental study. *Peptides.* 2000;21(4):577–87.
 60. Considine R V., Sinha MK, Heiman ML, Kriaucunas AI, Thomas WS, YCE MR, vd. Serum Immunoreactive-Leptin Concentrations in Normal-Weight and Obese Humans. *N Engl J Med.* 1996; 334(5):292-5.

61. van Swieten MMH, Pandit R, Adan RAH, van der Plasse G. The neuroanatomical function of leptin in the hypothalamus. *J Chem Neuroanat.* 2014;61:207–20.
62. Cordner ZA, Tamashiro KLK. Effects of high-fat diet exposure on learning & memory. *Physiol Behav.* 2015;152:363–71.
63. Sharma S, Fulton S. Diet-induced obesity promotes depressive-like behaviour that is associated with neural adaptations in brain reward circuitry. *Int J Obes.* 2013;37(3):382–9.
64. Del Olmo N, Ruiz-Gayo M. Influence of high-fat diets consumed during the juvenile period on hippocampal morphology and function. *Front Cell Neurosci.* 2018;12(November):1–10.
65. Vinuesa A, Bentivegna M, Calfa G, Filipello F, Pomilio C, Bonaventura MM, vd. Early Exposure to a High-Fat Diet Impacts on Hippocampal Plasticity: Implication of Microglia-Derived Exosome-like Extracellular Vesicles. *Mol Neurobiol.* 2019;56(7):5075–94.
66. Wu H, Liu Q, Kalavagunta PK, Huang Q, Lv W, An X, vd. Normal diet Vs High fat diet -A comparative study: Behavioral and neuroimmunological changes in adolescent male mice. Abbreviations BDNF Brain derived neurotrophic factor BMI Body mass index CREB cAMP-response element binding IPGTT Intraperitoneal glucose. *Metab Brain Dis.* 2018;33:177–90.
67. Kandel ER, Dudai Y, Mayford MR. The molecular and systems biology of memory. *Cell.* 2014;157(1):163–86.
68. Squire LR. Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. *Neurobiol Learn Mem.* 2004;82(3):171–7.
69. Uematsu A, Tan BZ, Johansen JP. Projection specificity in heterogeneous locus coeruleus cell populations: Implications for learning and memory. *Learn Mem.* 2015;22(9):444–51.
70. Morgane PJ, Galler JR, Mokler DJ. A review of systems and networks of the limbic forebrain/limbic midbrain. *Prog Neurobiol.* 2005;75(2):143–60.
71. Nadel L, Moscovitch M. Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Curr Opin Neurobiol.* 1997;7(2):217–27.
72. McGaugh JL. The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. *Annu Rev Neurosci.* 2004;27:1–28.
73. Guyton AC, Hall JE. *Tıbbi Fizyoloji.* 13. Baskı. Ankara: Ayrıntı Yayın ve Matbaacılık; 2016.
74. Tsukada Y. Molecular Approaches to Learning and Memory. C. 38, *Japanese Journal of Physiology.* 1988.38(2):115-32.
75. Asok A, Leroy F, Rayman JB, Kandel ER. Molecular Mechanisms of the Memory Trace. *Trends Neurosci.* 2019;42(1):14–22.
76. Tulving E, Markowitsch HJ. Episodic and declarative memory: Role of the hippocampus. *Hippocampus.* 1998;8(3):198–204.

77. Küey L. Birinci Basamakta Depresyon: Tanıma, Ele Alma, Yönlendirme. *Psikiyatr Dünyası*. 1998;1:5–12.
78. WHO. Depression [Internet]. 2020 [Erişim Tarihi 25 Mayıs 2021]. Erişim Adresi: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>
79. Lim GY, Tam WW, Lu Y, Ho CS, Zhang MW, Ho RC. Prevalence of Depression in the Community from 30 Countries between 1994 and 2014 /692/699/476/1414 /692/499 article. *Sci Rep*. 2018;8(1):1–10.
80. Yemez B, Alptekin K. Depresyon Etiyolojisi. *Psikiyatr Dünyası*. 1998;1:21–5.
81. Searle L. Depression in Parents, Parenting, and Children: Opportunities to Improve Identification, Treatment, and Prevention. C. 16, *Child and Adolescent Mental Health*. 2011. 73–74 s.
82. Milaneschi Y, Simmons WK, van Rossum EFC, Penninx BW. Depression and obesity: evidence of shared biological mechanisms. *Mol Psychiatry*. 2019;24(1):18–33.
83. Imai SI, Armstrong CM, Kaeblerlein M, Guarente L. Transcriptional silencing and longevity protein Sir2 is an NAD-dependent histone deacetylase. *Nature*. 2000;403(6771):795–800.
84. Guarente L. Calorie restriction and sirtuins revisited. *Genes Dev*. 2013;27(19):2072–85.
85. Verdin E, Hirschey MD, Finley LWS, Haigis MC. Sirtuin regulation of mitochondria: Energy production, apoptosis, and signaling. *Trends Biochem Sci*. 2010;35(12):669–75.
86. Kupis W, Pałyga J, Tomal E, Niewiadomska E. The role of sirtuins in cellular homeostasis. *J Physiol Biochem*. 2016;72(3):371–80.
87. Yamamoto H, Schoonjans K, Auwerx J. Sirtuin functions in health and disease. *Mol Endocrinol*. 2007;21(8):1745–55.
88. Bosch-Presegué L, Vaquero A. The dual role of sirtuins in cancer. *Genes and Cancer*. 2011;2(6):648–62.
89. Li X. SIRT1 and energy metabolism. *Acta Biochim Biophys Sin*. 2013;45:51–60.
90. Herskovits AZ, L. Guarente. SIRT1 in neurodevelopment and brain senescence. *Neuron*. 2014; 81(3): 471–48.
91. Martino Adami PV., Galeano P, Wallinger ML, Quijano C, Rabossi A, Pagano ES, vd. Worsening of memory deficit induced by energy-dense diet in a rat model of early-Alzheimer's disease is associated to neurotoxic A β species and independent of neuroinflammation. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis*. 2017;1863(3):731–43.
92. Morris KC, Lin HW, Thompson JW, Perez-Pinzon MA. Pathways for ischemic cytoprotection: Role of sirtuins in caloric restriction, resveratrol, and ischemic preconditioning. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2011;31(4):1003–19.
93. Rodgers JT, Lerin C, Haas W, Gygi SP, Spiegelman BM, Puigserver P. Nutrient

- control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1 α and SIRT1. *Nature*. 2005;434(7029):113–8.
94. Guarente L. Sirtuins as potential targets for metabolic syndrom. *Nature*. 2006; 14;444(7121):868-74.
 95. Pfluger PT, Herranz D, Velasco-Miguel S, Serrano M, Tschöp MH. Sirt1 protects against high-fat diet-induced metabolic damage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(28):9793–8.
 96. Peluso I, Bensehaila K, Kouache A, Bensehaila A. The nutritional quality of *Spirulina platensis* of Tamenrasset, Algeria. *African J Biotechnol*. 2015;14(19):1649-1654–1654.
 97. Gutiérrez-Salmeán G, Fabila-Castillo L, Chamorro-Cevallos G. Nutritional and toxicological aspects of *Spirulina* (Arthrospira). *Nutr Hosp*. 2015;32(1):34–40.
 98. Annapurna V V, Deosthale YG, Bamji MS. *Spirulina* as a source of vitamin A. C. 41, *Plant Foods for Human Nutrition*. Kluwer Academic Publishers; 1991 ;41(2):125-34.
 99. Ranga Rao A, Raghunath Reddy RL, Baskaran V, Sarada R, Ravishankar GA. Characterization of microalgal carotenoids by mass spectrometry and their bioavailability and antioxidant properties elucidated in rat model. *J Agric Food Chem*. 2010;58(15):8553–9.
 100. Kumudha A, Kumar SS, Thakur MS, Ravishankar GA, Sarada R. Purification, identification, and characterization of methylcobalamin from *Spirulina platensis*. *J Agric Food Chem*. 2010;58(18):9925–30.
 101. Gómez-Coronado DJM, Ibañez E, Rupérez FJ, Barbas C. Tocopherol measurement in edible products of vegetable origin. *J Chromatogr A*. 2004;1054(1–2):227–33.
 102. Bhat VB, Madyastha KM. C-Phycocyanin: A Potent Peroxyl Radical Scavenger in Vivo and in Vitro. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000;25:20–5.
 103. Romay C, Armesto J, Ramirez D, González R, Ledon N, García I. Antioxidant and anti-inflammatory properties of C-phycocyanin from blue-green algae. *Inflamm Res*. 1998;47(1):36–41.
 104. Moradi S, Ziaei R, Foshati S, Mohammadi H, Nachvak SM, Rouhani MH. Effects of *Spirulina* supplementation on obesity: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Complement Ther Med*. 2019;47:102211.
 105. Gargouri M, Magné C, El Feki A. Hyperglycemia, oxidative stress, liver damage and dysfunction in alloxan-induced diabetic rat are prevented by *Spirulina* supplementation. *Nutr Res*. 2016;36(11):1255–68.
 106. Wan X zhi, Li T tian, Zhong R ting, Chen H bin, Xia X, Gao L ying, vd. Anti-diabetic activity of PUFAs-rich extracts of *Chlorella pyrenoidosa* and *Spirulina platensis* in rats. *Food Chem Toxicol*. 2019;128(April):233–9.
 107. Muthuraman P, Senthilkumar R, Srikumar K. Alterations in beta-islets of Langerhans in alloxan-induced diabetic rats by marine *Spirulina platensis*. *J*

Enzyme Inhib Med Chem. 2009;24(6):1253–6.

108. Ren Z, Xie Z, Cao D, Gong M, Yang L, Zhou Z, vd. C-Phycocyanin inhibits hepatic gluconeogenesis and increases glycogen synthesis: Via activating Akt and AMPK in insulin resistance hepatocytes. *Food Funct.* 2018;9(5):2829–39.
109. Belluscio LM, Berardino BG, Ferroni NM, Ceruti JM, Cánepa ET. Early protein malnutrition negatively impacts physical growth and neurological reflexes and evokes anxiety and depressive-like behaviors. *Physiol Behav.* 2014;129:237–54.
110. Sinha S, Patro N, Patro IK. Amelioration of neurobehavioral and cognitive abilities of F1 progeny following dietary supplementation with *Spirulina* to protein malnourished mothers. *Brain Behav Immun.* 2019 85:69–87.
111. Lima FAV, Joventino IP, Joventino FP, de Almeida AC, Neves KRT, do Carmo MR, vd. Neuroprotective Activities of *Spirulina platensis* in the 6-OHDA Model of Parkinson's Disease Are Related to Its Anti-Inflammatory Effects. *Neurochem Res.* 2017;42(12):3390–400.
112. Bachstetter AD, Jernberg J, Schlunk A, Vila JL, Hudson C, Cole MJ, vd. *Spirulina* promotes stem cell genesis and protects against LPS induced declines in neural stem cell proliferation. *PLoS One.* 2010;5(5).
113. Pabon MM, Jernberg JN, Morganti J, Contreras J, Hudson CE, Klein RL, vd. A *Spirulina*-Enhanced Diet Provides Neuroprotection in an α -Synuclein Model of Parkinson's Disease. *PLoS One.* 2012;7(9).
114. Mitra S, Siddiqui WA, Khandelwal S. C-Phycocyanin protects against acute tributyltin chloride neurotoxicity by modulating glial cell activity along with its anti-oxidant and anti-inflammatory property: A comparative efficacy evaluation with N-acetyl cysteine in adult rat brain. *Chem Biol Interact.* 2015;238:138–50.
115. Gemma C, Mesches MH, Sepesi B, Choo K, Holmes DB, Bickford PC. Diets enriched in foods with high antioxidant activity reverse age-induced decreases in cerebellar β -adrenergic function and increases in proinflammatory cytokines. *J Neurosci.* 2002;22(14):6114–20.
116. Al-Qahtani WH, Binobeid MA. Anti-inflammatory, antioxidant and antihepatotoxic effects of *Spirulina platensis* against D-galactosamine induced hepatotoxicity in rats. *Saudi J Biol Sci.* 2019;26(4):647–52.
117. Ichimura M, Kato S, Tsuneyama K, Matsutake S, Kamogawa M, Hirao E, vd. Phycocyanin prevents hypertension and low serum adiponectin level in a rat model of metabolic syndrome. *Nutr Res.* 2013;33(5):397–405.
118. Vorhees C V., Williams MT. Assessing spatial learning and memory in rodents. *ILAR J.* 2014;55(2):310–32.
119. Bromley-Brits K, Deng Y, Song W. Morris Water Maze test for learning and memory deficits in Alzheimer's disease model mice. *J Vis Exp.* 2011;(53):2–6.
120. McDonald RJ, Hong NS, Devan BD. The challenges of understanding mammalian cognition and memory-based behaviours: An interactive learning and memory systems approach. *Neurosci Biobehav Rev.* 2004;28(7):719–45.

121. Biessels GJ, Kamal A, Urban IJA, Spruijt BM, Erkelens DW, Gispen WH. Water maze learning and hippocampal synaptic plasticity in streptozotocin-diabetic rats: Effects of insulin treatment. *Brain Res.* 1998;800(1):125–35.
122. Denenberg VH.: Open-Field Behavior in the rat. *Ann New York Acad Sci.* 1969;852–9.
123. Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: A review. *Eur J Pharmacol.* 2003;463(1–3):3–33.
124. Hogg S. A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav.* 1996;54(1):21–30.
125. R.G. L. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology (Berl).* 1987;92(2):180–5.
126. File SE. Factors controlling measures of anxiety and responses to novelty in the mouse. *Behav Brain Res.* 2001;125(1–2):151–7.
127. Cryan JF, Markou A, Lucki I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol Sci.* 2002;23(5):238–45.
128. Başar K, Ertuğrul A, Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri Anabilim Dalı H. Depresyon Araştırmalarında Kullanılan Hayvan Modelleri. *Klin Psikiyatr.* 2005;123–34.
129. Nunez J. Morris water maze experiment. *J Vis Exp.* 2008;(19):12–3.
130. Seibenhener ML, Wooten MC. Use of the open field maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice. *J Vis Exp.* 2015;(96):1–6.
131. Horii Y, McTaggart I, Kawaguchi M. Testing animal anxiety in rats: Effects of open arm ledges and closed arm wall transparency in elevated plus maze test. *J Vis Exp.* 2018; (136):1–6.
132. Yankelevitch-Yahav R, Franko M, Huly A, Doron R. The forced swim test as a model of depressive-like behavior. *J Vis Exp.* 2015;(97):1–7.
133. Mishra P, Singh U, Pandey C, Mishra P, Pandey G. Application of student's t-test, analysis of variance, and covariance. *Ann Card Anaesth.* 2019;22(4):407--411.
134. De Lorenzo A, Romano L, Di Renzo L, Di Lorenzo N, Cennamo G, Gualtieri P. Obesity: A preventable, treatable, but relapsing disease. *Nutrition.* 2020;71: 110615
135. Hariri N, Thibault L. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutr Res Rev.* 2010;23(2):270–99.
136. Ghibaudi L, Cook J, Farley C, Van Heek M, Hwa JJ. Fat intake affects adiposity, comorbidity factors, and energy metabolism of Sprague-Dawley rats. *Obes Res.* 2002;10(9):956–63.
137. Omagari K, Kato S, Tsuneyama K, Inohara C, Kuroda Y, Tsukuda H, vd. Effects of a long-term high-fat diet and switching from a high-fat to low-fat, standard diet on hepatic fat accumulation in Sprague-Dawley rats. *Dig Dis Sci.*

2008;53(12):3206–12.

138. Harrold JA, Williams G, Widdowson PS. Early leptin response to a palatable diet predicts dietary obesity in rats: Key role of melanocortin-4 receptors in the ventromedial hypothalamic nucleus. *J Neurochem*. 2000;74(3):1224–8.
139. Woods SC, Seeley RJ, Rushing PA, D'Alessio D, Tso P. A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. *J Nutr*. 2003;133(4):1081–7.
140. Alarcon-Aguilar FJ, Zamilpa A, Perez-Garcia MD, Almanza-Perez JC, Romero-Núñez E, Campos-Sepulveda EA, vd. Effect of Hibiscus sabdariffa on obesity in MSG mice. *J Ethnopharmacol*. 2007;114(1):66–71.
141. Dinicolantonio JJ, Bhat AG, Okeefe J. Effects of spirulina on weight loss and blood lipids: A review. *Open Hear*. 2020;7(1):1–7.
142. Zhao B, Cui Y, Fan X, Qi P, Liu C, Zhou X, vd. Anti-obesity effects of *Spirulina platensis* protein hydrolysate by modulating brain-liver axis in high-fat diet fed mice. *PLoS One*. 2019;14(6):1–14.
143. Vidé J, Bonafos B, Fouret G, Casas F, Jover B, Jouy N, vd. Effect of spirulina and silicon-enriched spirulina on metabolic syndrome features, oxidative stress and mitochondrial activity in Zucker fatty rats. *J Food Biochem*. 2019;43(9):1–13.
144. Li TT, Tong AJ, Liu YY, Huang ZR, Wan XZ, Pan YY, vd. Polyunsaturated fatty acids from microalgae *Spirulina platensis* modulates lipid metabolism disorders and gut microbiota in high-fat diet rats. *Food Chem Toxicol*. 2019;131:110558.
145. Yousefi R, Mottaghi A, Saidpour A. *Spirulina platensis* effectively ameliorates anthropometric measurements and obesity-related metabolic disorders in obese or overweight healthy individuals: A randomized controlled trial. *Complement Ther Med*. 2018;40:106–12.
146. Gómez-Zorita S, Jenifer T. , González-Arceo M., Aguirre L., Iñaki Milton-L., González M ve ark. Anti-Obesity Effects of Microalgae. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(1): 41.
147. Noeman SA, Hamooda HE, Baalash AA. Biochemical study of oxidative stress markers in the liver, kidney and heart of high fat diet induced obesity in rats. *Diabetol Metab Syndr*. 2011;3(1):1–8.
148. Amin KA, Nagy MA. Effect of Carnitine and herbal mixture extract on obesity induced by high fat diet in rats. *Diabetol Metab Syndr*. 2009;1(1):1–14.
149. Hua P, Yu Z, Xiong Y, Liu B, Zhao L. Regulatory efficacy of *spirulina platensis* protease hydrolyzate on lipid metabolism and gut microbiota in high-fat diet-fed rats. *Int J Mol Sci*. 2018;19(12):4023.
150. Zeinalian R, Farhangi MA, Shariat A, Saghafi-Asl M. The effects of *Spirulina Platensis* on anthropometric indices, appetite, lipid profile and serum vascular endothelial growth factor (VEGF) in obese individuals: A randomized double blinded placebo controlled trial. *BMC Complement Altern Med*. 2017;17(1):225.

151. Valladolid-Acebes I, Stucchi P, Cano V, Fernández-Alfonso MS, Merino B, Gil-Ortega M, vd. High-fat diets impair spatial learning in the radial-arm maze in mice. *Neurobiol Learn Mem.* 2011;95(1):80–5.
152. Mielke JG, Nicolitch K, Avellaneda V, Earlam K, Ahuja T, Mealing G, vd. Longitudinal study of the effects of a high-fat diet on glucose regulation, hippocampal function, and cerebral insulin sensitivity in C57BL/6 mice. *Behav Brain Res.* 2006;175(2):374–82.
153. Woodie L, Blythe S. The differential effects of high-fat and high-fructose diets on physiology and behavior in male rats. *Nutr Neurosci.* 2018;21(5):328–36.
154. Pérez-Juárez A, Pacheco-Rosado J., Paniagua-Castro N., Alva-Sanchez C., Chamorro-cevallos G. Neuroprotective effect of *Spirulina* (*Arthrospira*) *maxima* against kainic acid-induced neurotoxicity. *J Med Plants Res.* 2012;6(2),206-214.
155. Choi WY, Kang DH, Lee HY. Effect of Fermented *Spirulina maxima* Extract on Cognitive-Enhancing Activities in Mice with Scopolamine-Induced Dementia. *Evidence-based Complement Altern Med.* 2018; 7218504.
156. Hwang JH, Lee I Te, Jeng KC, Wang MF, Hou RCW, Wu SM, vd. *Spirulina* prevents memory dysfunction, reduces oxidative stress damage and augments antioxidant activity in senescence-accelerated mice. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 2011;57(2):186–91.
157. Koh EJ, Kim KJ, Song JH, Choi J, Lee HY, Kang DH, vd. *Spirulina maxima* extract ameliorates learning and memory impairments via inhibiting GSK-3 β phosphorylation induced by intracerebroventricular injection of amyloid- β 1-42 in mice. *Int J Mol Sci.* 2017;18(11):1–11.
158. Moradi-Kor N, Ghanbari A, Rashidipour H, Yousefi B, Bandegi AR, Rashidy-Pour A. Beneficial effects of *Spirulina platensis*, voluntary exercise and environmental enrichment against adolescent stress induced deficits in cognitive functions, hippocampal BDNF and morphological remodeling in adult female rats. *Horm Behav.* 2019;112:20–31.
159. Zemdegs J, Quesseveur G, Jarriault D, Pénicaud L, Fioramonti X, Guiard BP. High-fat diet-induced metabolic disorders impairs 5-HT function and anxiety-like behavior in mice. *Br J Pharmacol.* 2016;2095–110.
160. Xu L, Xu S, Lin L, Gu X, Fu C, Fang Y, vd. High-fat Diet Mediates Anxiolytic-like Behaviors in a Time-dependent Manner Through the Regulation of SIRT1 in the Brain. *Neuroscience.* 2018;372:237–45.
161. Moradi-Kor N, Dadkhah M, Ghanbari A, Rashidipour H, Bandegi AR, Barati M, vd. Protective effects of *spirulina platensis*, voluntary exercise and environmental interventions against adolescent stress-induced anxiety and depressive-like symptoms, oxidative stress and alterations of bdnf and 5ht-3 receptors of the prefrontal cortex in . *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2020;16:1777–94.
162. Vinuesa A, Pomilio C, Menafra M, Bonaventura MM, Garay L, Mercogliano MF, vd. Juvenile exposure to a high fat diet promotes behavioral and limbic

- alterations in the absence of obesity. *Psychoneuroendocrinology*. 2016;72:22–33.
163. Maniam J, Morris MJ. Palatable cafeteria diet ameliorates anxiety and depression-like symptoms following an adverse early environment. *Psychoneuroendocrinology*. 2010;35(5):717–28.
 164. Dutheil S, Ota KT, Wohleb ES, Rasmussen K, Duman RS. High-Fat Diet Induced Anxiety and Anhedonia: Impact on Brain Homeostasis and Inflammation. *Neuropsychopharmacology*. 2016;41(7):1874–87.
 165. Neekhara S, Jain V, Jain P, Jain S, Jain SA, Garg NK. Assessment of Anxiolytic Potential of *Spirulina Platensis*. *Int J Pharm Sci Res*. 2014;5(9):4067–71.
 166. Kim NH, Jeong HJ, Lee JY, Go H, Ko SG, Hong SH, vd. The effect of hydrolyzed *Spirulina* by malted barley on forced swimming test in ICR mice. *Int J Neurosci*. 2008;118(11):1523–33.
 167. Suresh D., Madhu M., Saritha Ch, Kumar R., Shankaraiah P. Antidepressant activity of *spirulina platensis* in experimentally induced depression in mice. *Int J Res Dev Pharm Life Sci*. 2014;3(3):1026–35.
 168. Klok MD, Jakobsdottir S, Drent ML. The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: A review. *Obes Rev*. 2007;8(1):21–34.
 169. Ge T, Fan J, Yang W, Cui R, Li B. Leptin in depression: a potential therapeutic target. *Cell Death Dis*. 2018;9(11):1–10.
 170. Gecici O, Kuloglu M, Atmaca M, Tezcan AE, Tunckol H, Emül HM, vd. High serum leptin levels in depressive disorders with atypical features. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2005;59(6):736–8.
 171. Lu XY. The leptin hypothesis of depression: a potential link between mood disorders and obesity? *Curr Opin Pharmacol*. 2007;7(6):648–52.
 172. Yamada N, Katsuura G, Ochi Y, Ebihara K, Kusakabe T, Hosoda K, vd. Impaired CNS leptin action is implicated in depression associated with obesity. *Endocrinology*. 2011;152(7):2634–43.
 173. Ng F, Wijaya L, Tang BL. SIRT1 in the brain-connections with aging-associated disorders and lifespan. 2015;9:9:64.
 174. Wu A, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Oxidative stress modulates Sir2 α in rat hippocampus and cerebral cortex. *Eur J Neurosci*. 2006;23(10):2573–80.
 175. Heyward FD, Walton RG, Carle MS, Coleman MA, Garvey WT, Sweatt JD. Adult mice maintained on a high-fat diet exhibit object location memory deficits and reduced hippocampal SIRT1 gene expression. *Neurobiol Learn Mem*. 2012;98(1):25–32.
 176. Lu G, Li J, Zhang H, Zhao X, Yan LJ, Yang X. Role and possible mechanisms of sirt1 in depression. *Oxid Med Cell Longev*. 2018;2018.
 177. Libert S, Pointer K, Bell EL, Das A, Cohen DE, Asara JM, vd. SIRT1 activates MAO-A in the brain to mediate anxiety and exploratory drive. *Cell*. 2011;147(7):1459–72.

178. Lei Y, Wang J, Wang D, Li C, Liu B, Fang X, vd. SIRT1 in forebrain excitatory neurons produces sexually dimorphic effects on depression-related behaviors and modulates neuronal excitability and synaptic transmission in the medial prefrontal cortex. *Mol Psychiatry*. 2020;25(5):1094–111.
179. Kim HD, Hesterman J, Call T, Magazu S, Keeley E, Armenta K, vd. SIRT1 mediates depression-like behaviors in the nucleus accumbens. *J Neurosci*. 2016;36(32):8441–52.
180. Wellen KE, Hotamisligil GS, Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation , stress , and diabetes. *J Clin Invest*. 2005;115(5):1111–9.
181. Fourrier C, Bosch-Bouju C, Boursereau R, Sauviant J, Aubert A, Capuron L, vd. Brain tumor necrosis factor- α mediates anxiety-like behavior in a mouse model of severe obesity. *Brain Behav Immun*. 2019;77:25–36.
182. Chen JC, Liu KS, Yang TJ, Hwang JH, Chan YC, Lee I Te. Spirulina and C-phycocyanin reduce cytotoxicity and inflammation-related genes expression of microglial cells. *Nutr Neurosci*. 2012;15(6):252–6.
183. Wu Q, Liu L, Miron A, Klímová B, Wan D, Kuča K. The antioxidant, immunomodulatory, and anti-inflammatory activities of Spirulina: an overview. *Arch Toxicol*. 2016;90(8):1817–40.

8. EKLER

EK-1.Etik Onay Belgesi

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (TF-HADYEK)
ETİK KURUL KARARI

Toplantı Tarihi	Karar No	Proje Yürütücüsü
04.07.2019	68/2019	Prof. Dr. Müge KIRAY

Karar: “Sıçanlarda erken başlangıçlı yüksek yağlı diyetle bağlı obezitede *Spirulina Platensis*’in metabolik ve davranışsal parametreler ile kognitif fonksiyon üzerine etkisinin incelenmesi” isimli proje etik olarak uygun bulunmuştur.

Etik Onay Geçerlilik Süresi: 5 yıl

GÖREVİ	ADI SOYADI
Başkan	Prof. Dr. Nazan Uysal HARZADIN
Başkan Yardımcısı	Vet. Hek. Sevim KANDIŞ
Üye	Prof. Dr. Lutfiye KANIT
Üye	Prof. Dr. Ersin KOYLU
Üye	Prof. Dr. Sevil Gönenç ARDA
Üye	Prof. Dr. Durgül YILMAZ
Üye	Ayşe DAYI



GİZEM USLUEL

Kişisel Bilgiler

İletişim Bilgileri

İletişim Adresi

Telefon

E-posta

İnternet Sayfası

Öğrenim Bilgileri

01 Ocak 2018 - Şu Anda (3 yıl 7 ay)
Yüksek Lisans, Tezli Program, DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ, TÜRKİYE
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, FİZYOLOJİ (YL) (TEZLİ)

01 Eylül 2013 - 01 Haziran 2017 (3 yıl 10 ay)
Lisans, Anadal/Normal Öğretim, EGE ÜNİVERSİTESİ, TÜRKİYE
SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ, BESLENME VE DİYETETİK BÖLÜMÜ

01 Ekim 2009 - 01 Haziran 2013 (3 yıl 9 ay)
MİLLİ EĞİTİM BAKANLIĞI İL MİLLİ EĞİTİM MÜDÜRLÜKLERİ VE OKULLAR İZMİR
İLİNDEKİ OKULLAR KARABAĞLAR İLÇESİNDEKİ OKULLAR İZMİR ANADOLU LİSESİ,
TÜRKİYE

Yabancı Dil Bilgileri

İNGİLİZCE (Okuma: İyi, Yazma: Orta, Konuşma: Orta)

Ar-Ge Yetkinlik

Bildiriler

G. USLUEL, B. DEMİRBAŞ, B. AÇIKGÖZ, İ. AKSU, M. KIRAY & A. KIRAY, Effects of Spirulina Platensis on Behavioral Parameters and Sirtuin-1 in High Fat Diet-Induced Obesity in Rats, Sözlü Sunum, 4th International Congress of Turkish Neuroendocrinology Society (4th TNED Congress), 26 Kasım 2020, 28 Kasım 2020.

TÜBİTAK Burs ve Destekleri

Panelistlik/İzleyicilik/Raportörlük Sayısı

Hakemlik/Panelistlik/Dış Danışmanlık Sayısı	ARDEB/BİDEB 0	TEYDEB 0	Toplam 0
İzleyicilik/Danışmanlık Sayısı	ARDEB/BİDEB 0	TEYDEB 0	Toplam 0
Raportörlük Sayısı	ARDEB/BİDEB 0	TEYDEB 0	Toplam 0

EK-3 KATKI

Bu araştırma DEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü tarafından 2020.KB.SAG.007 proje numarası ile desteklenmiştir.

