YÜKSEK YAĞLI BESLENME MODELİNDE FARKLI YAĞ TİPLERİNİN BEYİN LEPTİN VE ADİPONEKTİN DÜZEYLERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Ferda Hoşgörler,
Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD.
Başar Koç,
Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD.
Servet Kızıldağ
Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu

ÖZET

Leptin ve adiponektin hormonları, yağ ve glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde rolleri son dekatta anlaşılmış olan hormonlardır. Bu hormonların kan beyin bariyerini geçerek beyinde artan düzeylerinin kognitif fonksiyonlara olumlu etkiler gösterdiği son yıllarda ortaya koyulmuştur. Bu hormonların beslenmeyle ilişkili kan düzeyleri değişmektedir. Yağlı beslenmede bu hormonların beyindeki düzeylerinin nasıl değiştiği açık değildir. Çalışmanın amacı farklı yağ tipleriyle yüksek yağlı beslenmenin beyindeki Leptin ve Adiponektin düzeylerine etkisini araştırmaktır. Swis albino fareler 6 grupta randomize edildi (margarin, tereyağı, ayçiçek yağı, zeytin yağı, hindistan cevizi yağı ve kontrol grupları). Yedi hafta süreyle yüksek yağ içerikli beslenmeye tabi tutuldular. Beyin dokularında Leptin, Adiponektin düzeyleri ve reseptörlerinin düzeyleri incelendi. Leptin düzeyleri tereyağı grubunda, adiponektin düzeyleri hindistancevizi yağı grubunda kontrole göre azalmış bulundu. Reseptörlerinin düzeylerinde anlamlı değişiklik saptanmadı. Tereyağı ve hindistancevizi yağının yüksek oranda alındığı diyetlerde beyin Leptin ve Adiponektin düzeyleri olumsuz etkilenmektedir. Bu durum kognitif fonksiyonların bozulmasına yol açabilir.

GİRİŞ

1994 yılında Zhang ve arkadaşları tarafından keşfedilen leptin, sitokinlere benzeyen protein yapısında bir hormondur (1). Leptin, en çok beyaz yağ dokusundan, az oranda karaciğer, mide, meme, barsak ve birçok dokudan salgılanır (2,3). Yağ depolarının düzenlenmesini sağlayan tokluk hormonu olarak bilinen hormondur. Glukozun hücre içine girişini, yağ asitlerinin oksidasyonunu kolaylaştırır ve yağların yağ dokusu dışında depolanmasını önler. Obesitede düzeyleri yükesk çıkmaktadır. Obeslerde leptinin artmış düzeyleri vücutta inflamasyona yol açarak kardiyavasküler hastalıklara, Tip 2 diabete, dejeneratif hastalıklara proinflamatuvar özelliğiyle zemin hazırlar. Leptinin düşüklüğü de Treg hücrelerini aktifleştirerek immun baskılanmaya ve infeksiyonlara yol açar (4). 4 ten sonrası artacak

Leptin'in dolaşımdaki yarı ömrü yaklaşık 30 dakikadır ve pulsatif olarak yemeklerden 2-3 saat sonra salgılanmaktadır (5). Leptin, adipositlerden beyine (özellikle hipotalamusa) negatif feedback etki ile gıda alımını düzenler ve obezite gelişmesini engeller (6). Leptin santral sinir sistemine plazma seviyeleri ile orantılı olarak geçer ve iştahı artırıcı etkisi olan nöropeptid-Y'nin arkuat nükleus'da ekspresyonunu ve salgısını inhibe eder (7). Yapılan çalışmalarda leptinin birçok mediyatör ile etkileşim içinde olduğunu; beyin bölgelerinde nöronal / sinaptik işlevi ve yapıyı değiştirerek nöronal sağkalımı ve proliferasyonu etkilediği; öğrenme, bellek ve diğer bilişsel fonksiyonlarda iyileşme sağladığı; bilişsel performansı bozan hasarlara karşı direnci artırdığı gözlenmiştir. Deneysel Alz Heimer modellerinde beyinde toksik amiloid beta (Aβ) birikimini ve fosforile Tau birikimini önlediği ve hafızayı iyileştirdiği gözlenmiştir (8). Leptinin doğrudan hipokampusa enjeksiyonunda da hafızanın ve sinaptik plastisitenin iyileştiği görülmüştür (9). Deneysel nörotoksinle oluşturulan Parkinson modelinde de Leptinin mitokondriyal membran potansiyelini ve ATP düzeylerini düzenleyerek dopaminerjik nöronları koruduğu gözlenmiştir (10).

Adiponektin 1995 yılında keşfedilen, yağ dokusundan salgınan, insülin duyarlılığını artıran, anti-enflamatuar bir protein hormondur, lipit ve glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (11, 12). Adiponektin, karaciğer, yağ dokusu, iskelet kası, pankreasın ß hücreleri, immun sistem hücreleri, böbrek, kalp ve merkezi sinir sistemi hücrelerinde etki gösterir (13). Beyinde AdipoR1 ve AdipoR2 reseptörleri üzerinden enerji hemeostazını, nörogenezisi, sinaptik plastisiteyi düzenleyerek nöroprotektif, antidepresan etki göstermektedir (14). Beyinde beyin omurilik sıvısında (BOS) azalan adiponektin düzeylerinin Alzheimer hastalığının progresyonunu artırdığı öne sürülmüştür. BOS'ta adiponektin düzeylerinin azalmasının kognitif fonksiyonları, hafızayı olumsuz etkilediği gözlenmiştir. BOS'da adiponektinin azalmasının Alz Heimer

hastalığının progresyonuyla ilişkili görülmüştür (15). AdipoR1 reseptörü eksik olan farelerde de nörolojik bozukluklar, hafızada bozulma, hippocampal nöronlarda azalma ve beyinde Aβ protein artışı görülmüştür (16).

Adiponektin düzeylerinin obezlerde ve insülin direnci olanlarda salgısının azalmasıyla ilişkili düşük olduğu görülmüştür (17). Adiponektin seviyesi, vücut yağ kitlesi, merkezi yağ dağılımı, açlık plazma insülini ile negatif korelasyon gösterir (18). Yüksek enerjili beslenme, fiziksel aktivitelerde meydana gelen azalmalar, insülin direnci, obezite ve metabolik sendrom günümüzde modern toplumlarda önemli sağlık sorunları haline gelmiştir. Bu nedenle vücutta salgılanan obesiteyle ilişkili hormonlar, proteinler, diyet ve egzersizler daha fazla araştırma konusu haline gelmiştir. Adipoz doku, obezite ve egzersiz üzerine yapılan çalışmalar arttıkça leptin ve adiponektin gibi hormonlar üzerine çalışmalar artmaktadır. Leptin ve adiponektin iskelet kasında yağ asidi oksidasyonunu artırarak obesitenin engellenmesinde önemli rol üstlenmektedir (19). Leptin ve adiponektin hormonlarının plazma seviyesi, vücut yağ dokusu oranı, cinsiyet, yaş ve yaşam şekli gibi birçok değişkenden etkilenebilmektedir. Omega-3 poliansatüre yağ asitlerinin artmış tüketiminin plazma adiponektin düzeylerini artırdığı gözlenmiştir (20). Akdeniz diyeti ve DASH diyeti bitkisel ağırlıklı, enerji değeri düşük beslenme, lifli beslenme, polifenoller, süt ürünlerinin de adiponektin düzeylerine olumlu etkileri rapor edilmiştir. Doymuş yağlar, batı diyeti, monosakkarid, disakkarid ve kırmızı etin adiponektin düzeylerine olumsuz etkileri gözlenmiştir. Yüksek glisemik indeksli karbonhidrattan yüksek, yağdan düşük beslenme de adiponektin düzeylerini olumsuz etkilemektedir (21). Omega-3 takviyesi alanlarda adiponektin düzeylerinin artığı, polyansatüre yağ asitleri takviyesi alan Tip 2 diabetlilerde AdipoR1 ve AdipoR2 düzeylerinin arttığı gözlenmiştir (22,23). Hindistan cevizi yağının yüksek dozda verildiği bir deneysel çalışmada hipokampal leptin ve leptin reseptörü seviyelerinin azaldığı, belleğin olumsuz etkilendiği tespit edilmiştir (24). Başka bir çalışmada düşük doz Hindistan cevizi yağının hafıza üzerindeki iyileştirici etkisi gösterilmiştir (25).

Yapılan çalışmalar beslenme tipinin Leptin ve Adiponektinin kan düzeylerine etkilerini göstermiştir. Leptin ve Adiponektin, hem obesiteyle mücadelede hem de bilişsel işlevlerin iyileştirilmesinde önemli etkilere sahiptirler. Leptin ve Adiponektinin santral sinir sistemindeki olumlu etkinliklerinin ortaya çıkmasında beyin dokusundaki düzeyleri önem kazanmaktadır. Farklı yağ tipleriyle beslenmenin beyindeki Leptin, Adiponektin ve reseptörleri üzerine etkisi üzerine yeterli araştırma yapılmamıştır. Bu çalışmanın amacı farklı yağ tipleriyle beslenmenin Leptin, Adiponektin düzeylerine ve bunların reseptör düzeylerine etkisini araştırmaktır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Denekler ve Deneysel Prosedürler

Bu araştırmada 64 adet 4 aylık dişi Swiss Albino fareler (Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deney Hayvan Laboratuvarı, İzmir, Türkiye) kullanılmıştır. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (21/02/2018 tarihli 31/2018 karar no) deney prosedürlerini uygun bulmuştur. Tüm fareler 23±1°C oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık periyod sağlanarak her kafeste 3- 4 hayvan olacak şekilde, yemlerine ve suya serbestçe erişebilecekleri konumda bulundurulmuştur. Gruplar için hayvan seçimi rasgele yapılarak 6 deney grubu oluşturulmuştur.

Deney grupları

Margarin (n=14)

Tereyağı (TY, n=10)

Ayçiçek yağı (AY, n=10)

Zeytinyağı (ZY, n=10)

Hindistan cevizi yağı (HCY, n=10)

Kontrol (K, n=10)

7 haftalık beslenme sürecinin sonunda fareler CO2 anestezisi altında kansızlaştırma sonrasında dekapitasyon uygulanarak beyin dokuları kafatasından nazikçe çıkarılmıştır. Beyin dokuları ölçümler yapılana dek -80°C'de saklanmıştır. Beyin dokuları BioSpec Mini-Beadbeater-16 (BioSpec Products Inc., USA) cihazı kullanılarak PBS solüsyonunda homojenize edilmiş ve 5000 g'de 15 dakika 4°C'de santrifüj edilmiştir. Homojenat supernatantları ELISA yönteminde kullanılmıştır.

Yağlı Beslenme Modeli

Bu beş farklı yağ, %10 oranında Benmari yöntemi ile yeme emdirilerek, her bir yağ çeşidi ile hazırlanmış yemler önceden hazırlanarak, her grup 7 hafta boyunca bu yem ile beslenmiştir. Yemlerin kalori içerikleri Tablo 1'de verilmiştir. Standart yem %11, yük yağlı yemler %21 oranında yağ içeriğinde hazırlanmıştır. Yemler haftalık hazırlanarak +4 °C'de saklanmıştır. Tüketilen yem ve su miktarı her gün tartılarak kaydedilmiştir. Denekler de her hafta tartılarak ağırlık takibi yapılmıştır.

Tablo 1. Yemlerin kalori içerikleri

kalori içeriği	**kontrol**	**tereyağı**	**zeytinyağı**	**ayçiçek yağı**	**hindistan cevizi yağı**	**margarin**
100 kalori/100 gr	322,6	716,8	885,1	884,1	862,1	716,8
%10 yağ eklenmiş kalori	322,6	289+72 361	289+89 378	289+88 377	289+86 375	289+72 361

ELISA Yöntemi

Leptin (Mouse Leptin ELISA kit, Bioassay Technology Laboratory, Shanghai, China; Cat.No: E0652Mo , Standard Curve Range: 10ng/L – 2000ng/L, Sensitivity: 5.56 ng/L) , Leptin Reseptörü (Mouse Leptin Receptor ELISA Kit, Bioassay Technology Laboratory, Shanghai, China; Cat.No: E0650Mo, Standard Curve Range: 0.05ng/mL - 30ng/mL, Sensitivity: 0.022ng/mL), Adiponektin (Mouse Adiponectin ELISA kit, Bioassay Technology Laboratory, Shanghai, China: Cat.No: E0246Mo , Standard Curve Range: 0.2mg/L – 60mg/L, Sensitivity: 0.093mg/L), Adiponektin Reseptörü (Mouse Adiponectin Receptor 1 ELISA Kit, Bioassay Technology Laboratory, Shanghai, China; Cat.No: E0850Mo, Standard Curve Range: 0.5ng/mL – 200ng/mL , Sensitivity: 0.28ng/mL) analizleri beyin dokusu homojenatlarında ELISA yöntemi ile kit protokolüne uygun olarak yapılmıştır.

İstatistik analizler

Verilerin istatistik analizinde SPSS 22 (IBM,Turkey) yazılımı kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğunu değerlendirmek üzere Shapiro-Wilk testi yapıldı. Biyokimyasal veriler için tek-yönlü-ANOVA yapıldı. Veriler normal dağılıma uygun değilse Kruskal Wallis testi uygulandı. Grup varyanslarının homojenliğini değerlendirmek üzere Levene testi uygulandı. Grupların varyansları homojen ise post-hoc Tukey, homojen değil ise Tamhane testi uygulandı. $p<0.05$ değerler anlamlı kabul edildi. Sonuçlar ortalama ± S.E.M olarak verildi.

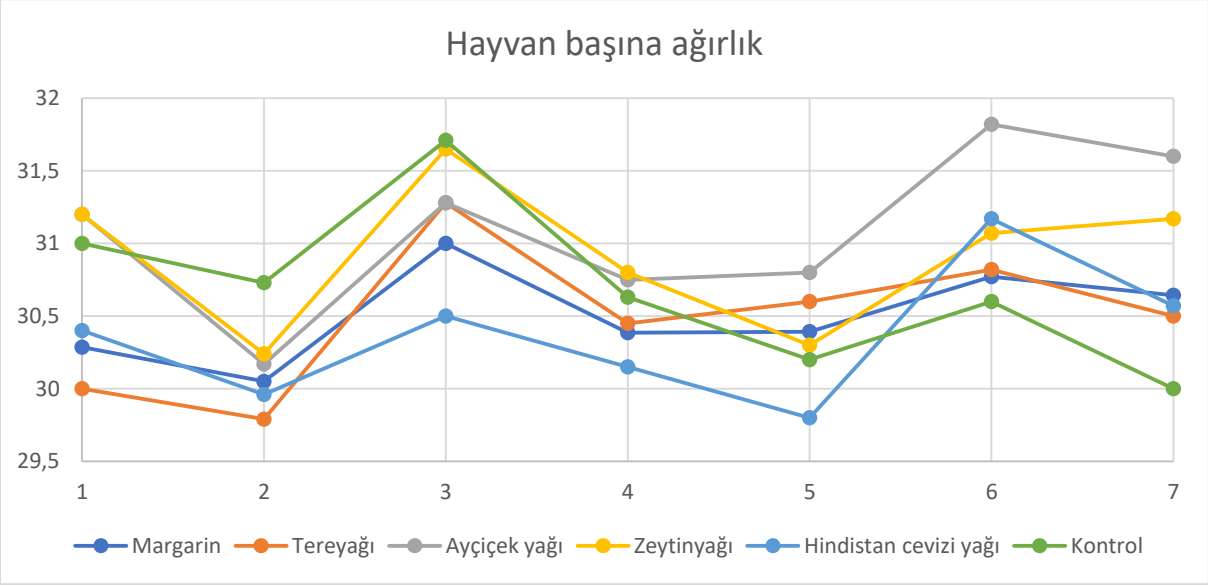
SONUÇLAR

Haftalık kilo kontrollerinde gruplar arası kilo artışı saptanmadı (Tablo 1, Figür 1). Beyin Leptin düzeyleri tereyağı grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulundu ($p=0.046$, Figür 2). Leptin reseptör düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi (Figür 3). Adiponektin düzeyleri

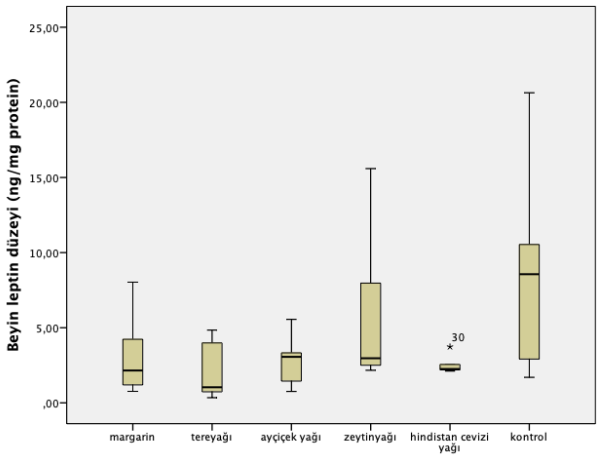
hindistancevizi yağı grubunda kontrol grubuna göre anlamlı azalmış bulundu (p=0.023, Figür 4). Beyin Adiponektin reseptör düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi (Figür 5).

Tablo 7: Haftalık kilo ölçüm sonuçları

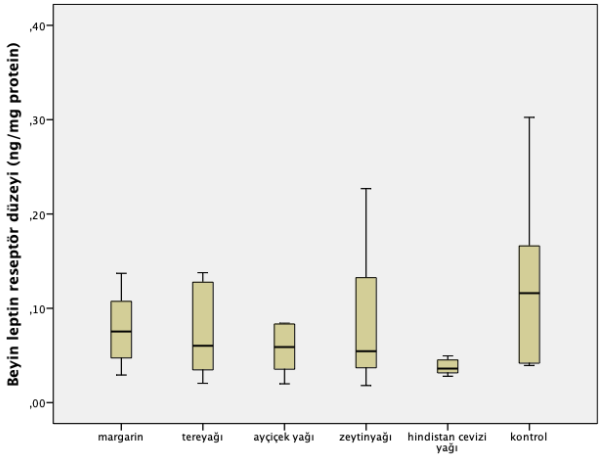
Hayvan başına ağırlık	Margarin	Tereyağı	Ayçiçek yağı	Zeytinyağı	Hindistan cevizi yağı	Kontrol
Hafta 1	30,28571429	30	31,2	31,2	30,4	31
Hafta 2	30,05	29,79	30,17	30,24	29,96	30,73
Hafta 3	31	31,28	31,28	31,65	30,5	31,71
Hafta 4	30,38571429	30,45	30,75	30,8	30,15	30,63
Hafta 5	30,39285714	30,6	30,8	30,3	29,8	30,2
Hafta 6	30,77142857	30,82	31,82	31,07	31,17	30,6
Hafta 7	30,64285714	30,5	31,6	31,17	30,57	30



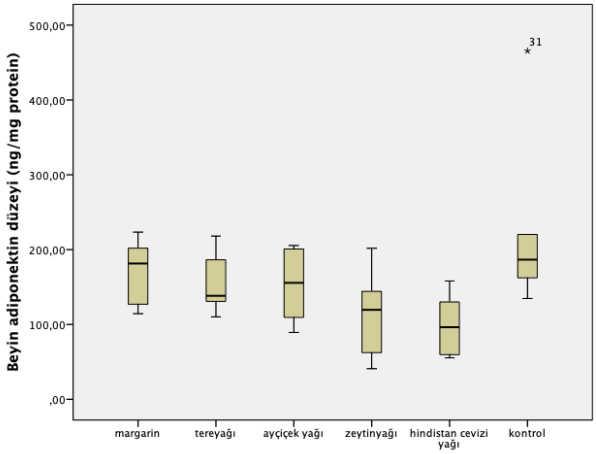
Şekil 25: Gruplarda haftalık kilo değişimi



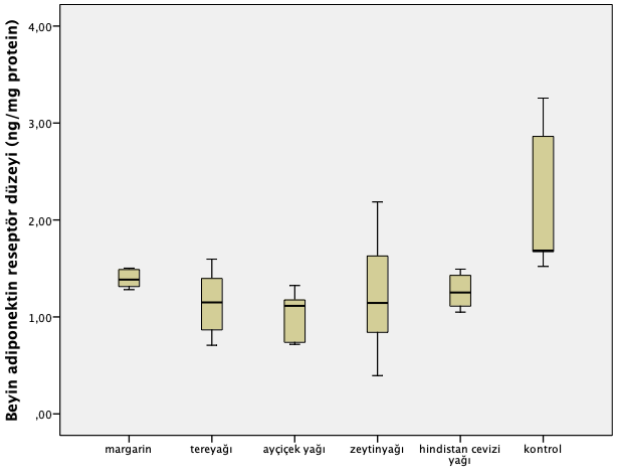
Şekil 2: Beyin Leptin düzeyleri TY grubunda K grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulundu (p=0.046).



Şekil 3: Beyin Leptin reseptör düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi.



Şekil 4: Beyin Adiponektin düzeyleri HCY grubunda K grubuna göre anlamlı azalmış bulundu (p=0.023).



Şekil 5: Beyin Adiponektin reseptör düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi..

TARTIŞMA

Deneysel modelimizde yüksek yağ oranlı beslenmede tereyağı ve hindistan cevizi yağının beyindeki Leptin ve Adiponektin düzeylerine olumsuz etkisi ortaya koyulmuştur. Hindistan cevizi yağının yüksek oranda verilmesinin hipokampal leptin ve reseptörlerini düşürdüğü ve belleği olumsuz etkilediği rapor edilmiştir (24). Diğer bir çalışmada düşük oranda hindistancevizi yağının lipit profiline olumlu etkiler gösterdiği kaydedilmiştir (25). Yapılan başka bir çalışmada da 8 hafta %17.5 hindistancevizi yağının beyaz yağ dokuda adiponektin salgısını düşürdüğü görülmüştür (26). Bizim deneyimizde paralel sonuç elde edilmiştir. Adiponektinin beyin düzeylerindeki düşüklük paralel olarak kan düzeylerindeki düşüklükle ilişkili olabilir. Çalışmamızda farelere 7 hafta süreyle yüksek yağlı diyet uygulanmıştır. Fareler için 9 gün kabaca bir insan yılı, 1 fare günü ise 40 insan gününe tekabül etmektedir (27). Bizim çalışmamızda fareler 49 gün yani 5 insan yılı yağlı beslenmeye tabi tutuldular. Kısa süreli ve düşük yağ içerikli hindistan cevizi yağıyla beslenmede olumlu etkiler gözlenirken biz uzun süreli ve yüksek yağ içeriğiyle beslenmede olumsuz etki gözlemledik. Farelerin haftalık kilo ölçümlerinde belirgin bir kilo artışı gözlenmedi. Bu durum yağlı beslenmenin tokluk süresini uzatması ve daha düşük karbonhidrat seviyesine maruz kalmaları ile ilişkili olabilir. Tereyağı içeren yüksek yağlı bir beslenme modelinde 11 hafta diyet sonrasında farelerin kan örneklerinde leptin düzeyleri yüksek saptanmıştır (28). Leptin düzeyleri obeslerde kan beyin bariyerinin Leptine geçirgenliğini değiştirmektedir. Kandaki Leptin düzeyleri artışı obesite ve beyinde düşük Leptin düzeyleriyle sonuçlanabilir. Bizim çalışmamızda tereyağlı beslenmede beyinde leptin düzeylerinin düşme eğiliminde olması Leptine kan beyin bariyeri geçirgenliğinin azalması ile ilişkili olabilir (29).

Uzun süreli yüksek yağ içeriğiyle beslenmede obesite gelişmese de beyindeki leptin ve adiponektin düzeylerinin düşme trendinde olduğunu gördük. Sonuç olarak Hindistan cevizi ve tereyağının yüksek içerikli ve uzun süre alınması Leptin ve Adiponektin düzeylerini olumsuz etkilemektedir. Leptin ve Adiponektinin beyinde yüksek düzeyleri kognitif fonksiyonları iyileştirdiğinden, beyinde azalmış düzeyleri hafıza, problem çözme gibi işlevlerde bozulma oluşturabilir.

Kaynaklar

1- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature [Internet]. 1994 Dec 1 [cited 2021 Jan 20];372(6505):425–32. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7984236/

2-Tartaglia LA. The leptin receptor [Internet]. Vol. 272, Journal of Biological Chemistry. American Society for Biochemistry and Molecular Biology Inc.; 1997 [cited 2021 Jan 20]. p. 6093–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9102398/

3-Aslan K, Serdar Z, Tokullugil HA. Multifonksiyonel Hormon: Leptin. Vol. 30, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2004.

4- La Cava, A., Leptin in inflammation and autoimmunity. Cytokine, 2017. 98: p. 51-58.

5- Boden G, Chen X, Mozzoli M, Ryan I. Effect of fasting on serum leptin in normal human subjects. J Clin Endocrinol Metab [Internet]. 1996 Sep [cited 2021 Jan 20];81(9):3419–23. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8784108/

6-Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, et al. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. Science (80-) [Internet]. 1995 [cited 2021 Jan 20];269(5223):540–3. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7624776/

7- Spitzweg C, Heufelder AE. More clues from fat mice: Leptin acts as an opponent of the hypothalamic neuropeptide Y system [Internet]. Vol. 136, European Journal of Endocrinology. BioScientifica Ltd.; 1997 [cited 2021 Jan 20]. p. 590–1. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9225721/

8- Li, X.M., et al., The role of leptin in central nervous system diseases. Neuroreport, 2016. 27(5): p. 350-5.

9-Lu, X.Y., et al., Leptin: a potential novel antidepressant. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. 103(5): p. 1593-8.

10- (3) Ho, P.W., et al., Mitochondrial uncoupling protein-2 (UCP2) mediates leptin protection against MPP+ toxicity in neuronal cells. Neurotox Res, 2010. 17(4): p. 332-43.

11- Havel PJ. Control of energy homeostasis and insulin action by adipocyte hormones: Leptin, acylation stimulating protein, and adiponectin [Internet]. Vol. 13, Current Opinion in Lipidology. Curr Opin Lipidol; 2002 [cited 2021 Jan 20]. p. 51–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11790963/

12- Harrison RG, Greenman MJ, Mall FP, Jackson CM. Observations of the living developing nerve fiber. Anat Rec [Internet]. 1907 Jun 1 [cited 2020 Sep 9];1(5):116–28. Available from: https://www.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ar.1090010503

13- Rui L. Energy metabolism in the liver. Compr Physiol [Internet]. 2014 [cited 2021 Jan 20];4(1):177–97. Available from: /pmc/articles/PMC4050641/?report=abstract

14- Ng, R.C., et al., Chronic adiponectin deficiency leads to Alzheimer's disease-like cognitive impairments and pathologies through AMPK inactivation and cerebral insulin resistance in aged mice. Mol Neurodegener, 2016. 11(1): p. 71.

15- Waragai, M., et al., Importance of adiponectin activity in the pathogenesis of Alzheimer's disease. Ann Clin Transl Neurol, 2017. 4(8): p. 591-600.

16- Kim, M.W., et al., Suppression of adiponectin receptor 1 promotes memory dysfunction and Alzheimer's disease-like pathologies. Sci Rep, 2017. 7(1): p. 12435.

17- Nigro E, Scudiero O, Monaco ML, Palmieri A, Mazzarella G, Costagliola C, et al. New insight into adiponectin role in obesity and obesity-related diseases [Internet]. Vol. 2014, BioMed Research International. Hindawi Publishing Corporation; 2014 [cited 2021 Jan 20]. Available from: /pmc/articles/PMC4109424/?report=abstract

18- Lee SY, Kang HJ, Hur SJ. Overview of energy intake, physical activity, and neuronal substances on obesity. Food Life [Internet]. 2020 Jul 31 [cited 2021 Jan 20];2020(1):1–11. Available from: http://www.foodnlife.org/archive/view_article?doi=10.5851/fl.2020.e3

19- Nurnazahiah A, Lua PL, Shahril MR. Adiponectin, leptin and objectively measured physical activity in adults: A narrative review [Internet]. Vol. 23, Malaysian Journal of Medical Sciences. Penerbit Universiti Sains Malaysia; 2016 [cited 2021 Jan 20]. p. 7–24. Available from: /pmc/articles/PMC5181988/?report=abstract

20- Mostowik, M., et al., Omega-3 polyunsaturated fatty acids increase plasma adiponectin to leptin ratio in stable coronary artery disease. Cardiovasc Drugs Ther, 2013. 27(4): p. 289-95.

21- Janiszewska, J., J. Ostrowska, and D. Szostak-Węgierek, The Influence of Nutrition on Adiponectin-A Narrative Review. Nutrients, 2021. 13(5).

22- Barbosa, M.M., A.L. Melo, and N.R. Damasceno, The benefits of ω-3 supplementation depend on adiponectin basal level and adiponectin increase after the supplementation: A randomized clinical trial. Nutrition, 2017. 34: p. 7-13.

23- Mazaherioun, M., et al., Beneficial effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on adiponectin levels and AdipoR gene expression in patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial. Arch Med Sci, 2017. 13(4): p. 716-724.

24- Lin C-I, Shen C-F, Hsu T-H, Lin S-H. A High-Fructose-High-Coconut Oil Diet Induces Dysregulating Expressions of Hippocampal Leptin and Stearoyl-CoA Desaturase, and Spatial Memory Deficits in Rats. Nutrients [Internet]. 2017 Jun 16 [cited 2021 Jan 17];9(6):619. Available from: http://www.mdpi.com/2072-6643/9/6/619

25- Nevin KG, Rajamohan T. Beneficial effects of virgin coconut oil on lipid parameters and in vitro LDL oxidation. Clin Biochem. 2004;37(9):830–5.

26- Bueno AA, Oyama LM, de Oliveira C, Pisani LP, Ribeiro EB, Silveira VL, Oller do Nascimento CM. Effects of different fatty acids and dietary lipids on adiponectin gene expression in 3T3-L1 cells and C57BL/6J mice adipose tissue. Pflugers Arch. 2008 Jan;455(4):701-9.

27- Dutta, S. and P. Sengupta, Men and mice: Relating their ages. Life Sci, 2016. 152: p. 244-8.

28-Maioli TU, Gonçalves JL, Miranda MC, Martins VD, Horta LS, Moreira TG, Godard AL, Santiago AF, Faria AM. High sugar and butter (HSB) diet induces obesity and metabolic syndrome with decrease in regulatory T cells in adipose tissue of mice. Inflamm Res. 2016 Feb;65(2):169-78. doi: 10.1007/s00011-015-0902-1. Epub 2015 Dec 9. PMID: 26650032.

29-Amitani, M., et al., *The role of leptin in the control of insulin-glucose axis.* Front Neurosci, 2013. **7**: p. 51.