

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI

MATERNAL KAFETERYA DİYETİ VE OMEGA-3
TAKVİYESİNİN YAVRULARDAKİ BAZI GEN
EKSPRESYONLARINA ETKİSİ

Hazırlayan
Dyt. Ashhan KOÇ

Danışman
Doç. Dr. Zeynep CAFEROĞLU AKIN

Yüksek Lisans Tezi

Ocak 2023
KAYSERİ

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI

MATERNAL KAFETERYA DİYETİ VE OMEGA-3
TAKVİYESİNİN YAVRULARDAKİ BAZI GEN
EKSPRESYONLARINA ETKİSİ

Yüksek Lisans Tezi

Hazırlayan
Dyt. Aşlıhan KOÇ

Danışman
Doç. Dr. Zeynep CAFEROĞLU AKIN

Ocak 2023
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Aslıhan KOÇ



YÖNERGEYE UYGUNLUK

“Maternal Kafeterya Diyeti ve Omega-3 Takviyesinin Yavrulardaki Bazı Gen Ekspresyonlarına Etkisi” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesine uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan

Aslıhan KOÇ

Danışman

Doç. Dr. Zeynep CAFEROĞLU AKIN

Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Betül ÇİÇEK

ONAY

Doç. Dr. Zeynep CAFEROĞLU AKIN danışmanlığında **Ashhan KOÇ** tarafından hazırlanan “**Maternal Kafeterya Diyeti ve Omega-3 Takviyesinin Yavrulardaki Bazı Gen Ekspresyonlarına Etkisi**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Beslenme ve Diyetetik** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

13/01/2023

JÜRİ:

Danışman : Doç. Dr. Zeynep CAFEROĞLU AKIN

Üye : Prof. Dr. Betül ÇİÇEK

Üye : Prof. Dr. Serpil TAHERİ

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Armağan Aytağ YÜRÜK

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Gizem AYTEKİN ŞAHİN

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih vesayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....
Prof. Dr. Bilal AKYÜZ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez danışmanım olarak çalışmanın planlanması ve yürütülmesinde büyük özveri gösteren, istatistiksel olarak değerlendirilmesinde ve tezin her aşamasında bilgi, tecrübe ve desteklerini esirgemeyen her zaman örnek aldığım değerli hocam Sayın Doç. Dr. Zeynep CAFEROĞLU AKIN'a

Tez araştırmam boyunca bilgi ve tecrübeleriyle destek olan Sayın Prof. Dr. Serpil TAHERİ ve ekibine,

Çalışma boyunca laboratuvar imkanları ve teknik bilgileriyle destek olan Erciyes Üniversitesi Genom ve Kök Hücre Merkezi Transgenik Hayvan Üretim ve Barındırma Birimine,

Yüksek lisans eğitimim sırasında mesleki ve kişisel gelişimimde büyük emekleri olan Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. Betül ÇİÇEK'e, Sayın Prof. Dr. Habibe ŞAHİN'e ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Neslihan ÖNER'e,

Yüksek lisans çalışmam süresince ve araştırmanın her aşamasında vermiş oldukları destekten dolayı Sevgili Dyt. İrem KÜÇÜKÖZER DOĞAN, Dyt. Nur ALDAKİ ve Dyt. Şeyma TEMİZYÜREK'e,

Bugünlere gelmemde büyük pay sahibi olan, maddi ve manevi desteklerini hayatım boyunca yanımda hissettiğim canım annem'e, babalarım'a, kardeşim, ablam ve çalışmamın laboratuvar aşamasından yazımına kadar her anında yanımda olan kıymetli ikinci annem Zülfiye KOÇ'a,

Yol arkadaşım, sevgili eşim Ömer Faruk KOÇ'a ve varlıkları ile bana en büyük gücü ve mutluluğu veren kızlarım Zeynep Gökçe ve Zehra Bilge KOÇ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Aslıhan KOÇ

MATERNAL KAFETERYA DİYETİ VE OMEGA-3 TAKVİYESİNİN YAVRULARDAKİ BAZI GEN EKSPRESYONLARINA ETKİSİ

Ashhan KOÇ

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi, Ocak 2023

Danışman: Doç. Dr. Zeynep CAFEROĞLU AKIN

ÖZET

Bu çalışmanın amacı; kafeterya diyeti ile beslenen anne farelere yapılan omega-3 takviyesinin, yavruların hipotalamusundaki pro-opiomelanokortin (*Pomc*), nöropeptit-Y (*Npy*) ve agouti-ilişkili protein (*Agrp*) mRNA gen ekspresyon düzeyleri üzerine olası etkilerini belirlemektir. Gebeliğin ilk gününden itibaren gestasyon ve laktasyon dönemi boyunca takip edilmek üzere *C57BL/6J* cinsi gebe fareler her grupta 8 adet olacak şekilde dört gruba ayrılmıştır. Birinci gruba Batı tarzı beslenmenin modellendiği enerjisi yüksek, fazla miktarda yağ ve şeker içeren kafeterya diyeti, ikinci gruba kafeterya diyetine ek olarak 300 mg/kg/gün olacak şekilde omega-3 takviyesi, üçüncü gruba kontrol diyeti ve dördüncü gruba kontrol diyetine ek olarak omega-3 takviyesi verilmiştir. Laktasyon dönemi sonunda her grupta 8 adet erkek ve 8 adet dişi olmak üzere toplam 64 yavru ile çalışmanın tamamlanması planlanmış, ancak kontrol diyeti+omega-3 takviyesi grubundaki yavru kaybı nedeniyle 62 yavru kurban edilerek kan ve doku izolasyonu yapılmıştır. Çalışma sonucunda, maternal vücut ağırlığı ve besin tüketim miktarı için gruplar arasında fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Bununla birlikte, kafeterya diyeti tüketen grupların günlük enerji, toplam yağ ve doymuş yağ alımları kontrol gruplarından daha yüksekken, protein ve posa alımları daha düşüktür ($p<0.001$). Karbonhidrat alımları ise genel olarak benzerken, sadece dördüncü haftada kontrol diyeti+omega-3 takviyesi ile beslenen grubun karbonhidrat alımı diğerlerine göre daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Yavruların *Pomc*, *Agrp* ve *Npy* mRNA gen ekspresyon düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark oluşmamıştır ($p>0.05$). Bu çalışmayla maternal kafeterya diyeti tüketimi veya omega-3 takviyesinin, yavruda kısa dönemde oluşabilecek iştah ile ilişkili gen ekspresyonlarını etkilemediği gösterilse de annenin beslenme durumuna olumsuz etkisi açıktır. Maternal dönemde yeterli ve dengeli beslenme hem annenin hem de fetüsün sağlığı için önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Gen ekspresyonu; iştah; kafeterya diyeti; maternal diyet; omega-3 yağ asitleri

THE EFFECTS OF MATERNAL CAFETERIA DIET AND OMEGA-3 SUPPLEMENTATION ON SOME GENE EXPRESSIONS IN OFFSPRING

Ashhan KOÇ

Erciyes University, Health Sciences Institute

Department of Nutrition and Dietetics

Master Degree Thesis, January 2023

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Zeynep CAFEROĞLU AKIN

ABSTRACT

This study aimed to determine the possible effects of omega-3 supplementation in maternal cafeteria-fed mice on pro-opiomelanocortin (*Pomc*), neuropeptide-y (*Npy*), and agouti-related protein (*Agrp*) mRNA gene expression levels in the hypothalamus of the offspring. *C57BL/6J* pregnant mice were divided into four groups, 8 in each group, to be followed throughout the gestation and lactation period from the first day of pregnancy. Cafeteria diet with high energy, high amount of fat and sugar modeled on a Western-style diet for the first group, omega-3 supplementation at 300 mg/kg/day to the second group in addition to the cafeteria diet, control diet for the third group, and a control diet for the fourth group in addition to the control diet omega-3 supplements are given. At the end of the lactation period, it was planned to complete the study with a total of 64 puppies, 8 males and 8 females in each group. As a result of the study, there was no difference between the groups for maternal body weight and amount of food consumption ($p>0.05$). However, while the daily energy, total fat, and saturated fat intakes of the cafeteria diet groups were higher than the control groups, their protein and fiber intakes were lower ($p<0.001$). While carbohydrate intakes were generally similar, carbohydrate intake of the control diet + omega-3 supplementation group was found to be higher than the others only in the fourth week ($p<0.05$). There was no statistically significant difference between the groups in terms of the offspring's *Pomc*, *Agrp*, and *Npy* mRNA gene expression levels ($p>0.05$). Although this study showed that maternal cafeteria diet consumption or omega-3 supplementation did not affect short-term appetite-related gene expressions in the offspring, its negative impact on maternal nutritional status is clear. Adequate and balanced nutrition in the maternal period is essential for the health of both the mother and the fetus.

Keywords: Gene expression; appetite; cafeteria diet; maternal diet; omega-3 fatty acids.

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK.....	
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK.....	ii
ONAY	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
TABLolar LİSTESİ.....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Fetal Programlama Hipotezi	4
2.1.1. Epidemiyolojik Çalışmalar.....	6
2.1.2. Hayvan Çalışmaları.....	8
2.1.3. Besinsel Programlama Mekanizmaları	9
2.1.3.1. Yeniden Doku Şekillenmesi.....	9
2.1.3.2. Plesantanın Rolü	11
2.1.3.3. Gen İfadesi	12
2.1.3.4. Epigenetik Mekanizmalar	12
2.1.3.4.1. DNA Metilasyonu.....	14
2.1.3.4.2. Histon Modifikasyonları	16

2.1.3.4.3. Kodlamayan RNA'lar	16
2.1.4. Hipotalamik Melanokortin Sisteminin Fetal Programlamadaki Rolü.....	18
2.1.4.1. Hipotalamusun Anatomik Yapısı	18
2.1.4.2. Hipotalamik Melanokortin Sistemi	20
2.1.4.2.1. Pro-opiomelanokortin	21
2.1.4.2.2. Agouti-ilişkili Protein	25
2.1.4.2.3. Nöropeptit-Y	26
2.2. Obezitenin Fetal Programlanması	26
2.3. Maternal Obezitenin Yavruya Etkileri	29
2.3.1. Metabolik Etkileri	29
2.3.2. İştah ve Besin alımı Üzerine Etkileri	30
2.3.3. Ağırlık Denetimi Üzerine Etkileri.....	31
2.3.4. Maternal Obezitenin Pro-opiomelanokortin, Nöropeptit-Y ve Agouti- ilişkili Protein Gen Ekspresyonları Üzerine Etkisi	32
2.4. Maternal Obezitenin Olumsuz Etkilerinden Koruyucu Stratejilerin Geliştirilmesi	32
2.4.1. Omega-3 Yağ Asitleri	33
2.4.2. Maternal Omega-3 Suplementasyonunun Yavruya Etkileri	35
2.4.2.1. İştah ve Besin Alımı Üzerine Etkileri	35
2.4.2.2. Ağırlık Denetimi Üzerine Etkileri.....	36
2.4.2.3. Pro-opiomelanokortin, Nöropeptit-Y ve Agouti-ilişkili Protein Gen Ekspresyonları Üzerine Etkileri	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM	40
3.1. Araştırmanın Yeri, Zamanı ve Örneklem Sayısı.....	40
3.2. Deney Hayvanlarının Temini ve Bakımı	41
3.3. Deney Hayvanlarına Uygulanan Diyet Müdahalesi.....	41

3.4. Omega-3 Takviyesi	45
3.5. Sakrifikasyon Yöntemi, Doku Örneği Alınması ve Saklanması.....	45
3.6. Hipotalamusta Pro-opiomelanokortin, Nöropeptit-Y ve Agouti-ilişkili Protein Gen Ekspresyonlarının Belirlenmesi	46
3.6.1. Total RNA İzolasyonu	46
3.6.2. Tamamlayıcı DNA Sentezi	46
3.6.3. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonunda Pro-opiomelanokortin, Nöropeptit-Y ve Agouti-ilişkili Protein Genlerinin Ekspresyon Analizleri	47
3.7. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	49
4. BULGULAR.....	50
4.1. Maternal Dönemde Vücut Ağırlığı, Yem Tüketimi, Enerji ve Makro Besin Ögesi Alımlarına İlişkin Bulgular	50
4.2. Yavrularda Pro-opiomelanokortin, Nöropeptit-Y ve Agouti-ilişkili Protein Gen Ekspresyonlarına İlişkin Bulgular	60
5. TARTIŞMA	65
5.1. Maternal Dönemde Vücut Ağırlığı, Yem Tüketimi, Enerji ve Makro Besin Ögesi Alımlarına İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi	66
5.2. Yavrularda Pro-opiomelanokortin, Nöropeptit-Y ve Agouti-ilişkili Protein Gen Ekspresyonlarına İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi	69
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	74
7. KAYNAKLAR	81
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACTH	: Adrenocorticotrophic Hormone (Adrenokortikotropik Hormon)
Agrp	: Agouti-Related Protein (Agouti-İlişkili Protein)
ALA	: Alfa-Linolenik Asit
ARC	: Arcuate Nucleus (Arkuat Çekirdek)
BKİ	: Beden Kütle İndeksi
cDNA	: Complementer DNA (Tamamlayıcı DNA)
CRH	: Corticotyropin Releasing Hormone (Kortikotropin Salgılatıcı Hormon)
ÇDYA	: Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
DHA	: Docosahexaenoic Acid (Dokosaheksaenoik Asit)
DiO	: Diyetle İndüklenen Obezite
Dk	: Dakika
DMH	: Dorsomedial Hypotalamic Nucleus (Dorsomedial Hipotalamik Çekirdek)
DNA	: Deoxyribonucleic Acid (Deoksiribonükleik Asit)
DOHaD	: Developmental Origins of Health and Disease (Gelişimsel Sağlık ve Hastalık Kökenleri)
EPA	: Eicosapentaenoic Acid (Eikosapentaenoik Asit)
g	: Gram
GLP-1	: Glucagon Like Peptit-1 (Glukagon Benzeri Peptit-1)
kg	: Kilogram
kcal	: Kilokalori
KKH	: Kronik Kalp Hastalığı
LA	: Linoleic Acid (Linoleik Asit)
LH	: Lateral Hypotalamus (Lateral Hipotalamus)
mg	: Miligram
miRNA	: Micro Ribonücleic Acid (Mikro Ribonükleik Asit)
ml	: Mililitre
mRNA	: Messenger Ribonücleic Acid (Mesajcı Ribonükleik Asit)
NaCl	: Sodyum Klorür
ncRNA	: Non-coding RNA (kodlamayan RNA)

<i>Npy</i>	: Neuropeptide-Y (Nöropeptit-Y)
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
<i>Pomc</i>	: Pro-Opiomelanocortin (Pro-Opiyomelanokortin)
PVN	: Paraventricular Nucleus (Paraventriküler Çekirdek)
RT-PCR	: Real-Time Polymerase Chain Reaction (Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
SEM	: Standart Hata
sn	: Saniye
SPSS	: Statistical Package for Social Sciences
TSH	: Thyrotropin-Releasing Hormon (Tirotropin Salgılatıcı Hormon)
VMH	: Ventromedial Hypothalamus (Ventromediyal Hipotalamus)
α-MSH	:Alfa-Melanocyte Stimulathormone (Alfa-Melanosit Uyarıcı Hormon)
μL	: Mikrolitre

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Gelişimsel programlamayı tetikleyen faktörler ve yavruda meydana gelen fizyolojik adaptasyonlar	5
Şekil 2.2.	Genler ve çevresel faktörlerin epigenetik modifikasyonlar ve glikoz metabolizmasına etkileri	13
Şekil 2.3.	Epigenetik mekanizmaların moleküler temelleri ve ekspresyon kontrolündeki rolleri.....	15
Şekil 2.4.	Enerji metabolizmasının beyindeki regülasyonu	19
Şekil 2.5.	Melanokortin sistemini şekillendiren etkenler	21
Şekil 2.6.	<i>Pomc</i> , <i>Npy</i> ve <i>Agrp</i> nöronlarının metabolik sinyallere bağlı regülasyonu ve metabolizma üzerindeki etkileri	23
Şekil 3.1.	Deney grupları ve çalışmanın yürütülmesinde izlenen yol	40
Şekil 3.2.	Çalışma tasarımı.....	42
Şekil 4.1.	Gruplara göre gestasyon döneminde haftalık ortalama vücut ağırlığı. ...	52
Şekil 4.2.	Gruplara göre haftalık ortalama besin tüketimi.....	53
Şekil 4.3.	Gruplara göre haftalık ortalama enerji alımı	54
Şekil 4.4.	Gruplara göre haftalık ortalama karbonhidrat alımı.....	55
Şekil 4.5.	Gruplara göre haftalık ortalama protein alımı.....	56
Şekil 4.6.	Gruplara göre haftalık ortalama yağ alımı	58
Şekil 4.7.	Gruplara göre haftalık ortalama doymuş yağ alımı.....	59
Şekil 4.8.	Gruplara göre haftalık ortalama posa alımı.....	60
Şekil 4.9.	<i>Pomc</i> geni mRNA ekspresyon düzeyleri	61
Şekil 4.10.	<i>Npy</i> geni mRNA ekspresyon düzeyleri	63
Şekil 4.11.	<i>Agrp</i> geni mRNA ekspresyon düzeyleri.....	64

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 2.1. Gebelikte obezitenin kısa ve uzun dönem etkileri	28
Tablo 3.1. Kontrol diyeti ve kafeterya diyetinin enerji ve makro besin ögesi içerikleri	43
Tablo 3.2. Kafeterya diyetinde yer alan besinlerin enerji ve makro besin ögesi miktarları	44
Tablo 3.3. Örnekler için hazırlanan reaksiyon karışımı	47
Tablo 3.4. cDNA sentezi için PCR programı	47
Tablo 3.5. mRNA ekspresyon düzeylerinin belirlenmesinde uygulanan PCR protokolü	48
Tablo 3.6. RT-PCR için kullanılan primer sekansları	48
Tablo 4.1. Gruplara göre gestasyon ve laktasyon döneminde günlük ortalama vücut ağırlığı, besin tüketimi, enerji, makro besin ögesi ve posa alımı	51

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde obezite tüm yaş gruplarını tehdit eden bir sorun olsa da çocuklar hem doğum öncesi hem de doğum sonrası dönemde kötü beslenmeye karşı daha savunmasızdır (Sahoo ve ark., 2015). Gebelik sırasında maternal diyet fetüs için birincil enerji kaynağıdır ve fetal gelişim için temel besinleri sağlar (Hu ve ark., 2020; Lazzarino ve ark., 2017). Maternal obezite gebelik öncesi, sırası ve sonrası dönemde önce anneyi ardından da fetal ve hatta neonatal sağlığı dahi olumsuz etkileyebilmektedir (Poston ve ark., 2016). İnsanlar üzerinde yapılan birçok çalışma annenin beslenme tarzının, anne davranışını ve yeni doğan davranışlarını etkilediği hipotezini desteklemektedir (Sartorelli ve ark., 2019; Sullivan ve ark., 2014).

Annenin işlenmiş besinlerden zengin, sağlıksız bir diyet tarzıyla beslenmesinin yavru üzerindeki bu çok faktörlü etkilerini göstermek amacıyla hayvan çalışmaları önem kazanmıştır. Kafeterya diyeti, kemirgenlerde tetiklenen epigenetik mekanizmalar, davranışsal ve metabolik etkileri açıkça gösteren en etkili diyet modelidir (Lalanza ve Snoeren, 2021). Batı toplumunda yaygın olan ve mevcut obezite pandemisiyle ilişkilendirilen, oldukça lezzetli ve yüksek enerjili besinlerin çeşitliliğini doğru bir şekilde yansıtan deneysel bir kemirgen diyet modelidir. Gebelik ve laktasyon döneminde kafeterya diyeti ile beslenen annelerden doğan yavruların doğum sonrası, protein açısından zengin yiyecekler yerine yağlı, şekerli ve tuzlu yiyeceklere yöneldiği, bu diyetin merkezi ödül sisteminde değişime yol açtığı, aşırı abur cubur alımına sebep olduğu, yavruların doğum sonrası yaşamda daha yüksek vücut ağırlığı ve beden kütle indeksine (BKİ) sahip olduğu gösterilmiştir (Bayol ve ark., 2007; Ong ve Muhlhausler, 2011).

Enerji homeostazı çok karmaşık süreçlerle yönetilir. Besin alımının kontrolünde beynin rolü uzun zamandır bilinmektedir (Lieu ve ark., 2020). Hipotalamik melanokortin sistemi besin alımının düzenlenmesinde ve enerji homeostazında baskın bir role sahiptir. Bu sistem, çeşitli oreksijenik ve anoreksijenik nöropeptitleri eksprese eden, esas olarak arkuat çekirdekte bulunan heterojen nöron kümelerinden oluşur. (Schwinkendorf ve ark., 2011). Enerji homeostazını düzenleyen bir dizi hormonal sinyale ek olarak, glikoz ve lipidler gibi kan-beyin bariyerini geçen besin ögeleri de besin alımının ve enerji harcamasının merkezi kontrolünü etkiler. Bildiğimiz kadarıyla beyin birincil enerji kaynağı olarak glikozu tercih etmesine rağmen, yeni çalışmalar hipotalamik lipid metabolizmasının ve oluşturduğu sinyallerin enerji dengesini, besin alımını ve metabolik hastalıkların etiyolojisini düzenlemede önemli rollere sahip olduğunu göstermiştir (Schwinkendorf ve ark., 2011). Diyet faktörlerinin mesajcı ribonükleik asit (mRNA) ekspresyon profilini değiştirdiği, özellikle de lipid metabolizması, insülin direnci ve inflamasyonu olan yavrularda maternal beslenmenin neden olduğu epigenetik modifikasyonlarda etkili olduğu gösterilmiştir (Şanlı ve Kabaran, 2019). Yapılan çalışmalar yüksek yağlı beslenme, protein, alkol, E vitamini, hormonlar ve bir dizi polifenol dahil olmak üzere çok çeşitli besin ögelerinin spesifik mRNA'ların ekspresyonunu değiştirebileceğini desteklemektedir (Acevedo ve ark., 2021; González-Becerra ve ark., 2019; Jiménez-Chillarón ve ark., 2012; Ramos-Lopez ve ark., 2021).

Yüksek düzeyde diyet yağı genel olarak obezojenik kabul edilirken hem insanlarda hem de deney hayvanlarında yüksek yağlı beslenmeye yanıt olarak vücut ağırlığı artışında büyük bireysel farklılıklar olduğu iyi bilinmektedir. Ayrıca günümüzde tüm yağ kaynaklarının obezojenik olmadığına dair önemli kanıtlar vardır (Couet ve ark., 1997; Kabaran ve Besler, 2015; Oliver ve ark., 2012). Yağdan gelen enerji yüzdesinden ziyade diyetdeki yağ asidi profili önem kazanmıştır (Dziedzic ve ark., 2007). Farklı yağ türlerini içeren diyetlerin hipotalamustaki nöropeptit ekspresyonunu farklı şekilde etkilediği ve genel enerji alımını düzenlediği de gösterilmiştir.

Batı diyeti, omega-3 çoklu doymamış yağ asitlerine (ÇDYA) kıyasla daha yüksek oranda omega-6 ÇDYA içerir. Diyetin ideal omega-6 ÇDYA/ omega-3 ÇDYA oranı 1: 1 olmalıyken bu oran modern Batı diyetinde 10–50:1'e yükselmiştir. Bu durumun

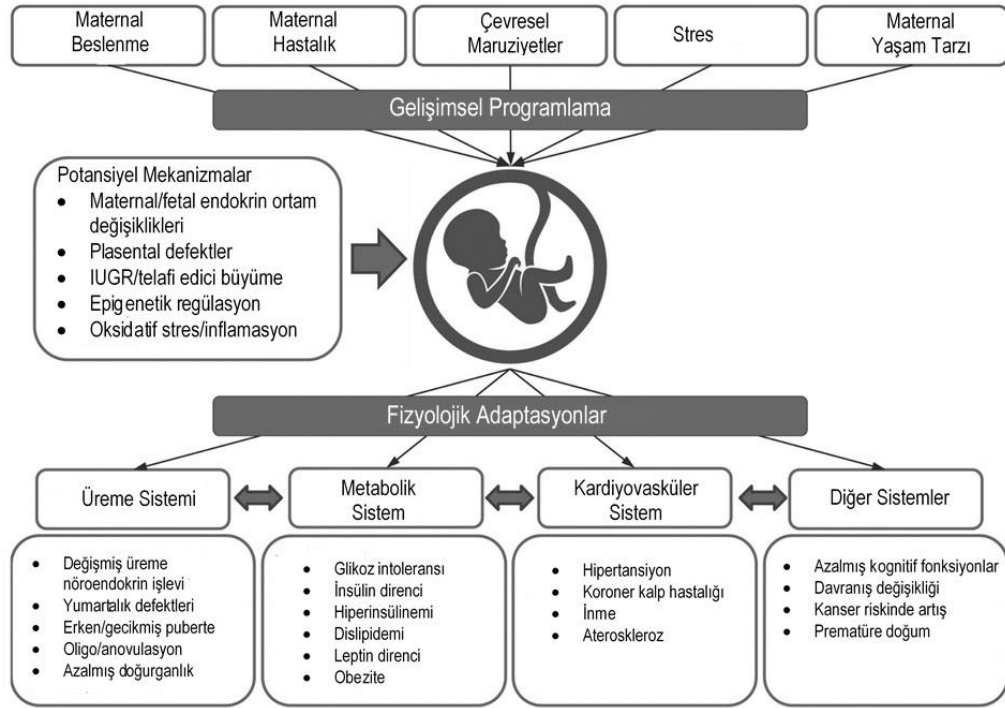
obezite gibi kronik inflamatuvar hastalıkların artışına katkıda bulunduğu öne sürülmüştür (Simopoulos, 2002). Literatürde omega-6/omega-3 ÇDYA oranının düşürülmesinin kronik hastalık bağlamında metabolizmadaki bozulmaları iyileştirebileceğine dair ikna edici kanıtlar vardır (Simopoulos, 2008, 2016). Obez anne farelerin diyetindeki omega-6 / omega-3 ÇDYA oranının düşürülmesinin, yavrunun ağırlık kazanımını, ilişkili inflamatuvar sonuçları azaltabildiği ve insülin duyarlılığını geliştirdiği gösterilmiştir (Heerwagen ve ark., 2013; Hussain ve ark., 2013). Son zamanlarda düşük omega-3 alımı ile obezite, kardiyovasküler hastalık, inflamatuvar hastalıklar ve kanser insidansındaki artışlar arasındaki ilişkiler aktif olarak araştırılmaktadır (Hooper ve ark., 2006).

Maternal obezite gibi dünya gündemini oldukça meşgul eden, birçok komorbiditeye ve epigenetik değişimlere sebep olan, nöropsikiyatrik bozulmaları tetikleyen ve nesiller boyu etkileri süren bu ciddi sağlık sorununa yönelik etkili potansiyel müdahaleler önemli hale gelmiştir. Ancak gestasyon ve laktasyon dönemi insanlar üzerinde müdahaleler yapılabilmesi için uygun olmayabilir. Bu çalışmada batı tarzı beslenmenin hayvanlarda en iyi şekilde modellendiği kafeterya diyeti kullanılmıştır. Kafeterya diyetinin yavru hipotalamusunda meydana getirdiği epigenetik değişiklikler ve diğer taraftan omega-3 ÇDYA'nın beyin fonksiyonları üzerine olan olumlu etkileri birbirinden bağımsız olarak bilinse de omega-3 ÇDYA takviyesinin kafeterya diyetine bağlı olarak gelişen obeziteyle ilişkili olumsuz sonuçlara etkisi henüz bilinmemektedir. Bu çalışma gestasyon ve laktasyon döneminde tüketilen kafeterya diyetine eklenecek olan omega-3 ÇDYA takviyesinin, annedeki beslenme davranışı ve yavruda meydana gelecek epigenetik değişiklikler üzerine etkilerini göstermesi bakımından önem kazanmaktadır. Bu çalışmanın amacı; kafeterya diyeti ile beslenen anne farelere verilen omega-3 takviyesinin, yavruların hipotalamusundaki pro-opiomelanokortin (*Pomc*), nöropeptit-Y (*Npy*) ve agouti-ilişkili protein (*Agrp*) genlerinin mRNA ekspresyon düzeyleri üzerine olası etkilerini belirlemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Fetal Programlama Hipotezi

Fetal programlama hipotezi ilk olarak David Barker tarafından ortaya atılmıştır. Fetal programlama hipotezi (Barker ve Osmond, 1986) ve Gelişimsel Sağlık ve Hastalık Kökenleri (Developmental Origins of Health and Disease, DOHaD) hipotezine göre, doğum öncesi yaşamda ve gelişimin hızlı olduğu erken bebeklik dönemlerinde organizmanın çevresel etkilere duyarlı olduğu varsayılmaktadır (Hu ve ark., 2020; Lazzarino ve ark., 2017; Stout ve ark., 2015). Gelişimin erken döneminde ve özellikle intrauterin yaşam sırasında olumsuz etkilerin fizyoloji ve metabolizmada kalıcı değişikliklere yol açabileceği öne sürülmüştür (de Boo ve Harding, 2006) (Şekil 2.1). Gebelik sırasında maternal diyet, fetüs için birincil enerji kaynağıdır ve fetal gelişim için temel besinleri sağlamaktadır. Tarihsel olarak, fetal programlama hipotezi, maternal ve intrauterin ortamdaki beslenme yetersizliklerinin etkilerine odaklanmıştır (Stout ve ark., 2015).



Şekil 2.1. Gelişimsel programlamayı tetikleyen faktörler ve yavruda meydana gelen fizyolojik adaptasyonlar

Kaynak: Padmanabhan ve ark., 2016

Barker ve meslektaşlarının ortaya attığı bu hipotezin çıkış noktası İngiltere'de 20. yüzyılın başlarında en yüksek bebek ölüm oranlarına sahip olan bölgelerin, on yıllar sonra da koroner kalp hastalığından en yüksek ölüm oranlarına sahip olduğu gözlemleri olmuştur. 20. yüzyılın başında bebek ölümlerinin en yaygın nedeni düşük doğum ağırlığı olduğundan, bebeklik ve çocukluk döneminde hayatta kalan düşük doğum ağırlıklı bebeklerin ileriki yaşamlarında koroner kalp hastalığı riskinin artabileceği öne sürülmüştür. 20. yüzyılın ilk çeyreğinde Sheffield ve Hertfordshire'da doğan erkekler üzerinde yapılan iki büyük araştırma ile koroner kalp hastalığından ölüm ile düşük doğum ağırlığı, baş çevresi veya BKİ arasında güçlü bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalara göre risk altında olanlar özellikle prematüre bebekler değil, büyüme kısıtlılığı olan bebeklerdi. Yıllar içinde doğum ağırlığı ve hastalık ilişkisi, gelişmiş ve gelişmekte olan dünyanın her yerinde çok sayıda bağımsız kohortla doğrulanmıştır. Bu ilişkinin temelinde gebelikten önce ve gebelik sırasında yetersiz beslenmenin etkisi olduğu düşünülmektedir. Barker hipotezi özetle gebelikte yetersiz beslenmenin fetal büyümeyi bozduğunu veya orantısız fetal büyümeye sebep olduğunu, olumsuz koşullarda hayatta kalmayı

sağlayan bu değişimlerin uzun vadede fizyolojik işlevleri bozduğunu ve hastalığa yol açtığını söylemektedir (de Boo ve Harding, 2006).

Annenin yetersiz beslenmesi dünyanın birçok yerinde bir sorun olmaya devam etse de maternal aşırı beslenme de artık hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde önemli bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır (Jehn ve Brewis, 2009). Artan küresel obezite yükü, gelişmekte olan fetüs için endişe yaratmaktadır. Maternal obezite hem intrauterin büyüme geriliği hem de gestasyonel yaşa göre büyük fetüslerle ilişkilendirilmiştir ayrıca çocukluk çağı obezitesi ve metabolik bozuklukların epidemisine de katkı sağlamaktadır (Heerwagen ve ark., 2010; Neri ve Edlow, 2016). Yaşamın erken dönemindeki çevresel etkiler epigenetik değişiklikleri indükleyebilir ve böylece yaşamın sonraki dönemlerinde kardiyovasküler ve metabolik hastalık riskini etkileyebilmektedir (Gaillard, 2015). Ayrıca fetal programlamanın etkileri olumsuz koşullara maruz kalan ilk nesille sınırlı olmayabilir. Çalışmalarda bazı çevresel etkilerin sonraki nesillere aktarıldığı görülmektedir. Örneğin bir çalışmada protein kısıtlaması yapılan sıçanların yavrularında görülen düşük doğum ağırlığı doğum sonrası normal beslenmeye geçilmesine rağmen üç nesil boyunca devam etmiştir (Stewart ve ark., 1975).

2.1.1. Epidemiyolojik Çalışmalar

Epidemiyolojik ve prelinik çalışmalar maternal diyetin sebep olduğu obezitenin yavru üzerinde metabolik, davranışsal ve nörogelişimsel olumsuz etkilerini göstermektedir (Pizzorusso ve Tognini, 2020). Erken yaşamda karşılaşılan çevrenin yetişkinlikte hastalık riskini belirleyebileceğine dair ilk ipuçları, İngiltere ve Galler'deki hastalık modellerinde kuzey-güney ayrımının nedenlerini değerlendiren ekolojik çalışmalardan elde edilmiştir (Barker ve Osmond, 1986). Bu çalışmalar intrauterin dönemin koroner kalp hastalığı (KKH) gelişiminde kritik bir rol oynadığını belirlemiştir (Osmond ve ark., 1990). Alanda yapılmış çalışmalar arasında en iyi kanıtlar ise İkinci Dünya Savaşı'nda yaşanmış Leningrad kuşatması (Stanner ve Yudkin, 2001) ve Hollanda Açlık Kışdır (Roseboom ve ark., 2000). Bu kıtlık dönemleri büyük nüfusları şiddetli yetersiz beslenmeye maruz bıraksa da bu zorlu koşullar altında gebelik yaşayan kadınlar ve dünyaya gelen bebekler olmuştur.

1942-1944 yılları arasında devam eden Leningrad Kuşatmasında günlük enerji alımı 300 kkal'ye kadar düşmüş ve hem intrauterin dönemde hem de bebeklik döneminde açlığın olumsuz etkileri gözlenmiştir (Koupil ve ark., 2009). Kuşatma boyunca intrauterin dönemde açlığa maruz kalan fetüsün yetişkinlik döneminde glikoz intoleransı, dislipidemi, hipertansiyon ya da kardiyovasküler hastalıklara karşı herhangi bir yatkınlığı gözlenmiştir (Stanner ve Yudkin, 2001).

Hollanda Açlık Kışı örneğinde ise durum farklı etkilere yol açmıştır. Doğum öncesi yetersiz beslenmenin fetal büyüme üzerinde yalnızca küçük bir etkisi olduğu açıktır, ancak uzun vadede daha yüksek oranda KKH (Roseboom ve ark., 2000), obezite (Ravelli ve ark., 1999), böbrek fonksiyon bozukluğu (Painter ve ark., 2005) ve insüline bağımlı olmayan diyabeti (Ravelli ve ark., 2000) programlamıştır. Bu popülasyonda gelişimin farklı dönemlerinde kıtlığın etkilerini ayırt etmek mümkün olmuştur ve ilginç bir şekilde gebeliğin ilk üç ayında yetersiz beslenmeye maruz kalmanın, KKH ve yetişkin obezitesinin en güçlü belirleyicisi olduğu görülmüştür (Langley-Evans, 2006). İki büyük çalışmanın sonuçları arasında farklılık yaratacak temel durum açlığa maruz kalan annelerin gebelik öncesi beslenme durumlarıdır. Görüldüğü üzere gebelik öncesi optimum beslenme koşullarının sağlanması da gelişimi tamamen anneye bağlı olan fetüsü etkileyebilmektedir (Koupil ve ark., 2009; Schulz, 2010).

Epidemiyolojik çalışmalar içinde diğer şaşırtıcı sonuçlar ise 1959-1961 yılları arasında yaşanan Büyük Çin Kıtılığı'ndan elde edilmiştir. Büyük Çin Kıtılığı'nda milyonlarca insan ölmüş ya da yetersiz beslenmeye maruz kalmıştır (Zheng ve ark., 2011). Bu kıtlık üzerine yapılan araştırmalar, yaşamın erken döneminde kıtlığa maruz kalmanın, yetişkinlikte yüksek vücut ağırlığı (Luo ve ark., 2010; Wang ve ark., 2010; Yang ve ark., 2008) hipertansiyon (Huang ve ark., 2010) ve hiperglisemi (Li ve ark., 2010) görülme risklerinin artmasıyla ilişkili olduğunu göstermiştir. Bir başka çalışmada, fetal yaşamda ve erken çocukluk döneminde Çin Kıtılığı'na maruz kalan kadınların sonraki yaşamlarında daha yüksek metabolik sendrom riski geliştirdikleri gösterilmiştir (Zheng ve ark., 2011). Hollanda Kıtılığı ile Çin Kıtılığı arasındaki farklı sonuçların nedeni felaketin süresi ve şiddeti olabilir. Hollanda kıtlığı sadece 5 ay sürmüş, sınırlı kıtlık dönemi tüm gebelik boyunca devam etmemiştir. Çin

Kıtlığı ise 3 yıl sürmüş ve yaklaşık 30 milyon insanın ölümüne neden olmuştur (Cai ve Feng, 2005; de Rooij ve ark., 2007).

2.1.2. Hayvan Çalışmaları

İnsanlar üzerinde yapılan kohort çalışmaları doğum sonrası devreye girebilecek birçok faktör ve ileriye dönük veri toplamanın zorlukları sebebiyle yetersiz kalmaktadır. Bu tür çalışmalar, maternal beslenme ile olumsuz sonuçlar arasında bir ilişki gösterebilse de nedenselliği açıklayamayıp ve altta yatan mekanizmalar hakkında bilgi vermemektedir. Hayvan modelleri maternal obezite ortamında fetal programlamanın moleküler temellerini aydınlatmada kilit bir rol oynamaktadır. Hayvan modelleri maternal beslenme ile ilişkili nörogelişimsel morbiditenin nesiller arası yayılmasını durdurabilecek müdahalelerin tasarlanması ve uygulanması için de çok önemlidir. Bu nedenle, hayvan çalışmaları, gelişimsel programlama paradigmasının altında yatan birçok potansiyel mekanizmayı araştırmak için birincil araç haline gelmiştir. Maternal obezitenin neden olduğu gelişimsel programlama fare, sıçan, koyun ve insan olmayan primat modellerinde doğrulanmış ve çok sayıda metabolik yolu etkilediği gösterilmiştir (Sobrevia ve ark., 2014).

Hayvan modelleriyle yapılan çalışmalarda, perinatal beslenmenin yavru fizyolojisi ve davranışı üzerinde kalıcı bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Bu problemler; daha yüksek zihinsel bozukluk geliştirme olasılığı, sosyal davranışlarda bozukluklar, azalmış bilişsel yetenek, strese karşı artan yanıt ve ödül temelli davranışlarda görülen değişimlerdir (Sartorelli ve ark., 2019; Sullivan ve ark., 2014). Özellikle, maternal adipozite ile yavruların beyinde enerji homeostazının önemli modülatörlerinin ekspresyonu ve işlevleri arasında açık bir bağlantı vardır (Bae-Gartz ve ark., 2019). Annenin metabolik profili de gelişmekte olan yavrular üzerinde etkiye sahiptir. İnflamasyon, hiperlipitemi, lipotoksosite, hiperglisemi ve insülin direnci gibi maternal obezite ile ilişkili faktörlerin her birinin, gelişmekte olan yavrular üzerinde uzun vadeli bir etkiye sahip olduğu ve anksiyete dahil olmak üzere depresyon, dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu ve otizm spektrum bozuklukları gibi zihinsel sağlık sorunları riskinde artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Sartorelli ve ark., 2019; Sullivan ve ark., 2014).

Hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, maternal obezite ve yüksek yağlı diyet tüketiminin, iştahla ilişkili nöronal yollarda anahtar genlerin adaptif düzenlenmesine yol açtığını göstermektedir. Bir kemirgen modelinde, annenin yüksek yağlı diyeti, fetüste, dolaşımdaki fetal lipitlerle yakından ilişkili olan oreksijenik nöronların çoğalmasına yol açmıştır. Başka bir çalışmada, yüksek yağlı beslenen annelerden yüksek yağlı bir diyetle geçen yavrularda ağırlık artışı, visseral yağ birikimi, enerji alımı ve dolaşımdaki leptin düzeylerinde artış görülmüştür (Heerwagen ve ark., 2010). Obez annelerden doğan, ancak laktasyon döneminde zayıf annelerle çapraz beslenen erkek sıçanların incelendiği bir başka çalışmada; maternal obezitenin, sıçanlar doğum sonrası obezogenik olmayan bir diyetle beslendiğinde bile, yavrularda artan obezite ile sonuçlandığı bulunmuştur (Shankar ve ark., 2008). Daha yakın zamanlarda, gebelik sırasında yüksek yağlı bir diyetin kronik olarak tüketilmesinin, serotonerjik sistemde bozulmalara neden olduğu ve yavrularında kaygı benzeri davranışları arttırdığı, fetal beynin melanokortin yolunda bir azalma ile birlikte gösterilmiştir. Bu veriler, annenin yüksek yağlı diyetinin fetal beyin gelişimi üzerinde derin etkileri olduğunu ve iştah kontrolünün ötesinde davranışları dahi etkileyebileceğini göstermektedir (Heerwagen ve ark., 2010).

2.1.3. Besinsel Programlama Mekanizmaları

Programlama terimi, gelişimin kritik aşamalarında çevresel etkilere maruz kalmanın organizmanın fizyolojisinde veya metabolizmasında kalıcı değişiklikler meydana getirdiği süreci tanımlar. Beslenmenin programlama üzerine etkisi temelde 4 ana başlık altında incelenebilir.

2.1.3.1. Yeniden Doku Şekillenmesi

Gelişimsel dönemdeki beslenme yetersizliklerinin fizyoloji, metabolizma ve sağlık üzerinde kalıcı etkiler gösterebileceği en basit süreç doku morfolojisinin değiştirilmesidir. Bu yeniden şekillenme biçimi, temel gelişim aşamalarında hücre çoğalmasının veya farklılaşmasının bozulmasının bir sonucu olarak ortaya çıkabilmektedir. Bir dokuda bulunan hücre sayısındaki veya hücre tipindeki değişikliklerin organ işlevi üzerinde derin etkileri olabilmektedir (Langley-Evans, 2006).

Tüm organlar ve dokular, embriyodaki küçük bir progenitör hücre havuzundan gelişir. Bu progenitör soylar zamanla genişler, özel formlara farklılaşırlar. Zamanlama ise dokular arasında farklılık gösterecektir. Örneğin kalp gibi bazı organlar gelişimin çok erken döneminde oluşurken, böbrek daha sonraki aşamalarda büyümeye başlar. (Langley-Evans, 2009). Bu gelişim evreleri sırasında besin veya anahtar sinyallerin eksikliğinin geri döndürülemez sonuçlara yol açabileceği öngörülmektedir (Langley-Evans, 2006).

Yeniden doku şekillenmesinin sonuçları geniş kapsamlı olabilmektedir. Bir dokuda bulunan hücrelerin sayı ve tiplerinin değiştirilmesi sadece özelleşmiş fonksiyonları etkilemekle kalmaz, aynı zamanda bir doku içinde ifade edilen genlerin profilini, hücreler arası sinyal yollarını, hormon üretimini ve hücrelerin hormon sinyallerine yanıt verme kapasitesini değiştirebilir (Langley-Evans, 2006). Örneğin sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada düşük proteinli diyetle beslenen sıçanlarda kontrol grubuna göre daha küçük ve az sayıda adacık içeren pankreas oluşumuna sebep olduğu gösterilmiştir (Snoeck ve ark., 1990). Sonuçta insülin üretimi ve glikoz homeostazı büyük ölçüde etkilenebilmektedir (Dahri ve ark., 1991). Bir başka hayvan çalışmasında düşük proteine maruz kalan hayvanlarla kontrol grubundaki hayvanların böbrek boyutları benzer olmasına rağmen düşük proteinle beslenen grupta nefron sayısında %30-40 düzeyinde belirgin bir azalma görülmüştür (Langley-Evans ve ark., 1999). İnsan çalışmalarına bakıldığında da yoksulluğun olduğu popülasyonların böbrek morfolojilerinin farklılıklar gösterdiği kaydedilmiştir. Örneğin, Avustralya yerli popülasyonları arasında kronik böbrek yetmezliği oranları, Kafkas popülasyonuna göre 20 kat daha yaygın ve nefron sayısının bir göstergesi olan böbrek hacimleri daha düşük olma eğilimindedir (Singh & Hoy, 2004).

Prenatal yetersiz beslenme hipotalamus dokusunda bir yeniden şekillenmeye sebep olursa enerji homeostazı önemli derecede etkilenebilmektedir. Sıçanların hem fetal hem de laktasyon döneminde düşük proteinli diyetle maruz kalması, kilit hipotalamik merkezlerin hacmini ve nöronal yoğunluğu değiştirmiştir (Plagemann ve ark., 2009). Bunun sonucunda bu merkezlerde üretilen ve beslenme davranışını etkilediği öne sürülen nöropeptitlerin profilinde kaymalar olabilmektedir. Homeostatik mekanizmaların bu şekilde programlanması sonucunda birey yalnızca yaşamının

erken döneminde hasara uğramakla kalmaz, yaşam boyu çevreye verilen tepkiler etkilenir (Langley-Evans, 2006).

2.1.3.2. Plasantanın Rolü

Plasenta, anne ve fetus arasındaki besinlerin, gazların ve atık ürünlerin değişimi için bir kanaldan daha fazlasıdır. Plasenta ile fetus arasındaki ve anne ile plasenta arasındaki endokrin sinyaller, fetal gelişim ve besin dağılımının düzenlenmesinde kritik bir rol oynamaktadır (Godfrey, 2002). Plasental fonksiyon ve fetal beslenme arasındaki ilişki karmaşıktır. Bazı durumlarda, fetal enerji ve besin talebi annenin depolarının mobilizasyonu ve plasentadan transfer yoluyla karşılanabilmektedir. Bazı durumlarda ise annenin gereksinimleri öncelikli olur; örneğin annenin düşük folik asit alımı fetusu orantısız şekilde etkileyebilir. Bu nedenle plasantanın maternal beslenme bağlamında programlamaya katkısını değerlendirmek zordur (Langley-Evans, 2009). Yine de elde edilen veriler annenin makrobesin alımının, fetal gelişim üzerinde güçlü bir etkisi olduğunu göstermektedir. Annenin aşırı beslenmesi, fetüse glikoz ve lipid geçişine bu da fetüste hiperinsülinemiye ve artan fetal yağ birikimine yol açmaktadır. Bu aşırı beslenme durumu uzun vadede fetusun yetişkin dönemdeki hastalık riski ile ilişkilendirilebilir. Maternal obezite ve artan plazma lipid konsantrasyonları da plasental yağ asidi transferi yoluyla fetal obezite ile ilişkilidir (Schaefer-Graf ve ark., 2008; Vrijkotte ve ark., 2011; Zheng ve ark., 2011).

Maternal-fetal beslenme hattına ek olarak, plasenta önemli bir endokrin sinyal kaynağıdır. Steroid hormon olan glukokortikoidler plasenta boyunca serbestçe hareket etme kapasitesine sahiptirler. Glukokortikoidler, gen ekspresyonunun güçlü modülatörleridir. Fetal organ olgunlaşmasını hızlandırdıkları için klinik olarak erken doğumun öngörüldüğü durumlarda kullanılmaktadırlar. Maternal dolaşımda glukokortikoid konsantrasyonu fetal dolaşımda görülenlerden 100-1000 kat daha fazladır. Tüm türler bu ciddi etkiden plasentadaki 11p-hidroksisteroid dehidrojenaz tip-2 enziminin varlığıyla korunmaktadır (Langley-Evans, 2006).

Hayvan çalışmalarında yetersiz beslenme ile 11p-hidroksisteroid dehidrojenaz tip 2'nin aşağı regülasyonunun beslenme bozukluklarına yol açabileceği gösterilmiştir. Düşük proteinli diyetle beslenen sıçanlarda plasental 11p-hidroksisteroid dehidrojenaz tip 2'nin hem aktivitesinin hem de mRNA ekspresyonunun azaldığı,

sonuçta hipertansiyonun önlendiği, enzimin inhibe olduğu durumda ise yüksek kan basıncına sebep olduğu gösterilmiştir (Langley-Evans, 2006).

Fetal programlamanın glukokortikoid bağlamındaki olumsuz etkileri birkaç nesil boyunca sürebilmektedir. Yüksek glukokortikoid konsantrasyonlarına fetal maruziyet, düşük doğum ağırlığına ve ardından erişkinlerde hiperinsülinemiye buna bağlı olarak da hiperglisemiye neden olabilmektedir. Bu olumsuz etkilerin sadece üçüncü nesilde çözüldüğü görülmüştür (Drake ve ark., 2005).

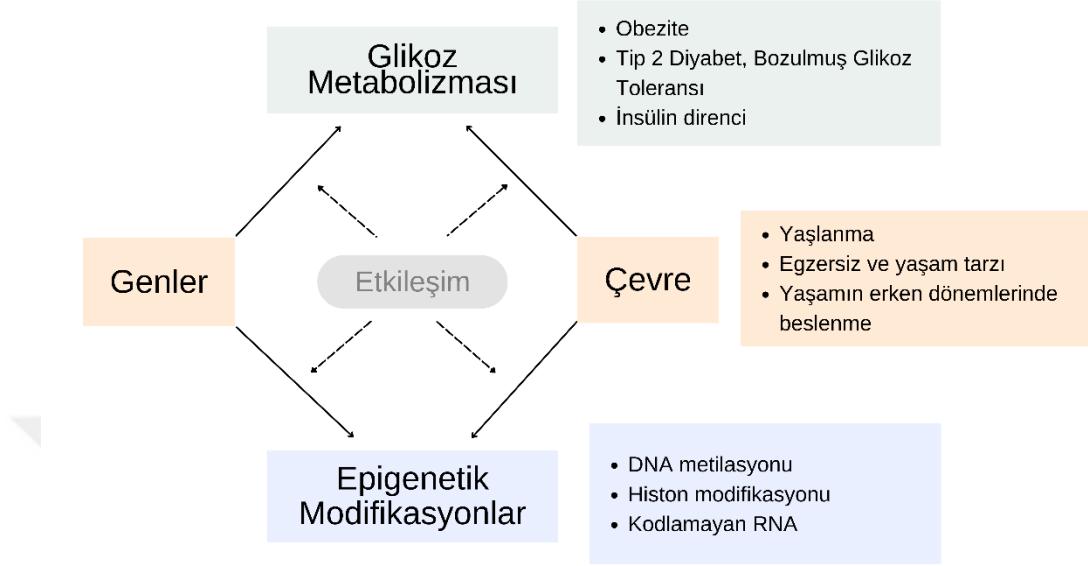
2.1.3.3. Gen İfadesi

Doğum öncesi veya doğum sonrası erken beslenme bozukluğunu takiben gen ifadesindeki değişikliklerin gösterildiği çok fazla çalışma bulunmaktadır. Bu bulgularla ilgili temel sorun, gen ekspresyonundaki değişikliklerin anormal fizyoloji ve hastalığın bir nedeni mi yoksa bir sonucu mu olduğunu değerlendirmenin neredeyse imkânsız olmasıdır. Ayrıca gen ekspresyonundaki değişikliklerin yeniden doku şekillenmesi, glukokortikoidlerin etkileri ve hatta epigenetik susturma ile ilgili olup olmadığı netlik kazanmamıştır. Durum son derece karmaşıktır ve ekspresyon çalışmaları için dokuların örneklendiği ontolojik aşama ve beslenme yetersizliğinin yarattığı hasarın zamanlaması gibi faktörleri dikkate alan ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır (Langley-Evans, 2006).

2.1.3.4. Epigenetik Mekanizmalar

Epigenetik terimi, 1942'de gelişim biyoloğu Conrad Waddington tarafından genler ve ürünleri arasındaki nedensel etkileşimleri inceleyen bir biyoloji dalı olarak tanımlanmıştır (Obri ve Claret, 2019; Zheng ve ark., 2014). Epigenetik Yunanca 'ep' ve 'genesis' kelimelerinden türetilmiştir. Kelime anlamı 'genetik üstü' olan bu tanım 2006 yılında güncellenmiş ve deoksiribonükleik asit (DNA)'in nükleotit dizisini değiştirmeden gen ifadesindeki değişiklikleri ifade eden bir mekanizma olarak kabul edilmiştir (Benite-Ribeiro ve ark., 2021; Zheng ve ark., 2014). Epigenetik değişiklikler, gen ekspresyonunu modüle etme yeteneğine sahiptir. Gen ekspresyonundaki değişiklikler erken doğum öncesi dönemde başlar ve bu değişiklikler fetal büyüme ve gelişmeyi etkiler. Düzenleyici genlerdeki ve büyüme

ile ilgili genlerdeki epigenetik değişiklikler, fetal programlamanın hayati bileşenleridir (Şanlı ve Kabaran, 2019) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Genler ve çevresel faktörlerin epigenetik modifikasyonlar ve glikoz metabolizmasına etkileri

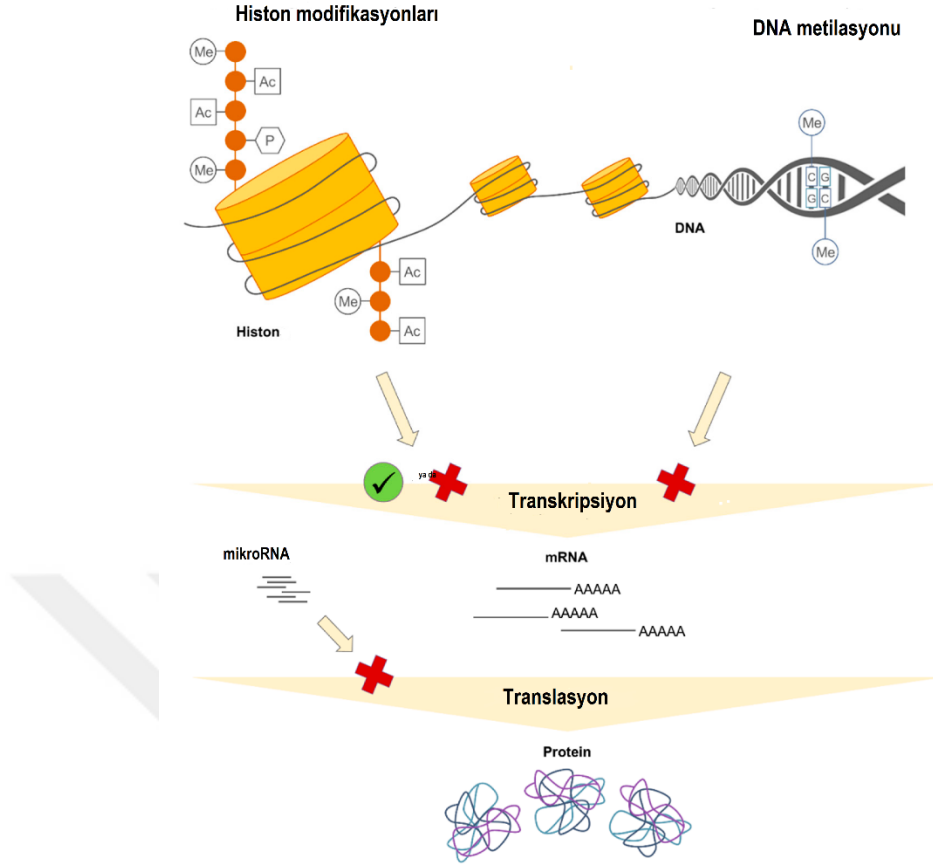
Kaynak: Zheng ve ark., 2014

Beslenme alanındaki en önemli bulgu diyet bileşenlerinin intrauterin ortamda fetüsün genomunu yeniden şekillendirebileceğini ve erken yaşamda indüklenen epigenetik değişikliklerin yetişkin organizmadaki fenotipi kalıcı olarak değiştirebileceğidir (Chango ve Pogribny, 2015). Annenin beslenmesi ve çevresel maruziyetler, metabolik anormalliklere yol açan epigenetik mekanizmalar yoluyla fetal ve neonatal gen ekspresyonunu kalıcı olarak etkileyebilir. Diyetle ilgili faktörler, folat aracılı tek karbon metabolizması veya transmetilasyon yolları yoluyla erken yaşam sırasında genom fonksiyonunu ve gen ekspresyonunu etkileyebilmektedir (Şanlı ve Kabaran, 2019).

Beslenme yoluyla etkilenebilecek epigenetik mekanizmalar üç ana başlık altında toplanabilir. Bunlar DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve mikroRNA (miRNA) oluşumlarıdır.

2.1.3.4.1. DNA Metilasyonu

DNA metilasyonu bir grup enzimin aracılık ettiği, kapsamlı çalışmalar yapılmış, iyi bilinen bir epigenetik mekanizmadır. Kanser, metabolik sendrom, kardiyovasküler ve otoimmün hastalıkların patogenezi üzerindeki uzun süreli zararlı etkilerde kritik bir rol oynamaktadır (şanlı ve Kabaran, 2019). DNA metilasyonu, bir sitozin kalıntısının beşinci karbonuna bir metil grubunun (CH₃) eklenmesine karşılık gelen ve böylece 5-metilsitozini oluşturan bir işlemdir (Benite-Ribeiro ve ark., 2021). DNA metilasyonunun sürdürölmesine DNA metiltransferazlar aracılık eder ve biyokimyasal düzeyde nispeten iyi anlaşılmıştır (Lee, 2015). Çođu zaman, promotör bölgelerdeki yüksek düzeyde bir metilasyon, gen ifadesinde bir azalma ile ilişkilidir (Gawlińska ve ark., 2021). Bu süreç, genlerin düzenlenmesinde ve hücre farklılaşmasında yer alan proteinleri toplayarak gen ifadesini düzenler. (Benite-Ribeiro ve ark., 2021). Ancak DNA metilasyonunun kurulması (de novo metilasyon) ve deregölasyonunun altında yatan mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılmamıştır (Lee, 2015). Epigenetik mekanizmaların moleküler temelleri ve ekspresyon kontrolündeki rolleri şekil 2.3'te gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Epigenetik mekanizmaların moleküler temelleri ve ekspresyon kontrolündeki rolleri

Kaynak: Acevedo ve ark., 2021

Embriyonik, fetal ve hatta erken doğum sonrası gelişim sırasında yetersiz beslenme, DNA metilasyonunu geri döndürülemez şekilde değiştirebilir. Kısa bir süreliğine yetersiz beslenme bile uzun bir süre boyunca gen ekspresyonunu etkileyip, normal fizyoloji ve metabolizmayı tehlikeye atabilmektedir (Langley-Evans, 2009). Çünkü tek karbon metabolizması diyetteki metil donörlerine ve metiyonin, kolin, folik asit ve B12 vitamini gibi kofaktörlere bağlıdır (Gicquel ve ark., 2008). DNA metilasyonu veya histon asetilasyonu gibi mekanizmalar, gen ekspresyonunu etkili bir şekilde sürdürabilmektedir (Langley-Evans, 2006). Bu nedenle diyetle metil donörlerinin ve kofaktörlerinin varlığı ontojenik dönemlerde kritik öneme sahiptir (Gicquel ve ark., 2008).

Metilasyonun hastalık programlaması bağlamında önemi yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada koyunlar gebe kalmadan önceki 8 hafta ve gebeliğin ilk 6 günü boyunca metil donörleri, folik asit, B12 vitamini ve

metiyoninden eksik bir diyetle beslenmiştir. Bu koyunlardan elde edilen erkek yavruların insüline dirençli ve yüksek kan basıncına sahip olduğu gösterilmiştir (Sinclair ve ark., 2007). Bir başka çalışmada gebe sıçanlarda protein kısıtlaması, kalıcı DNA metilasyonu kaybına ve yavrularda bazı hepatik genlerin daha fazla ekspresyonuna neden olmuştur. Bu epigenetik değişiklik folat takviyesi ile önlenebilmiştir (Lillicrop ve ark., 2005). İnsanlar üzerinde yapılan bir çalışmada hiperhomosisteinemili hastaların DNA metilasyon durumunun etkilendiği gösterilmiştir. Folat takviyesi, DNA metilasyon düzeylerini normalleştirmiş ve ekspresyonu eski haline getirmiştir (Ingrosso ve ark., 2003).

2.1.3.4.2. Histon Modifikasyonları

Histonlar, kromatinin temel bileşenleri olan nükleozomu oluşturmak için toplanan proteinlerdir (Benite-Ribeiro ve ark., 2021). Histon modifikasyonları ve DNA metilasyon paternlerinin birlikte çalıştığı öne sürülmüştür. Bu epigenetik modifikasyonların her ikisinde DNA metilasyonu ve histon kuyruklarının modifikasyonları yoluyla kromatin yapılarını değiştirerek genlerin ekspresyon seviyelerini değiştirebilmektedir (Şekil 2.3). Histon değiştirici enzimler, histon kuyruklarına epigenetik işaretler ekler veya kaldırır. Birkaç histon modifiye edici enzimin değişen ekspresyonu ve/veya aktivitesi, hastalık gelişimi ile ilişkilendirilmiştir (Şanlı ve Kabaran, 2019).

Maternal yüksek yağlı diyetin histonda modifikasyon değişikliklerine neden olduğu gösterilmiştir. Sonuçta neonatal hepatik metabolizma etkilenmiş ve bu durum gelişen yavrularda metabolik komplikasyonlara yol açmıştır. Maternal aşırı beslenme, histonların kovalent modifikasyonları ile fetal kromatin yapısını değiştirip obezitenin epigenetik programlanmasına yol açmaktadır (Şanlı ve Kabaran, 2019).

2.1.3.4.3. Kodlamayan RNA'lar

Kodlamayan RNA'lar (non-codingRNA, ncRNA), gen ekspresyonunun epigenetik düzenlemesinde de rol almaktadır. Kodlayıcı olmayan RNA'lar ya cis'te ya da trans'ta hareket edebilmekte ve trans etkili ncRNA'lar mikroRNA'ları içermektedir. Yakın dönemde yapılan çalışmalar insan miRNA'larının kromatinin yeniden modellenmesini de tetikleyebileceği, sonuç olarak DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve

miRNA'ların gen ekspresyonunu düzenlemek için uyum içinde çalışabileceğini düşündürmektedir (Lillicrop ve Burdge, 2012). DNA metilasyonu ve histon modifikasyonlarına ek olarak, miRNA'lar maternal obezite ve beslenmeden etkilenebilecek potansiyel üçüncü epigenetik mekanizmadır. miRNA tanımı epigenetikte daha yeni bir kavramdır. mi-RNA'lar, gen ekspresyonunun transkripsiyon sonrası düzenlenmesinde işlev gören, mRNA'ların kodlanmayan 3' bölgelerine bağlanan, 18-25 nükleotit uzunluğunda, küçük, kodlamayan tek sarmallı RNA molekülleridir (Benite-Ribeiro ve ark., 2021). İnsan genomunda protein kodlayan genlerin ana düzenleyici bekçileri olarak kabul edilmektedirler (Chango & Pogribny, 2015). Şimdiye kadar tanımlanmış 2500'den fazla insan miRNA'sı ile sitoplazmada ve çekirdekte oldukça bol miktarda bulunurlar. (Acevedo ve ark., 2021).

miRNA'lar, farklılaşma, hücre proliferasyonu ve enerji metabolizması dahil olmak üzere biyolojik süreçlerin düzenlenmesinde görev almaktadırlar (Arslan & Yıldiran, 2021). Olgun bir miRNA molekülü etkilerini, ilgili hedef mRNA'yı spesifik olarak tanımasından ve onunla etkileşimden sorumlu olduğu RNA kaynaklı susturma kompleksi içinde gösterir (Acevedo ve ark., 2021). Biyoinformatik analizler, belirli bir miRNA'nın miRNA-mRNA etkileşimi yoluyla bine kadar mRNA'nın ekspresyonunu düzenleyebileceğini ve tek bir mRNA'nın birkaç miRNA tarafından kontrol edilebileceğini göstermiştir (Riolo ve ark., 2020). miRNAların embriyonik ve post-embriyonik aşamalar dahil olmak üzere yaşam döngüsü boyunca birçok olayı düzenledikleri görülmektedir (Şanlı & Kabaran, 2019). Her doku, belirli işlevler ve hedefler barındıran bir miRNA ekspresyon profili sergilemektedir (Benite-Ribeiro ve ark., 2021).

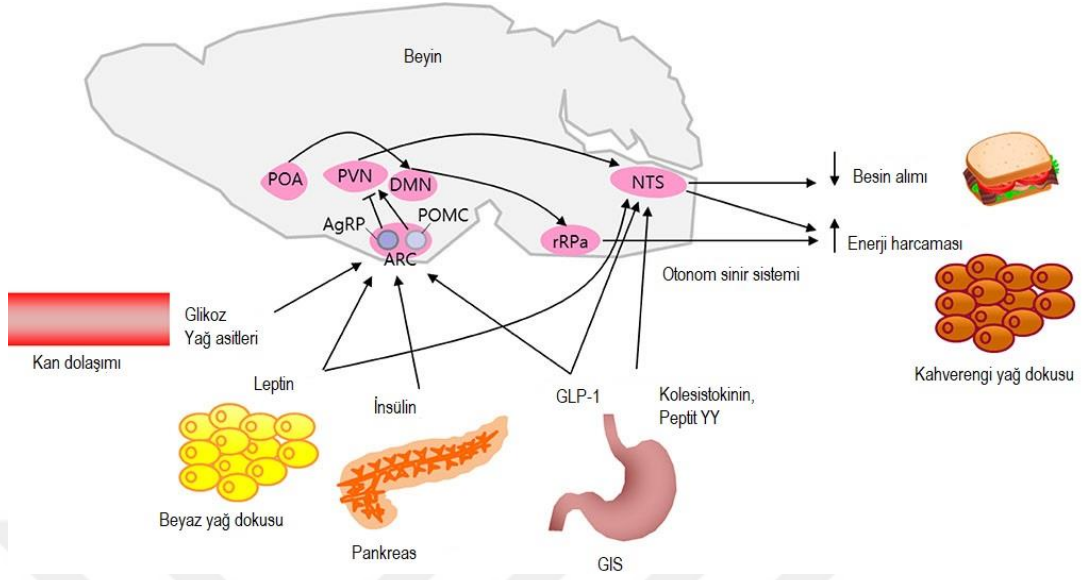
Diyet faktörlerinin miRNA ekspresyon profilini değiştirdiği, özellikle de lipid metabolizması, insülin direnci ve inflamasyonu olan yavrularda maternal beslenmenin neden olduğu epigenetik modifikasyonlarda etkili olduğu gösterilmiştir (Şanlı ve Kabaran, 2019). Bir kohort çalışmasında mRNA ekspresyonu düzeylerinin gebelik öncesi BKİ ile pozitif ilişkili olduğu belirlenmiş ayrıca miRNA'ların çoğunun adipogenez ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Arslan ve Yıldiran, 2021). Yapılan çalışmalar yüksek yağlı beslenme, protein, alkol, E vitamini, hormonlar ve bir dizi polifenol dahil olmak üzere çok çeşitli besin ögesinin spesifik mRNA'ların

ekspresyonunu değiştirebileceğini desteklemektedir (Jiménez-Chillarón ve ark., 2012; şanlı ve Kabaran, 2019). Epigenetik mekanizmalara etki edebilen en çok araştırılan diyet faktörlerinden bazıları metiyonin, kolin ve betain gibi makro besin türevleri, B vitaminleri, D vitamini ve retinoik asit gibi vitaminler, demir, çinko ve selenyum gibi mikro besin öğeleri ve fitokimyasallar gibi biyoaktif bileşenlerdir (Chango ve Pogribny, 2015).

2.1.4. Hipotalamik Melanokortin Sisteminin Fetal Programlamadaki Rolü

2.1.4.1. Hipotalamusun Anatomik Yapısı

Enerji homeostazı çevresel ve merkezi mekanizmalar arasındaki bir dizi etkileşimden oluşan karmaşık süreçlerle düzenlenir. Bu karmaşık sistemdeki sorunlar besin alımı ve enerji harcaması arasındaki dengesizliğe, sonuçta obeziteye, obezite ise tip 2 diyabet, hipertansiyon, inme, kardiyovasküler hastalıklar gibi metabolik işlev bozukluklarına neden olabilmektedir. Besin alımının kontrolünde beynin rolü uzun zamandır bilinmektedir. Enerji homeostazının düzenlenmesinde başrol merkezi sinir sistemi ve özellikle hipotalamustur. Hipotalamus temelde hormonlar gibi çevresel sinyalleri izleyerek, işleyerek ve bunlara yanıt vererek periferik organ fonksiyonlarını düzenleyen, açlık ve tokluğun önemli bir düzenleyicisidir (Heerwagen ve ark., 2010; Kim ve ark., 2014; Lieu ve ark., 2020). Bu hormonal sinyallerin bozulması ya da düzensiz salınımı ağırlık artışına, insülin ve leptin sekresyonunun bozulmasına neden olabilir ve diğer birçok metabolik hastalık riskini tetikleyebilir (Vohra ve ark., 2022). Enerji metabolizmasının beyindeki regülasyonu şekil 2.4'te gösterilmiştir.



Şekil 2.4. Enerji metabolizmasının beyindeki regülasyonu

Kaynak: Roh ve Kim, 2016

Hipotalamusun beslenme ve tokluk ile ilgili ana bölgeleri şunlardır;

Arkuat nükleus (arcuate nucleus, ARC) beslenme kontrol merkezi olarak görev yapar ve enerji homeostazı için hormonal sinyalleri birleştirmektedir. ARC, insülin ve leptin dahil olmak üzere periferik peptitlerin ve proteinlerin girişine izin vermek için kan-beyin bariyerinin özel olarak modifiye edildiği 'circumventriküler' organlardan biridir. ARC, *Npy*, *Agrp* ve melanokortin öncüsü *Pomc*'u ifade eden nöron popülasyonlarını içermektedir (Arora ve Anubhuti, 2006).

Paraventriküler nükleus (paraventricular nucleus, PVN) kortikotropin salgılatıcı hormon (corticotrophin releasing hormone, CRH) ve tirotropin salgılatıcı hormon (thyrotropin-releasing hormone, TSH) salgısının ana bölgesidir. ARC'in *Npy* nöronları, oreksinler, *Pomc* türevi α -melanosit uyarıcı hormon (α -MSH) ve iştah uyarıcı peptit galanin dahil olmak üzere, enerji dengesinde yer alan çok sayıda nöronal yol PVN'de birleşmektedir. Böylece PVN, beslenme sinyallerinin tiroit ve hipotalamik-hipofiz eksenini ile entegrasyonunda rol oynamaktadır (Arora ve Anubhuti, 2006).

Ventromedial hipotalamus (ventromedial hypothalamus, VMH) esas olarak tokluk merkezi görevi görür. Beslenmeyi durdurmak, enerji harcamasını uyarmak ve ağırlık

kaybı sağlamak üzere hipotalamus üzerinde etki eden leptin için önemli bir hedef olarak tanımlanmıştır. VMH ve PVN, hiperfaji ve obezite sendromları üretmektedir (Arora ve Anubhuti, 2006).

Dorsomediyal hipotalamik nükleus (dorsomedial hypothalamic nucleus, DMH), diğer mediyal hipotalamik çekirdekler ve lateral hipotalamus ile kapsamlı bağlantılara sahiptir ve bu çekirdeklerden gelen bilgilerin entegrasyonu ve işlenmesi işlevine hizmet eder (Arora ve Anubhuti, 2006).

Lateral hipotalamus (lateral hypothalamus, LH) klasik 'beslenme merkezidir' ayrıca hipoglisemi tarafından uyarılan glikoza duyarlı nöronlar içerir ve normalde hipoglisemi tarafından indüklenen belirgin hiperfajiye aracılık etmede çok önemlidir. Beyin sapı ve hipotalamusla kapsamlı karşılıklı bağlantılar içermektedir. Yüksek yoğunlukta *Npy* bağlanma bölgelerine sahiptir. Buradaki *Npy* düzeyleri beslenmeyle dalgalanmaktadır. Ayrıca öğün sonrası tokluk sinyalleri vagus sinirinin afferent lifleri tarafından beyin sapına taşınır. Beyin sapı, öğün sıklığında azalma ile birlikte bireysel öğün boyutunda rol oynar (Arora ve Anubhuti, 2006).

2.1.4.2. Hipotalamik Melanokortin Sistemi

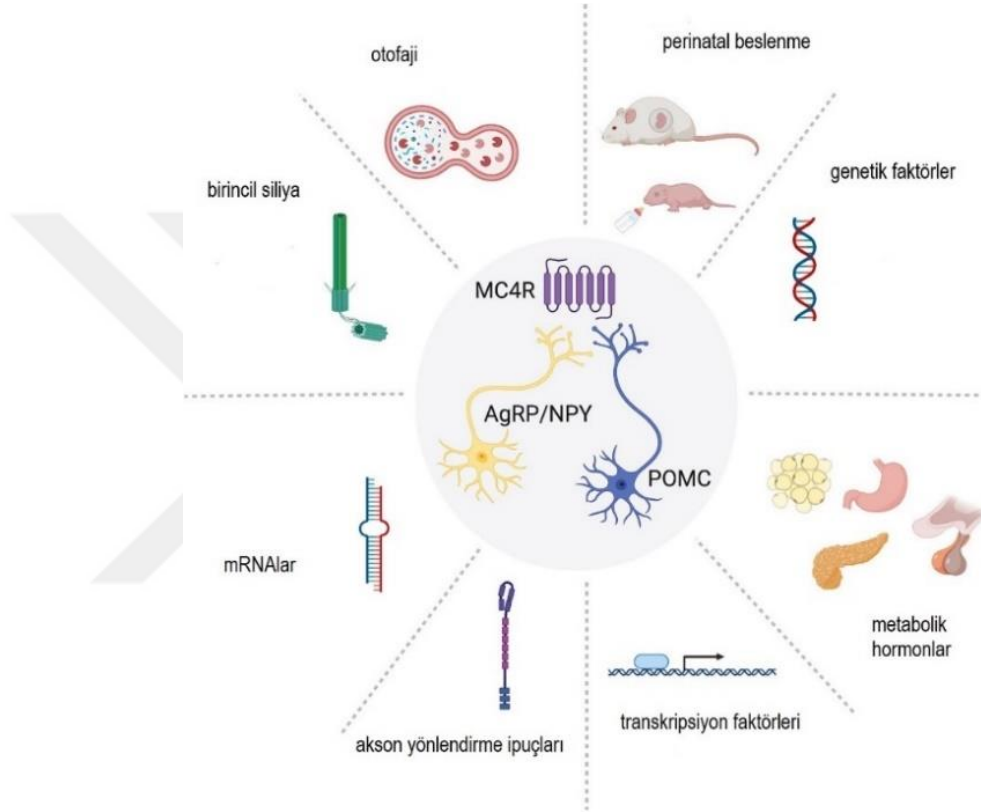
Hipotalamusun ARC'sinde konumlanan melanokortin sistemi iştah metabolizmasını ve enerji homeostazını düzenleyen önemli bir yapıdır. Bu sistemdeki bozulmalar obezite başta olmak üzere birçok metabolik hastalığa sebep olmaktadır (Micioni Di Bonaventura ve ark., 2020).

Melanokortin sistemini içeren iki nöronal hücre grubu, anoreksijenik *Pomc* nöronları ve oreksijenik *Npy/ Agrp* nöronları bu süreçte kritik öneme sahiptir. Bu iki nöronal popülasyon, LH ve PVN gibi çeşitli hipotalamik hedef bölgelerinin yanı sıra beynin birçok bölgesiyle de etkileşim halindedir. Bu nöronal devre bağlantıları beslenme davranışının, enerji homeostazının ve glikoz metabolizmasının uygun şekilde düzenlenmesi için çok önemlidir (Lieu ve ark., 2020).

ARC'deki anoreksijenik nöropeptitlerin sentezlendiği nöronal popülasyonlar PVN'a yansıtılırken, oreksijenik nöropeptitlerin sentezlendiği nöronlar LH'a yansıtılır.

Bu nedenle PVN ve LH çıktıları arasındaki denge besin alımı ve enerji harcamasının düzenlenmesinde kritik bir rol oynar. Şiddetli insülin ve leptin salınımı durumunda

sinyal verme süreci etkilenir. Oreksijenik ve anoreksijenik nöropeptitlerin ekspresyonu, salgılanması ve besin kontrol süreci bozulur, sonuçta bu durum hiperfaji veya anoreksi ile sonuçlanır. Hiperfaji ve enerji harcamasında azalma ise BKİ'deki artış, obezite ve buna bağlı komorbiditelerle sonuçlanabilir (Benite-Ribeiro ve ark., 2021). Melanokortin sistemini şekillendiren etkenler Şekil 2.5'te gösterilmiştir.



Şekil 2.5. Melanokortin sistemini şekillendiren etkenler

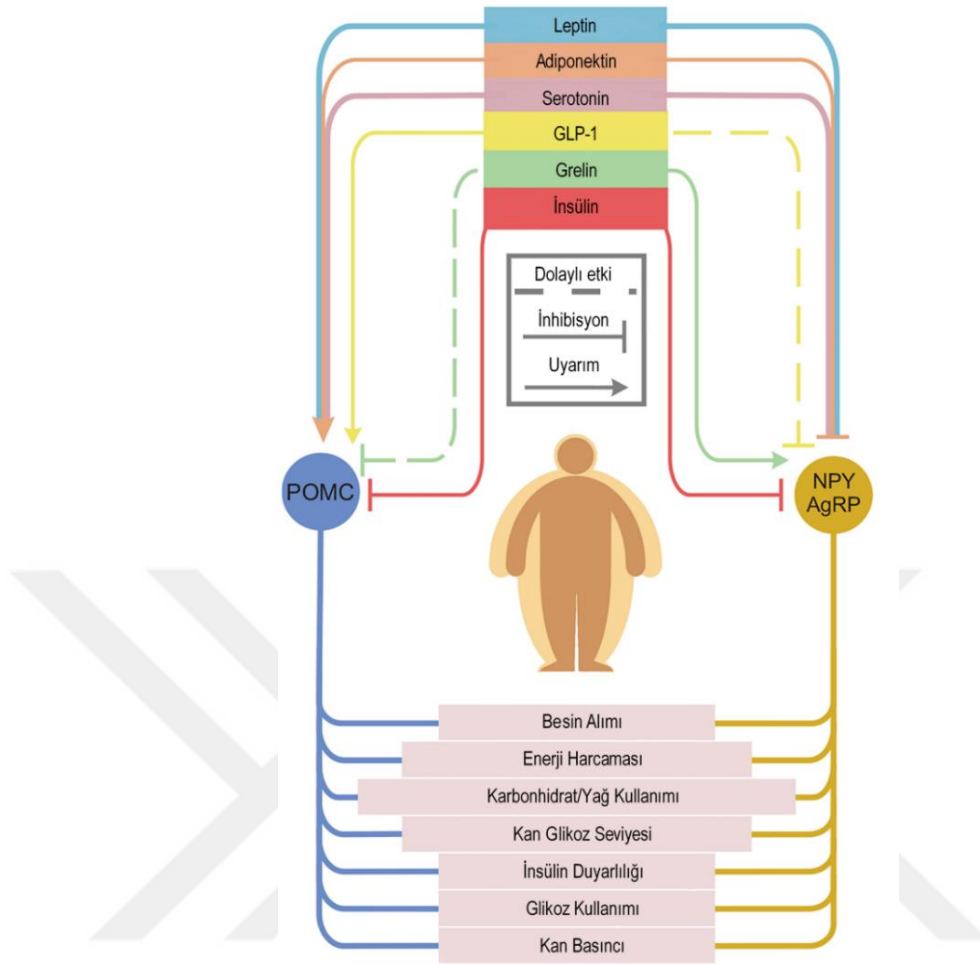
Kaynak: Bouret, 2022

2.1.4.2.1. Pro-opiomelanokortin

Pomc, melanokortin sisteminin önemli bir bileşenidir (Mountjoy, 2015). *Pomc*, açlık ve tokluk düzenleyicisi olan α -melanosit uyarıcı hormonun (α -MSH) öncü molekülüdür. Bu öncü molekülden oluşan diğer aktif peptitler β -MSH, γ -MSH, adrenokortikotropik hormon (adrenocorticotrophic hormone, ACTH) ve β -endorfindir (Micioni Di Bonaventura ve ark., 2020). *Pomc*'un metabolizmanın düzenlenmesindeki kritik rolünü gösteren ilk kanıtlar, insanlarda *Pomc* gen

mutasyonlarına sahip bireylerin erken başlangıçlı obezite sergilediğini gösteren çalışmalarla gösterilmiştir (Krude ve ark., 1998; Krude ve Grüters, 2000).

Pomc nöronlarının merkezi sinir sistemindeki lokalizasyonu, hipotalamusun ARC'si ve beyin sapının soliter çekirdeğinde (nucleus tractus solitarii, NTS), vücut ağırlığı kaybı, enerji homeostazı ve sinyalleme ile ilgili alanlardır. *Pomc* anoreksijenik etkiler gösterir (Micioni Di Bonaventura ve ark., 2020). Besin alımının azalmasına ve enerji harcamasının artmasına neden olmaktadır (Kim ve ark., 2014). Arkuat *Pomc* nöronlarının ablasyonu, artan yağlanma ve metabolik disfonksiyona katkıda bulunan enerji tüketimini azaltmaktadır (Zhan ve ark., 2013). Çeşitli metabolik sinyaller, *Pomc* nöronal aktivitesini modüle edebilmektedir. Özellikle, leptin, serotonin, adiponektin ve glukagon benzeri peptit-1 (glucagon like peptide-1, GLP-1) *Pomc* nöronlarını aktive ederken, insülin *Pomc* nöronlarını inhibe etmektedir (Heerwagen ve ark., 2010). *Pomc* nöronlarının metabolik sinyallere bağlı regülasyonu ve metabolizma üzerindeki etkileri Şekil 2.6'da gösterilmiştir. *Pomc* popülasyonu kronik (saatler ile günler içinde) beslenme davranışını etkilemektedir (Lieu ve ark., 2020).



Şekil 2.6. *Pomc*, *Npy* ve *Agrp* nöronlarının metabolik sinyallere bağlı regülasyonu ve metabolizma üzerindeki etkileri (*Pomc*: pro-opiomelanokortin, *Npy*: nöropeptit-Y, *Agrp*: agouti ilişkili protein, GLP-1: glukagon benzeri peptit-1)

Kaynak: Lieu ve ark., 2020

Hipotalamik *Pomc* 'un epigenetik mekanizmalar üzerinden hatalı programlanması, yavrularda maternal beslenme yoluyla obezitenin metabolik programlanmasında rol oynamaktadır (Gali Ramamoorthy ve ark., 2018). Yapılan bir çalışmada yüksek yağlı ve düşük yağlı diyetle beslenen ratlar kıyaslanmıştır. Vücut ağırlığı ve yağlanmadaki artışa rağmen, yüksek yağlı diyetle beslenen yavrularda anorektik *Pomc* mRNA ekspresyonunda bir artış gözlenmemiştir. Buna rağmen *Pomc* promotör bölgelerdeki hipermetilasyon göze çarpmaktadır. *Pomc* promotör hipermetilasyonu 20 haftada bile devam etmiştir. Bu durum anne diyetinin yavruların bozulmuş enerji homeostazıyla ilgili epigenetik fenotipi üzerindeki uzun vadeli etkisini vurgulamaktadır (Gali Ramamoorthy ve ark., 2018).

Doğum sonrası aşırı beslenme de melanokortin sisteminin azalmış aktivitesi ile ilişkilidir. Gözlenen değişiklikler, artmış vücut ağırlığı ve hiperfaji gibi metabolik işlev bozukluklarının bir sonucu olmaktan ziyade, yaşamın erken döneminde hipotalamik melanokortin sisteminin yanlış programlanmasından kaynaklanan edinilmiş bir mekanizmayı yansıtmaktadır. Bu sonuçla tutarlı olarak, *Pomc* ekspresyonundaki değişiklikler, henüz yeni doğan döneminde, doğum sonrası ilk haftalarda, yani ağırlık artışı ve hiperfaji gelişmeden önce gözlenmektedir (Bouret, 2022). *Pomc* üzerindeki olumsuz etkilerine ek olarak gen ekspresyonu, doğum sonrası aşırı beslenme, melanokortinlere nöronal yanıtı etkiler. Örneğin, kronik olarak aşırı beslenen yavruların PVN nöronları, α -MSH'ye karşı azaltılmış elektrofizyolojik tepkiler gösterir (Davidowa ve ark., 2003).

Kontrol diyeti ile beslenen diyetle indüklenmiş obez ratlar obeziteye dirençli ratlara kıyasla *Pomc* nöronlarına artan inhibitör girdiler göstermiştir. Yüksek yağlı diyet ile beslenen diyetle indüklenmiş obezite (DİO) ratları, *Pomc* nöronları üzerinde bir sinaps kaybı gösterirken, obeziteye dirençli kontrol sıçanlarında yüksek yağlı beslenme, *Pomc* sinaptik kapsama alanında bir artışa neden olmuştur (Horvath ve ark., 2010).

Yapılan bir başka çalışmada gebelik ve laktasyon döneminde yüksek yağlı diyetle beslenen ratlar henüz bir günlükken kontrol grubuna kıyasla hipotalamustaki *Agrp* ekspresyonunun anlamlı düzeyde 1,4 kat arttığı, yavrular altı aylık olana kadar yüksek yağlı diyetle devam ettiğinde ise *Agrp* ekspresyonunun kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede 1.5 kat artıp *Pomc* ekspresyonunun ise 0.5 kat düşük olduğu gösterilmiştir (Desai ve ark., 2016). Bir başka çalışmada gebelik sırasında ve yetişkinlikte yüksek miktarda doymuş yağa maruz kalan farelerin hipotalamuslarındaki *Pomc* ve *Npy* ekspresyon düzeyleri önemli düzeyde yükselmiştir. Yavruların yüksek yağlı diyetle beslenen annelerden kontrol diyetine geçişi *Pomc* ekspresyonunu normalleştirmiştir (Page ve ark., 2009). Bir başka çalışmada doğum sonrası 1. ve 21. günde yapılan analizlerde yüksek yağlı diyetle beslenen bir günlük yavruların *Agrp* ekspresyonu düzeyleri anlamlı düzeyde daha yüksekken, 21. günde anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur. 21. güne gelindiğinde *Pomc* ekspresyonu yüksek yağlı diyetle beslenmiş yavrularda anlamlı düzeyde yüksekken, *Agrp* ekspresyonu anlamlı düzeyde düşük çıkmıştır. *Pomc/Agrp*

oranı ise 21. günde anlamlı derecede düşüş göstermiştir. Yüksek yağlı diyetle beslenen yavrular doğum sonrası kontrol diyetine geçtiklerinde 16. haftada *Pomc/Agrp* oranları baştan beri yüksek yağlı diyetle beslenen grupta en yüksek olurken, kontrol diyetine geçen grupta düşüş sergilemiştir (Gout ve ark., 2010).

2.1.4.2.2. Agouti-ilişkili Protein

Agrp orijinal olarak mediobasal hipotalamustaki nöronlar tarafından eksprese edilen, melanokortin reseptör ailesinin bir başka üyesinin antagonisti olarak görev yapan bir peptit olarak tanımlanmıştır (Ellacott ve Cone, 2004). *Agrp*'nin transgenik farelerde ekspresyonu obeziteyi indükleyebilmektedir (Baldini ve ark., 2019).

Hipotalamusta, *Agrp* eksprese eden nöronlar, *Npy*'yi birlikte eksprese eder ve beslenmeyi düzenlemek için periferden gelen oreksijenik ve anoreksijenik sinyallere yanıt verirler. Besin yoksunluğu, *Agrp/Npy* eksprese eden nöronlarda *Npy* ve *Agrp* mRNA'nın ekspresyonunun artmasına neden olurken, yeniden besleme bu peptitlerin düzeylerini yeniden yükseltir. İnsanlarda *Agrp* ve *Npy*'deki artış BKİ artışı ile ilişkilidir (Baldini ve ark., 2019). *Agrp* nöronları ayrıca *Npy* reseptörleri aracılığıyla *Pomc* nöronlarına doğrudan inhibitör girdi sağlar (Hill ve Faulkner, 2017). *Npy/Agrp* eksprese eden nöronları *Pomc* etkisini antagonize ederek besin alımını arttırır ve enerji harcamasını azaltır, böylece vücut ağırlığını arttırmaktadırlar (Kim ve ark., 2014). *Pomc*, *Npy* ve *Agrp* nöronlarının metabolik sinyallere bağlı regülasyonu ve metabolizma üzerindeki etkileri Şekil 2.5'te gösterilmiştir. Özellikle, yalnızca laktasyon sırasında maternal yüksek yağlı diyetle maruziyet, obezite ve diyabete neden olup, *Pomc* ve *Agrp* genlerinin mRNA ekspresyonunun gelişimini değiştirmek için yeterli görünmektedir, bu da doğum sonrası beslenmenin, özellikle hipotalamik programlamadaki önemini göstermektedir (Vogt ve ark., 2014). *Agrp* popülasyonu hızlı (dakikalar ile saatler içinde) beslenme davranışını etkilemektedir (Lieu ve ark., 2020). Yapılan bir çalışmada yüksek yağlı ve düşük yağlı diyetle beslenen ratlar kıyaslanmıştır. Oreksijenik *Agrp* ve *Npy* ekspresyonu, üç haftalıkken yüksek yağlı diyetle beslenen yavruların ARC'sinde önemli ölçüde azalmıştır (Gali Ramamoorthy ve ark., 2018).

2.1.4.2.3. Nöropeptit-Y

Leptin, serotonin, adiponektin, insülin ve GLP-1 ters şekilde *Npy/Agrp* hücrelerini inhibe etmektedir. Bozulmuş leptin sinyali fiziksel aktiviteyi azaltırken artan besin alımını teşvik edecek olan *Npy* ekspresyonunun artmasına neden olabilir (Heerwagen ve ark., 2010).

Yapılan bir çalışmada anne sıçanların yüksek yağlı diyetle beslenmesi fetüsün dolaşımındaki lipidlerle yakından ilişkili olduğu, oreksijenik nöronların çoğalmasına sebep olduğu gösterilmiştir (Chang ve ark., 2008). Kemirgenlerde insanlarda gözlemlenene benzer şekilde, gebelik ve/veya laktasyon döneminde yüksek yağlı diyet (enerjinin %45-60'ı yağdan) ile beslenen obez dişilerden doğan yavrular, giderek obez olup, hiperfajik hale gelirler. Bu metabolik değişiklikler hem farelerde hem de ratlarda *Pomc* ve *Agrp/Npy* projeksiyonlarının bozulmuş gelişimi ile ilişkilidir (Haddad-Tóvolli ve ark., 2020; Kirk ve ark., 2009; Park ve ark., 2020; Sullivan ve ark., 2017; Vogt ve ark., 2014). Özellikle, yalnızca laktasyon sırasında maternal yüksek yağlı diyetle maruziyet, obezite ve diyabete neden olup, *Pomc* ve *Agrp* genlerinin ekspresyonlarını değiştirmek için yeterli görünmektedir, bu da doğum sonrası beslenmenin, özellikle hipotalamik programlamadaki önemini göstermektedir (Vogt ve ark., 2014).

2.2. Obezitenin Fetal Programlanması

Obezite önlenabilir bir sağlık problemi olmasına rağmen 1975'ten bu yana dünya çapında neredeyse üç katına çıkmıştır (<https://www.Who.Int/News-Room/Fact-Sheets/Detail/Obesity-and-Overweight> Erişim Tarihi: 15.12.2022). Vücut ağırlığı artmış yetişkin kadınların oranı 1980'de %29.8 iken, bu oran 2013'te %38'e yükselmiştir. Maternal obezitenin küresel yükü ve zaman içindeki değişimini anlamak halk sağlığı açısından önem arz etmektedir. Ancak gebe kadınlar arasındaki artmış vücut ağırlığı ve obezitenin küresel yükü hala belirsizliğini korumaktadır. 184 ülkeden elde edilen veriler ışığında yapılan tahminlere göre 2014 yılında dünya genelinde 38.9 milyon hafifi şişman ve obez gebe kadının ve 14.6 milyon obez gebe kadının var olduğu düşünülmektedir (Chen ve ark., 2018).

Üreme çağındaki kadınlar arasında vücut ağırlığı ve obezitedeki artış, obeziteyi nesiller boyu yaygınlaştıran küresel obezite salgınının önemli bir düzenleyicisi olarak düşünülmelidir (Seneviratne ve Rajindrajith, 2022). Maternal obezite gebelik öncesi, sırası ve sonrası dönemde önce anneyi ardından da fetal ve hatta neonatal sağlığı dahi olumsuz etkileyebilmektedir (Poston ve ark., 2016). Gebelikte artmış vücut ağırlığı ve obezitenin anne ve bebek üzerindeki birçok uzun ve kısa vadeli etkisi düşünüldüğünde mevcut durum nesiller arası aktarılan hastalık prevelansını artırdığından daha önemli hale gelmektedir (Neri ve Edlow, 2016). Yeni doğan obezitesinin, fetüsün anne karnında maruz kaldığı obezojenik maternal metabolik ortam tarafından programlandığı düşünülmektedir. İntrauterin gelişim sırasında, maternal obezitenin çocukluk ve yetişkinliğe kadar devam eden neonatal obeziteye yol açması, sonuçta bir 'obezite döngüsü' içine girilmesi ve bu durumun gelecek nesli etkileme potansiyeli endişe vericidir (Langley-Evans, 2006; Seneviratne ve Rajindrajith, 2022).

Gelişmiş ülkelerde üreme çağındaki kadınların beslenme durumlarıyla ilgili temel sorun belirli besin maddelerinin eksikliğinden ziyade beslenme fazlalığıdır. Şaşırtıcı bir şekilde, gebe hayvanların kısıtlayıcı diyetle maruz kalması yüksek kan basıncı, glikoz intoleransı, insülin direnci ve daha fazla obez olma eğilimi ile sonuçlanırken, beslenme manipülasyonu ters yönde olduğunda da hemen hemen aynı sonuçlar elde edilmektedir (Langley-Evans, 2009). Bazı çalışmalar obez bireylerin yavrularında obezite, hipertansiyon, tip 2 diyabet ve metabolik sendrom görülme olasılığının önemli ölçüde daha yüksek olduğunu göstermektedir (Neri ve Edlow, 2016). Paternal obezite, fetal programlamaya olumsuz anlamda katkıda bulunabilse de yavrudaki riskler üzerinde obezojenik intrauterin ortamın ve annenin BKİ'sinin babanın BKİ'sinden daha etkili olduğu görülmektedir (Lawlor ve ark., 2007).

Annede var olan obezitenin çocuklarda nörogelişimsel durumu da etkilediği gösterilmiştir (Tanda ve ark., 2013; van Lieshout ve ark., 2011). Obez annelerin çocuklarında otizm spektrum bozukluklarında artış ve gelişim gerilikleri (Hinkle ve ark., 2012; Krakowiak ve ark., 2012), dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu (DEHB), anksiyete, diğer psikiyatrik bozukluklar (Rodriguez ve ark., 2008) ve serebral palsi insidansında artış (Ahlin ve ark., 2013; Crisham Janik ve ark., 2013; Mehta ve ark., 2014; Pan ve ark., 2014) olduğu da gösterilmiştir.

Maternal obezite, bir dizi gebelik komplikasyonu riskini de artırır. Annede hipertansif bozukluklara ve sonuçta gelişen preeklampsiye, gestasyonel diyabete, obstetrik komplikasyonlara ve hatta gebelik ve doğum sırasında anne ölümüne neden olabilmektedir. Normal doğum ihtimalini azaltmaktadır (Leddy ve ark., 2008; Ruager-Martin ve ark., 2010). Maternal obezite bebekte ise spontan kürtaj, açıklanamayan ölü doğum, nöral tüp defekti, fetal makrozomi, kardiyovasküler defektler, orofasiyal yarıklar, hidrosefali ve uzuv küçülmeleri dahil olmak üzere ek konjenital anomali riskindeki artışlar içinde bir risk faktörüdür (Leddy ve ark., 2008). Gebelikte obezitenin kısa ve uzun dönem etkileri Tablo 2.1’de gösterilmiştir.

Derlemelerin sistematik bir incelemesi, obez gebe kadınlarda düşük yapma riskinin sağlıklı vücut ağırlığına sahip kadınlara göre %30 daha yüksek olduğunu, en yüksek BKİ kategorisinde düşük riskinin normal BKİ’ye sahip kadınlara kıyasla iki katına çıktığı tahmininde bulunmuşlardır. Yaşamın ilk yılında gerçekleşen bebek ölümleri ile anne obezitesi arasında dahi ilişkiler olduğu gösterilmiştir. Maternal obezite anne ve bebeğe fizyolojik etkileri yanında mental açıdan da olumsuz etkiye bulunabilmektedir. Obez gebelerin gebelik sırasında ve postpartum dönemde depresyon riski artmaktadır. Depresyonun fizyolojik etkileri gözden kaçırılmamalıdır. İlginç bir şekilde gestasyonel diyabet, preeklampsi, erken doğum ve düşük doğum ağırlığı ile depresyon arasında bağımsız olarak ilişki olduğu gösterilmiştir (Poston ve ark., 2016).

Tablo 2.1. Gebelikte obezitenin kısa ve uzun dönem etkileri

Komplikasyonlar	
Maternal	
Prekonsepsiyon	Hipertansiyon, renal disfonksiyon, tip 2 diyabet, in-vitro fertilizasyon bozuklukları
Gebelik	Önceden var olan kronik hipertansiyon, böbrek hastalığı yada tip 2 diyabet, düşük, gestasyonel diyabet, gestasyonel hipertansiyon, preeklampsi, venöz tromboembolizm, doğum komplikasyonları, sezaryen, depresyon, prematüre doğum
Erken Postpartum (ilk 48 saat)	Postpartum hemoraji, venöz tromboembolizm, anne sütüne gecikmeli başlangıç, kısalmış laktasyon süresi
Postpartum	Ağırılık artışı ya da dirençli obezite, hiperlipitemi, tip 2 diyabet*, iskemik kalp hastalığı**, hipertansiyon**, inme**
Fetal/ Neonatal	Makrozomi, gestasyonel yaşa göre irilik, ölü doğum, konjenital malformasyon, omuz distozisi, neonatal hipoglisemi

*gestasyonel diyabet sonrası, **preeklampsi sonrası

Kaynak: Poston ve ark., 2016

2.3. Maternal Obezitenin Yavruya Etkileri

2.3.1. Metabolik Etkileri

Maternal gebelik öncesi obezite ve aşırı gestasyonel ağırlık artışı, çocukluk ve ergenlik döneminde artan obezite riski ile ilişkilidir. Dört çalışma ile yapılan bir meta-analiz, maternal gebelik öncesi obezitenin, çocukluk çağı obezitesi riskinin üç kat artmasıyla ilişkili olduğunu göstermiştir (Yu ve ark., 2013). Benzer şekilde, 12 çalışma ile yapılan bir meta-analiz, Uluslararası Göç Örgütü kriterlerine göre gebelikte önerilen ağırlık kazanımı ile karşılaştırıldığında, gebelikte yüksek ağırlık kazanımının çocukluk çağı obezitesi riskini %33 oranında artırdığını göstermiştir (Tie ve ark., 2014).

Obez annelerin çocukları, doğum ağırlığına bakılmaksızın metabolik sendrom geliştirme riski altındadırlar. Hem gebelik öncesi obezite hem de gebelikte yüksek ağırlık artışı, çocuklukta daha yüksek kan basıncı, olumsuz lipid profili, insülin direnci ve daha yüksek inflamatuvar belirteçlerle ilişkili görünmektedir (Gaillard, 2015). Obez annelerden doğan yavruların tokluk kan glikozu düzeyleri ve leptin konsantrasyonları obez olmayan annelerin çocuklarına kıyasla daha yüksektir. İnsüline daha dirençlidirler. Çocuklarında tip 2 diyabet görülen annelerin görülmeyen annelere kıyasla daha yüksek BKİ'de oldukları gösterilmiştir (Ruager-Martin ve ark., 2010). 5908 Hollandalı anne-çocuk arasında yapılan bir çalışma, annenin gebelik öncesi ve gebelikte vücut ağırlığından bağımsız olarak, erken gebelik döneminde yüksek vücut ağırlığı artışının, çocuklukta olumsuz bir kardiyometabolik profil ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Gaillard, 2015). Yunanistan'dan 977 anne-çocuk arasında yapılan bir başka çalışma, annenin ilk trimesterda vücut ağırlığı artışının artan çocukluk çağı obezitesi riski ve daha yüksek çocukluk diyastolik kan basıncı ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Karachaliou ve ark., 2015). Sıçan yavrularının gebelik sırasında maternal obeziteye maruz bırakıldığı ve daha sonra laktasyon için normal vücut ağırlığına sahip annelere verildiği çapraz besleme deneyleri, yavrularda hipertansiyona neden olmuştur (Ruager-Martin ve ark., 2010).

2.3.2. İştah ve Besin alımı Üzerine Etkileri

Maternal obezite, düşük kaliteli anne diyetinin bir göstergesidir. Diyet ve çevresel faktörlerin iştahı, ağırlık regülasyonunu ve metabolik bozuklukların etiyolojisini kontrol eden fizyolojik sistemleri modüle ettiği mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır. Son veriler yetişkin yaşamında ortaya çıkan bazı metabolik bozuklukların kökeninin doğumdan önce olabileceğini düşündürmektedir (Gaillard ve ark., 2014).

Batı diyetiyle ilişkili makro ve mikro besin alımı, plasental transfer ve daha sonra yavruların yağ birikimi, adiposit işlevi, pankreas işlevi ve besin tercihi üzerindeki etkiler yoluyla fetüsün kardiyovasküler ve metabolik gelişimini etkileyebilir (Gaillard ve ark., 2014).

Epidemiyolojik çalışmalar, annenin besin alımının hem makro besin kompozisyonu hem de toplam enerji açısından, 10 yaşında yavrularda makro besin alımı ilişkili olduğu gösterilmiştir. 5000 anne ve bebeği kapsayan bir çalışmada annenin gebelik öncesi, sırası ve sonrasındaki protein ve yağ alımının artışı 10 yaşındaki çocukların diyetlerinde yüksek yağ ve protein alımıyla ilişkili görünmektedir. En güçlü korelasyon annenin doğum öncesi diyetinde gözlenmiş ve çocukların doğum sonrası yağ kütlesinin en güçlü belirleyicisinin annelerin yağ alımı olduğu belirlenmiştir (Brion ve ark., 2010). 585 anne ve çocuklarını kapsayan bir araştırma, gebelik sırasında yüksek oranda doymuş yağ ve şeker alımının, bebekte obezite riskinin artmasıyla ilişkili olduğunu göstermiştir (Murrin ve ark., 2013). Yaklaşık 3000 anne, baba ve çocuklarını kapsayan bir başka araştırma, gebelik sırasında annenin diyetle protein, yağ ve karbonhidrat alımının, çocuğun diyetle aynı makro besinleri almasıyla ilişkili olduğunu göstermiştir. Annenin gebelik sırasındaki besin alımının çocuğun besin alımıyla ilişkisi, annenin doğum sonrası besin alımından daha etkili olduğu görülmektedir. Bu da rahim içi mekanizmaların yavruların iştahının programlanmasında bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Brion ve ark., 2010). Bu çalışmalar, gebe kadınlarda optimal olmayan bir beslenme durumunun yavrularda olumsuz kardiyovasküler ve metabolik sonuçlarla ilişkili olduğunu göstermektedir. Bir başka çalışmada ise laktasyon döneminin kritik bir süreç olabileceği öne sürülmüştür. Gebelik ve laktasyon döneminde maternal obeziteye maruz kalan ve

abur cuburla beslenen yavruların, kontrol grubunun yavrularına kıyasla daha hiperfajik oldukları gösterilmiştir. Bununla birlikte, sadece gebelik sırasında abur cubur diyetine maruz kalan yavrularda hiperfaji görülmemiştir. Bu, doğum sonrası döneminde yavruları metabolik bozukluklara yatkın hale getirmedeki önemini göstermektedir (Bayol ve ark., 2007).

2.3.3. Ağırlık Denetimi Üzerine Etkileri

Anneden var olan obezite yavruda irileşmeye, bazı durumlarda da düşük doğum ağırlığına sebep olabilmektedir (Ruager-Martin ve ark., 2010). İki kohort çalışmasının bir meta-analizi, çocuklukta hafif şişmanlık/obezite riskinin, aşırı gestasyonel vücut ağırlığı artışı ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu göstermiştir. 37 gebelik ve doğum kohort çalışmasından 162.129 anne ve çocuktan elde edilen verilerin bir meta-analizi, yüksek maternal gebelik öncesi BKİ ve gebelikte vücut ağırlığı artışının, çocuklukta hafif şişmanlık/obezite riskinin artmasıyla ilişkili olduğunu göstermiştir (Şanlı ve Kabaran, 2019). Obez annelerin çocukları, normal doğum ağırlığı ile dünyaya gelseler bile, obez olma riski altındadırlar (Ruager-Martin ve ark., 2010). Obez kadınlarda fetal makrozomi, yalnızca fetüsün boyutuyla değil, vücut kompozisyonundaki değişikliklerle de ilişkilidir. Gebelik sırasında vücut ağırlığının artmasının bebeğin vücut ağırlığında da artışla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Leddy ve ark., 2008). Yüksek BKİ'ye sahip kadınların bebeklerinin, normal BKİ'ye sahip kadınların bebeklerine kıyasla vücut yağ kütlesinin daha fazla olduğu gösterilmiştir (Fraser ve ark., 2010).

Gebelikte annenin hangi dönemde kazandığı ağırlığın çocuğu kritik düzeyde etkilediğini belirlemeyi amaçlayan birkaç çalışma bulunmaktadır. İngiltere'de 5154 anne-çocuğu kapsayan bir çalışmada, özellikle gebeliğin ilk 14 haftasındaki ağırlık artışının, dokuz yaşında çocukların yağlanması ile pozitif ilişkili olduğunu göstermiştir (Fraser ve ark., 2010). 6637 anne ve onların adölesan çocukları arasında yapılan bir Fin çalışması, gebeliğin ilk 20 haftasında >7 kg'lık maternal ağırlık artışının, çocukların 16 yaşında hafif şişman olma riski ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Laitinen ve ark., 2012). Bu çalışmalar gestasyonel ağırlık artışının çocukluk çağı kardiyovasküler risk profilinde görülebilecek olumsuzluklar için kritik bir dönem olabileceğini düşündürmektedir.

2.3.4. Maternal Obezitenin Pro-opiomelanokortin, Nöropeptit-Y ve Agouti-ilişkili Protein Gen Ekspresyonları Üzerine Etkisi

Çocuklarda obezite insidansının artışı genellikle annenin artmış enerji alımı ve hiperfajisi ile ilgilidir. Alınan enerjinin artışı öncelikle temel nöropeptitlerin hipotalamik ifadesindeki değişikliklere sebep olmaktadır. Ardından bunların reseptörleri ve periferal faktörler tarafından sinyallemede yer alan moleküller de değişime uğramaktadır. Gen ekspresyonlarındaki değişiklikler, erken yaşamda aşırı beslenmeden kaynaklanabileceği gibi, epigenetik değişikliklere de bağlı olabilir (Penfold ve Ozanne, 2015).

İnsülin, maternal diyabet ve maternal aşırı beslenmeye yanıt olarak hipotalamik devrelerin programlanmasında önemli bir rol oynar. Yapılan bir çalışmayla hiperinsülineminin yavrularda hipotalamik oreksijenik ve anoreksijenik nöropeptiderjik sistemlerin karmaşık bir ‘yanlış organizasyonuna’ ve ‘yanlış programlanmasına’ yol açtığı gösterilmiştir. Maternal hipoinsülinemik hiperglisemi, neonatal arkuat çekirdekte oreksijenik nöronların anoreksijenik nöronlara oranını artırmış (Franke ve ark., 2005; Stecutorum ve Bouret, 2011) ve *Agrp* ve *Pomc* genlerinin ekspresyonlarını bozmuştur (Stecutorum ve Bouret, 2011). Bu değişiklikler, yenidoğanda dolaşımdaki yüksek glikoz, insülin ve leptin ve erişkin yaşamda merkezi leptin direnci, hiperfaji ile ilişkilidir. Bu durum yaşamın sonraki dönemlerinde obezite ve diyabetojenik rahatsızlıkların gelişme riskinin artmasına sebep olabilir (Stecutorum ve Bouret, 2011).

2.4. Maternal Obezitenin Olumsuz Etkilerinden Koruyucu Stratejilerin Geliştirilmesi

Gebelik, maternal insülin direnci, dislipitemi, orta derecede ve artmış oksidatif stres dahil olmak üzere, maternal metabolizmada çeşitli fizyolojik değişikliklere sebep olabilir. Obezite, gestasyonel diyabet ve preeklampsinin eşlik ettiği gebeliklerde ise metabolik fonksiyonlardaki bozukluklar daha da belirginleşir (Amirani ve ark., 2020).

Sağlık profesyonellerine göre anneyi ve bebeği maternal obezitenin sebep olacağı uzun vadeli sağlık problemlerinden korumak için en etkili yöntem ağırlık kaybı

sağlanması gibi görünse de, genelde bireyler gebelik öncesi beslenme davranışlarını gebelikte de sürdürme eğilimindedirler (Sobrevia ve ark., 2014). Bozulmuş metabolik fonksiyonlar fetal büyüme ve gelişmeyi de etkileyebileceğinden; gebelik sırasında ek besin ögesi ihtiyaçlarını desteklemek, annenin sağlığını ve fetal gelişimi iyileştirmek, metabolik bozuklukları ve olumsuz gebelik sonuçlarını önlemek için annenin farklı besinlerle desteklenmesine odaklanılmıştır (Amirani ve ark., 2020).

Geliştirebilecek potansiyel stratejiler arasında omega-3 yağ asitleri göze çarpmaktadır. Rahim içi büyüme kısıtlaması, preeklampsi ve gestasyonel diyabet gibi bir dizi gebelik komplikasyonunda annelerde daha düşük omega-3 düzeyleri gözlenmiştir (Amirani ve ark., 2020). Yüksek enerji alımı ve yağ tüketiminin kronik hastalıklar üzerine etkisi bilindiğinden, annenin fetal dönemde tükettiği toplam yağ, doymuş yağ ve omega-6 yağ asitleri fetal programlamayı etkileyen faktörler arasında sayılmaktadır. Yağ asitleri ile ilişkili en önemli risk faktörünün omega-6 yağ asitlerinin yüksek ve omega-3 yağ asitlerinin düşük alımı olduğu öne sürülmüştür (Kabaran ve Besler, 2015). Omega-3 yağ asitlerinin yağ dokusu, iskelet kası ve karaciğer fonksiyonunu modüle ederek obezite bağlamında anti-inflamatuvar ve antiobezojenik etkiler gösterdikleri hem mevcut yağlanmayı azaltıp hem de yüksek yağ kaynaklı obeziteyi önleyebildikleri gösterilmiştir (Couet ve ark., 1997; Kalupahana ve ark., 2010; Oliver ve ark., 2012).

2.4.1. Omega-3 Yağ Asitleri

Çoklu doymamış yağ asitleri, bağışıklık sistemini modüle edebilen, pro ve anti-inflamatuvar hücrelerin regülasyonunu değiştirebilen ve transkripsiyonel regülasyonu etkileyebilen bir lipid grubudur (Calder, 2006). Çoklu doymamış yağ asitlerinin iki ana ailesi, omega-6 (linoleik asit, LA) ve omega-3 (alfa-linolenik asit, ALA), eikosapentanoik asit (EPA) ve dokosaheksanoik asit (DHA) yağ asitleridir. ALA ve linoleik asit, temel yağ asitleri olarak kabul edilir, yani diyetten elde edilmeleri gerekmektedir. ALA, EPA'ya ve ardından DHA'ya dönüştürülebilir, ancak dönüşüm %15 gibi çok sınırlı bir orandadır. Bu nedenle, EPA ve DHA'yı doğrudan besinlerden ve/veya diyet takviyelerinden almak, vücuttaki bu yağ asitlerinin düzeylerini artırmanın tek pratik yoludur (Calder, 2006; Omega-3 Fatty Acids-Health Professional Fact Sheet, Erişim Tarihi: 31 Aralık 2022).

Omega-3 ÇDYA hücre zarlarının yapılarını oluşturan fosfolipitlerin bileşenleri olarak vücutta önemli roller oynamaktadırlar. Buna ek olarak vücutta enerji sağlarlar ve eikosanoid oluşturmak için kullanılmaktadırlar. Eikosanoidler vücudun kardiyovasküler, pulmoner, immün ve endokrin sistemlerinde geniş kapsamlı işlevlere sahiptirler. Çok sayıda çalışma, annenin deniz ürünleri ve omega-3 ÇDYA alımının bebek doğum ağırlığı, gebelik süresi, görsel ve bilişsel gelişim ve bebek sağlığı üzerindeki etkilerini incelemiştir. DHA fetal büyüme ve gelişme için önemlidir (Omega-3 Fatty Acids-Health Professional Fact Sheet, Erişim Tarihi: 31 Aralık 2022). En önemli işlevlerinden biri de inflamatuvar yanıt oluşturmadaki etkileridir. Omega-3 ve omega-6 inflamatuvar yanıtta zıt roller oynar. Omega-6 ÇDYA'ları tipik olarak proinflamatuvar eikosanoidlere öncü olarak inflamasyonu yukarı regüle ederken, omega-3 ÇDYA'ları aynı enzimatik yol içinde rekabet ederek inflamasyonu çözer (Simopoulos, 2002).

Gelişmekte olan ülkelerde de giderek daha baskın hale gelen Batı diyetinin omega-6 oranı omega-3'e kıyasla oldukça düşüktür. Diyetteki omega-6 ÇDYA'ların baskınlığının, yaşamın kritik erken evrelerinde yağ dokusu gelişimi üzerinde uyarıcı bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Castro-Rodríguez ve ark., t.y.). Sağlıklı bir diyetin ideal omega-6/omega-3 oranı 1:1 olmalıyken bu oran modern batı diyetinde 10–50: 1'e yükselmiştir. Bu durumun obezite, kronik inflamatuvar hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser insidansındaki artışa katkıda bulunduğu öne sürülmüş ve aktif bir çalışma alanı haline gelmiştir (Grygiel-Górniak, 2014; Simopoulos, 2002).

Literatürde omega-6 / omega-3 oranının düşürülmesinin kronik hastalık bağlamında bozulmuş metabolizmayı iyileştirebileceğine dair ikna edici kanıtlar vardır (Simopoulos, 2008, 2016). Obez annelerde omega-6/omega-3 oranının düşürülmesi, farelerde yavrunun ağırlık artışını, ilişkili inflamatuvar sonuçları azaltabildiği ve insülin duyarlılığını geliştireceği gösterilmiştir (Hussain ve ark., 2013; Heerwagen ve ark., 2013). Son zamanlarda düşük omega-3 ÇDYA alımı ile obezite, kardiyovasküler hastalık, inflamatuvar hastalıklar ve kanser insidansındaki artışlar arasındaki ilişkiler aktif olarak araştırılmaktadır (Hooper ve ark., 2006).

2.4.2. Maternal Omega-3 Suplementasyonunun Yavruya Etkileri

Omega-3 ÇDYA alımının obeziteyle ilişkisini inceleyen insan çalışmalarından elde edilen bulgular çelişkilidir. 12 yaş üzeri 43671 erkekte omega-3 ÇDYA alımının felç riski üzerindeki etkilerini izleyen Sağlık Profesyoneli Takip Çalışması'ndan elde edilen temel veriler, yüksek balık tüketimi olan erkeklerin hafif şişman olma olasılığının daha düşük olduğunu göstermiştir. Buna rağmen, Hemşirelerin Sağlık Çalışması 14 yıl boyunca 79839 kadında daha yüksek balık ve omega-3 ÇDYA alımının daha yüksek obezite prevalansı ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Balık alımıyla ilişkili daha yüksek obezite prevalansı, daha yüksek bir enerji alımı ile açıklanabilirken, omega-3 ÇDYA alımı için durum böyle değildir (He ve ark., 2002; Iso ve ark., 2001).

2.4.2.1. İştah ve Besin Alımı Üzerine Etkileri

Kemirgenlerde gebelikte insülin direnci doymuş yağdan zengin yüksek yağlı bir diyetle kolaylıkla indüklenebilmektedir. Sonuçta yavrularda hiperfaji, artan vücut ağırlığı ve adipozite ile birlikte azalmış insülin duyarlılığı, dislipitemi ve yüksek kan basıncı ile karakterize leptin direnci fenotipi gözlenmektedir (Albert ve ark., 2017).

Yapılan bir çalışmada gebelik boyunca ratlar yüksek yağlı diyet ya da laboratuvar diyetine ek olarak balık yağı takviyesine maruz bırakılmışlardır. Laktasyon boyunca takviye almaksızın kendi diyetlerine devam edip yetişkinlik boyunca da standart laboratuvar diyetiyle takip edilmişlerdir. Sonuçta balık yağı takviyeli yüksek yağlı diyet alan grubun yavrularının vücut ağırlığı, besin alımı veya toplam enerji alımı, yalnızca yüksek yağlı diyet alan annelerin yavrularından farklı olmamıştır. Ancak balık yağı takviyesi alan grubun insülin duyarlılığı almayan gruptan anlamlı derecede daha yüksek çıkmıştır. Bu da uzun vadede besin alımı ve ağırlık denetimi üzerinde etkili olabilecek bir sonuç gibi görünmektedir (Albert ve ark., 2017).

Bir başka çalışmada perinatal dönemde omega-3 ÇDYA alımının iştaha etkisi araştırılmıştır. Yetersiz omega-3 ÇDYA tüketen hayvanların kontrol grubuna kıyasla 1.9 kata varan düzeyde daha fazla besin tükettiği gözlenmiştir. Yiyecek kısıtlamasından sonraki 5 günlük süre boyunca, yaşam boyu ve laktasyon boyunca

yetersiz omega-3'le beslenen grupların kontrol grubuna göre sırasıyla %21 ve %7 daha fazla besin tükettiği gösterilmiştir (Mathai ve ark., 2004).

Bir başka çalışmada, obeziteye yatkın 3 haftalık erkek farelere 13 hafta boyunca yüksek yağlı (enerjinin %59'u) obezogenik diyet verilerek obezite oluşturulmuş, ardından 6 hafta daha aynı yüksek yağlı diyetle, balık yağından (%17 EPA + %11 DHA) oluşan yüksek yağlı diyetle veya düşük yağlı kontrol diyetine devam etmişlerdir. Omega-3'lü veya düşük yağlı diyetlere geçtikten sonra, vücut ağırlıkları benzer şekilde azalırken, orijinal yüksek yağlı diyetle tutulan fareler ağırlık kaybetmemiştir. Balık yağıyla zenginleştirmiş diyetle geçtikten sonra vücut ağırlığı kaybı, besin alımında herhangi bir azalma ile ilişkili bulunmamıştır. Ancak bu fareler, metabolik verimlilikte bir düşüşe işaret eden birim enerji alımı başına en düşük vücut ağırlığı artışı sergilemişlerdir (Huang ve ark., 2004).

2.4.2.2. Ağırlık Denetimi Üzerine Etkileri

Omega-3 ÇDYA alımının iştah ve besin alımıyla hem bağlantılı, hem de bağlantısız olarak yavrunun ağırlığını artırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Yaşamın erken dönemlerinde ve doğum sonrası erken dönemde büyüme kısıtlaması, yaşamın ilerleyen dönemlerinde hastalık riskini artırdığından, veriler daha önemli bir hale gelmektedir (Shrestha ve ark., 2020). Güney Hindistan'da yürütülen ileriye dönük bir kohort çalışması, gebelik sırasında düşük ve yüksek linoleik asit alımı olan bireylerin düşük doğum ağırlıklı bebekler dünyaya getirdiğini, linoleik asit alımı ve doğum sonuçları arasında ters U şeklinde bir ilişki olduğunu göstermiştir (Mani ve ark., 2016). Amsterdam'da Doğan Çocuklar ve Gelişimi (ABCD) çalışmasından elde edilen veriler, plazma fosfolipitlerinde omega-3'ün düşük, omega-6 ÇDYA'nın yüksek konsantrasyonda olması, düşük doğum ağırlığı ile ilişkili bulunmuştur (van Eijdsen ve ark., 2008).

Bir başka çalışmada 12 gönüllü, 3 hafta boyunca bir kontrol diyeti uygulamış ve 10 ila 12 haftalık bir arınmadan sonra, aynı diyeti DHA açısından zengin balık yağı ile zenginleştirmişlerdir. Katılımcıların dinlenme enerji harcamasının arttığı ve balık yağı diyetinde vücut yağının kontrole kıyasla azaldığı gösterilmiştir (Couet ve ark., 1997). Başka bir çalışmada 21. gebelik haftasından laktasyonun üçüncü ayının sonuna kadar omega-3 (200 mg DHA) ile desteklenmiş anne diyetinin 21 aylık

yavrularda daha düşük vücut ağırlığı ve BKİ ile sonuçlandığı gösterilmiştir (Lucia Bergmann ve ark., 2007).

Hayvan çalışmaları, annenin diyetinin yüksek oranda omega-6 ÇDYA içermesi ile yavrularda adipogenez arasındaki bağlantıyı göstermiştir. Farelerde, daha yüksek oranda omega-6 ÇDYA içeren diyetle beslenen annelerin yavruları, daha düşük omega-6 ÇDYA içeren bir diyetle beslenen annelerin yavrularına göre sütten kesme sonrası daha ağır bulunmuşlardır (Shrestha ve ark., 2020). Geç gebelik sırasında ve laktasyon boyunca yüksek omega-6 ÇDYA ile beslenen annelerden doğan sıçan yavrularının yetişkinlik dönemlerinde ortalama vücut ağırlığı ve açlık insülin düzeyleri artmıştır (Massiera ve ark., 2003). Yüksek omega-6 ÇDYA ile beslenen annelerin yavruları ile, laktasyon döneminde yüksek omega-3 ÇDYA ile beslenen yavrular karşılaştırıldığında kasık beyaz yağ dokusu ağırlığının arttığı gözlenmiştir (Korotkova ve ark., 2005). Başka bir çalışmada yüksek omega-3 ÇDYA ile beslenen annelerden doğan yavruların, boy uzunluklarına göre daha az ağırlığa sahip oldukları görülmüştür (Xavier ve ark., 2021).

Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, gebe sıçanlara 2 hafta süreyle %18 yağ içeren bir diyet verilmiştir. Gruplara Hindistan cevizi yağı (doymuş yağ asidi), balık yağı (ÇDYA) ve soya yağı (kontrol grubu) takviye edilmiştir. Yağ asitlerinin yeni doğan sağlığına etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonunda doymamış yağ takviyesi alan annelerin yavrularının, diğer gruplardan gelen yavrulara göre daha düşük doğum ağırlığına ve doğumdan sonra daha yavaş ağırlık artışına sahip olduğu belirlenmiştir. Doymuş yağlarla beslenen annelerin yavruları, oral glikoz tolerans testinde yüksek insülin yanıtı sergilemiştir. Sonuçta gebelikte tüketilen yağ asitlerinin tipinin yeni doğanın büyümesi ve glikoz metabolizması üzerinde etkili olabileceği belirlenmiştir (Siemelink ve ark., 2002).

Başka bir çalışmada, farklı yağ asitlerinin adipozite ve kan lipitleri üzerindeki etkilerini belirlemek için sıçanların diyetlerine hidrojene bitkisel yağlar, hurma yağı, kanola yağı ve soya yağı eklenmiştir. Dört grup yağ asidi bileşimi, annelere gebelik sırasında, laktasyon boyunca ve laktasyon sonrası 45 güne kadar kullanılmaya devam edilmiştir. Sonuçta, hurma ve hidrojene bitkisel yağ gruplarındaki yavruların, kanola ve soya yağı gruplarındaki yavrulardan daha yüksek vücut ağırlığına sahip olduğu,

ayrıca hidrojene bitkisel yağ grubunun, hurma yağı grubundan daha yüksek trigliserit ve toplam kolesterol düzeyleri ve diğer 3 gruptan daha düşük HDL-kolesterol düzeyleri sergilediği gösterilmiştir (Silva ve ark., 2006).

Sıçanlarda laktasyon döneminde yapılan omega-3 ÇDYA takviyesinin programlanmış hiperleptinemi, yağlanma ve hipertansiyonu önlediği gösterilmiş, diyetin omega-3 ÇDYA ile takviye edilmesinin insanlarda olumsuz programlamaya karşı terapötik bir müdahale sağlayabileceğini düşündürmüştür (Wyrwoll ve ark., 2006; Zulkafli ve ark., 2013).

2.4.2.3. Pro-opiomelanokortin, Nöropeptit-Y ve Agouti-ilişkili Protein Gen Ekspresyonları Üzerine Etkileri

Hipotalamik tokluk düzenleyici devrenin kurulması, kemirgenlerde yaşamın ilk iki haftasında gerçekleşir. Temel etkileyici faktör doğum sonrası 4 ile 14. gün arasında hipotalamus üzerindeki leptin dalgalanmasıdır. Annenin yüksek yağ ve şekerle beslenmesi leptin dalgalanmasının artışına ve uzun süreli olmasına yol açarak tokluk sinyal ağlarında anormal olgunlaşmaya, leptin direncine, hipotalamik fonksiyonun değişmesine ve yaşamın ilerleyen dönemlerinde vücut ağırlığında artışa neden olabilir. Maternal aşırı beslenmenin dolaşımdaki leptin düzeylerini ve *Npy* ile *Pomc* gibi anahtar hipotalamik iştah düzenleyicilerin gen ekspresyonunu doğumdan bir gün sonra bile değiştirdiği gösterilmiştir. Bu durum maternal diyetin hipotalamik tokluk sinyallerine olan etkilerinin intrauterin gelişim sırasında gerçekleştiğini göstermektedir (Xavier ve ark., 2021).

Literatürde maternal dönemde omega-3 ÇDYA alımının süten kesim sonrası yavrudaki iştah genleri üzerine etkilerini inceleyen çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak bir hayvan çalışmasında yüksek yağlı diyetle 13 haftalık maruziyetle obezite oluşturulan fareler, obeziteye dirençli ve düşük yağlı diyetle beslenen farelerle karşılaştırıldığında hipotalamusta en yüksek *Npy* mRNA ekspresyonuna sahip olduğu gösterilmiştir. Diyetin yüksek yağdan omega-3 ÇDYA ile zenginleştirilmiş bir diyetle değiştirilmesi, hipotalamusta *Npy* mRNA ekspresyonunun düzeyini %32'ye varan önemli ölçüde azaltmıştır. Bununla birlikte, diyetin yüksek yağdan düşük yağa değiştirilmesi, hipotalamusta *Npy* mRNA ekspresyonunun düzeyini etkilememiştir. Diyetle indüklenmiş obeziteye sahip fareler, 19 haftalık yüksek yağlı diyetten sonra

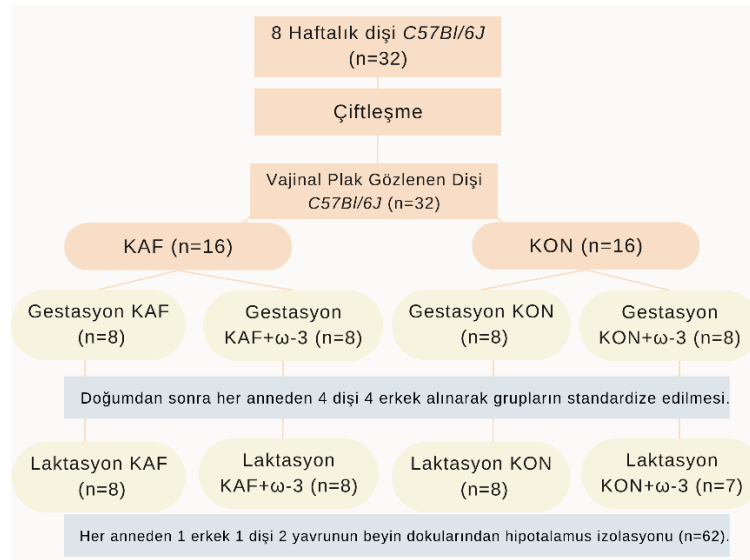
diyete dirençli ve düşük yağlı diyetle beslenen farelere kıyasla, ARC’de düşük *Pomc* mRNA ekspresyonu düzeyi göstermişleridir. Diyetin yüksek yağdan omega-3’le zenginleştirilmiş diyetle değiştirilmesi, ARC *Pomc* mRNA ekspresyonunun düzeyini %98’e varan önemli ölçüde artırmıştır. Benzer şekilde, yüksek yağlı diyeti düşük yağlı diyetle değiştirmek de ARC *Pomc* mRNA ekspresyon düzeyini %106’ya varan ölçüde artırmıştır (Huang ve ark., 2004).

Başka bir çalışmada laktasyon dönemindeki omega-3 ÇDYA alımının etkisi araştırılmıştır. Gebelik öncesi yüksek yağlı diyet alımından sonra gebelik boyunca omega-3 ÇDYA ile zenginleştirilmiş bir diyetle maruz kalmanın *Agrp* ifadesini artırdığı gösterilmiş. *Pomc* geninde mRNA ekspresyonu, baştan sona kontrol yemiyle beslenenlere göre omega-3 ÇDYA ile beslenen annelerden doğan dişi yavrularda arttığı gösterilmiştir (Xavier ve ark., 2021).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Yeri, Zamanı ve Örneklem Sayısı

Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 03.02.2021 tarihli toplantısında 21/42 karar numarası ile onaylanmıştır (Ek-1). Bu araştırmanın deneysel aşaması 19.07.2021 – 14.02.2022 tarihleri arasında Betül Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Merkezi Transgenik ve Genom Birimi'nde yürütülmüştür. Araştırmada kullanılacak örneklem sayısı literatürdeki benzer çalışmalar referans olarak saptanmış ve her gruptan 8 adet erkek ve 8 adet dişi olmak üzere toplam 64 hayvan ile çalışma planlanmıştır (Xavier ve ark., 2021). Ancak, çevresel sebeplere bağlı olası hayvan kayıpları sebebiyle, üç deney grubunda 8 erkek ve 8 dişi; bir deney grubunda ise 7 erkek 7 dişi olmak üzere toplam 62 hayvanla çalışma tamamlanmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Deney grupları ve çalışmanın yürütülmesinde izlenen yol. KAF: kafeterya diyeti, KAF+ω-3: kafeterya diyeti+omega-3 takviyesi, KON: kontrol diyeti, KON+ω-3: kontrol diyeti +omega-3 takviyesi.

Fareler, Erciyes Üniversitesi GENKÖK Deney Hayvanları Üretim ve Barındırma Birimi'nden temin edilip yine beslenme ve ağırlık takipleri burada gerçekleştirilmiştir. Deney hayvanlarının sakrifikasyon işlemleri, örneklerin saklanması ve genetik analizleri de Erciyes Üniversitesi GENKÖK laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

3.2. Deney Hayvanlarının Temini ve Bakımı

Bu çalışmada 8 haftalık yaklaşık 20-25 g ağırlığında (n=32) dişi C57BL/6J cinsi fare kullanılmıştır. Fareler, GENKÖK Deney Hayvanları Üretim ve Barındırma biriminde çiftleştirilmiş ve çiftleşmenin takibi vajinal plak kontrolü ile yapılmıştır. Fareler 12 saat gece 12 saat gündüz döngüsü olan, ortalama 20-24 °C ortam sıcaklığında, yaklaşık %60 nisbi nem bulunan otomatize ortamda barındırılmıştır.

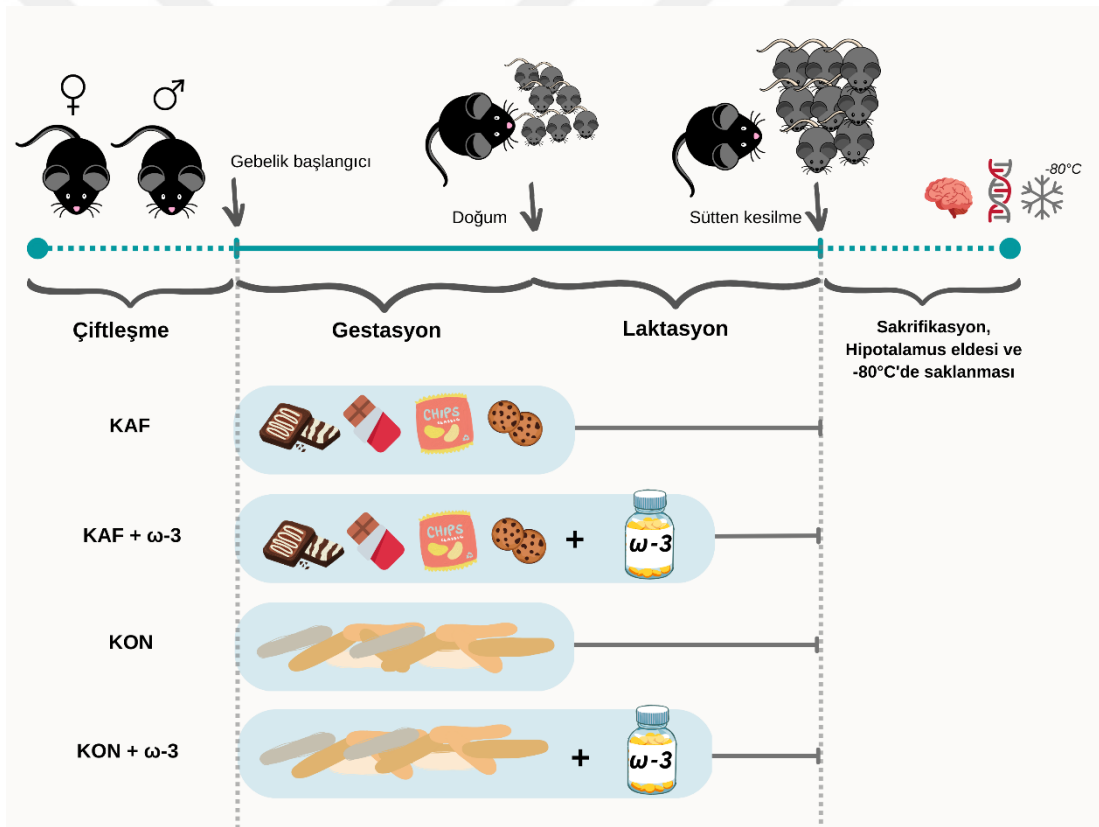
Çalışmada kullanılan farelerin yem tüketimlerinin bireysel kaydedilmesi ve besin tüketiminde yarış olmaması için, her bir hayvan ayrı bir standart kafeste barındırılmıştır. Su ve yeme sınırsız erişim sağlanmıştır. Kafesler düzenli aralıklarla temizlenmiştir.

Farelerin besin tüketimleri ile vücut ağırlığı takipleri gestasyon döneminde her gün 9.00-10.00 saatleri arasında yapılmıştır. Laktasyon döneminde strese bağlı olası hayvan kayıplarını önlemek için ağırlık ölçümü yapılmamıştır. Vücut ağırlığı ile besin tüketimi ölçümlerinde 0.1 g duyarlı hassas terazi (Venezia Electronic Compact Scale SF-400A, Çin) kullanılmıştır.

3.3. Deney Hayvanlarına Uygulanan Diyet Müdahalesi

Gebeliğin birinci gününden başlanarak gestasyon ve laktasyon dönemi boyunca takip edilmek üzere gebe fareler her grupta n=8 olacak şekilde 4 alt gruba randomize olarak ayrılmıştır. Birinci grup: Kafeterya Diyeti (KAF), ikinci grup: Kafeterya Diyeti + omega-3 takviyesi (KAF+ω-3), üçüncü grup: Kontrol Diyeti (KON) ve dördüncü grup: Kontrol Diyeti + omega-3 takviyesidir (KON+ω-3) (Şekil 3.2). Doğum sonrası annede stres oluşturmamak için doğan tüm yavrular anneye barındırılmaya ve emzirilmeye devam edilmiştir her anneden 4 dişi 4 erkek alınarak gruplar standardize edilmiştir. Gestasyon ve laktasyon dönemi boyunca yem ve su farelere *ad libitum* olarak sağlanmıştır.

Kontrol diyeti standart laboratuvar yeminden oluşmaktadır. Kafeterya diyeti hayvanların beslenme gereksinimlerinin karşılanması için standart yeme ek olarak insanların tükettiği, lezzeti ve enerjisi yüksek olan 10 farklı besin (tuzlu yer fıstığı, tam yağlı taze kaşar peyniri, patates cipsi, peynirli mısır cipsi, peynirli kraker, portakal jöleli bisküvi, sütlü çikolata bisküvi, çikolata parçacıklı bisküvi, sütlü çikolata kaplı karamelli bar, sütlü çikolata) içermektedir (Akyol ve ark., 2009). Kafeterya diyeti besinleri kafeslere standart yeme ek olarak, her gün beş farklı türde ve fazla miktarlarda konulmuştur. Çeşitlilik sağlamak için, her gün üç besin bir önceki günle farklı olacak şekilde değiştirilmiştir. Hayvanların iki ardışık günden fazla aynı besini almaları engellenmiştir (Buyukdere ve ark., 2019). Farelere söz konusu yiyeceklerden beş tanesi her gün farklı kombinasyonda sunulmuştur.



Şekil 3.2. Çalışma tasarımı. KAF: kafeterya diyeti, KAF+ω-3: kafeterya diyeti+omega-3 takviyesi, KON: kontrol diyeti, KON+ω-3: kontrol diyeti +omega-3 takviyesi.

Farelerin diyet örüntüsü içinde sağlanan yiyeceklerin tartımında doğru veriler elde edebilmek için kafes tabanındaki kalan tüm besin parçaları özenle toplanmış, bir sonraki günün besinleri temiz kafes tabanına konulmuştur. Tablo 3.1’de Kafeterya ve

kontrol diyetlerinin enerji ve makrobesin içerikleri, Tablo 3.2’de kafeterya gruplarının diyet örüntüsünün oluşturulmasında kullanılan 10 çeşit yiyeceğin enerji ve besin öğelerine ilişkin ortalama veriler yer almaktadır.

Tablo 3.1. Kafeterya diyeti ve kontrol diyetinin enerji ve makro besin ögesi içerikleri

Enerji ve Besin Öğeleri	Kafeterya Diyeti		Kontrol Diyeti	
	g %	kcal %	g %	kcal %
Karbonhidrat	50.8	42.5	54.3	64.3
Protein	9.7	8.1	23.0	27.2
Yağ	26.2	49.4	3.2	8.5
Doymuş yağ asitleri	11.8	22.2	0.5	1.3
Enerji (kcal/g)		4.8		3.4

Tablo 3.2. Kafeterya diyetinde yer alan besinlerin enerji ve makro besin ögesi miktarları

Yiyecekler*	Enerji (kkal)	Karbonhidrat (g)	Protein (g)	Yağ (g)	Doymuş Yağ Asitleri (mg)	Posa (g)
Tuzlu Yer Fıstığı	5.76	0.17	0.22	0.44	81.0	0.12
Tam Yağlı Taze Kaşar Peyniri	3.25	0.01	0.24	0.25	160.0	0.00
Patates Cipsi	5.49	0.52	0.06	0.35	160.0	0.04
Peynirli Mısır Cipsi	5.03	0.57	0.07	0.26	23.0	0.04
Peynirli Kraker	4.56	0.61	0.08	0.20	96.0	0.02
Portakal Jöleli Bisküvi	4.4	0.74	0.05	0.14	79.0	0.02
Sütlü Çikolatalı Bisküvi	4.91	0.61	0.07	0.23	140.0	0.04
Çikolata Parçacıklı Bisküvi	4.85	0.66	0.06	0.22	120.0	0.01
Sütlü Çikolata Kaplı Karamelli Bar	4.47	0.68	0.04	0.18	97.0	0.01
Sütlü Çikolata	5.54	0.51	0.08	0.35	220.0	0.04

*Yiyeceklerin 1 gramındaki enerji ve besin ögeleri içerikleri/miktarları ifade edilmiştir. Yiyeceklerin enerji ve besin ögeleri içeriği, paketlerin üzerindeki besin etiketleri ve üretici firmalardan elde edilmiştir.

3.4. Omega-3 Takviyesi

Omega-3 takviyesi, gebelik ve laktasyon boyunca 300 mg/kg/gün olacak şekilde uygulanmıştır. Doz belirlenirken, insanlar için gebelik ve laktasyon döneminde hedef düzeylere ulaşılması için önerilen EPA+DHA dozunun (Stoutjesdijk ve ark., 2018), literatürde önerilen şekilde (Reagan- Shaw ve ark., 2008) fare modeline uyarlaması yapılmıştır. Kullanılacak olan omega-3 takviyesi (Nordic Naturals Daily DHA), gebelikte kullanımı uygun olan takviyeler arasında seçilmiş olup, bir kapsülünde 1000 mg trigliserit formda balık yağı, 830 mg omega-3 ÇDYA, 205 mg EPA ve 480 mg DHA içermektedir.

Başlangıçta omega-3 ÇDYA takviyesinin oral gavajla yapılması planlanmıştır. Ancak uygulama sırasında bu yöntemin gebe farelerde sebep olduğu yoğun stres ve buna bağlı yavrularını yeme davranışları nedeniyle kullanılan yöntemde değişikliğe gidilerek, gebe ve yavru kayıplarına sebep olmamak adına, annede strese sebep olmayacak alternatif bir oral alım şekli tercih edilmiştir. Omega-3 ÇDYA alan kontrol grubunun pelet yemleri her gün için pelet ucu sivriltilerek hazırlanmıştır. Pelet yemin sivriltilen uç kısmına her hayvan için ağırlığına uygun doz kapsülden çekilerek damlatılmış, yem parçası farenin rahatlıkla tüketeceği şekilde kafese yerleştirilmiş ve yedikleri takip edilmiştir (Daher-Abdi ve ark., 2021). Omega-3 ÇDYA alan kafeterya grubuna ise öncelikle kafeterya diyeti alan grubun besin tüketimleri 6 hafta boyunca gözlemlenmiş, her gün için ayrı ayrı yüksek talep görüp tüketilen besin tespit edilmiştir. Omega-3 ÇDYA alan kafeterya grubunda her gün için ayrı ayrı tespit edilen favori besin üzerine uygun doz damlatılarak hayvanın tüketmesi sağlanmıştır.

3.5. Sakrifikasyon Yöntemi, Doku Örneği Alınması ve Saklanması

Diyet müdahalesi sonunda 21 günlük yavrular anneden ayrılarak 150µl %2 Rompun ve 150 µl Ketalar, 2 ml %0.9 sodyum klorür (NaCl) içerisinde çözülerek hazırlanmış ve hazırlanan bu anestezi çözelti her fare için 10 ml/kg olacak şekilde intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. Fareler genel anestezi altına girdikten sonra servikal dislokasyon yöntemi ile en acısız şekilde sakrifiye edilmiştir. Sakrifikasyonun ardından farelerden hipotalamus örnekleri alınmıştır. İşlemler

sonunda tüm örnekler laboratuvar çalışmalarının yapılacağı zamana kadar -80°C dolaplarda muhafaza edilmiştir.

3.6. Hipotalamusta Pro-opiomelanokortin, Nöropeptit-Y ve Agouti-ilişkili Protein Gen Ekspresyonlarının Belirlenmesi

3.6.1. Total RNA İzolasyonu

Hipotalamus RNA izolasyonu yapılırken uygulanan prosedür şöyledir;

1. Aspire edilen hipotalamus dokusuna 1 ml TriPure Isolation Reagent (Roche, Almanya) eklenmiştir.
2. İyice vorteks yapıldıktan sonra 200 µl Kloroform eklenip 15 sn vorteks yapılmıştır.
3. 12000 g'de 20 dk +4 °C santrifüj edilmiştir.
4. Aköz faz yeni ependorf tüpe alınmıştır.
5. 500 µl İzopropanol eklenip iyice vortekslenmiştir ve -20 °C dolapta bir gece bekletilmiştir.
6. 12000 g'de 10 dk +4 °C santrifüj edilmiştir ve süperntant atılmıştır.
7. Pellete 1 ml %75 Etanol eklenip alt-üst edilmiştir.
8. 7500 g'de 5 dk +4°C santrifüj edilmiştir ve süperntant atılmıştır.
9. Tekrar pellete 1 ml %75 Etanol eklenip alt-üst edilmiştir.
10. 7500 g'de 5 dk +4°C santrifüj edilmiştir ve süperntant atılmıştır.
11. Pellet 30 NFW (Qiagen, Almanya) ile çözülmüştür. Biospec Nano Cihazı (Shimadzu) kullanılarak RNA konsantrasyon ölçümü yapılmıştır (Ozkul ve ark., 2020; Taheri ve ark., 2015).

3.6.2. Tamamlayıcı DNA Sentezi

Tamamlayıcı DNA (complementer DNA, cDNA) sentezi, EvoScript cDNA Kiti (Roche, Almanya) kullanılarak firmanın önerdiği protokole göre yapılmıştır. Hipotalamustan izole edilen RNA örnekleri için cDNA reaksiyon karışımı Tablo 3.2'de gösterilmiştir.

Tablo 3.3. Örnekler için hazırlanan reaksiyon karışımı

İçindekiler	Her bir örnek için (µl)
Reaction Buffer (5X)	4
dH ₂ O	9
RNA	5

(RNA: Ribonükleik Asit)

Reaksiyon Buffer ve RNA örneklerinin bulunduğu tüpler 5 dk buz üzerinde bekletilmiştir. Bu süre sonunda her bir örnek üzerine 2 µl Revers Transkriptaz enzim karışımı eklenmiştir. Ardından da Thermal Cycler cihazına yer alan program (Tablo 3.3) kurulmuştur ve çalışma başlatılmıştır. Polimeraz zincir reaksiyon (polymerase chain reaction, PCR) sonunda 20 µl ürün oluşmuştur.

Tablo 3.4. cDNA sentezi için PCR programı

Sıcaklık (°C)	Süre (dk)
42	15
85	5
65	15
4	∞

3.6.3. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonunda Pro-opiomelanokortin, Nöropeptit-Y ve Agouti-ilişkili Protein Genlerinin Ekspresyon Analizleri

Pomc, *Npy* ve *Agrp* genlerinin ekspresyon düzeylerinin tespiti için LightCycler 480 II (Roche, Almanya) gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real-Time polymerase chain reaction, RT-PCR) cihazı kullanılmıştır. mRNA ekspresyon seviyeleri belirlenirken aşağıdaki prosedür takip edilmiştir.

1. cDNA ürünü 1/5 oranında NFW ile seyreltilmiştir (Syber green =10 µl, dH₂O*=4 µl, Primer F=1 µl, Primer R=1 µl).
2. Yapılan mix 16 µl olacak şekilde platte işaretlenen kuyucuklara dağıtılmıştır.

3. Üzerine 4 µl seyreltilmiş cDNA örnekleri eklenmiş ve seal ile platin üzeri kapatılmıştır. Sonrasında plate RT-PCR cihazına yerleştirilmiştir. Tablo 3.4'te verilen PCR protokolü ile mRNA ekspresyon düzeyleri belirlenmiştir.
4. Her bir örnek manipülasyondan doğan hataları ekarte etmek amacıyla çift çalışılmıştır.
5. House-keeping gen olarak *Beta-Actin* kullanılmıştır.
6. mRNA ekspresyon seviyeleri belirlenen genlerin primer sekansları Tablo 3.5'te verilmiştir (Taheri ve ark., 2022).
7. Veriler $2^{-\Delta \Delta Ct}$ metodu kullanılarak normalize edilmiştir.

Tablo 3.5. mRNA ekspresyon düzeylerinin belirlenmesinde uygulanan PCR protokolü

cDNA sentezi için PCR programı		
Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
95	10 dk	45 döngü
95 °C	10 sn	
60 °C	30 sn	
72 °C	1 dk	
40 °C	30 sn	

Tablo 3.6. RT-PCR için kullanılan primer sekansları

Sıra No	Primer Adı	Sekans (5' → 3')
1	<i>Pomc</i> -F	5'ATGCCGAGATTCTGCTACAGT3'
	<i>Pomc</i> -R	5'CCACACATCTATGGAGGTCTGAA3'
2	<i>Npy</i> -F	5'CTCCGCTCTGCGACACTAC3'
	<i>Npy</i> -R	5'GGAAGGGTCTTCAAGCCTTGT3'
3	<i>Agrp</i> -F	5'AGAGTTCCCAGGTCTAAGTCTG3'
	<i>Agrp</i> -R	5'GCGGTTCTGTGGATCTAGCA3'

(*Pomc*: Pro-opiomelenokortin, *Npy*: Nöropeptit-Y, *Agrp*: Agouti-iliskili protein)

3.7. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Çalışmadan elde edilen veriler, IBM Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 27.0 programı ile değerlendirilmiş ve özet istatistikler ortalama ($\bar{x}$) $\pm$ standart hata (SEM) olarak ifade edilmiştir. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi, histogram ve q-q grafikleri ile test edilmiştir. Veriler normal dağılım göstermediği için, gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal Wallis-H testi kullanılmış ve istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunan parametreler için post-hoc Mann-Whitney U testi kullanılarak ikili karşılaştırmalar yapılmıştır. Ayrıca diyet müdahalelerinin gestasyon ve laktasyon dönemindeki vücut ağırlığı, besin tüketimi, enerji ve besin ögesi alımları üzerine genel etkisini (diyet*zaman) değerlendirmek için 2-faktör tekrarlı ölçümler ANOVA testi kullanılmıştır. Bütün istatistiksel analizlerde güven aralığı %95 ve anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

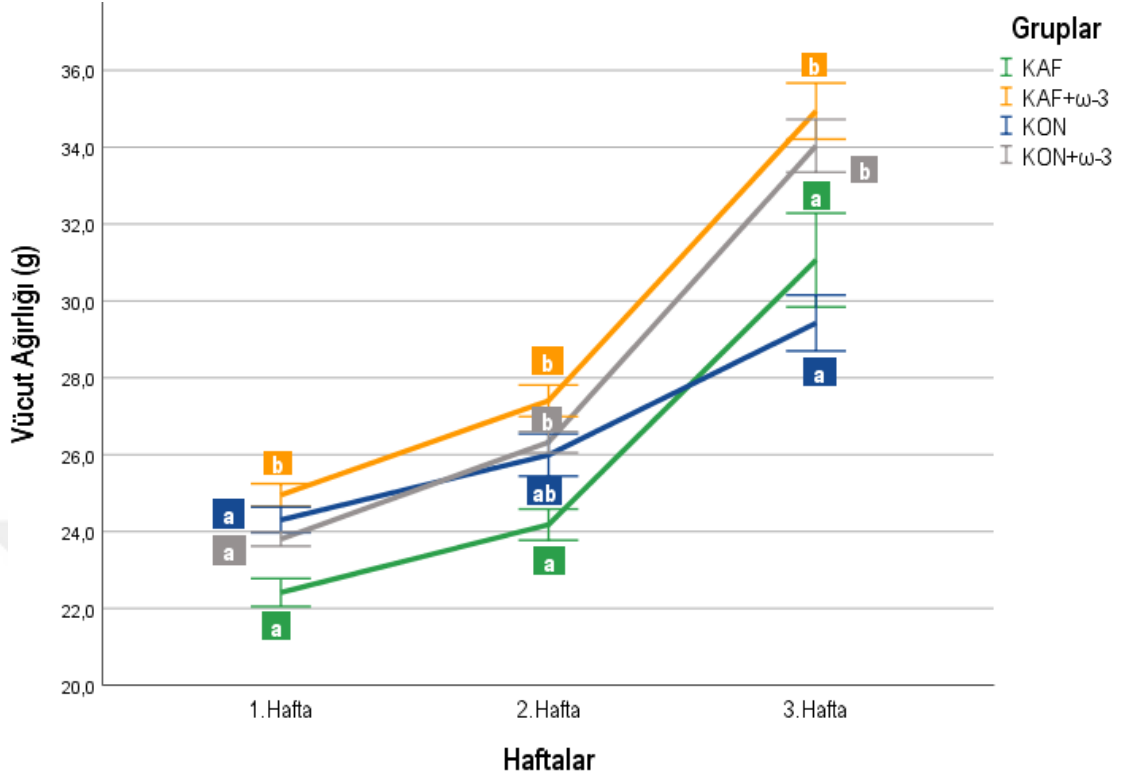
4.1. Maternal Dönemde Vücut Ağırlığı, Yem Tüketimi, Enerji ve Makro Besin Ögesi Alımlarına İlişkin Bulgular

Müdahalenin ilk üç haftasını oluşturan gestasyon dönemi için en yüksek vücut ağırlığı ortalamasına KAF+ ω -3 grubu sahipken (28.6 ± 0.44 g) en düşük vücut ağırlığı ortalamasına KAF grubu (24.35 ± 0.48 g) sahiptir. Grupların ortalama vücut ağırlıkları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.408$) (Tablo 4.1). Uygulanan diyet müdahalesinin ve zamanın etkisi birlikte (diyet*zaman) göz önünde bulundurularak ileri analiz yapıldığında, diyet müdahalesinin vücut ağırlığı üzerine genel bir etkisi olduğu görülmüştür ($p_{\text{diyet}} < 0.001$, $p_{\text{zaman}} < 0.001$, $p_{\text{diyet*zaman}} < 0.001$). Gebelik başlangıcında vücut ağırlıklarında gruplar arası fark yoktur ($p=0.408$). Gestasyonun ilk haftasında KAF, KON ve KON+ ω -3 gruplarının vücut ağırlıkları birbiriyle benzer ve KAF+ ω -3 grubundan düşük olsa da ($p < 0.05$), son haftada KAF ve KON grupları birbiriyle benzer ve KAF+ ω -3 ve KON+ ω -3 gruplarından düşük bulunmuştur ($p < 0.05$) (Şekil 4.1).

Tablo 4.1. Gruplara göre gestasyon ve laktasyon döneminde günlük ortalama vücut ağırlığı, besin tüketimi, enerji, makro besin ögesi ve posa alımı

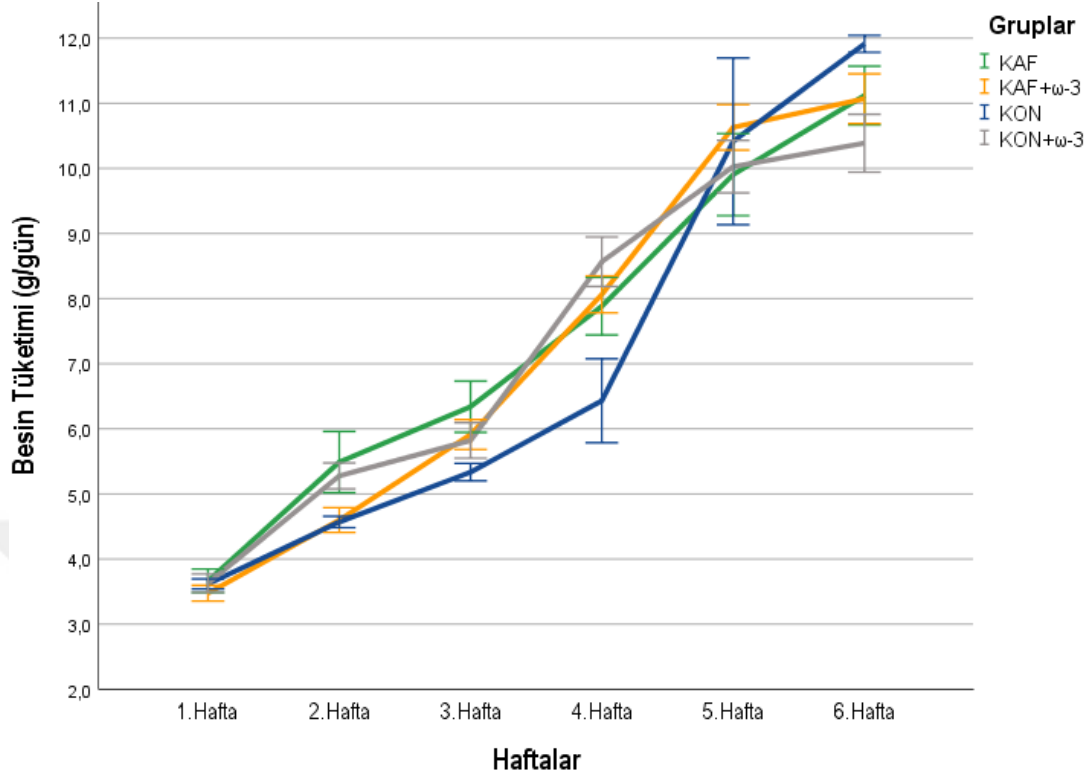
Ölçümler	Gestasyon					Laktasyon				
	KAF (n=8)	KAF+ω-3 (n=8)	KON(n=8)	KON+ω-3 (n=7)	p*	KAF (n=8)	KAF+ω-3 (n=8)	KON(n=8)	KON+ω-3 (n=7)	p*
Vücut Ağırlığı (g)	24.35±0.48	28.6±0.44	25.88±0.35	27.5±0.41	0.408	-	-	-	-	-
Besin Tüketimi (g/gün)	5.16±0.24	4.64±0.13	4.51±0.08	4.90±0.14	0.073	9.64±0.33	9.92±0.22	9.59±0.51	9.62±0.24	0.079
Enerji alımı (kkal/gün)	20.88±0.84 ^a	19.95±0.50 ^a	13.52±0.23 ^b	14.69±0.43 ^c	<0.001	44.42±1.43 ^a	42.24±0.96 ^a	28.76±1.52 ^b	28.85±0.73 ^b	<0.001
Karbonhidrat alımı (g/gün)	2.04±0.08 ^a	1.78±0.06 ^b	2.02±0.03 ^a	2.19±0.06 ^c	<0.001	4.11±0.14	3.99±0.12	4.29±0.23	4.31±0.11	0.187
Protein alımı (g/gün)	0.74±0.04 ^a	0.75±0.03 ^a	1.04±0.02 ^b	1.13±0.03 ^c	<0.001	1.39±0.06 ^a	1.48±0.04 ^a	2.20±0.12 ^b	2.21±0.06 ^b	<0.001
Yağ alımı (g/gün)	1.06±0.05 ^a	1.09±0.03 ^a	0.14±0.00 ^b	0.16±0.00 ^c	<0.001	2.44±0.09 ^a	2.22±0.06 ^a	0.31±0.02 ^b	0.31±0.01 ^b	<0.001
Doymuş yağ alımı (mg/gün)	511.0±28.0 ^a	570.1±21.1 ^a	21.7±0.4 ^b	23.6±0.7 ^c	<0.001	1225.6±63.7 ^a	1198.5±49.2 ^a	46.2±2.4 ^b	46.4±1.2 ^b	<0.001
Posa alımı (g/gün)	0.27±0.02 ^a	0.20±0.01 ^b	0.47±0.01 ^c	0.51±0.02 ^d	<0.001	0.44±0.02 ^a	0.45±0.02 ^a	1.01±0.05 ^b	1.01±0.03 ^b	<0.001

*Değerler ortalama ($\bar{X}$)±standart hata (SEM) olarak verilmiştir. Kruskal Wallis-H Testi kullanılmıştır. Farklı üs değerine (a, b, c) sahip parametreler birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır (p<0.05). KAF: kafeterya diyeti, KAF+ω-3: kafeterya diyeti+omega-3 takviyesi, KON: kontrol diyeti, KON+ω-3: kontrol diyeti +omega-3 takviyesi.



Şekil 4.1. Gruplara göre gestasyon döneminde haftalık ortalama vücut ağırlığı. 2-faktör (diyet*zaman) Tekrarlı ölçümlerde ANOVA testi kullanılmıştır. Farklı üs değerine (a, b, c) sahip parametreler birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır ($p < 0.05$). KAF: kafeterya diyeti, KAF+ω-3: kafeterya diyeti+omega-3 takviyesi, KON: kontrol diyeti, KON+ω-3: kontrol diyeti +omega-3 takviyesi.

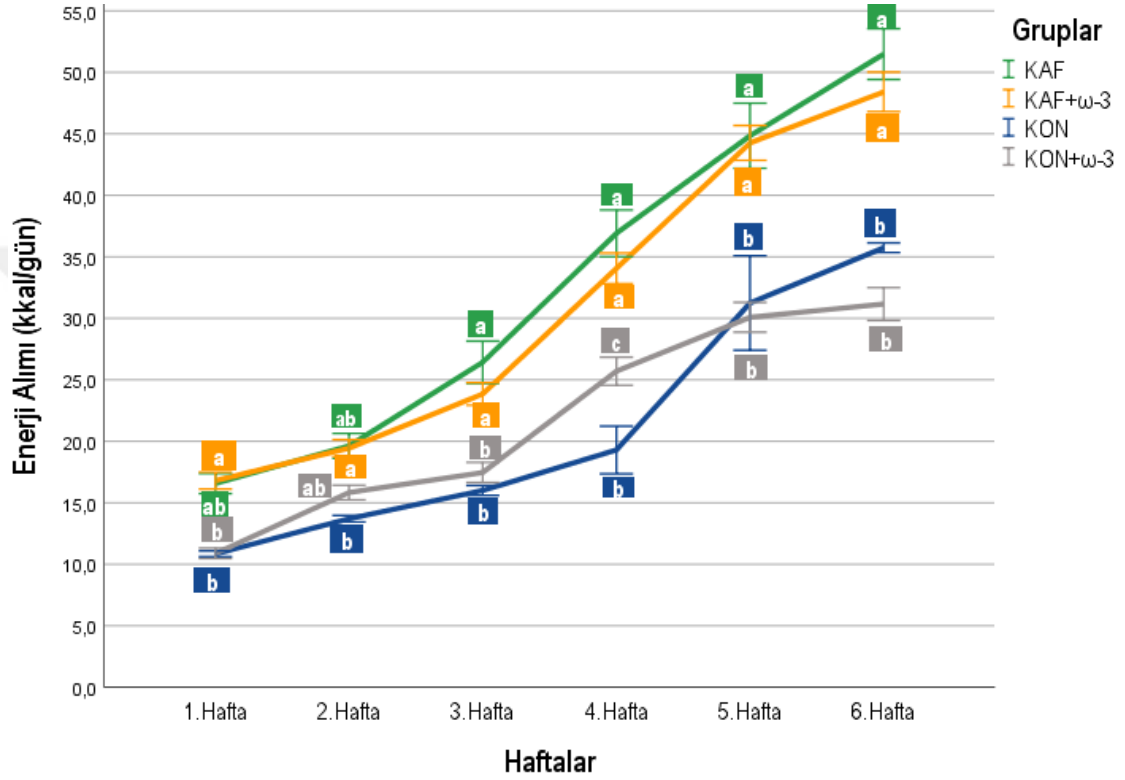
Gestasyon boyunca en yüksek ortalama besin tüketim miktarı KAF grubunda (5.16 ± 0.24 g/gün) olup, en düşük miktar KON grubundadır (4.51 ± 0.08 g/gün). Laktasyon döneminde ise en yüksek ortalama besin tüketim miktarı KAF+ω-3 grubunda (9.92 ± 0.22 g/gün) iken, en düşük miktar KON grubunda (9.59 ± 0.51 g/gün) bulunmuştur. Grupların ortalama besin tüketim miktarları arasında hem gestasyon ($p = 0.073$) hem de laktasyon dönemi için ($p = 0.079$) istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 4.1). Ayrıca, diyet müdahalesi ve zamanın etkisi birlikte (diyet*zaman) değerlendirildiğinde, sadece zamanın besin tüketim miktarı üzerinde etkisi olduğu, diyet müdahalesinin ise genel bir etkisinin olmadığı saptanmıştır ($p_{\text{diyet}} = 0.603$, $p_{\text{zaman}} < 0.001$, $p_{\text{diyet*zaman}} = 0.070$) (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Gruplara göre haftalık ortalama besin tüketimi. 2-faktör (diyet*zaman) Tekrarlı ölçümlerde ANOVA testi kullanılmıştır. Farklı üs değerine (a, b, c) sahip parametreler birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır ($p < 0.05$). KAF: kafeterya diyeti, KAF+ω-3: kafeterya diyeti+omega-3 takviyesi, KON: kontrol diyeti, KON+ω-3: kontrol diyeti +omega-3 takviyesi.

Gestasyon boyunca en yüksek enerji alımı KAF grubunda (20.88 ± 0.84 kkal/gün) olup KAF+ω-3 grubuyla (19.95 ± 0.50 kkal/gün) benzerken ($p = 0.637$), KON (13.52 ± 0.23 kkal/gün) ve KON+ω-3 (14.69 ± 0.43 kkal/gün) grubundan yüksektir ($p < 0.05$). Ayrıca KON+ω-3 grubunun enerji alımı KON grubundan yüksek bulunmuştur ($p = 0.010$). Laktasyon döneminde ise KAF (44.42 ± 1.43 kkal/gün) ve KAF+ω-3 (42.24 ± 0.96 kkal/gün) gruplarının enerji alımları benzer ve KON gruplarından (KON grubu: 28.76 ± 1.52 kkal/gün; KON+ω-3 grubu: 28.85 ± 0.73 kkal/gün) yüksek olarak görülmüştür ($p < 0.05$) (Tablo 4.1). Diyet müdahalesinin ve zamanın etkisini birlikte (diyet*zaman) değerlendirildiğinde, diyet müdahalesinin enerji alımı üzerine genel bir etkisi olduğu görülmüştür ($p_{\text{diyet}} < 0.001$, $p_{\text{zaman}} < 0.001$, $p_{\text{diyet*zaman}} < 0.001$). Gestasyonun ilk haftasında KAF grubunun enerji alımı diğer gruplarla benzer iken ($p > 0.05$), KAF+ω-3 grubunun enerji alımı kontrol gruplarından yüksektir ($p < 0.05$). Gestasyonun 2. haftasında KAF grubu hala tüm gruplar ile

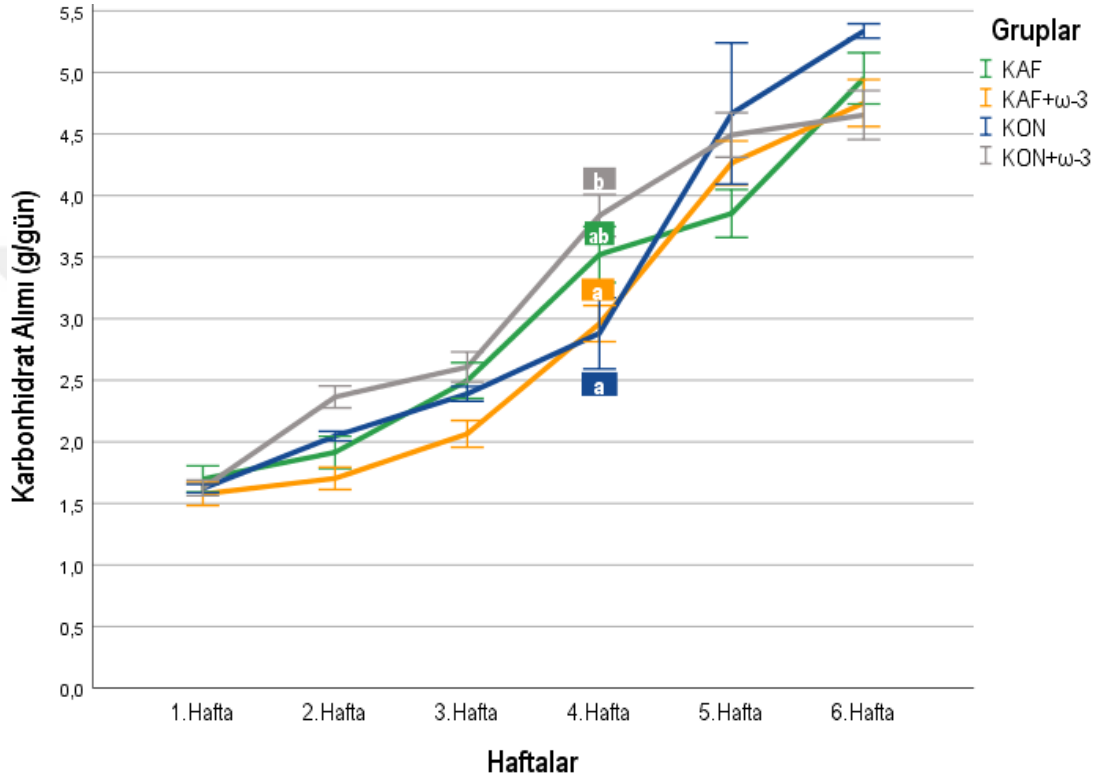
benzerken ($p>0.05$), KAF+ ω -3 grubuyla sadece KON grubu arasında fark bulunmuştur ($p=0.024$). Gestasyonun son haftasında ise KAF gruplarının enerji alımları KON gruplarından daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Bu fark laktasyon dönemi boyunca da devam etmiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Gruplara göre haftalık ortalama enerji alımı. 2-faktör (diyet*zaman) Tekrarlı ölçümlerde ANOVA testi kullanılmıştır. Farklı üs değerine (a, b, c) sahip parametreler birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır ($p<0.05$). KAF: kafeterya diyeti, KAF+ ω -3: kafeterya diyeti+omega-3 takviyesi, KON: kontrol diyeti, KON+ ω -3: kontrol diyeti +omega-3 takviyesi.

Gestasyon döneminde KAF grubunun karbonhidrat alımı (2.04 ± 0.08) KON grubuna (2.02 ± 0.03) benzerken ($p>0.05$), KAF+ ω -3 grubunun karbonhidrat alımı (1.78 ± 0.06 g/gün) diğer gruplardan düşük ve KON+ ω -3 grubunun (2.19 ± 0.06 g/gün) ise diğer gruplardan istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.001$). Gruplar arası karbonhidrat alımı miktarı laktasyon döneminde ise fark göstermemiştir ($p=0.187$) (Tablo 4.1). Diyet müdahalesinin ve zamanın etkisi birlikte (diyet*zaman) değerlendirildiğinde, diyet müdahalesinin karbonhidrat alımı üzerine genel bir etkisi olduğu görülmüştür ($p_{\text{diyet}}=0.016$, $p_{\text{zaman}}<0.001$, $p_{\text{diyet*zaman}}=0.034$).

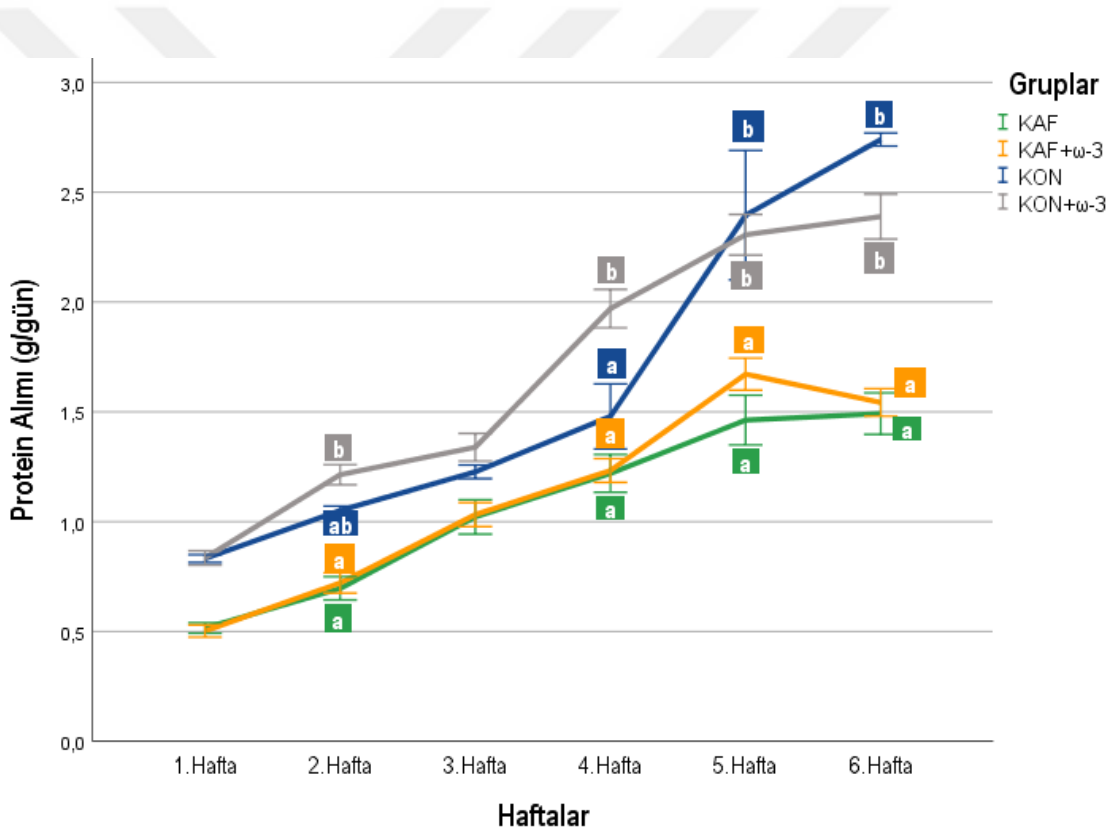
Gestasyon boyunca ve laktasyonun son iki haftasında gruplar arasında fark oluşmazken ($p < 0.05$); laktasyonun ilk haftasında KAF grubunun karbonhidrat alımı diğer gruplara benzer ($p > 0.05$), KON+ ω -3 grubunun alımı ise KAF+ ω -3 ($p < 0.018$) ve KON grubundan ($p = 0.004$) yüksektir (Şekil 4.4)



Şekil 4.4. Gruplara göre haftalık ortalama karbonhidrat alımı. 2-faktör (diyet*zaman) Tekrarlı ölçümlerde ANOVA testi kullanılmıştır. Farklı üs değerine (a, b, c) sahip parametreler birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır ($p < 0.05$). KAF: kafeterya diyeti, KAF+ ω -3: kafeterya diyeti+omega-3 takviyesi, KON: kontrol diyeti, KON+ ω -3: kontrol diyeti +omega-3 takviyesi.

Gestasyon ve laktasyon dönemlerinde KAF gruplarının protein alımı (KAF grubu gestasyon: 0.74 ± 0.04 g/gün ve laktasyon: 1.39 ± 0.06 g/gün, KAF+ ω -3 grubu gestasyon: 0.75 ± 0.03 g/gün ve laktasyon: 1.48 ± 0.04 g/gün), KON gruplarından (KON grubu gestasyon: 1.04 ± 0.02 g/gün ve laktasyon: 2.20 ± 0.12 g/gün, KON+ ω -3 grubu gestasyon: 1.13 ± 0.03 g/gün ve laktasyon: 2.21 ± 0.06 g/gün) düşüktür ($p < 0.05$). Ayrıca gestasyon döneminde KON grubunun protein alımı 1.04 ± 0.02 g/gün olup, KON+ ω -3 grubundan (1.13 ± 0.03 g/gün) düşük bulunmuştur ($p = 0.010$) (Tablo 4.1). Diyet müdahalesinin ve zamanın etkisi birlikte (diyet*zaman) değerlendirildiğinde,

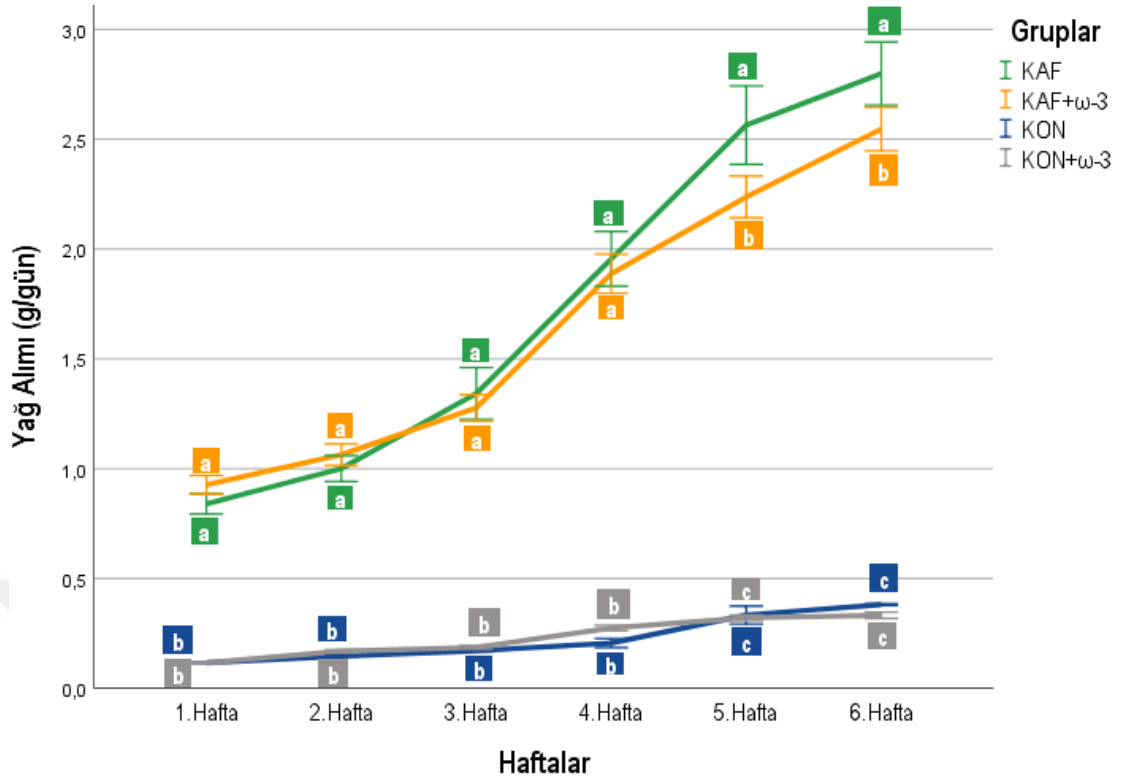
diyet müdahalesinin protein alımı üzerine genel bir etkisi olduğu görülmüştür ($p_{\text{diyet}} < 0.001$, $p_{\text{zaman}} < 0.001$, $p_{\text{diyet} \times \text{zaman}} < 0.001$). Gestasyonun 1. ve 3. haftalarında protein alımları gruplar arasında benzerken ($p > 0.05$); 2.haftasında KON grubunun alımı diğer gruplarla benzer olup, KON+ ω -3 grubunun alımı KAF ($p = 0.016$) ve KAF+ ω -3 grubundan yüksek bulunmuştur ($p = 0.005$). Laktasyonun 1. haftasında KAF ve KON gruplarının protein alımı birbirine benzerken, KON+ ω -3 grubunun alımı diğer gruplardan istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). Laktasyonun son iki haftasında KAF gruplarının protein alımı, KON gruplarından düşük kalmıştır ($p < 0.05$) (Şekil 4.5).



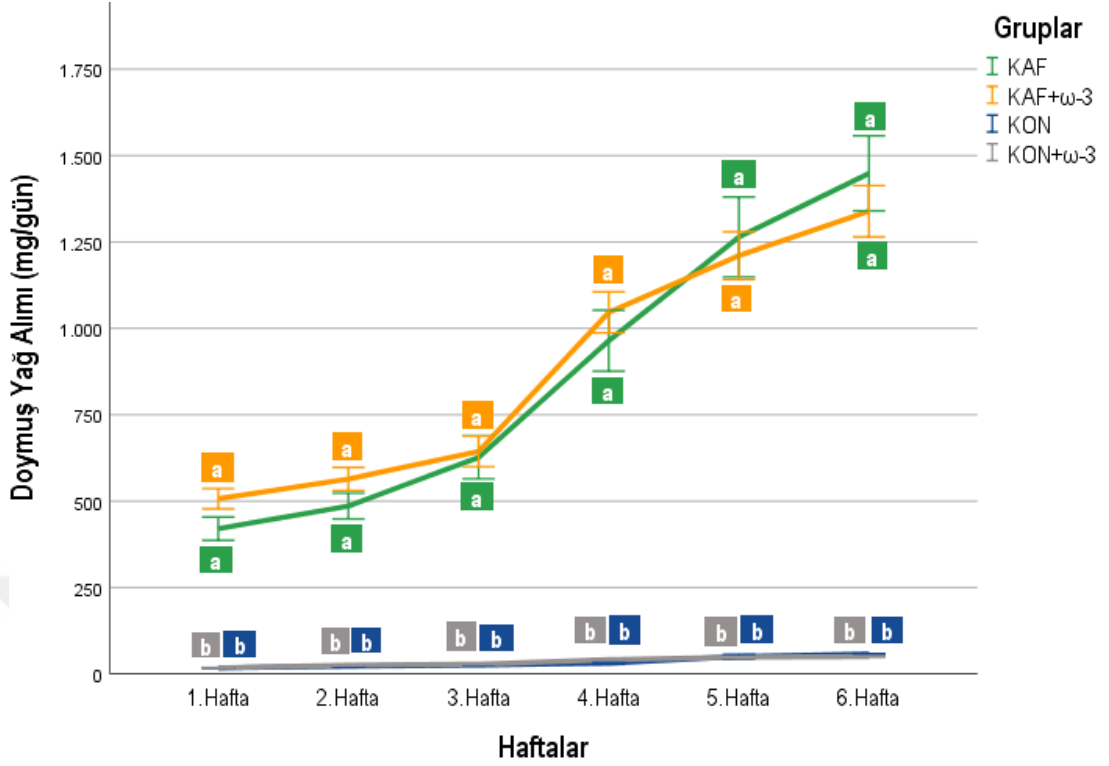
Şekil 4.5. Gruplara göre haftalık ortalama protein alımı. 2-faktör (diyet*zaman) Tekrarlı ölçümlerde ANOVA testi kullanılmıştır. Farklı üs değerine (a, b, c) sahip parametreler birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır ($p < 0.05$). KAF: kafeterya diyeti, KAF+ ω -3: kafeterya diyeti+omega-3 takviyesi, KON: kontrol diyeti, KON+ ω -3: kontrol diyeti +omega-3 takviyesi.

Gestasyon döneminde KAF gruplarının yağ (KAF grubu gestasyon: 1.06 ± 0.05 g/gün ve laktasyon: 2.44 ± 0.09 g/gün, KAF+ ω -3 grubu gestasyon: 1.09 ± 0.03 g/gün ve

laktasyon: 2.22 ± 0.06 g/gün) ve doymuş yağ alımı (KAF grubu gestasyon: 511.0 ± 28.0 mg/gün ve laktasyon: 1225.6 ± 63.7 mg/gün, KAF+ ω -3 grubu gestasyon: 570.1 ± 21.1 mg/gün ve laktasyon: 1198.5 ± 49.2 mg/gün) KON gruplarının yağ (KON grubu gestasyon: 0.14 ± 0.00 g/gün ve laktasyon: 0.31 ± 0.02 g/gün, KON+ ω -3 grubu gestasyon: 0.16 ± 0.00 g/gün ve laktasyon: 0.31 ± 0.01 g/gün) ve doymuş yağ alımlarından (KON grubu gestasyon: 21.7 ± 0.4 mg/gün ve laktasyon KON grubu: 46.2 ± 2.4 mg/gün, KON+ ω -3 grubu gestasyon: 23.6 ± 0.7 mg/gün ve laktasyon: 46.4 ± 1.2 mg/gün) yüksektir ($p < 0.05$). Ayrıca gestasyon döneminde KON grubunun yağ ve doymuş yağ alımı, KON+ ω -3 grubundan da düşük bulunmuştur ($p < 0.05$) (Tablo 4.1). Diyet müdahalesinin ve zamanın etkisi birlikte (diyet*zaman) değerlendirildiğinde, diyet müdahalesinin yağ ve doymuş yağ alımı üzerine genel bir etkisi olduğu görülmüştür ($p_{\text{diyet}} < 0.001$, $p_{\text{zaman}} < 0.001$, $p_{\text{diyet*zaman}} < 0.001$). Gestasyon ve laktasyon boyunca KAF gruplarının yağ ve doymuş yağ alımı, KON gruplarından istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksektir ($p < 0.05$). Laktasyonun son iki haftasında ise KAF grubunun yağ alımı KAF+ ω -3 grubundan yüksek saptanmıştır ($p < 0.05$) (Şekil 4.6 ve Şekil 4.7).



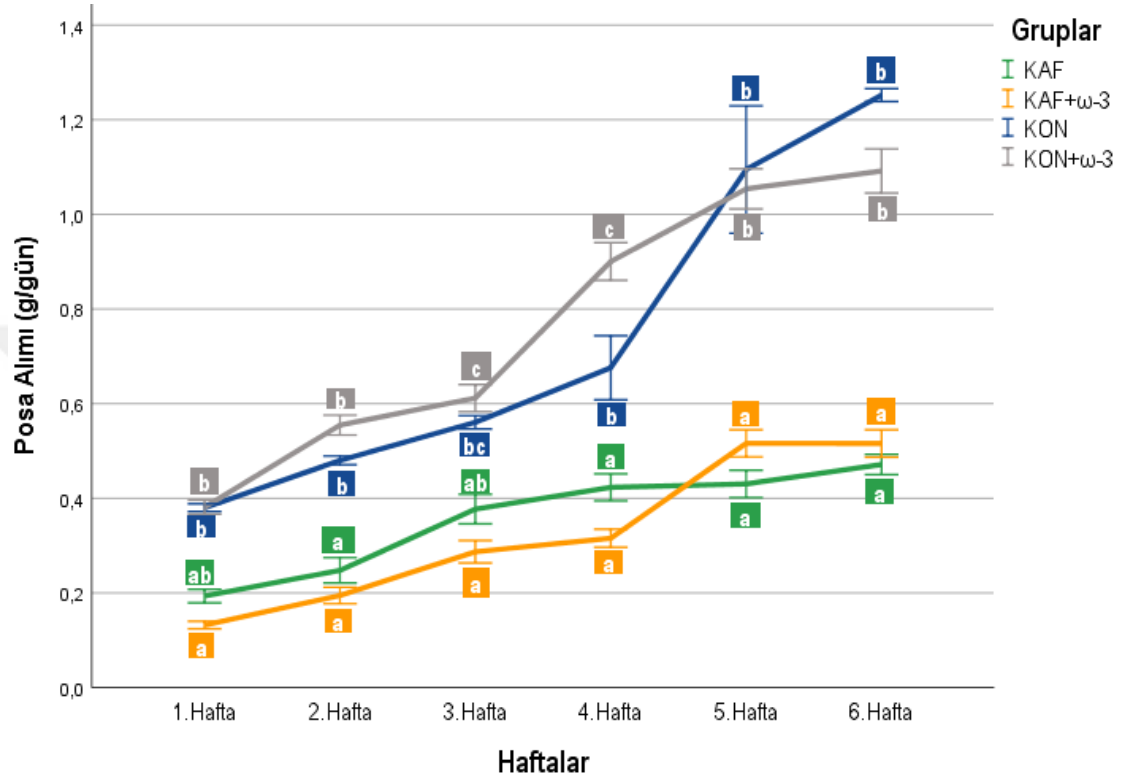
Şekil 4.6. Gruplara göre haftalık ortalama yağ alımı. 2-faktör (diyet*zaman) Tekrarlı ölçümlerde ANOVA testi kullanılmıştır. Farklı üs değerine (a, b, c) sahip parametreler birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır ($p<0.05$). KAF: kafeterya diyeti, KAF+ω-3: kafeterya diyeti+omega-3 takviyesi, KON: kontrol diyeti, KON+ω-3: kontrol diyeti +omega-3 takviyesi.



Şekil 4.7. Gruplara göre haftalık ortalama doymuş yağ alımı. 2-faktör (diyet*zaman) Tekrarlı ölçümlerde ANOVA testi kullanılmıştır. Farklı üs değerine (a, b, c) sahip parametreler birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır ($p < 0.05$). KAF: kafeterya diyeti, KAF+ω-3: kafeterya diyeti+omega-3 takviyesi, KON: kontrol diyeti, KON+ω-3: kontrol diyeti +omega-3 takviyesi.

Gestasyon döneminde maternal posa alımı KAF grubunda 0.27 ± 0.02 g/gün, KAF+ω-3 grubunda 0.20 ± 0.01 g/gün, KON grubunda 0.47 ± 0.01 g/gün, KON+ ω-3 grubunda 0.51 ± 0.02 g/gündür ve tüm gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p < 0.001$). Laktasyon döneminde ise KAF gruplarının posa alımı (KAF: 0.44 ± 0.02 g/gün, KAF+ ω-3: 0.45 ± 0.02 g/gün), KON gruplarının alımından (KON: 1.01 ± 0.05 g/gün, KON+ω-3: 1.01 ± 0.03 g/gün) düşük bulunmuştur ($p < 0.001$) (Tablo 4.1). Diyet müdahalesinin ve zamanın etkisi birlikte (diyet*zaman) değerlendirildiğinde, diyet müdahalesinin posa alımı üzerine genel bir etkisi olduğu görülmektedir ($p_{\text{diyet}} < 0.001$, $p_{\text{zaman}} < 0.001$, $p_{\text{diyet*zaman}} < 0.001$). Gestasyon döneminin 1. haftasında KAF grubunun posa alımı tüm gruplarla benzer, KAF+ ω-3 grubunun alımı ise kontrol gruplarından düşüktür ($p < 0.05$). Gestasyonun 2. haftasında KAF gruplarının posa alımı, KON gruplarından düşüktür ($p < 0.05$). Gestasyonun 3. haftasında ise KAF gruplarının posa alımı KON+ω-3 grubundan düşük ve KAF+ω-3 grubunun alımı da hem KON hem de KON+ω-3 gruplarından düşük bulunmuştur

($p<0.05$). Laktasyonun ilk haftasında KAF gruplarının posa alımı, KON gruplarından düşük ve KON grubunun alımı da KON+ ω -3 grubundan düşüktür ($p<0.05$). Laktasyonun 2. ve 3. haftalarında ise KAF gruplarının posa alımı, KON gruplarından düşük olarak saptanmıştır ($p<0.05$) (Şekil 4.8).



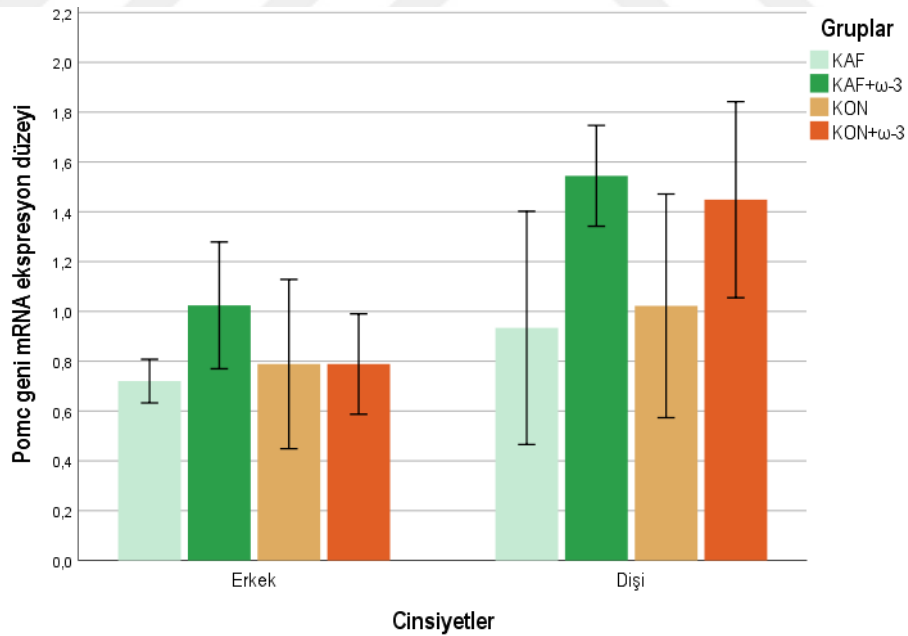
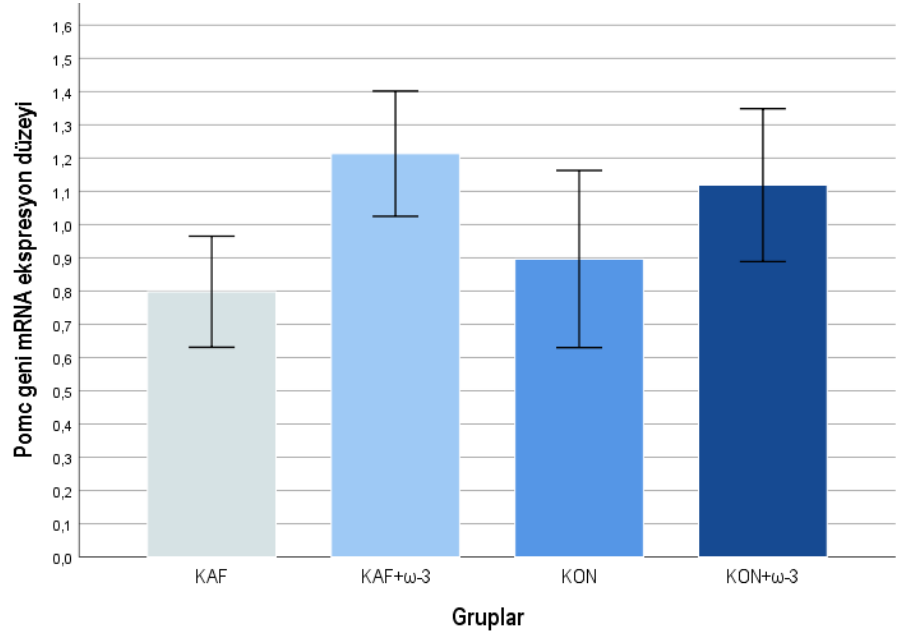
Şekil 4.8. Gruplara göre haftalık ortalama posa alımı. 2-faktör (diyet*zaman) Tekrarlı ölçümlerde ANOVA testi kullanılmıştır. Farklı üs değerine (a, b, c) sahip parametreler birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır ($p<0.05$). KAF: kafeterya diyeti, KAF+ ω -3: kafeterya diyeti+omega-3 takviyesi, KON: kontrol diyeti, KON+ ω -3: kontrol diyeti +omega-3 takviyesi.

4.2. Yavrularda Pro-opiomelanokortin, Nöropeptit-Y ve Agouti-ilşkili

Protein Gen Ekspresyonlarına İlişkin Bulgular

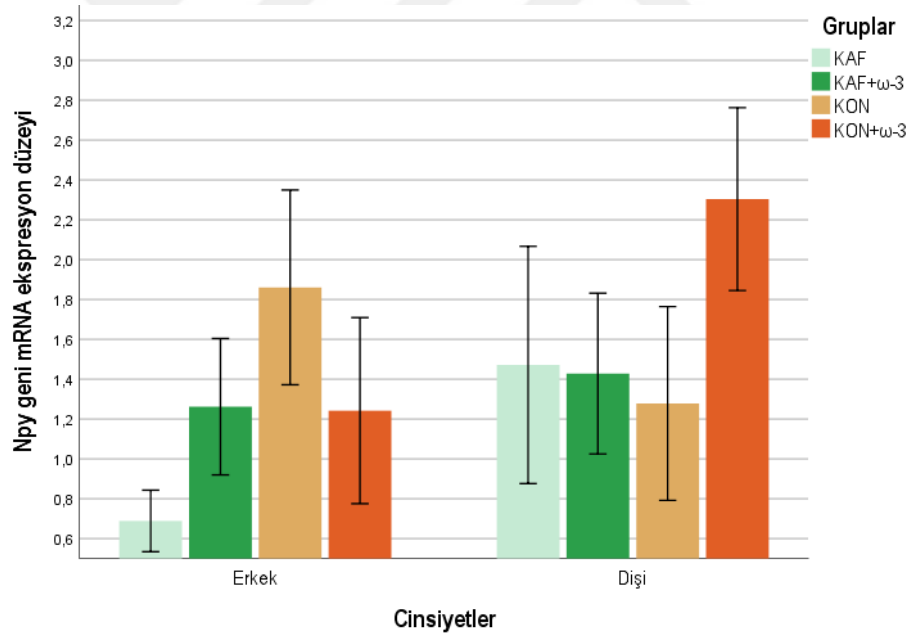
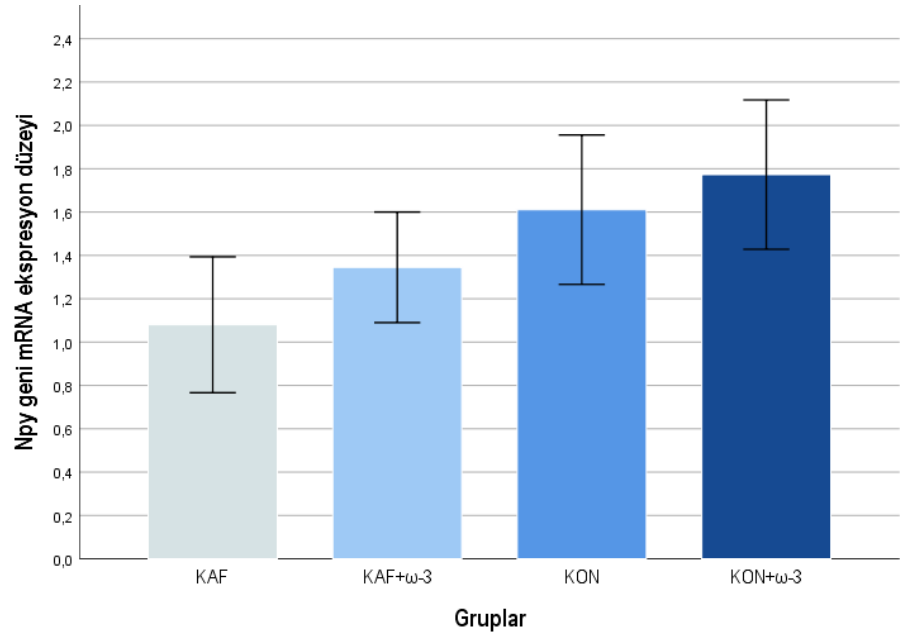
Şekil 4.9'da yavru farelere ait *Pomc* geni mRNA ekspresyon düzeyleri verilmiştir. KAF+ ω -3 grubunun *Pomc* geni mRNA ekspresyon düzeyi (1.21 ± 0.19), KAF grubundan (0.80 ± 0.17); KON+ ω -3 grubunun (1.12 ± 0.23) ise KON grubundan (0.90 ± 0.27) daha yüksek gibi görünse de dört grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.377$). Cinsiyete göre gruplar arasındaki fark incelendiğinde, benzer şekilde omega-3 takviyesi gruplarındaki dişi yavruların *Pomc* geni mRNA ekspresyon düzeyleri (KAF+ ω -3 grubu: 1.54 ± 0.20 ; KON+ ω -3 grubu:

1.45±0.39), takviye yapılmayan gruplardan (KAF grubu: 0.93±0.47; KON grubu: 1.02±0.45) yüksek görülmekle birlikte, bu fark istatistiksel açıdan anlamlı değildir (p=0.634). Erkek yavrularda da gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmamıştır (p=0.734).

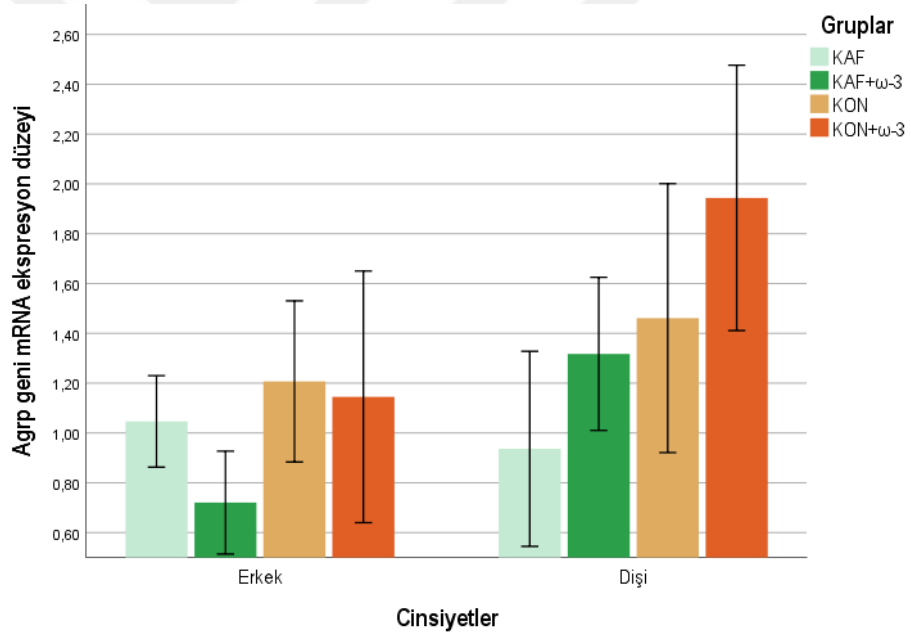
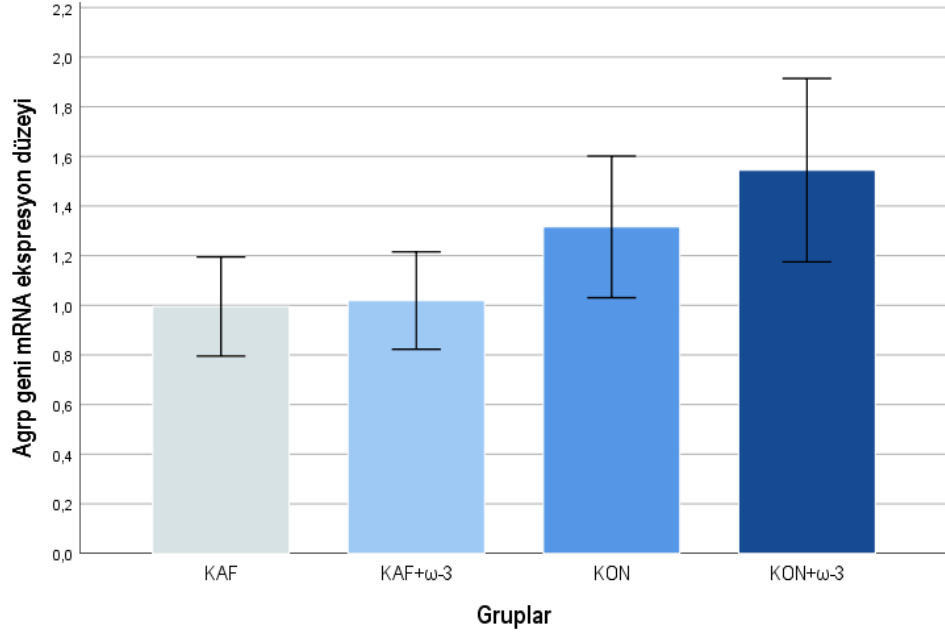


Şekil 4.9. *Pomc* geni mRNA ekspresyon düzeyleri. Kruskal Wallis-H Testi kullanılmıştır (p<0.05). Hipotalamik pro-opiomelanokortin (*Pomc*) geni mRNA ifadesinin kantitatif gerçek zamanlı PCR analizi. Ekspresyon düzeyleri belirlenirken house-keeping gen olarak *Beta-Actin* kullanılmıştır. KAF: kafeterya diyeti, KAF+ω-3: kafeterya diyeti+omega-3 takviyesi, KON: kontrol diyeti, KON+ω-3: kontrol diyeti +omega-3 takviyesi.

Şekil 4.10'da ve Şekil 4.11'de yavru farelere ait sırasıyla *Npy* ve *Agrp* genlerinin mRNA ekspresyon düzeyleri verilmiştir. En düşük *Npy* ve *Agrp* geni mRNA ekspresyon düzeyleri KAF grubunda (1.08 ± 0.31 ve 0.10 ± 0.20) iken, en yüksek ekspresyon düzeyleri KON+ ω -3 grubundadır (1.77 ± 0.34 ve 1.54 ± 0.37). Ancak gruplar arasında, istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır (*Npy*: $p=0.527$; *Agrp*: $p=0.823$). Cinsiyete göre gruplar arasındaki fark incelendiğinde ise en yüksek *Npy* ve *Agrp* genlerinin mRNA ekspresyon düzeyleri erkek yavrular için KON grubunda (1.86 ± 0.49 ve 1.21 ± 0.32) gözlenirken, dişi yavrular için KON+ ω -3 grubundadır (2.30 ± 0.46 ve 1.94 ± 0.53). Ancak yine gruplar arasında *Npy* ($p_{\text{erkek}}=0.356$, $p_{\text{dişi}}=0.243$) ve *Agrp* ($p_{\text{erkek}}=0.421$, $p_{\text{dişi}}=0.415$) genlerinin mRNA ekspresyon düzeylerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktur.



Şekil 4.10. *Npy* geni mRNA ekspresyon düzeyleri. Kruskal Wallis-H Testi kullanılmıştır ($p < 0.05$). Hipotalamik nöropeptit-Y (*Npy*) geni mRNA ifadesinin kantitatif gerçek zamanlı PCR analizi. Ekspresyon düzeyleri belirlenirken house-keeping gen olarak *Beta-Actin* kullanılmıştır. KAF: kafeterya diyeti, KAF+ω-3: kafeterya diyeti+omega-3 takviyesi, KON: kontrol diyeti, KON+ω-3: kontrol diyeti +omega-3 takviyesi.



Şekil 4.11. *Agrp* geni mRNA ekspresyon düzeyleri. Kruskal Wallis-H Testi kullanılmıştır ($p < 0.05$). Hipotalamik agouti-ilişkili protein (*Agrp*) mRNA ifadesinin kantitatif gerçek zamanlı PCR analizi. Ekspresyon düzeyleri belirlenirken house-keeping gen olarak *Beta-Actin* kullanılmıştır. KAF: kafeterya diyeti, KAF+ω-3: kafeterya diyeti+omega-3 takviyesi, KON: kontrol diyeti, KON+ω-3: kontrol diyeti +omega-3 takviyesi.

5. TARTIŞMA

Maternal dönemde yanlış beslenme yavruda sadece fizyolojik ve davranışsal etkilere sebep olmasada, beslenmenin fetüsün genomunu yeniden şekillendirebileceği ve erken yaşamda indüklenen epigenetik değişikliklerin yetişkin organizmadaki fenotipi kalıcı olarak değiştirebileceği çalışmalarda gösterilmiştir (Chango ve Pogribny, 2015). Hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda, maternal obezite ve yüksek yağlı diyet tüketiminin, iştahla ilişkili nöral yollarda anahtar genlerin adaptif düzenlenmesine yol açtığı kanıtlanmıştır (Heerwagen ve ark., 2010). Annenin beslenmesi ve çevresel maruziyetler, metabolik anormalliklere yol açan epigenetik mekanizmalar yoluyla fetal ve neonatal gen ekspresyonu profilini kalıcı olarak etkileyebilir (Şanlı ve Kabaran, 2019). Beynin iştah ve enerji alımı üzerindeki önemi göz önüne alındığında, anoreksijenik *Pomc* ve oreksijenik *Npy/Agrp* eksprese eden nöronları etkileyecek etmenler yavruda birçok fizyolojik durumu tetikleyebilmektedir. Genler üzerinde bu nöronal devre bağlantılarını bozacak ekspresyon seviyelerindeki değişiklikler beslenme davranışının, enerji homeostazının ve glikoz metabolizmasının bozulmasına sebep olabilme potansiyeline sahiptir (Lieu ve ark., 2020).

Annenin bozulmuş metabolik fonksiyonu doğrudan fetal büyüme ve gelişmeyi etkileyebileceğinden maternal dönemde ek besin ögesi ihtiyaçlarını desteklemek, annenin sağlığını ve fetal gelişimi iyileştirmek, metabolik bozuklukları ve olumsuz gebelik sonuçlarını önlemek için annenin farklı besin ögeleriyle desteklenmesi oldukça önemlidir (Amirani ve ark., 2020). Geliştirilebilecek potansiyel stratejiler arasında omega-3 ÇDYA göze çarpmaktadır. Epidemiyolojik araştırmalar, insan beslenmesinde omega-6 ÇDYA artışı ve omega-3 ÇDYA azalmasının modern

toplumda obezite, diyabet ve kardiyovasküler hastalıkların prevalansını artırdığını göstermektedir (Buckley ve Howe, 2010; Iso ve ark., 2001). Omega-3 ÇDYA ve düzenli egzersizin vücut yağını azalttığı, kardiyovasküler ve metabolik sağlığı iyileştirdiği gösterilmiştir (Fan ve ark., 2011). Omega-3 ve omega-6 ÇDYA'nın obezite patogenezindeki rollerinden bazılarının gen transkripsiyonu, mRNA işleme ve post-translasyonel protein modifikasyonlarını modüle etme yeteneği olabileceği düşünülmektedir (Shahidi ve Miraliakbari, 2005). Omega-3 ÇDYA oreksijenik *Npy* ve anoreksijenik *Pomc* gibi aşağı akış tokluk düzenleyicilerinin regülasyonuna aracılık ettiği çeşitli nöral ve endokrin mekanizmalar yoluyla besin alımını ve enerji harcamasını düzenlediği de gösterilmiştir (Considine, 2005). Ayrıca anoreksijenik ve oreksijenik genlerin ekspresyon düzeylerini değiştirmesi de çalışmaların ilgi odağıdır (Huang ve ark., 2004; Wyrwoll ve ark., 2006; Xavier ve ark., 2021; Zulkafli ve ark., 2013).

Bu çalışmanın bulguları da maternal dönemde kafeterya diyetine eklenen omega-3 ÇDYA takviyesinin yavrulardaki iştahla ilişkili genlerin ekspresyon seviyeleri üzerine etkilerini göstermesi bakımından dikkat çekicidir. Ayrıca bu çalışmayla maternal dönemde annenin beslenme durumu da incelenmiş; omega-3 ÇDYA takviyesinin annenin gestasyonel ağırlık kazanımına, besin, enerji ve makro besin öğelerinin alımına pozitif etkisi ortaya konmuştur. Elde edilen bulgular maternal dönemde kafeterya diyetiyle beslenen farelerin diyetine yapılacak omega-3 ÇDYA takviyesinin besin tüketimi, ağırlık denetimi ve iştahla ilişkili *Pomc*, *Npy* ve *Agrp* genlerinin ekspresyonlarına etkilerini inceleyen çalışmalar temel alınarak, belirlenen parametreler dâhilinde değerlendirilmiştir.

5.1. Maternal Dönemde Vücut Ağırlığı, Yem Tüketimi, Enerji ve Makro Besin Ögesi Alımlarına İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi

Hayvan modellerinde maternal yüksek yağlı diyetle beslenmenin, daha fazla gestasyonel ağırlık artışı ile ilişkili olabileceğine ilişkin tutarlı sonuçlar (Gupta ve ark., 2009; Page ve ark., 2009; White ve ark., 2009) olsa da maternal kafeterya diyeti tüketiminin etkilerine dair bulgular farklılık göstermektedir (Gastiazoro ve ark., 2022; Tajaddini ve ark., 2022). Yapılan bir çalışmada, gestasyon döneminde kafeterya diyetiyle beslenen ratların vücut ağırlığı daha yüksek bulunurken

(Gastiazoro ve ark., 2022), başka bir çalışmada her ne kadar gestasyon boyunca hem kafeterya hem de kontrol grubunda ağırlık artışı olsa da gruplar arasında fark bulunmamıştır (Tajaddini ve ark., 2022). Ribeiro ve ark., 2018'nin yaptığı çalışmada ise kafeterya diyetiyle beslenen farelerin vücut ağırlıkları gestasyonun 6, 9, 12, 15. ve 18.gününde kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuş, ancak besin alımları arasında hiçbir zaman noktasında istatistiksel fark oluşmamıştır. Benzer şekilde, bu çalışmada da besin alımları açısından gruplar arasında fark bulunmazken, gebeliğin ilk haftasında KAF+ ω -3 alan grubun vücut ağırlığı diğer gruplara göre daha yüksektir ve gebeliğin son haftasında hala kontrol grubundan daha yüksek olmasına rağmen KON+ ω -3 alan grup ile arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı değildir. Aynı zamanda, gestasyon boyunca sadece kafeterya ve kontrol diyeti alan gruplar arasında vücut ağırlıkları fark göstermemiştir. Gestasyonun son haftasında, kafeterya ve kontrol grupları arasında fark olmamasına rağmen, omega-3 takviyesi alan gruplardaki vücut ağırlığının fazla olması omega-3 takviyesinin etkisi olduğunu düşündürmektedir. Bunu destekler nitelikte, toplam yağ asidi miktarının %1.29'u omega-3 ÇDYA'dan sağlanacak şekilde maternal takviye yapılan ratlarda, laktasyon döneminin sonunda subkutan yağ kütlesinin kontrol grubundan yüksek olduğu gösterilmiştir (Muhlhausler ve ark., 2011). Ancak yapılan başka bir çalışmada, günlük 175 mg/kg/gün DHA ile zenginleştirilmiş diyet tüketiminin gestasyon boyunca hiçbir zaman noktasında vücut ağırlığında fark oluşturmadığı gösterilmiştir (Daher-Abdi ve ark., 2021). Benzer şekilde, kafeterya ve kontrol diyeti alan annelere balık yağı takviyesi (8.78 g/100 g yem) yapıldığında vücut ağırlığı için gruplar arasında fark bulunmamıştır (Sánchez-Blanco ve ark., 2016). Çalışma sonuçlarındaki bu tutarsızlık diyet bileşimindeki farklılıklar, kullanılan takviye dozlarındaki ya da yağdan elde edilen enerji yüzdesi ve diyetin yağ asidi örüntüsündeki çeşitlilikler gibi deney koşullarındaki geniş farklılıklardan kaynaklanmış olabilir (Gawlińska ve ark., 2021).

Bu çalışmada her ne kadar maternal besin tüketim miktarları gruplar arasında farklı bulunmasa da günlük enerji alımı, gestasyon ve laktasyon boyunca kafeterya diyeti alan gruplarda kontrol diyeti alanlara göre daha yüksektir (Bkz. Tablo 4.1). Benzer şekilde, farklı hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda da kafeterya diyetiyle beslenen annelerin enerji alımlarının daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Gastiazoro

ve ark., 2022; Pomar ve ark., 2017; Ribeiro ve ark., 2018; Speight ve ark., 2017). Bu durum, günlük diyetle alınan makro besin öğelerinin oranından kaynaklanmış olabilir. Çalışmamızda, kafeterya diyeti tüketen grupların günlük protein ve posa alımları kontrol gruplarından daha düşükken, toplam yağ ve doymuş yağ alımları daha yüksek bulunmuştur (Bkz. Tablo 4.1). Karbonhidrat alımları ise genel olarak benzerken, sadece dördüncü haftada KON+omega-3 ile beslenen grubun karbonhidrat alımı diğerlerine göre daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$) (Bkz. Şekil 4.4). Benzer şekilde, yapılan bir çalışmada laktasyon boyunca kafeterya diyeti ile beslenen annelerin günlük yağ alım miktarları kontrol grubundan yüksek, karbonhidrat alımları benzer ve protein alımları ise %23 daha azdır (Speight ve ark., 2017). Literatür genel olarak incelendiğinde, çalışma sonuçları maternal kafeterya diyeti alan grupta artmış yağ ve azalmış protein alımı konusunda tutarlılık göstermektedir (Gastiazoro ve ark., 2022; George ve ark., 2019; Ong ve Muhlhausler, 2011; Pomar ve ark., 2017). Bu durumun nedeni kafeterya diyetinin yüksek yağ ve düşük protein içeriğinden kaynaklanmaktadır. Diğer taraftan karbonhidrat alımlarında ise fark bulmayan (Gastiazoro ve ark., 2022; Speight ve ark., 2017) ya da daha düşük (Ong ve Muhlhausler, 2011; Pomar ve ark., 2017) veya daha yüksek (George ve ark., 2019) alım miktarları bulan çalışmalar mevcuttur. Ayrıca, karbonhidrat alımındaki bu farklılıklar, maternal döneme göre de değişmiştir. Örneğin yapılan bir çalışmada, gestasyon boyunca fark yokken, laktasyon döneminde daha düşük karbonhidrat alımı (Ong ve Muhlhausler, 2011); başka bir çalışmada ise kafeterya grubunda kontrole göre gestasyon döneminde yüksek, laktasyon döneminde düşük olduğu saptanmıştır (George ve ark., 2019). Diğer taraftan, bu çalışmada maternal kafeterya diyeti tüketen gruplarda gözlenen artmış doymuş yağ ve azalmış posa alımı, literatür ile uyumludur (George ve ark., 2019) (Bkz. Tablo 4.1).

Literatürde yüksek yağlı diyet veya kafeterya diyetine ek olarak verilen maternal omega-3 takviyesinin etkilerini inceleyen çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Enerjinin %45'i yağdan gelen bir diyetin %10'u yağdan gelen bir diyetle karşılaştırıldığı çalışmada, balık yağı (39 mg EPA ve 82 mg DHA) takviyesi yapılmasının gebelik ve laktasyon boyunca annelerin enerji ve besin alımları için hiçbir zaman noktasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı gösterilmiştir (Albert ve ark.,

2017). Yapılan başka bir çalışmada ise enerji alımı kafeterya diyeti grubunda kontrol diyetine göre hem gestasyon hem laktasyon döneminde daha yüksekken, gestasyonun ilk 12 günü veya tüm gestasyon boyunca balık yağı (8.78 g/100 g yem) alan ratların gestasyon ve laktasyon dönemlerindeki enerji alımları kontrol gruplarıyla farklı bulunmamıştır (Sánchez-Blanco ve ark., 2016). Literatürden farklı olarak bu çalışmada, kafeterya diyetine omega-3 eklenmesi sonucu değiştirmemiş ve hala kontrol diyeti alan gruplardan hem gestasyon hem de laktasyon dönemlerinde daha yüksek enerji alımı ile sonuçlanmıştır (Bkz. Tablo 4.1 ve Şekil 4.3). Bununla birlikte, diyetle omega-3 eklenmesi kontrol grupları arasında farka neden olmuş ve gestasyon döneminde KON+ ω -3 tüketen grubunun enerji alımı kontrol grubundan daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$); laktasyon döneminde ise bu fark ortadan kalkmıştır (Bkz. Tablo 4.1). Sonuçlar arasındaki bu tutarsızlıklar yine yapılan takviyenin dozu, kullanılan yağ kaynağı ve EPA/DHA oranları ya da takviyenin verilmiş şekli gibi deney koşullarındaki geniş farklılıklardan kaynaklanmış olabilir. Örneğin; omega-3 takviyesi diyet besinine üretim sırasında eklendiğinde oksidasyon sorunu olabilirken, gavaj yoluyla verildiğinde hayvanlarda oluşturduğu strese bağlı sağlıklı sonuçlar elde edilmeyebilmektedir (Gawlińska ve ark., 2021). Diğer taraftan, insanlarda yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar omega-3 takviyesinin iştahı artırıcı etkilerinin olabileceğini göstermiştir (Damsbo-Svendsen ve ark., 2013; Moradi ve ark., 2022; Yehuda ve ark., 2013). Bu da omega-3 takviyesinin enerji alımı ve iştah üzerine etkilerinin değerlendirmek için kullanmış olduğumuz hayvan modelinin uygun olmayabileceğini düşündürmektedir. Bu doğrultuda literatürde de sindirim ve ilgili metabolik süreçler açısından insanlar ile fizyolojik benzerlikleri nedeniyle domuzların, insanlarda obeziteyi incelemek için kemirgenlerden daha uygun bir hayvan modeli olabileceği önerilmiştir (Huang ve ark., 2016; Valent ve ark., 2020).

5.2. Yavrularda Pro-opiomelanokortin, Nöropeptit-Y ve Agouti-ilişkili Protein Gen Ekspresyonlarına İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi

Maternal yüksek yağlı diyetle maruziyetin yavruda oluşturduğu fenotipik değişiklikler, genetik ve epigenetik etkiler birçok çalışmada gösterilmiştir (Gali Ramamoorthy ve ark., 2018; Keleher ve ark., 2018; Lemes ve ark., 2018; Vogt ve

ark., 2014). Yavruların *Pomc* geni mRNA ekspresyon düzeyleri açısından literatür incelendiğinde, bazı çalışmalarda maternal yüksek yağlı diyet veya kafeterya diyeti tüketiminin kontrol diyetine göre *Pomc* geni mRNA ekspresyon düzeylerinin yükseldiği (Gali Ramamoorthy ve ark., 2018; Lemes ve ark., 2018; H. Chen ve Morris, 2009), bazısında (Vogt ve ark., 2014) ise düştüğü gösterilmiştir. İstatistiksel açıdan ise oluşan fark sadece bir çalışmada anlamlı olup (H. Chen ve Morris, 2009) çoğunda anlamlı düzeye ulaşmamıştır. Benzer şekilde, bu çalışmada da maternal kafeterya ve kontrol diyetine maruz kalan yavruların *Pomc* geni mRNA ekspresyon düzeyleri arasında fark bulunmamıştır ($p=0.377$) (Şekil 4.9). Bununla birlikte, her ne kadar istatistiksel açıdan anlamlı olmasa da omega-3 takviyesi yapılan grupların *Pomc* geni mRNA ekspresyon düzeyleri yapılmayan gruplardan daha yüksektir ve bu sonuç dişi yavrularda daha açık şekilde görülmektedir (Bkz. Şekil 4.9). Bu durum omega-3 takviyesinin *Pomc* geni mRNA ekspresyon düzeylerini artırıcı etkileri olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, çalışmamızda omega-3 takviyesinin *Pomc* geni mRNA ekspresyon düzeyleri üzerindeki artırıcı etkisinin istatistiksel düzeyde anlamlılığa ulaşamamasının nedeni, yapılan diyet müdahalesine çiftleşme itibarıyla başlanması olabilir. Pregestasyonel dönemde başlanacak diyet müdahaleleri potansiyel etkiyi gözlemlemek için daha etkili bir yöntem olabilir (Xavier ve ark., 2021). Bunu destekler nitelikte, pregestasyon ve gestasyon döneminde yapılan maternal omega-3 takviyesinin yavrudaki iştah genleri üzerine etkisini inceleyen bir çalışmada, *Pomc* geni mRNA ekspresyonu düzeylerinin maternal yüksek yağlı diyet ve omega-3 takviyesine maruz kalan dişi yavrularda kontrollere kıyasla daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Xavier ve ark., 2021). Diğer taraftan, hipotalamik *Pomc* geni mRNA ekspresyon düzeylerinin kesin olarak dolaşımdaki leptin ve insüline bağlı olduğu dikkate alınmalıdır. Yapılan çalışmalarda *Pomc* geni mRNA ekspresyon düzeylerini yorumlarken leptin ya da insülin düzeylerini de inceleyerek daha anlamlı sonuçlar elde edilmiştir (Candler ve ark., 2019; Plagemann ve ark., 2009).

Maternal diyetin *Npy* ve *Agrp* genlerinin mRNA ekspresyon düzeyleri üzerine etkilerinin değerlendirildiği çalışmalara bakıldığında, sonuçlar oldukça tutarsızdır (H. Chen ve Morris, 2009; Gali Ramamoorthy ve ark., 2018; Lemes ve ark., 2018; Vogt ve ark., 2014) Maternal kafeterya diyetinin etkilerini inceleyen herhangi bir

çalışmaya rastlanmamış olmakla birlikte, yüksek yağlı diyetin bazı çalışmalarda *Npy* ve *Agrp* genlerinin mRNA ekspresyon düzeylerini düşürdüğü (Gali Ramamoorthy ve ark., 2018; Lemes ve ark., 2018), bazılarında sadece *Npy* geni mRNA ekspresyon düzeyini yükselttiği (Vogt ve ark., 2014), bazısında da herhangi bir etkisinin olmadığı (Chen ve Morris, 2009) bulunmuştur. Bununla birlikte, yapılan çalışmalarının metodolojileri çeşitlilik göstermektedir. Örneğin bazı çalışmalarda hipotalamik gen ekspresyon düzeyleri incelenirken (Gali Ramamoorthy ve ark., 2018; Lemes ve ark., 2018), bir çalışmada ARC'deki düzeylere bakılmıştır (Vogt vd., 2014). Bu çalışmada ise hipotalamik gen ekspresyon düzeyleri incelendiğinde maternal diyetin *Npy* ve *Agrp* genlerinin mRNA ekspresyon düzeyleri üzerinde herhangi bir etkisi bulunmamıştır (Bkz. Şekil 4.10 ve Şekil 4.11). Çalışmamızla benzer şekilde bir çalışmada yavruların hipotalamik gen ekspresyonunda farklılık bulunmamıştır (Chen ve Morris, 2009). Diğer taraftan, maternal yüksek yağlı diyetle eklenen omega-3 takviyesinin yavrulardaki *Npy* ve *Agrp* genlerinin mRNA ekspresyon düzeylerine etkisini inceleyen sadece bir çalışmaya rastlanmış olup, bu çalışmada *Npy* geni mRNA ekspresyon düzeylerinin değişmediği ve *Agrp* geni mRNA ekspresyon düzeylerinin ise kontrole kıyasla arttığı gösterilmiştir (Xavier ve ark., 2021). Bizim çalışmamızda elde edilen sonuçla oluşan bu tutarsızlık iki çalışmanın metodolojik farklılıklarından kaynaklanmış olabilir. Xavier ve ark., (2021)'nin çalışmasında müdahale pregestasyon ve gestasyon döneminin tamamında yapılırken, çalışmamızda ise gestasyon ve laktasyon döneminde yapılmıştır.

Görüldüğü gibi maternal yüksek yağlı diyet veya kafeterya diyetiyle beslenme bağlamında *Pomc*, *Npy* ve *Agrp* genlerinin mRNA ekspresyon düzeyleri ile ilgili çalışmalar arasında bir fikir birliği yoktur (Benite-Ribeiro ve ark., 2021; Chen ve Morris, 2009; Lemes ve ark., 2018; Vogt ve ark., 2014; Xavier ve ark., 2021). Bu çalışmanın sonuçları da önceki çalışmalarla (Chen ve Morris, 2009; Lemes ve ark., 2018; Vogt ve ark., 2014) benzer şekilde, kısa vadede beslenmeyle ilişkili hipotalamik genlerin ekspresyon seviyeleri etkilenmemiştir. Bu durum kısa vadede yüksek yağlı diyetlerin tüketilmesiyle enerji ve besin alımını teşvik eden durumun hipotalamik iştah genlerine bağlı ekspresyon değişikliklerinden ziyade hedonik sistemlerin tetiklenmesiyle açıklanabilir. Patolojik durumun ya da potansiyel tedavi seçeneğinin etkinliğini test etmek için metabolik bozuklukların yeni gelişmeye

başladığı erken dönemde gen ekspresyonlarının durumunu belirlemek, farklı zaman noktalarında değişimleri görmek adına analizler yapmak ve böylece hem uzun hem kısa vadede oluşan etkiyi takip etmek önemlidir. Bu genlerin mRNA ifadesinde bulunan değişiklikleri açıklamak için promotör bölgelerinin metilasyon modellerini incelemek de daha uygun bir yaklaşım olabilir. Diğer yandan yapılan hayvan çalışmaları arasında gen ekspresyonunun tespit edileceği dokular farklılık göstermektedir. Bazı çalışmalarda doku örneği tüm hipotalamustan alınabildiği gibi (Gali Ramamoorthy ve ark., 2018; Xavier ve ark., 2021) spesifik bölge ayrımı yapıp ARC, PVN ya da VMN'den alınan dokularda (Lemes ve ark., 2018) analiz yapılmış olanlar da mevcuttur. Hipotalamusun spesifik bir alanının izole edilmemesi analizler sırasında olası pozitif sinyali azaltmış ya da negatif sinyallere neden olmuş olabilir. Bu genlerin anormal ekspresyonunun altında yatan mekanizmalar ve omega-3 ÇDYA'nın düzenleyici rolü oldukça fazla ve olası mekanizmalar karmaşıktır. Potansiyel mekanizmalar hala tam olarak anlaşılmaktan uzaktır (Lazzarino ve ark., 2019).

Bildiğimiz kadarıyla bu çalışma, gestasyon ve laktasyon döneminde tüketilen kafeterya diyetine yapılan omega-3 ÇDYA takviyesinin, yavruda iştahla ilişkili genlerin mRNA ekspresyon düzeylerine etkisini inceleyen ilk çalışmadır. Bununla birlikte, çalışmamızın bazı sınırlılıkları vardır. İlk olarak seçilen fare cinsi obeziteyi indüklemek için uygun bir tür olarak bilinse de omega-3 ÇDYA takviyesinin enerji alımı ve iştah üzerine etkilerini değerlendirmek için sindirim ve ilgili metabolik süreçler açısından insanlar ile fizyolojik benzerlikleri nedeniyle domuzların daha uygun bir model olabileceği öne sürülmüştür (Valent ve ark. 2020). İkincisi, daha önce yapılan bazı çalışmalarda diyet müdahalesine gestasyondan 6-8 hafta önce başlanırken (George ve ark., 2019; Gali Ramamoorthy ve ark., 2018; Tajaddini ve ark., 2022) bu çalışmada çiftleşme itibarıyla başlanmıştır. Bu uygulama, diyetin etkinliğini ya da omega-3 ÇDYA'nın olası iyileştirici etkisini gözlemlememizi zorlaştırmış olabilir. Hatta diyet müdahalesinin sonuçlarını daha net görebilmek için jenerasyonel izlem yapılması daha uygun bir yaklaşım olabilir. Ayrıca, omega-3 ÇDYA takviyesinin oral gavaj uygulamasıyla verilmesinin oluşturacağı stres nedeniyle olası hayvan kayıplarını önlemek amacıyla seçilen alternatif oral alım yolu omega-3 ÇDYA'dan optimum yararlanımı azaltmış olabilir. Ek olarak, saflaştırılmış

bir omega-3 ÇDYA konsantresi yerine tercih edilen trigliserit formdaki balık yağı kapsüllerinin içeriğindeki farklı bileşenler sebebiyle çok çeşitli biyolojik etkilere sahip olması mümkündür. Üçüncü sınırlılık, annede ve yavru da stres ve potansiyel etkilerini (gen ekspresyonunda değişiklikler, iştah, vücut ağırlığı artışı veya azalış vb.) engellemek amacıyla laktasyon döneminde annelerin vücut ağırlığı tartımının yapılmamasıdır. Bununla birlikte, kafeterya diyeti metodolojisi gereği hergün kafeslere taze besin yerleştirmeyi gerektirdiğinden hayvanlarda önlenmesi mümkün olmayan bir stres oluşturmuş olabilir. Aynı zamanda, sakrifikasyon öncesi yavruların vücut ağırlıklarının da tartılmamış olması, maternal diyetle yapılan müdahalenin yavrudaki etkilerinin belirlenmesi konusunda veri eksikliğine sebep olmuştur. Dördüncü olarak, bu çalışmada tek bir zaman noktasında ve hipotalamusun spesifik olmayan bölgesinde yapılan genetik analizler, sonuçların yorumlanmasını zorlaştırmaktadır. Son olarak, bu çalışmanın insanlara uyarlanması zor olan bir yönü vardır. Bu çalışmada çiftleşme itibarıyla omega-3 ÇDYA takviyesine başlanmıştır, ancak insanlarda gebelik zamanlaması çoğunlukla bilinmez. Bu nedenle, gebelik planlayan kadınlar ek omega-3 ÇDYA almadıkça, takviyeye bu noktada başlamak zor olacaktır. Bu bağlamda ileride yapılacak kapsamlı çalışmalar ile kafeterya diyeti ve omega-3 ÇDYA takviyesinin hedef genler üzerine etkilerini belirlemek, maternal ve fetal sağlığı iyileştirmek için yeni stratejiler geliştirilmesine olanak sağlayacaktır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma kafeterya diyeti ile beslenen anne farelere yapılan omega-3 takviyesinin, yavruların hipotalamusundaki *Pomc*, *Npy* ve *Agrp* genleri mRNA ekspresyon düzeyleri üzerine olası etkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Gebe *C57BL/6J* cinsi fareler dört gruba ayrılarak, gebelik ve laktasyon dönemi boyunca takip edilmiştir. Birinci gruba Batı tarzı beslenmenin modellendiği enerjisi yüksek, fazla miktarda yağ ve şeker içeren kafeterya diyeti, ikinci gruba kafeterya diyetine ek olarak 300 mg/kg/gün olacak şekilde omega-3 takviyesi, üçüncü gruba kontrol diyeti ve dördüncü gruba kontrol diyetine ek olarak omega-3 takviyesi verilmiştir. Laktasyon dönemi sonunda, yavrular sakrifiye edilerek kan ve doku izolasyonu yapılmıştır. Çalışma Erciyes Üniversitesi GENKÖK Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde sunulmuştur.

1. KAF grubunun gestasyon dönemindeki günlük ortalama vücut ağırlığı 24.35 ± 0.48 g, KAF+ ω -3 grubunun 28.6 ± 0.44 g, KON grubunun 25.88 ± 0.35 g ve KON+ ω -3 grubunun 27.5 ± 0.41 g'dır ($p=0.408$). Uygulanan diyet müdahalesinin ve zamanın etkisi birlikte (diyet*zaman) göz önünde bulundurularak ileri analiz yapıldığında, diyet müdahalesinin vücut ağırlığı üzerine genel bir etkisi olduğu görülmüştür ($p_{\text{diyet}} < 0.001$, $p_{\text{zaman}} < 0.001$, $p_{\text{diyet*zaman}} < 0.001$). Gebelik başlangıcında gruplar arasında fark yoktur ($p=0.408$). Gestasyonun ilk haftasında KAF, KON ve KON+ ω -3 gruplarının vücut ağırlıkları birbiriyle benzer ve KAF+ ω -3 grubundan düşük olsa da ($p < 0.05$), son haftada KAF ve KON grupları birbiriyle benzer ve KAF+ ω -3 ve KON+ ω -3 gruplarından düşük bulunmuştur ($p < 0.05$).

2. Gestasyon döneminde ortalama besin tüketim miktarı KAF grubunda 5.16 ± 0.24 g/gün, KAF+ ω -3 grubunda 4.64 ± 0.13 g/gün, KON grubunda 4.51 ± 0.08 g/gün ve KON+ ω -3 grubunda 4.90 ± 0.14 g/gündür ($p=0.073$). Laktasyon döneminde ise KAF grubunda 9.64 ± 0.33 g/gün, KAF+ ω -3 grubunda 9.92 ± 0.22 g/gün, KON grubunda 9.59 ± 0.51 g/gün ve KON+ ω -3 grubunda 9.62 ± 0.24 g/gündür ($p=0.079$). Ayrıca, diyet müdahalesi ve zamanın etkisi birlikte (diyet*zaman) değerlendirildiğinde, sadece zamanın besin tüketim miktarı üzerinde etkisi olduğu, diyet müdahalesinin ise genel bir etkisinin olmadığı saptanmıştır ($p_{\text{diyet}}=0.603$, $p_{\text{zaman}}<0.001$, $p_{\text{diyet*zaman}}=0.070$).
3. Gestasyon döneminde ortalama enerji alımı KAF grubunun 20.88 ± 0.84 kkal/gün, KAF+ ω -3 grubunun 19.95 ± 0.50 kkal/gün, KON grubunun 13.52 ± 0.23 kkal/gün ve KON+ ω -3 grubunun 14.69 ± 0.43 kkal/gündür ($p<0.001$). Laktasyon döneminde ise KAF grubunun 44.42 ± 1.43 kkal/gün, KAF+ ω -3 grubunun 42.24 ± 0.96 kkal/gün, KON grubunun 28.76 ± 1.52 kkal/gün ve KON+ ω -3 grubunun 28.85 ± 0.73 kkal/gündür ($p<0.001$). Diyet müdahalesinin ve zamanın etkisi birlikte (diyet*zaman) değerlendirildiğinde, diyet müdahalesinin enerji alımı üzerine genel bir etkisi olduğu görülmüştür ($p_{\text{diyet}}<0.001$, $p_{\text{zaman}}<0.001$, $p_{\text{diyet*zaman}}<0.001$). Gestasyonun ilk haftasında KAF grubunun enerji alımı diğer gruplarla benzer iken ($p>0.05$), KAF+ ω -3 grubunun enerji alımı kontrol gruplarından yüksektir ($p<0.05$). Gestasyonun 2.haftasında KAF grubu tüm gruplar ile benzer ($p>0.05$), KAF+ ω -3 grubu ise sadece KON grubundan farklıdır ($p=0.024$). Gestasyonun son haftasında ise KAF gruplarının enerji alımları KON gruplarından daha yüksektir ($p<0.05$). Bu fark laktasyon dönemi boyunca da devam etmiştir ($p<0.05$).
4. Gestasyon döneminde ortalama karbonhidrat alımı KAF grubunun 2.04 ± 0.08 g/gün, KAF+ ω -3 grubunun 1.78 ± 0.06 g/gün, KON grubunun 2.02 ± 0.03 g/gün ve KON+ ω -3 grubunun 2.19 ± 0.06 g/gündür ($p<0.001$). Laktasyon döneminde ise KAF grubunun 4.11 ± 0.14 g/gün, KAF+ ω -3 grubunun 3.99 ± 0.12 g/gün, KON grubunun 4.29 ± 0.23 g/gün ve KON+ ω -3 grubunun 4.31 ± 0.11 g/gündür ($p=0.187$). Diyet müdahalesinin ve zamanın etkisi birlikte (diyet*zaman) değerlendirildiğinde, diyet müdahalesinin karbonhidrat

alımını üzerine genel bir etkisi olduğu görülmüştür ($p_{\text{diyet}} < 0.016$, $p_{\text{zaman}} < 0.001$, $p_{\text{diyet} \times \text{zaman}} < 0.034$). Gestasyon boyunca ve laktasyonun son iki haftasında gruplar arasında fark oluşmamıştır ($p < 0.05$). Laktasyonun ilk haftasında KAF grubunun karbonhidrat alımı diğer gruplara benzer ($p > 0.05$), KON+ ω -3 grubunun alımı ise KAF+ ω -3 ($p < 0.018$) ve KON grubundan ($p = 0.004$) yüksektir.

5. Gestasyon döneminde ortalama protein alımı KAF grubunun 0.74 ± 0.04 g/gün, KAF+ ω -3 grubunun 0.75 ± 0.03 g/gün, KON grubunun 1.04 ± 0.02 g/gün ve KON+ ω -3 grubunun 1.13 ± 0.03 g/gündür ($p < 0.001$). Laktasyon döneminde ise KAF grubunun 1.39 ± 0.06 g/gün, KAF+ ω -3 grubunun 1.48 ± 0.04 g/gün, KON grubunun 2.20 ± 0.12 g/gün ve KON+ ω -3 grubunun 2.21 ± 0.06 g/gündür ($p < 0.001$). Diyet müdahalesinin ve zamanın etkisi birlikte (diyet*zaman) değerlendirildiğinde, diyet müdahalesinin protein alımı üzerine genel bir etkisi olduğu görülmüştür ($p_{\text{diyet}} < 0.001$, $p_{\text{zaman}} < 0.001$, $p_{\text{diyet} \times \text{zaman}} < 0.001$). Gestasyonun 1. ve 3.haftalarında protein alımları gruplar arasında benzerken ($p > 0.05$), 2. haftasında KON grubunun protein alım miktarı diğer gruplarla benzer, KON+ ω -3 grubunun protein alımı miktarı KAF ($p = 0.016$) ve KAF+ ω -3 grubundan ($p = 0.005$) yüksek bulunmuştur. Laktasyonun 1.haftasında KAF ve KON gruplarının protein alım birbirine benzer, KON+ ω -3 grubunun protein alımı diğer gruplardan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). Laktasyonun son iki haftasında KAF gruplarının protein alımı, KON gruplarından istatistiksel açıdan anlamlı derecede düşük kalmıştır ($p < 0.05$).
6. Gestasyon döneminde ortalama yağ alımları KAF grubunun 1.06 ± 0.05 g/gün, KAF+ ω -3 grubunun 1.09 ± 0.03 g/gün, KON grubunun 0.14 ± 0.00 g/gün ve KON+ ω -3 grubunun 0.16 ± 0.00 g/gündür ($p < 0.001$). Laktasyon döneminde ise KAF grubunun 2.44 ± 0.09 g/gün, KAF+ ω -3 grubunun 2.22 ± 0.06 g/gün, KON grubunun 0.31 ± 0.02 g/gün ve KON+ ω -3 grubunun 0.31 ± 0.01 g/gündür ($p < 0.001$). Diyet müdahalesinin ve zamanın etkisi birlikte (diyet*zaman) değerlendirildiğinde, diyet müdahalesinin yağ alımı üzerine genel bir etkisi olduğu görülmüştür ($p_{\text{diyet}} < 0.001$, $p_{\text{zaman}} < 0.001$, $p_{\text{diyet} \times \text{zaman}} < 0.001$). Gestasyon ve laktasyon boyunca KAF gruplarının yağ alımı KON gruplarından

istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksektir ($p<0.05$). Laktasyonun son iki haftasında ise KAF grubunun yağ alımı KAF+ ω -3 grubundan yüksek saptanmıştır ($p<0.05$).

7. Gestasyon döneminde ortalama doymuş yağ alımı KAF grubunun 511.0 ± 28.0 mg/gün, KAF+ ω -3 grubunun 570.1 ± 21.1 mg/gün, KON grubunun 21.7 ± 0.4 mg/gün ve KON+ ω -3 grubunun 23.6 ± 0.7 mg/gündür ($p<0.001$). Laktasyon döneminde ise KAF grubunun 1225.6 ± 63.7 mg/gün, KAF+ ω -3 grubunun 1198.5 ± 49.2 mg/gün, KON grubunun 46.2 ± 2.4 mg/gün ve KON+ ω -3 grubunun 46.4 ± 1.2 mg/gündür ($p<0.001$). Diyet müdahalesinin ve zamanın etkisi birlikte (diyet*zaman) değerlendirildiğinde, diyet müdahalesinin doymuş yağ alımı üzerine genel bir etkisi olduğu görülmüştür ($p_{\text{diyet}}<0.001$, $p_{\text{zaman}}<0.001$, $p_{\text{diyet*zaman}}<0.001$). Gestasyon ve laktasyon boyunca KAF gruplarının doymuş yağ alımı, KON gruplarından istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksektir ($p<0.05$).
8. Gestasyon döneminde ortalama posa alımı KAF grubunun 0.27 ± 0.02 g/gün, KAF+ ω -3 grubunun 0.20 ± 0.01 g/gün, KON grubunun 0.47 ± 0.01 g/gün ve KON+ ω -3 grubunun 0.51 ± 0.02 g/gündür ($p<0.001$). Laktasyon döneminde ise KAF grubunun 0.44 ± 0.02 g/gün, KAF+ ω -3 grubunun 0.45 ± 0.02 g/gün, KON grubunun 1.01 ± 0.05 g/gün ve KON+ ω -3 grubunun 1.01 ± 0.03 g/gündür ($p<0.001$). Diyet müdahalesinin ve zamanın etkisi birlikte (diyet*zaman) değerlendirildiğinde, diyet müdahalesinin posa alımı üzerine genel bir etkisi olduğu görülmektedir ($p_{\text{diyet}}<0.001$, $p_{\text{zaman}}<0.001$, $p_{\text{diyet*zaman}}<0.001$). Gestasyon döneminin 1.haftasında KAF grubunun posa alımı tüm gruplarla benzer, KAF+ ω -3 grubunun alımı ise kontrol gruplarından düşüktür ($p<0.05$). Gestasyonun 2.haftasında KAF gruplarının posa alımı, KON gruplarından düşüktür ($p<0.05$). Gestasyonun 3.haftasında ise KAF gruplarının posa alımı KON+omega-3 grubundan düşük ve KAF+ ω -3 grubunun alımı da hem KON hem de KON+omega-3 gruplarından düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Laktasyonun ilk haftasında KAF gruplarının posa alımı, KON gruplarından düşük ve KON grubunun alımı da KON+ ω -3 grubundan düşüktür ($p<0.05$). Laktasyonun 2. ve 3.haftalarında ise KAF gruplarının posa alımı, KON gruplarından düşük olarak saptanmıştır ($p<0.05$).

9. Yavrulara ait ortalama *Pomc* geni mRNA ekspresyon düzeyi KAF grubunda 0.80 ± 0.17 , KAF+ ω -3 grubunda 1.21 ± 0.19 , KON grubunda 0.90 ± 0.27 ve KON+ ω -3 grubunda 1.12 ± 0.23 olarak saptanmıştır ($p=0.377$). Erkek yavruların ortalama *Pomc* mRNA gen ekspresyon düzeyi sırasıyla 0.72 ± 0.09 , 1.02 ± 0.25 , 0.79 ± 0.34 ve 0.79 ± 0.20 ($p=0.634$); dişilerin ise sırasıyla 0.93 ± 0.47 , 1.54 ± 0.20 , 1.02 ± 0.45 ve 1.45 ± 0.39 'dur ($p=0.734$).
10. Yavrulara ait ortalama *Npy* geni mRNA ekspresyon düzeyi KAF grubunda 1.08 ± 0.31 , KAF+ ω -3 grubunda 1.34 ± 0.26 , KON grubunda 1.61 ± 0.34 ve KON+ ω -3 grubunda 1.77 ± 0.34 olarak tespit edilmiştir ($p=0.527$). Erkek yavruların ortalama *Npy* mRNA gen ekspresyon düzeyi sırasıyla 0.69 ± 0.15 , 1.26 ± 0.34 , 1.86 ± 0.49 ve 1.24 ± 0.47 ($p=0.356$); dişilerin ise sırasıyla 1.47 ± 0.60 , 1.43 ± 0.40 , 1.28 ± 0.49 ve 2.30 ± 0.46 'dir ($p=0.243$).
11. Yavrulara ait ortalama *Agrp* geni mRNA ekspresyon düzeyi KAF grubunda 1.00 ± 0.20 , KAF+ ω -3 grubunda 1.02 ± 0.20 , KON grubunda 1.32 ± 0.29 ve KON+ ω -3 grubunda 1.54 ± 0.37 olarak gösterilmiştir ($p=0.823$). Erkek yavruların ortalama *Agrp* geni mRNA gen ekspresyon düzeyi sırasıyla 1.05 ± 0.18 , 0.72 ± 0.21 , 1.21 ± 0.32 ve 1.14 ± 0.51 ($p=0.421$); dişilerin ise sırasıyla 0.94 ± 0.39 , 1.32 ± 0.31 , 1.46 ± 0.54 ve 1.94 ± 0.53 'dir ($p=0.415$).

Öneriler

Gestasyon ve/veya laktasyon sırasında annenin beslenmesi ile yavru fenotipik değişiklikler arasındaki etkileşimi sağlayan muhtemel mekanizmalar fetal programlama ve epigenetik düzenlemelerdir. Epigenetik, çevre, beslenme ve hastalığa yatkınlık arasındaki bu karmaşık ilişkiyi anlamak, kronik hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde gerçek bir ilerleme kaydedilmesini sağlayabilir. Tüm dünyada yaygınlaşan obezite başta olmak üzere bulaşıcı olmayan hastalıklardaki hızlı artışın durdurulmasını mümkün kılabilir.

Maternal obezite prevalansındaki artış küresel obezite salgınıyla paralel şekilde Batı tarzı bir beslenme modelinin benimsenmesiyle açıklanabilir. Batı tarzı bir beslenme modelinin insanlarda kardiyovasküler hastalıklar, tip 2 diyabet, hipertansiyon gibi obeziteyle ilişkili komorbiditelere yol açtığı, maternal ağırlık artışına sebep olup birçok sağlık sorununa sebep olduğu bilinmektedir. Hayvan modellerinde de benzer

şekilde Batı tarzı beslenme modelinin etkilerini yansıtan kafeterya diyeti tüketen hayvanlarda hedonik sistemin etkilenip tokluk oluşturan mekanizmaların baskılanmasıyla iştah artmış; sonuçta daha yüksek miktarda besin, yağ, doymuş yağ ve şeker alımı gözlenmiştir.

Beslenme durumundaki bu olumsuz koşullar öncelikle annenin metabolik fonksiyonlarını bozup ardından fetal büyüme ve gelişmeyi etkileyebileceğinden gebelik sırasında yeterli ve dengeli beslenmenin sağlanması, aksi durumlarda besin takviyeleriyle beslenme durumunun desteklenmesi, annenin sağlığını ve fetal gelişimi iyileştirmek, metabolik bozuklukları ve olumsuz gebelik sonuçlarını önlemek için oldukça önemli görünmektedir. Hayvan çalışmaları, yanlış beslenmeye bağlı fetal epigenetik programlamanın yaşamın ileriki dönemlerindeki metabolik bozuklukların altında yatan önemli bir mekanizma olabileceğini ve beslenme müdahalelerine gebe kalmadan önce başlaması gerektiğini göstermektedir.

Yönelinen potansiyel stratejilerin başında anne diyetinde bulunan yağların yavrunun sağlığını nasıl etkileyebileceğini anlamak yer almaktadır. Bu nedenle, küresel obezite salgını önlemeyi amaçlayan beslenme önerileri, özellikle maternal diyetin yağ asidi kompozisyonuna odaklanmıştır. Etkinliği en iyi düzeyde bilinen, gestasyon döneminde annenin alımına bağlı olarak yavruyu etkileyebilen, laktasyon döneminde anne sütüne geçişle yavruya destek sağlayabilen ÇDYA'dır. Gebelik ve/veya laktasyon sırasında, omega-3 ve omega-6 bakımından zengin ve dengeli bir diyet tüketilmesi annede bozulan metabolik yollarda bazı değişiklikleri modüle edebilmekte, yavrunun ve annenin vücut kompozisyonunun belirlenmesinde rol alıp, yavrunun beyin gelişimine de katkıda bulunabilmektedir. Ayrıca yetişkinlik döneminde oluşabilecek obezite, diyabet, kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve karaciğer bozukluklarının gelişme riskini düşürdüğü de bilinmektedir.

Bu çalışmayla omega-3 ÇDYA takviyesinin epigenetik mekanizmalar üzerine olası iyileştirici etkileri gösterilememiş olsa da, gelecekte yapılacak hayvan ve insan çalışmalarına altyapı niteliği taşımaktadır. Literatürde obezite oluşturmak için kullanılan hayvan diyet modelleri oldukça farklı koşullarda planlanmıştır. Örneğin aynı diyet modeli kullanılmasına rağmen diyet bileşimindeki farklılıklar, yağdan elde edilen enerji yüzdesinin değişkenliği, kullanılan yağ kaynakları, kontrol diyetlerinin

standardize olmaması veya deney hayvanlarının gelişim evreleri olası mekanizmaları anlamayı ve sonuçları birbiriyle kıyaslamayı güçleştirmektedir. Gelecekte yapılacak çalışmalar standardize edilmiş protokollerle planlanabilir, böylece diyetlerin ve uygulanan potansiyel tedavi seçeneğinin etkileri daha doğru ve net şekilde yorumlanabilir. Bu bağlamda maternal kafeterya diyetine maruziyetin yavruda epigenetik mekanizmalar üzerine etkileri, omega-3 ÇDYA'nın olası tedavi edici rolleri konusunda daha ileri ve kapsamlı çalışmaların yapılması gerekmektedir.



7. KAYNAKLAR

- Acevedo N, Alhamwe BA, Caraballo L, Ding M, Ferrante A, Garn H, Garssen J, Hii CS, Irvine J, Llinás-Caballero K, López JF, Miethe S, Perveen K, von Strandmann EP, Sokolowska M, Potaczek DP, van Esch BCAM. Perinatal and early-life nutrition epigenetics and allergy. *Nutrients*, 2021; 13(3); 724-729.
- Ahlin K, Himmelmann K, Hagberg G, Kacerovsky M, CoboT, Wennerholm UB, Jacobsson B. Non-infectious risk factors for different types of cerebral palsy in term-born babies: a population-based, case-control study. *BJOG*, 2012; 120(6); 724-731.
- Akyol A, Langley-Evans SC, McMullen S. Obesity induced by cafeteria feeding and pregnancy outcome in the rat. *Br J Nutr*, 2009; 102(11); 1601-1610.
- Albert BB, Vickers MH, Gray C, Reynolds CM, Segovia SA, Derraik JGB, Garg ML, Cameron-Smith D, Hofman PL, Cutfield WS. Fish oil supplementation to rats fed high-fat diet during pregnancy prevents development of impaired insulin sensitivity in male adult offspring. *Sci Rep*, 2017; 7(1); 1-11.
- Amirani E, Asemi Z, Asbaghi O, Milajerdi A, Reiner Ž, Mansournia MA, Hallajzadeh J, Moazzami B, Chaichian S. The effects of omega-3 fatty acids supplementation on metabolic status in pregnant women: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*, 2020; 19(2); 1685-1699.
- Arora S. Role of neuropeptides in appetite regulation and obesity—a review. *Neuropeptides*, 2006; 40(6); 375-401.
- Arslan S, Yıldırım H. Maternal beslenme yavrular üzerine etkileri: fetal programlama ve epigenetik mekanizmalar. *J Nutr Diet*, 2021; 49(1); 67-74.
- Bae-Gartz I, Janoschek R, Breuer S, Schmitz L, Hoffmann T, Ferrari N, Branik L, Oberthuer A, Kloppe CS, Appel S, Vohlen C, Dötsch J, Hucklenbruch-Rother E. Maternal obesity alters neurotrophin-associated mapk signaling in the hypothalamus of male mouse offspring. *Front Neurosci*, 2019; 13; 962-970
- Baldini G, Phelan KD, Pathway M, Baldini G, Phelan KD. The melanocortin pathway and control of appetite-progress and therapeutic implications. *J Endocrinol*, 2019; 241(1); 1-33.

- Barker DJP, Osmond C. Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet*, 1986: 327(8489); 1077-1081.
- Bayol SA, Farrington SJ, Stickland NCA. Maternal 'junk food' diet in pregnancy and lactation promotes an exacerbated taste for 'junk food' and a greater propensity for obesity in rat offspring. *Br J Nutr*, 2007: 98(4); 843-851.
- Benite-Ribeiro SA, Rodrigues VA de L, Machado MRF. Food intake in early life and epigenetic modifications of pro-opiomelanocortin expression in arcuate nucleus. *Mol Biol Rep*, 2021: 48(4); 3773-3784.
- Bouret SG. Developmental programming of hypothalamic melanocortin circuits. *Exp Mol Med*, 2022: 54(4); 403-413.
- Brion MJA, Ness AR, Rogers I, Emmett P, Cribb V, Smith GD, Lawlor DA. Maternal macronutrient and energy intakes in pregnancy and offspring intake at 10 y: exploring parental comparisons and prenatal effects. *Am J Clin Nutr*, 2010: 91(3); 748-756.
- Buckley JD, Howe PRC. Long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids may be beneficial for reducing obesity-a review. *Nutrients* 2010: 2(12); 1212-1230.
- Buyukdere Y, Gulec A, Akyol A. Cafeteria diet increased adiposity in comparison to high fat diet in young male rats. *PeerJ*, 2019: 4; 1-15.
- Cai Y, Feng W. Famine, social disruption, and involuntary fetal loss: Evidence from Chinese survey data. *Demography*, 2005: 42(2); 301-322.
- Calder PC. n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am J Clin Nutr*, 2006: 83(6); 1505-1519.
- Candler T, Kühnen P, Prentice AM, Silver M. Epigenetic regulation of POMC; implications for nutritional programming, obesity and metabolic disease. *Front Neuroendocrinol*, 2019: 54; 100773.
- Castro-Rodríguez DC, Rodríguez-González GL, Menjivar M, Zambrano E. Maternal interventions to prevent adverse fetal programming outcomes due to maternal malnutrition: Evidence in animal models. *Placenta*, 2020: 102; 49-54.
- Chang GQ, Gaysinskaya V, Karatayev O, Leibowitz SF. Maternal high-fat diet and fetal programming: increased proliferation of hypothalamic peptide-producing neurons that increase risk for overeating and obesity. *J Neurosci*, 2008: 28(46); 12107-12119.
- Chango A, Pogribny IP. Considering maternal dietary modulators for epigenetic regulation and programming of the fetal epigenome. *Nutrients* 2015: 7(4); 2748-2770.
- Chen C, Xu X, Yan Y. Estimated global overweight and obesity burden in pregnant women based on panel data model. *PLoS ONE*, 2018: 13(8).
- Chen H, Morris MJ. Differential responses of orexigenic neuropeptides to fasting in offspring of obese mothers. *Obesity*, 2009: 17(7); 1356-1362.
- Considine R. Human leptin: An adipocyte hormone with weight-regulatory and endocrine functions. *Semin Vasc Med*, 2005: 5(1); 15-24.
- Couet C, Delarue J, Ritz P, Antoine JM, Lamière F. Effect of dietary fish oil on body fat mass and basal fat oxidation in healthy adults. *Int J Obes*, 1997: 21(8); 637-643.

- Crisham Janik MD, Newman TB, Cheng YW, Xing G, Gilbert WM, Wu YW. Maternal diagnosis of obesity and risk of cerebral palsy in the child. *J Pediatr*, 2013: 163(5); 1307-1312.
- Daher-Abdi A, Hernández SO, Castro LAR, Mezo-González CE, Croyal M, García-Santillán JA, Ouguerram K, Zambrano E, Bolaños-Jiménez F. Maternal DHA supplementation during pregnancy and lactation in the rat protects the offspring against high-calorie diet induced hepatic steatosis. *Nutrients*, 2021: 13(9); 3075-3080.
- Dahri S, Snoeck A, Reusens-Billen B, Remacle C, Hoet JJ. Islet function in offspring of mothers on low-protein diet during gestation. *Diabetes*, 1991: 40(2); 115-120.
- Damsbo-Svendsen S, Rønsholdt MD, Lauritzen L. Fish oil-supplementation increases appetite in healthy adults. A randomized controlled cross-over trial. *Appetite*, 2013: 66; 62-66.
- Davidowa H, Li Y, Plagemann A. Altered responses to orexigenic (AGRP, MCH) and anorexigenic (α -MSH, CART) neuropeptides of paraventricular hypothalamic neurons in early postnatally overfed rats. *Eur J Neurosci*, 2003: 18(3); 613-621.
- de Boo HA, Harding JE. The developmental origins of adult disease (Barker) hypothesis. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 2006: 46(1); 4-14.
- de Rooij SR, Painter RC, Holleman F, Bossuyt PMM, Roseboom TJ. The metabolic syndrome in adults prenatally exposed to the Dutch famine. *Am J Clin Nutr*, 2007: 86(4); 1219-1224.
- Desai M, Han G, Ross MG. Programmed hyperphagia in offspring of obese dams: Altered expression of hypothalamic nutrient sensors, neurogenic factors and epigenetic modulators. *Appetite*, 2016: 99; 193-199.
- Drake AJ, Walker BR, Seckl JR. Intergenerational consequences of fetal programming by in utero exposure to glucocorticoids in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2005: 57(1); 288.
- Dziedzic B, Szymraj J, Bartkowiak J, Walczewska A. Various dietary fats differentially change the gene expression of neuropeptides involved in body weight regulation in rats. *J Neuroendocrinol*, 2007: 19(5); 364-373.
- Ellacott KL, Cone RD. The central melanocortin system and the integration of short-and long-term regulators of energy homeostasis. *Recent Prog Horm Res*, 2004: 59(1); 395-408.
- Fan C, Liu X, Shen W, Deckelbaum RJ, Qi K. The regulation of leptin, leptin receptor and pro-opiomelanocortin expression by n-3 PUFAs in diet-induced obese mice is not related to the methylation of their promoters. *Nutr Metab*, 2004: 8(1); 1-9.
- Franke K, Harder T, Aerts L, Melchior K, Fahrenkrog S, Rodekamp E, Ziska T, van Assche FA, Dudenhausen JW, Plagemann A. 'Programming' of orexigenic and anorexigenic hypothalamic neurons in offspring of treated and untreated diabetic mother rats. *Brain Res*, 2005: 1031(2); 276-283.
- Fraser A, Tilling K, MacDonald-Wallis C, Sattar N, Brion MJ, Benfield L, Ness A, Deanfield J, Hingorani A, Nelson SM, Smith GD, Lawlor DA. Association of

- maternal weight gain in pregnancy with offspring obesity and metabolic and vascular traits in childhood. *Circulation*, 2010: 121(23); 2557-2564.
- Gaillard R. Maternal obesity during pregnancy and cardiovascular development and disease in the offspring. *Eur J Epidemiol*, 2015: 30(11); 1141-1152.
- Gaillard R, Steegers EAP, Franco OH, Hofman A, Jaddoe VWV. Maternal weight gain in different periods of pregnancy and childhood cardio-metabolic outcomes. The Generation R Study. *Int J Obes*, 2015: 39(4); 677-685.
- Gali Ramamoorthy T, Allen TJ, Davies A, Harno E, Sefton C, Murgatroyd C, White A. Maternal overnutrition programs epigenetic changes in the regulatory regions of hypothalamic *Pomc* in the offspring of rats. *Int J Obes*, 2018: 42(8); 1431-1444.
- Gastiazoro MP, Rossetti MF, Schumacher R, Stoker C, Durando M, Zierau O, Varayoud J. Epigenetic disruption of placental genes by chronic maternal cafeteria diet in rats. *J Nutr Biochem*, 2022: 109015.
- Gawlińska K, Gawliński D, Filip M, Przegaliński E. Relationship of maternal high-fat diet during pregnancy and lactation to offspring health. *Nutr Rev*, 2021: 79(6); 709-725.
- George G, Draycott SAV, Muir R, Clifford B, Elmes MJ, Langley-Evans SC. The impact of exposure to cafeteria diet during pregnancy or lactation on offspring growth and adiposity before weaning. *Sci Rep*, 2019: 9(1); 1-9.
- Gicquel C, El-Osta A, le Bouc Y. Epigenetic regulation and fetal programming. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2008: 22(1); 1-16.
- Godfrey KM. The role of the placenta in fetal programming: a review. *Placenta*, 2002: 23(1); 20-27.
- González-Becerra K, Ramos-Lopez O, Barrón-Cabrera E, Riezu-Boj JI, Milagro FI, Martínez-López E, Martínez JA. Fatty acids, epigenetic mechanisms and chronic diseases: A systematic review. *Lipids Health Dis*, 2019: 18(1); 1-18.
- Gout J, Sarafian D, Mutel E, Vigier M, Rajas F, Mithieux G, Begeot M, Naville D. Metabolic and melanocortin gene expression alterations in male offspring of obese mice. *Mol Cell Endocrinol*, 2010: 319(1-2); 99-108.
- Grygiel-Górniak B. Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: Nutritional and clinical implications- A review. *Nutr J*, 2014: 13(1); 1-10.
- Gupta A, Srinivasan M, Thamadilok S, Patel MS. Hypothalamic alterations in fetuses of high fat diet-fed obese female rats. *J Endocrinol*, 2009: 200(3); 293-300.
- Haddad-Tóvolli R, Altirriba J, Obri A, Sánchez EE, Chivite I, Milà-Guasch M, Ramírez S, Gómez-Valadés AG, Pozo M, Burguet J, Velloso LA, Claret M. Pro-opiomelanocortin (POMC) neuron transcriptome signatures underlying obesogenic gestational malprogramming in mice. *Mol Metab*, 2020: 36; 100963.
- He K, Rimm EB, Merchant A, Rosner BA, Stampfer MJ, Willett WC, Ascherio A. fish consumption and risk of stroke in men. *JAMA*, 2002: 288(24); 3130-3136.
- Heerwagen MJR, Miller MR, Barbour LA, Friedman JE. Maternal obesity and fetal metabolic programming: A fertile epigenetic soil. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* *AM J PHYSIOL-REG I*, 2010: 299(3); 711-722.

- Heerwagen MJ, Stewart MS, de la Houssaye BA, Janssen RC, Friedman JE. Transgenic increase in N-3/n-6 Fatty Acid ratio reduces maternal obesity-associated inflammation and limits adverse developmental programming in mice. *PloS one*, 2013: 8(6); e67791.
- Hill JW, Faulkner LD. The role of the melanocortin system in metabolic disease: new developments and advances. *Neuroendocrinology*, 2017: 104(4); 330.
- Hinkle SN, Schieve LA, Stein AD, Swan DW, Ramakrishnan U, Sharma AJ. Associations between maternal prepregnancy body mass index and child neurodevelopment at 2 years of age. *Int J Obes*, 2005: 36(10); 1312-1319.
- Hooper L, Thompson RL, Harrison RA, Summerbell CD, Ness AR, Moore HJ, Worthington Hv, Durrington PN, Higgins JPT, Capps NE, Riemersma RA, Ebrahim, SBJ, Smith GD. Risks and benefits of omega 3 fats for mortality, cardiovascular disease, and cancer: systematic review. *BMJ*, 2006: 332(7544); 752-760.
- Horvath TL, Sarman B, García-Cáceres C, Enriori PJ, Sotonyi P, Shanabrough M, Borok E, Argente J, Chowen JA, Perez-Tilve D, Pfuger PT, Brönneke HS, Levin BE, Diano S, Cowley MA, Tschöp MH. Synaptic input organization of the melanocortin system predicts diet-induced hypothalamic reactive gliosis and obesity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010: 107(33); 14875-14880.
- Hu Z, Tyllavsky FA, Kocak M, Fowke JH, Han JC, Davis RL, Lewinn KZ, Bush NR, Sathyanarayana S, Karr CJ, Zhao Q. Effects of maternal dietary patterns during pregnancy on early childhood growth trajectories and obesity risk: the candle study. *Nutrients*, 2020: 12; 465.
- Huang C, Li Z, Wang M, Martorell R. X Early Life Exposure to the 1959–1961 Chinese Famine has long-term health consequences. *J Nutr*, 2020: 140(10); 1874-1878.
- Huang CW, Chien YS, Chen YJ, Ajuwon KM, Mersmann HM, Ding ST. Role of n-3 polyunsaturated fatty acids in ameliorating the obesity-induced metabolic syndrome in animal models and humans. *Int J Mol Sci*, 2016: 17(10); 1689-1695.
- Huang XF, Xin X, McLennan P, Storlien L. Role of fat amount and type in ameliorating diet-induced obesity: Insights at the level of hypothalamic arcuate nucleus leptin receptor, neuropeptide Y and pro-opiomelanocortin mRNA expression. *Diabetes Obes Metab*, 2004: 6(1); 35-44.
- Hussain A, Nookaew I, Khoomrung S, Andersson L, Larsson I, Hulth en L, Jansson N, Jakubowicz R, Nilsson S, Sandberg A, Nielsen J, Holm A. A maternal diet of fatty fish reduces body fat of offspring compared with a maternal diet of beef and a post-weaning diet of fish improves insulin sensitivity and lipid profile in adult C57BL/6 male mice. *Acta Physiol*, 2013: 209; 220-234.
- Ingrosso D, Cimmino A, Perna AF, Masella L, de Santo NG, de Bonis ML, Vacca M, D'Esposito M, D'Urso M, Galletti P, Zappia V. Folate treatment and unbalanced methylation and changes of allelic expression induced by hyperhomocysteinaemia in patients with uraemia. *Lancet*, 2003: 361(9370); 1693-1699.
- Iso H, Rexrode KM, Stampfer MJ, Manson JE, Colditz GA, Speizer F.E, Willett WC. Intake of fish and omega-3 fatty acids and risk of stroke in women. *Jama*, 2001: 285(3); 304-312.

- Jehn M, Brewis A. Paradoxical malnutrition in mother-child pairs: Untangling the phenomenon of over- and under-nutrition in underdeveloped economies. *Econ Hum Biol*, 2009; 7(1); 28-35.
- Jiménez-Chillarón JC, Díaz R, Martínez D, Pentinat T, Ramón-Krauel M, Ribó S, Plösch T. The role of nutrition on epigenetic modifications and their implications on health. *Biochimie*, 2012; 94(11); 2242-2263.
- Kabaran S, Besler TT. Do fatty acids affect fetal programming? *JHPN*, 2015; 33(1); 1-9.
- Kalupahana NS, Claycombe K, Newman SJ, Stewart T, Siriwardhana N, Matthan N, Lichtenstein AH, Moustaid-Moussa N. Eicosapentaenoic acid prevents and reverses insulin resistance in high-fat diet-induced obese mice via modulation of adipose tissue inflammation. *J Nutr*, 2010; 140(11); 1915-1922.
- Karachaliou M, Georgiou V, Roumeliotaki T, Chalkiadaki G, Daraki V, Koinaki S, Dermitzaki E, Sarri K, Vassilaki M, Kogevinas M, Oken E, Chatzi L. Association of trimester-specific gestational weight gain with fetal growth, offspring obesity, and cardiometabolic traits in early childhood. *AJOG*, 2015; 212(4); 502-508.
- Keleher MR, Zaidi R, Shah S, Oakley ME, Pavlatos C, El Idrissi S, Cheverud JM. Maternal high-fat diet associated with altered gene expression, DNA methylation, and obesity risk in mouse offspring. *PLoS One*, 2018; 13(2); e0192606.
- Kim JD, Leyva S, Diano S. Hormonal regulation of the hypothalamic melanocortin system. *Front Physiol*, 2014; 5; 480-485.
- Kirk SL, Samuelsson AM, Argenton M, Dhonye H, Kalamatianos T, Poston L, Taylor PD, Coen CW. Maternal obesity induced by diet in rats permanently influences central processes regulating food intake in offspring. *PLoS ONE*, 2009; 4(6); e5870.
- Korotkova M, Gabrielsson BG, Holmäng A, Larsson BM, Hanson LÅ, Strandvik B. Gender-related long-term effects in adult rats by perinatal dietary ratio of n-6/n-3 fatty acids. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* AM J PHYSIOL-REG I, 2004; 288(3); 575-579.
- Koupil I, Plavinskaja S, Parfenova N, Shestov DB, Danziger PD, Vågerö D. Cancer mortality in women and men who survived the siege of Leningrad (1941-1944). *IJC*, 2009; 124(6); 1416-1421.
- Krakowiak P, Walker CK, Bremer AA, Baker AS, Ozonoff S, Hansen RL, Hertz-Picciotto I. Maternal metabolic conditions and risk for autism and other neurodevelopmental disorders. *Pediatrics*, 2012; 129(5); e 1121-e1128.
- Krude H, Biebermann H, Luck W, Horn R, Brabant G, Grüters A. Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by POMC mutations in humans. *Nat Genet*, 1998; 19(2); 155-157.
- Krude H, Grüters A. Implications of proopiomelanocortin (Pomc) mutations in humans: the pomc deficiency syndrome. *Trends Endocrinol Metab*, 2000; 11(1); 15-22.
- Laitinen J, Jääskeläinen A, Hartikainen AL, Sovio U, Väärasmäki M, Pouta A, Järvelin M. R. Maternal weight gain during the first half of pregnancy and offspring obesity at 16 years: a prospective cohort study. *BJOG: Int J Obstet Gynaecol*, 2012; 119(6); 716-723.

- Lalanza JF, Caimari A, del Bas JM, Torregrosa D, Cigarroa I, Pallàs M, Capdevila L, Arola L, Escorihuela RM. Effects of a post-weaning cafeteria diet in young rats: metabolic syndrome, reduced activity and low anxiety-like behaviour. *PLOS ONE*, 2014; 9(1); e85049.
- Lalanza JF, Snoeren EMS. The cafeteria diet: A standardized protocol and its effects on behavior. *Neurosci Biobehav Rev*, 2021; 122; 92-119.
- Langley-Evans SC. Developmental programming of health and disease. *PNS*, 2006; 65(1); 97-105.
- Langley-Evans SC. Nutritional programming of disease: unravelling the mechanism. *J Anat*, 2009; 215(1); 36-51.
- Langley-Evans SC, Welham SJM, Jackson AA. Fetal exposure to a maternal low protein diet impairs nephrogenesis and promotes hypertension in the rat. *Life Sci*, 1999; 64(11); 965-974.
- Lawlor DA, Smith GD, O'Callaghan M, Alati R, Mamun AA, Williams GM, Najman JM. Epidemiologic evidence for the fetal overnutrition hypothesis: findings from the mater-university study of pregnancy and its outcomes. *Am J Epidemiol*, 2007; 165(4); 418-424.
- Lazzarino GP, Acutain MF, Canesini G, Andreoli MF, Ramos, JG. Cafeteria diet induces progressive changes in hypothalamic mechanisms involved in food intake control at different feeding periods in female rats. *Mol Cell Endocrinol*, 2019; 498; 110542.
- Lazzarino GP, Andreoli MF, Rossetti MF, Stoker C, Tschopp MV, Luque EH, Ramos JG. Cafeteria diet differentially alters the expression of feeding-related genes through DNA methylation mechanisms in individual hypothalamic nuclei. *Mol Cell Endocrinol*, 2017; 450; 113-125.
- Leddy MA, Power ML, Schulkin J. the impact of maternal obesity on maternal and fetal health. *Rev Obstet Gynecol*, 2008; 1(4); 170.
- Lee HS. Impact of maternal diet on the epigenome during in utero life and the developmental programming of diseases in childhood and adulthood. *Nutrients* 2015; 7(11); 9492-9507.
- Lemes SF, de Souza ACP, Payolla TB, Versutti MD, de Fátima da Silva Ramalho A, Mendes-da-Silva C, Souza CM, Milanski M, Torsoni AS, Torsoni MA. Maternal consumption of high-fat diet in mice alters hypothalamic notch pathway, npy cell population and food intake in offspring. *Neuroscience*, 2018; 371; 1-15.
- Li Y, He Y, Qi L, Jaddoe VW, Feskens EJ, Yang X, Ma G, Hu FB. Exposure to the Chinese Famine in early life and the risk of hyperglycemia and type 2 diabetes in adulthood. *Diabetes*, 2010; 59(10); 2400-2406.
- Lieu L, Chau D, Afrin S, Dong Y, Alhadeff AL, Betley JN, Williams KW. Effects of metabolic state on the regulation of melanocortin circuits. *Physiol Behav*, 2020; 224; 113039.
- Lillicrop KA, Phillips ES, Jackson AA, Hanson MA, Burdge GC. Dietary protein restriction of pregnant rats induces and folic acid supplementation prevents epigenetic modification of hepatic gene expression in the offspring. *J Nutr*, 2005; 135(6); 1382-1386.

- Lillicrop KA, Burdge GC. Epigenetic mechanisms linking early nutrition to long term health. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2012: 26(5), 667-676.
- Lucia Bergmann R, Bergmann KE, Haschke-Becher E, Richter R, Dudenhausen JW, Barclay D, Haschke F. Does maternal docosahexaenoic acid supplementation during pregnancy and lactation lower BMI in late infancy? *J Perinat Med*, 2007: 35(4); 295-300.
- Luo Z, Mu R, Zhang X. Famine and overweight in China. In *Investing In Human Capital For Economic Development In China*. 2010: 4; 231-239.
- Mani I, Dwarkanath P, Thomas T, Thomas A, Kurpad A. Maternal fat and fatty acid intake and birth outcomes in a South Indian population. *Int J Epidemiol*, 2016: 45(2); 523-531.
- Martire SI, Maniam J, South T, Holmes N, Westbrook RF, Morris MJ. Extended exposure to a palatable cafeteria diet alters gene expression in brain regions implicated in reward, and withdrawal from this diet alters gene expression in brain regions associated with stress. *Behav Brain Res*, 2014: 265; 132-141.
- Massiera F, Saint-Marc P, Seydoux J, Murata T, Kobayashi T, Narumiya S, Guesnet P, Amri EZ, Negrel R, Ailhaud G. Arachidonic acid and prostacyclin signaling promote adipose tissue development: a human health concern? *J Lipid Res*, 2003: 44(2); 271-279.
- Mathai ML, Soueid M, Chen N, Jayasooriya AP, Sinclair AJ, Wlodek ME, Weisinger HS, Weisinger RS. Does perinatal ω -3 polyunsaturated fatty acid deficiency increase appetite signaling? *Obes Res*, 2004: 12(11); 1886-1894.
- Mehta SH, Kerver JM, Sokol RJ, Keating DP, Paneth N. The association between maternal obesity and neurodevelopmental outcomes of offspring. *J Pediatr*, 2014: 165(5); 891-896.
- Micioni Di Bonaventura E, Botticelli L, Tomassoni D, Tayebati SK, Micioni Di Bonaventura MV, Cifani C. The melanocortin system behind the dysfunctional eating behaviors. *Nutrients*, 2020: 12(11); 1-26.
- Moradi S, Alivand M, KhajeBishak Y, AsghariJafarabadi M, Alipour M, Chilibeck PD, Alipour B. The effect of short-term omega-3 fatty acids supplementation on appetite in healthy men: A randomized double-blinded controlled clinical trial. *Nutr Clin Metab*, 2022: 36(1); 46-53.
- Mountjoy KG. Pro-opiomelanocortin (pomc) neurones, pomc-derived peptides, melanocortin receptors and obesity: how understanding of this system has changed over the last decade. *J Neuroendocrinol*, 2015: 27(6); 406-418.
- Muhlhausler BS, Miljkovic D, Fong L, Xian CJ, Duthoit E, Gibson RA. Maternal omega-3 supplementation increases fat mass in male and female rat offspring. *Front Genet*, 2011: 2(8); 47-53.
- Murrin C, Shrivastava A, Kelleher CC. Maternal macronutrient intake during pregnancy and 5 years postpartum and associations with child weight status aged five. *Eur J Clin Nutr*, 2013: 67(6); 670-679.
- Neri C, Edlow AG. Effects of maternal obesity on fetal programming: molecular approaches. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2016: 6(2); a026591.

- Obri A, Claret M. The role of epigenetics in hypothalamic energy balance control: implications for obesity. *Cell Stress*, 2019: 3(7); 208.
- Oliver E, McGillicuddy FC, Harford KA, Reynolds CM, Phillips CM, Ferguson JF, Roche HM. Docosahexaenoic acid attenuates macrophage-induced inflammation and improves insulin sensitivity in adipocytes-specific differential effects between LC n-3 PUFA. *J Nutr Biochem*, 2012: 23(9); 1192-1200.
- Ong ZY, Muhlhausler BS. Maternal “junk-food” feeding of rat dams alters food choices and development of the mesolimbic reward pathway in the offspring. *The FASEB Journal*, 2011: 25(7); 2167-2179.
- Osmond C, Barker DJ, Slattery JM. Risk of death from cardiovascular disease and chronic bronchitis determined by place of birth in England and Wales. *JECH*, 1990: 44(2); 139-141.
- Ozkul Y, Taheri S, Bayram KK, Sener EF, Mehmetbeyoglu E, Öztöp DB, Rassoulzadegan M. A heritable profile of six miRNAs in autistic patients and mouse models. *Sci Rep*, 2020: 10(1); 1-14.
- Padmanabhan V, Cardoso RC, Puttabyatappa M. Developmental programming, a pathway to disease. *JES*, 2016: 157(4); 1328-1340.
- Page KC, Malik RE, Ripple JA, Anday EK. Maternal and postweaning diet interaction alters hypothalamic gene expression and modulates response to a high-fat diet in male offspring. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2009: 297; 1049-1057.
- PAGE ME. Obesity and overweight Erişim: (<https://www.who.int/News-Room/Fact-Sheets/Detail/Obesity-and-Overweight>) Erişim Tarihi:15 Aralık 2022
- PAGE ME. Omega-3 Fatty Acids - Health Professional Fact Sheet. (<https://ods.od.nih.gov/factsheets/Omega3FattyAcids-HealthProfessional/>) Erişim Tarihi: 31 Aralık 2022.
- Painter RC, Roseboom TJ, van Montfrans GA, Bossuyt PMM, Krediet RT, Osmond C, Barker DJP, Bleker OP. Microalbuminuria in adults after prenatal exposure to the Dutch famine. *Am Soc Nephrol*, 2005: 16; 189-194.
- Pan C, Deroche CB, Mann JR, McDermott S, Hardin JW. Is prepregnancy obesity associated with risk of cerebral palsy and epilepsy in children? *J Child Neurol*, 2014: 29(12); 196-201.
- Park S, Jang A, Bouret SG. Maternal obesity-induced endoplasmic reticulum stress causes metabolic alterations and abnormal hypothalamic development in the offspring. *PLOS Biology*, 2020: 18(3); e3000296.
- Penfold NC, Ozanne SE. Developmental programming by maternal obesity in 2015: Outcomes, mechanisms, and potential interventions. *Horm Behav*, 2015: 76; 143-152
- Pizzorusso T, Tognini P. Interplay between metabolism, nutrition and epigenetics in shaping brain DNA methylation, neural function and behavior. *Genes*, 2020: 11(7); 742.
- Plagemann A, Harder T, Brunn M, Harder A, Roepke K, Wittrock-Staar M, Ziska T, Schellong K, Rodekamp E, Melchior K, Dudenhausen JW. Hypothalamic proopiomelanocortin promoter methylation becomes altered by early overfeeding:

- An epigenetic model of obesity and the metabolic syndrome. *Physiol J*, 2009: 587(20); 4963-4976.
- Pomar CA, van Nes R, Sánchez J, Picó C, Keijer J, Palou A. Maternal consumption of a cafeteria diet during lactation in rats leads the offspring to a thin-outside-fat-inside phenotype. *Int J Obes*, 2017: 41(8); 1279-1287.
- Poston L, Caleyachetty R, Cnattingius S, Corvalán C, Uauy R, Herring S, Gillman MW. Preconceptional and maternal obesity: epidemiology and health consequences. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2016: 4(12); 1025-1036.
- Ramos-Lopez O, Milagro FI, Riezu-Boj JI, Martinez JA. Epigenetic signatures underlying inflammation: an interplay of nutrition, physical activity, metabolic diseases, and environmental factors for personalized nutrition. *Inflammation Research*. 2021: 70(1); 29-49.
- Ravelli ACJ, van der Meulen JHP, Osmond C, Barker DJP, Bleker OP. Obesity at the age of 50 y in men and women exposed to famine prenatally. *Am J Clin Nutr*, 1999: 70(5); 811-816.
- Ravelli ACJ, Van der Meulen JHP, Osmond C, Barker DJP, Bleker OP. Infant feeding and adult glucose tolerance, lipid profile, blood pressure, and obesity. *Arch Dis Childh*, 2000: 82(3); 248-252.
- Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N. Dose translation from animal to human studies revisited. *The FASEB Journal*, 2008: 22(3); 659-661.
- Ribeiro ACAF, Batista TH, Veronesi VB, Giusti-Paiva A, Vilela FC. Cafeteria diet during the gestation period programs developmental and behavioral courses in the offspring. *Int J Dev Neurosci*, 2018: 68; 45-52.
- Riolo G, Cantara S, Marzocchi C, Ricci C. miRNA Targets: From Prediction Tools to Experimental Validation. *Methods Protoc*, 2021: 4(1); 1.
- Rodriguez A, Miettunen J, Henriksen TB, Olsen J, Obel C, Taanila A, Ebeling H, Linnet KM, Moilanen I, Järvelin MR. Maternal adiposity prior to pregnancy is associated with ADHD symptoms in offspring: evidence from three prospective pregnancy cohorts. *Int J Obes*, 2005: 32(3); 550-557.
- Roh E, Kim MS. Brain regulation of energy metabolism. *Endocrinol Metab (Seoul)*, 2016: 31(4); 519-524.
- Romieu I, Dossus L, Barquera S, Blotière HM, Franks PW, Gunter M, Hwalla N, Hursting SD, Leitzmann M, Margetts B, Nishida C, Potischman N, Seidell J, Stepien M, Wang Y, Westerterp K, Winichagoon P, Wiseman M, Willett WC. Energy balance and obesity: what are the main drivers? *Cancer Causes and Control*, 2017: 28(3); 247-258.
- Roseboom TJ, Van Der Meulen JH, Ravelli AC, Osmond C, Barker DJ, Bleker OP. Effects of prenatal exposure to the Dutch famine on adult disease in later life: an overview. *Twin Res Hum Genet*, 2001: 4(5); 293-298.
- Ruager-Martin R, Hyde MJ, Modi N. Maternal obesity and infant outcomes. *Early Hum Dev*, 2010: 86(11); 715-722.

- Sahoo K, Sahoo B, Choudhury AK, Sofi NY, Kumar R, Bhadoria AS. Childhood obesity: causes and consequences. *Fam Med Prim Care Rev*, 2015: 4(2); 187.
- Sampey BP, Vanhoose AM, Winfield HM, Freemerman AJ, Muehlbauer MJ, Fueger PT, Newgard CB, Makowski L. Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet. *Obesity*, 2011: 19(6); 1109-1117.
- Sánchez-Blanco C, Amusquivar E, Bispo K, Herrera E. Influence of cafeteria diet and fish oil in pregnancy and lactation on pups' body weight and fatty acid profiles in rats. *Eur J Nutr*, 2016: 55(4); 1741-1753.
- Şanlı E, Kabaran S. Maternal obesity, maternal overnutrition and fetal programming: effects of epigenetic mechanisms on the development of metabolic disorders. *Curr Genomics*, 2019: 20(6); 419.
- Sartorelli DS, Crivellenti LC, Zuccolotto DCC, Franco LJ. Relationship between minimally and ultra-processed food intake during pregnancy with obesity and gestational diabetes mellitus. *Cad Saude Publica*, 2019: 35(4); e00049318.
- Schaefer-Graf UM, Graf K, Kulbacka I, Kjos SL, Dudenhausen J, Vetter K, Herrera E. Maternal Lipids as Strong Determinants of Fetal Environment and Growth in Pregnancies With Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 2008: 31(9); 1858-1863.
- Schulz LC. The Dutch Hunger Winter and the developmental origins of health and disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010: 107(39); 16757-16758.
- Schwinkendorf DR, Tsatsos NG, Gosnell BA, Mashek DG. Effects of central administration of distinct fatty acids on hypothalamic neuropeptide expression and energy metabolism. *Int J Obes*, 2011: 35(3) 336-344.
- Seneviratne SN, Rajindrajith S. Fetal programming of obesity and type 2 diabetes. *World J Diabetes*, 2022: 13(7); 482-497.
- Shahidi F, Miraliakbari H. Omega-3 fatty acids in health and disease: Part 2- Health effects of omega-3 fatty acids in autoimmune diseases, mental health, and gene expression. *J Med Food*, 2005: 8(2); 133-148.
- Shankar K, Harrell A, Liu X, Gilchrist JM, Ronis MJJ, Badger TM. Maternal obesity at conception programs obesity in the offspring. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2008: 294(2); 528-538.
- Shrestha N, Sleep SL, Cuffe JSM, Holland OJ, Perkins Av, Yau SY, McAinch AJ, Hryciw, DH. Role of omega-6 and omega-3 fatty acids in fetal programming. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2020: 47(5); 907-915.
- Siemelink M, Verhoef A, Dormans J, Span P. Dietary fatty acid composition during pregnancy and lactation in the rat programs growth and glucose metabolism in the offspring. *Diabetologia*, 2002:45(10); 1397-1403.
- Silva APS, Guimarães DE, Mizurini DM, Maia IC, Ortiz- Costa S, Sardinha FL, Tavares do Carmo MG. Dietary fatty acids early in life affect lipid metabolism and adiposity in young rats. *Lipids*, 2006: 41(6), 535-541.

- Simopoulos AP. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother*, 2002; 56(8); 365-379.
- Simopoulos AP. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Exp Biol Med*, 2008; 233(6); 674-688.
- Simopoulos AP. An increase in the omega-6/omega-3 fatty acid ratio increases the risk for obesity. *Nutrients*, 2016; 8(3); 128.
- Sinclair KD, Allegrucci C, Singh R, Gardner DS, Sebastian S, Bispham J, Thurston A, Huntley JF, Rees WD, Maloney CA, Lea RG, Craigon J, McEvoy, TG, Young LE. DNA methylation, insulin resistance, and blood pressure in offspring determined by maternal periconceptional B vitamin and methionine status. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007; 104(49); 19351-19356.
- Singh GR, Hoy WE. Kidney volume, blood pressure, and albuminuria: findings in an Australian aboriginal community. *Am J Kidney Dis*, 2004; 43(2); 254-259.
- Snoeck A, Remacle C, Reusens B, Hoet JJ. Effect of a low protein diet during pregnancy on the fetal rat endocrine pancreas. *Neonatology*, 1990; 57(2); 107-118.
- Sobrevia L, Myatt L, Rice G. Diseases of pregnancy and fetal programming: Cell and molecular mechanisms. *Biomed Res Int*, 2014; 9(1); 1-16
- Speight A, Davey WG, McKenna E, Voigt JPW. Exposure to a maternal cafeteria diet changes open-field behaviour in the developing offspring. *Int J Dev Neurosci*, 2017; 57; 34-40.
- Stanner SA, Yudkin JS. Fetal programming and the Leningrad Siege study. *Twin Res Hum Genet*, 2001; 4(5); 287-292.
- Steculorum SM, Bouret SG. Maternal diabetes compromises the organization of hypothalamic feeding circuits and impairs leptin sensitivity in offspring. *Endocrinology*, 2011; 152(11); 4171-4179.
- Stewart RJC, Preece RF, Sheppard HG. Twelve generations of marginal protein deficiency. *Br J Nutr*, 1975; 33(2); 233-253.
- Stout SA, Espel Ev, Sandman CA, Glynn LM, Davis EP. Fetal programming of children's obesity risk. *Psychoneuroendocrinology*, 2015; 53; 29-39.
- Stoutjesdijk E, Schaafsma A, Dijck-Brouwer DAJ, Muskiet FAJ. Fish oil supplemental dose needed to reach 1 g% DHA+EPA in mature milk. *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids*, 2018; 128; 53-61.
- Sullivan EL, Nousen EK, Chamlou KA. Maternal high fat diet consumption during the perinatal period programs offspring behavior. *Physiol Behav*, 2014; 123; 236-242.
- Sullivan EL, Rivera HM, True CA, Franco JG, Baquero K, Dean TA, Valleau JC, Takahashi DL, Frazee T, Hanna G, Kirigiti MA, Bauman LA, Grove KL, Kievit P. Maternal and postnatal high-fat diet consumption programs energy balance and hypothalamic melanocortin signaling in nonhuman primate offspring. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2017; 313(2); 169-179.
- Taheri S, Zararsiz G, Karaburgu S, Borlu M, Ozgun MT, Karaca Z, Tanriverdi F, Dunder M, Kelestimur F, Unluhizarci K. Is idiopathic hirsutism (IH) really idiopathic?

- mRNA expressions of skin steroidogenic enzymes in women with IH. *Eur J Endocrinol*, 2015: 173(4); 447-454.
- Taheri S, Karaca Z, Mehmetbeyoglu E, Hamurcu Z, Yilmaz Z, Dal F, Kelestimur F. The role of apoptosis and autophagy in the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis after traumatic brain injury (TBI). *Int J Mol Sci*, 2022: 23(24); 15699.
- Tajaddini A, Kendig MD, Prates Kv, Frederick Westbrook R, Morris MJ. Male rat offspring are more impacted by maternal obesity induced by cafeteria diet than females—additive effect of postweaning diet. *Int J Mol Sci*, 2022: 23(3); 1442-1447.
- Tanda R, Salsberry PJ, Reagan PB, Fang MZ. The impact of prepregnancy obesity on children's cognitive test scores. *Matern Child Health J*, 2013: 17(2); 222-229.
- Tie HT, Xia YY, Zeng YS, Zhang Y, Dai CL, Guo JJ, Zhao Y. Risk of childhood overweight or obesity associated with excessive weight gain during pregnancy: A meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*, 2014: 289(2); 247-257.
- Valent D, Arroyo L, Fàbrega E, Font-I-Furnols M, Rodríguez-Palmero M, Moreno-Muñoz JA, Tibau J, Bassols A. Effects of a high-fat-diet supplemented with probiotics and ω 3-fatty acids on appetite regulatory neuropeptides and neurotransmitters in a pig model. *Benef Microbes*, 2020: 11(4); 347-359.
- van Eijsden M, Hornstra G, van der Wal MF, Vrijkotte TGM, Bonsel GJ. Maternal n-3, n-6, and trans fatty acid profile early in pregnancy and term birth weight: a prospective cohort study. *Am J Clin Nutr*, 2008: 87(4); 887-895.
- van Lieshout RJ, Taylor VH, Boyle MH. Pre-pregnancy and pregnancy obesity and neurodevelopmental outcomes in offspring: a systematic review. *Obes Rev*, 2011: 12(5); 548-559.
- Vogt MC, Paeger L, Hess S, Steculorum SM, Awazawa M, Hampel B, Neupert S, Nicholls HT, Mauer J, Hausen AC, Predel R, Kloppenburg P, Horvath TL, Brüning JC. neonatal insulin action impairs hypothalamic neurocircuit formation in response to maternal high-fat feeding. *Cell*, 2014: 156(3); 495-509.
- Vohra MS, Benchoula K, Serpell CJ, Hwa WE. AgRP/NPY and POMC neurons in the arcuate nucleus and their potential role in treatment of obesity. *Eur J Pharmacol*, 2021: 174611.
- Vrijkotte TGM, Algera SJ, Brouwer IA, van Eijsden M, Twickler MB. Maternal triglyceride levels during early pregnancy are associated with birth weight and postnatal growth. *J Pediatr*, 2011: 159(5); 736-742.
- Wang Y, Wang X, Kong Y, Zhang JH, Zeng Q. The Great Chinese Famine leads to shorter and overweight females in chongqing chinese population after 50 years. *Obesity*, 2010: 18(3); 588-592.
- White CL, Purpera MN, Morrison CD. Maternal obesity is necessary for programming effect of high-fat diet on offspring. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2009: 296(5); 1464-1472.
- Wyrwoll CS, Mark PJ, Mori TA, Puddey IB, Waddell BJ. Prevention of programmed hyperleptinemia and hypertension by postnatal dietary ω -3 fatty acids. *Endocrinology*, 2006: 147(1); 599-606.

- Xavier S, Gili J, McGowan P, Younesi S, Wright PFA, Walker DW, Spencer SJ, Sominsky L. High maternal omega-3 supplementation dysregulates body weight and leptin in newborn male and female rats: Implications for hypothalamic developmental programming. *Nutrients*, 2021: 13(1); 1-19.
- Yang Z, Zhao W, Zhang X, Mu R, Zhai Y, Kong L, Chen C. Impact of famine during pregnancy and infancy on health in adulthood. *Obes Rev*, 2008: 9(1); 95-99.
- Yehuda S, Rabinovitz S, Mostofsky DI. Mixture of essential fatty acids lowers test anxiety. *Nutr Neurosci* 2013: 8(4); 265-267.
- Yu Z, Han S, Zhu J, Sun X, Ji C, Guo X. Pre-pregnancy body mass index in relation to infant birth weight and offspring overweight/obesity: a systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*, 2013: 8(4); 61627.
- Zhan C, Zhou J, Feng Q, Zhang JE, Lin S, Bao J, Luo M. Acute and long-term suppression of feeding behavior by pomc neurons in the brainstem and hypothalamus, respectively. *J Neurosci*, 2013: 33(8); 3624-3632.
- Zheng J, Xiao X, Zhang Q, Yu M. DNA methylation: the pivotal interaction between early-life nutrition and glucose metabolism in later life. *Br J Nutr*, 2014: 112(11); 1850-1857.
- Zheng X, Wang Y, Ren W, Luo R, Zhang S, Zhang JH, Zeng Q. Risk of metabolic syndrome in adults exposed to the great Chinese famine during the fetal life and early childhood. *Eur J Clin Nutr*, 2012: 66(2); 231-236.
- Zulkafli IS, Waddell BJ, Mark PJ. postnatal dietary omega-3 fatty acid supplementation rescues glucocorticoid-programmed adiposity, hypertension, and hyperlipidemia in male rat offspring raised on a high-fat diet. *Endocrinology*, 2013: 154(9); 3110-3117.

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı



Tarih: 03.02.2021

Toplantı Sayısı: 02

Karar No:21/42

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 03.02.2021 tarihinde Prof. Dr. Gültekin ATALAN 'nın başkanlığında toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Ünvanı	Bölümü
Gültekin ATALAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi
Coşkun TEZ	Prof. Dr.	Fen Fakültesi
Vehbi GÜNEŞ	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi
Füsun Ferda ERDOĞAN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
Yusuf KONCA	Prof. Dr.	Ziraat Fakültesi
Ahmet ÖZTÜRK	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
M. Betül AYCAN	Prof. Dr.	Eczacılık Fakültesi
Ayşe EKEN	Prof. Dr.	Eczacılık Fakültesi
Zühal HAMURCU	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
Sezer DEMİRBUĞA	Doç. Dr.	Dış Hekimliği Fakültesi
İbrahim KARAMAN	Doç. Dr.	Tıp Fakültesi
Çağrı Çağlar SİNMEZ	Doç. Dr.	Veteriner Fakültesi
Zeynep CAFEROĞLU	Dr.Öğr.Üyesi	Sağlık Bilimleri Fakültesi
İzzet Burçın SATICIOĞLU	Arş. Gör. Dr.	Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezi ERÜTAM
Umut ALPMAN	Arş. Gör.	Genom ve Kök Hücre Merkezi (GENKÖK)
Mustafa ERMİŞ	Veteriner Hekim	Deneyel Araştırmalar Uygulama ve Arş.Mrkz.
Ali KOÇ	Kurumla İlişkisi Olmayan Üye	Sivil Üye
Mehmet TAV	Dernek Üyesi (Avukat)	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi

Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimler Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü'nden Dr.Öğr.Üyesi Zeynep CAFEROĞLU tarafından sunulan "Maternal Kafoterya Diyeti Ve Omega-3 Takviyesinin Yavrulardaki Bazı Gen Ekspresyonlarına Etkisi" başlıklı proje incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi.

Tarih

: 03.02.2021

Ek. 2. Turnitin Raporu

Tez Savunma Sonrası

ORJİNALLİK RAPORU

% **10**
BENZERLİK ENDEKSİ

% **10**
İNTERNET KAYNAKLARI

% **1**
YAYINLAR

% **2**
ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	%4
2	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	%2
3	Submitted to Erciyes Üniversitesi Öğrenci Ödevi	%1
4	beslenmevediyetdergisi.org İnternet Kaynağı	<%1
5	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	<%1
6	kongre.akademikiletisim.com İnternet Kaynağı	<%1
7	dspace.akdeniz.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
8	www.dynavit.com.tr İnternet Kaynağı	<%1
9	wcssr.org İnternet Kaynağı	<%1

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Aslıhan Koç
Uyruğu: Türkiye (TC)

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Ortaöğretim	Merzifon Anadolu Lisesi	2012
Lisans	Hacettepe Üniversitesi	2016

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2019-2021	Aslıhan Koç Beslenme ve Diyet Danışmanlığı	Diyetisyen

YABANCI DİL

İngilizce

YAYINLAR

YÜRÜK AA, TAMER F, Bodur M, Duran A, İnel M, Karaarslan C, ... Kale S. (2016). Preliminary look to some nutrients involved in neurotransmitter synthesis and premenstrual symptoms. 41st FEBS Congress, Kuşadası, Turkey. 5-6 September 2016.