

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DEĞİŞİK LİPİDLER İLE BESLENMENİN  
BEYİN LİPİD BİLEŞİMİNE ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ  
DR. PINAR AKAN ( HAMAMCIOĞLU )

YÖNETEN  
PROF. DR. MERAL FADİLOĞLU

İZMİR - 1998

Bu tezin konusunu oluşturan 0923 94. 01. 10 No ' lu proje D.E.Ü.T.F. Araştırma  
Fon Saymanlığınca desteklenmiştir.

## TEŞEKKÜR

Yetişmemde ve tez çalışmamın yürütülebilmesi için bana her türlü olanağı sağlayan , tezimin her aşamasında yakın ilgi , destek ve katkısı bulunan değerli hocam D.E.Ü.T.F. Biyokimya A.B.D. Öğretim Üyesi Prof. Dr. Sn. Meral Fadiloğlu ' na, artık aramızda bulunmayan ve rahmetle andığımız Anabilim Dalımızın eski başkanı Prof. Dr. Sn. Ruhi Töre ' ye , Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Sn. Banu Önvural ' a , yetişmemde katkıları bulunan Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri ' ne , çalışma materyalimizin eldesinde , projenin birinci kısmını gerçekleştirerek bizim bu çalışmamıza olanak sağlayan Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Sn. Hülya Güven ' e , aynı Anabilim Dalının Öğretim Üyesi Doç. Dr. Sn. Sedef Gidener ve çalışma arkadaşlarına , tezimin değerlendirme aşamasında yakın ilgi ve değerli katkıları olan Doç. Dr. Sn. Rüksan Çehreli ' ye , beyin dokusu yağ asidi ölçümlerinin gaz - kromatografik olarak gerçekleşmesini sağlayarak , yakın ilgisini gördüğümüz İzmir İli Kalite Kontrol ve Pestisit Lab. Şefi Sn. Güngör Tufan ' a , tez çalışmam sırasında bana yardımcı olan başta Uzm. Dr. Sn. Murat Örmen olmak üzere Biyokimya A.B.D. ' nın tüm çalışanlarına teşekkür ederim.

Dr. Pınar Akan ( Hamamcıoğlu )

## İÇİNDEKİLER

Tablo Listesi	
Grafik Listesi	
Şekil Listesi	
Resim Listesi	
Kısaltmalar	

### BİRİNCİ BÖLÜM

1.0. Giriş ve amaç	1
--------------------	---

### İKİNCİ BÖLÜM

2.0. Genel Bilgiler	4
2.1. İnsan Sinir Sisteminde Lipidlerin Yer Aldığı Morfolojik Yapılar Ve Fonksiyonları	4
2.1.1. Beyin Dokusunun Genel Yapısal Özellikleri	5
2.1.2. Beyinin Genel Kimyasal Yapısı Ve Diğer Yapıtaşları arasında Lipidlerin Yeri	8
2.1.2.1. Kolin	10
2.1.3. Beyin Lipidleri	11
2.1.3.1. Myelin Lipidleri	12
2.2. Beyin Dokusu Fosfolipid Metabolizması	15
2.2.1. Nöral Membran Fosfolipidlerinin Metabolik Ve Fonksiyonel Durumları	16
2.2.1.1. Myelinde Fosfolipid Sentezi	16
2.2.2. Membrana Bağımlı Enzimlerin Fosfolipidler Ve Diğer Metabolitler ile Düzenlenmesi	17
2.3. Kolesterol Metabolizması	18

2.4. Yağ Asidi Metabolizması	21
2.5. Beyin Lipid Metabolizması Ve Beslenmenin Etkileri	28
2.5.1. Yenidoğanlarda Lipid Beslenmesinin Beyin Gelişmesindeki Önemi	29
2.6. Patolojik Ve Fizyolojik Olaylarda Beyindeki Lipid Metabolizmasının Rolü Ve Beyin Lipid Profilindeki Değişikliklerle Birlikte Görülen Hastalıklar	31

## ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

3.0. Gereç Ve Yöntemler	34
3.1. Kullanılan Gereçler	34
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	35
3.2. Deneysel Modelin Planlanması , Deney Hayvanı Seçimi Ve Çalışma Materyallerinin Elde Edilmesi	36
3.3. Yöntemler	38
3.3.1. Beyin Lipid Ekstrelerinin Hazırlanması	38
3.3.2. Beyin Dokusu Total Fosfolipid Analizi	39
3.3.3. Beyin Dokusu Fosfolipidlerinin Ayrılması	40
3.3.3.1. İnce Tabaka Kromatografi Yönteminin Uygulanması	40
3.3.4. Beyin Dokusu Kolesterol Fraksiyonlarının İnce Tabaka Kromatografisi İle Ayrılması	42
3.3.5. Beyin Dokusu Total Kolesterol Düzeylerinin Enzimatik Yöntemler İle Belirlenmesi	43
3.3.6. Serbest Kolesterol Ölçümü	44
3.3.7. Beyin Dokusu Yağ Asidi Metil Esterlerinin Gaz Kromatografisi İle Belirlenmesi	46

## DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

4.0. Bulgular	50
5.0 Tartışma Ve Sonuç	70
Özet	86
Kaynaklar	88

## TABLO LİSTESİ

1. İnsan sinir sistemi	4
2. Lipid sınıfları ve fonksiyonları	11
3. Myelin lipid ve protein kompozisyonu	14
4. Zincir uzunluklarına göre yağ asidlerinin sınıflandırılması	23
5. Memeli dokularındaki önemli yağ asidleri	24
6. Çeşitli yağlarda doymuş ve doymamış yağ asidlerinin oransal dağılımı	25
7. Bazı besinlerin yağ , yağ asidleri ve kolesterol içerikleri	25
8. Eksperimental diyetin yağ asidi profili	37
9. Standart stok rat yeminin kompozisyonu	37
10. Gaz-kromatografisi çalışma şartları	49
11. Farklı diyet gruplarının beyin dokusu total, serbest ve ester kolesterol düzeyleri ile fosfolipid fraksiyonlarının değerleri	51
12. Deney gruplarının beyin dokusu yağ asidi profilleri	52
13. Farklı diyetler ile beslenen ratlarda diyetin gelişme hızı ve serum lipidleri üzerine etkileri	53

## GRAFİK LİSTESİ

1. Farklı diyet gruplarının ve kontrol grubunun beyin dokusu kolesterol ve fosfolipid değerleri	54
2. Farklı diyet gruplarının beyin dokusu fosfolipid değerleri	54
3. Diyet gruplarının beyin dokusu yağ asidi yüzdeleri	55
4. Beyin dokusu esansiyel ve çoklu doymamış yağ asidi yüzdeleri	55
5. Kontrol grubunun beyin dokusu kolesterol yüzdeleri	61
6. Zeytinyağı ile beslenen grubun beyin dokusu kolesterol yüzdeleri	61
7. Palm yağı ile beslenen grubun beyin dokusu kolesterol yüzdeleri	62
8. Tereyağ ile beslenen grubun beyin dokusu kolesterol yüzdeleri	62
9. Margarin ile beslenen grubun beyin dokusu kolesterol yüdeleri	63

## ŞEKİL LİSTESİ

1. Motor nöronun şematize resmi	6
2. A- Oligodendrosit , akson ve myelin ilişkisi	7
2. B- Myelin kılıfının elektronmikroskopik görünümü	7
3. Sinir sistemi enerji kullanım alanları	8
4. Nörokimyasal aktiviteyi etkileyen biyokimyasal yollar	9
5. Kolinin kimyasal yapısı	10
6. Akson , myelin kılıf , schwann hücresinin şematize resmi	12
7. Fosfatidilkolin ve fosfatidiletanolaminin kimyasal yapısı	15
8. Fosfolipidlerin biyosentez reaksiyonları	17
9. Kolesterolün yapısı	19
10. Kolesterol biyosentez reaksiyonları	20
11. Omega-3 ve omega-6 poliansatüre yağ asidlerinin retrokonversiyon desaturasyon ve elongasyon reaksiyonları	26
12. Esansiyel yağ asidi eksikliğinde biriken omega-9 eikosatrienoik asid sentezi	27



## RESİM LİSTESİ

1. Hewlett Packard Gaz-Kromatografi cihazı	47
2. n-Hekzan / dietileter / glasielasetik asit banyosunda ayrıştırılan beyin dokusu kolesterol ince tabaka kromatogramı	64
3. Petrolium eter / dietileter / glasiel asetik asit banyosunda ayrıştırılan beyin dokusu kolesterol ince tabaka kromatogramı	65
4. Kendi hazırladığımız plak ile yapılan beyin dokusu kolesterol ince tabaka kromatogramı	66
5. Kontrol ve deney gruplarının beyin dokusu fosfolipid ince tabaka kromatogramı	67

## KISALTMALAR

LP	:	Lipoprotein
DPA	:	Dokosapentaenoik asit ( 22:5 )
DHA	:	Dokosaheksaenoik asit ( 22:6 )
GLK	:	Gaz-likit kromatografi
İTK	:	İnce tabaka kromatografisi
SSS	:	Santral sinir sistemi
TK	:	Total kolesterol
EK	:	Ester kolesterol
SK	:	Serbest kolesterol
PL	:	Fosfolipid
S	:	Sfingomyelin
PC	:	Fosfatidilkolin
PI	:	Fosfatidilinositol
PS	:	Fosfatidilserin
PE	:	Fosfatidiletanolamin
PG	:	Fosfatidilgliserol
ATP	:	Adenozintrifosfat

## BİRİNCİ BÖLÜM

### 1.0. GİRİŞ VE AMAÇ

Lipidler normal gelişim ve büyümede çok önemli fonksiyonları olan bir grup bileşiktir. Potansiyel bir enerji kaynağı olan lipidler önemli yapı taşları olmalarının yanısıra elektriksel yalıtıcılar olarak etki göstermek suretiyle miyelinli sinirler boyunca depolarizasyon dalgalarının hızla yayılmasına olanak sağlarlar ( 1 ). Özellikle poliansatüre yağ asitlerinin hastalıkta ve sağlıktaki rolü günümüzde halen araştırılan önemli bir konudur.

İnsan sinir sistemi, yağ dokusundan sonra kuru ağırlığının yaklaşık yarısını oluşturacak şekilde ikinci sırada en fazla miktarda lipid içeriğine sahiptir (2). Bu lipidlerin tamamına yakını enerji metabolizması ile direkt bağlantılı olmadan strüktürel görev üstlenirler. Beyin gelişimi genetik olarak programlanmış bir süreçtir. Diğer vücut organları ile karşılaştırıldığında beyin lipidlerinin büyük çoğunluğu diyetel faktörler ile çok az değişikliğe uğramaktadır. Bununla birlikte en son yayınlar uzun süreli belirli diyet yağları almakla beyin membranlarındaki yağ asitlerinde değişiklikler olduğunu göstermişlerdir. Organizmanın en mükemmel postmitotik hücrelerinden oluşan sinir sisteminin, erken gelişim döneminde özellikle lipid içeriklerinin alınan diyetlerle değiştirilebileceği artık kabul edilen bir gerçektir. Yedi ay gibi uzun süreli belirli diyetleri kullanmakla beyin membranlarındaki yağ asid oranlarının değişmesi ile birlikte Na-K ATP 'ase gibi membran enzimlerinde de farklılıklar olduğu gözlenmiştir ( 3 ).

Beyin dokusu fosfolipidleri özellikle (omega -3) serilerinden zengin poliansatüre yağ asitlerinden oluşmuştur. Ayrıca sinaptik membranlar da dokosohekzaenoikasid gibi (omega-3) yağ asitlerinden zengindir. Dokosohekzaenoik asid ile diyetle linolenik asid tüketimi arasında pozitif bir ilişki olduğunu gösteren bir çok çalışma vardır . İnsan sinir sistemi gelişme döneminde , gerekli olan esansiyel yağ asidleri , fetusa anneden plasenta yolu ile ve daha sonraki postnatal dönemde anne sütü veya yapay mamalar ile sağlanır (4 , 5 ).

Esansiyel yağ asidlerinin eksikliği , kendini yapısal değişikliklerin yanısıra daha çok prostaglandin metabolizma bozuklukları ve immun sistem üzerindeki olumsuz etkileri ile gösterir. Ratlarda beyin gelişimi sırasında yetersiz linolenik asid (18:3 omega-3 ) , alınımına bağlı eksiklik semptomları bu yağ asidinden zengin diyet takviyesi ile düzeltilebilmiştir ( 3, 6 ).

Günümüzde, infantil dönemdeki diyetsel yağ ihtiyacı anne sütünün yanısıra yapay formulalar ile de sağlanır. infant formülalarında genellikle yağ asidi kaynağı olarak ya mısır yağı ya da soya yağı kullanılmaktadır. Hem termide hem de preterm formüllü beslenen infantlarda yapılan çalışmalarda dolaşımdaki uzun zincirli doymamış yağ asidlerinin oranı, meme ile beslenen infantlara göre daha düşük bulunmuştur. Zincir elongasyon olayları doğumda immatürdür ve hayatın ilk bir kaç ayından sonra olgunlaşır ( 6 ). Infant formüllerinde kullanılan yağların düzey ve bileşimindeki değişikliklerin infantların serum ve doku yağ asidi ve dolayısıyla beyin lipid profilini nasıl etkilediği çok önemli bir konudur.

Yaşlanma sonucunda beyin dokusunda önemli fonksiyonel ve yapısal değişiklikler olmaktadır. Beyin yüksek metabolik aktivitesi nedeniyle çok daha fazla serbest radikal kullanmakta ve bunun sonucu olarak daha fazla serbest radikal oluşmaktadır. Bünyesinde doymamış yağ asitlerini fazla miktarda bulunduran beyin dokusu serbest radikallere karşı daha hassas durumdadır. Yaşlılıkta , beyinde serbest radikal üretimine karşı defans mekanizmaları azalmıştır. Beyin dokusunda lipid sentezi , fosfolipid turnoverinin azalması aynı zamanda arasıdonik asit metabolizmasının azalması ile sonuçlanmıştır ( 7 ).

Bu çalışmada organizmadaki fizyolojik önemi çok iyi bilinen lipidlerin, özellikle erken gelişim döneminde beyin dokusundaki oluşum süreçlerini etkileyen diyetsel faktörler incelenmeye çalışıldı. Bu çalışmanın amacı çoklu doymuş , çoklu doymamış ve tekli doymamış yağ asidlerinden zengin diyetlerin beyin lipid profilini ne derece etkilediğini bulmak ve bu şekilde diyetsel farklılıkların beyin gelişim ve fonksiyonlarını etkileme sürecini belirlemektir. Bu nedenle belirli oranlarda yemlerine margarin, tereyağ, palm yağı ve zeytinyağı emdirilmiş ratlar iki ay süreyle beslendi ve beyin total kolesterol, ester

kolesterol, fosfolipid fraksiyonları ve total yağ asid yüzdelerindeki değişiklikler incelendi. Günümüzün modern toplumunda ( 18:3 , omega-3) linolenik asid gibi esansiyel yağ asidlerinden fakir bir beslenmenin olduğu göz önüne alınırsa tüketilen diyetin yağ asidi profilinin beyin lipid bileşimine etkisi çok daha fazla önem kazanmaktadır. Ayrıca beyin lipid metabolizmasını etkileyen faktörleri inceleyerek bazı nörolojik hastalıkların patogenezinine açıklık getirmek mümkün olabilecektir.



## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1. İNSAN SİNİR SİSTEMİNDE LİPİDLERİN ÖNEMLİ YER ALDIĞI MORFOLOJİK YAPILAR VE FONKSİYONLARI

Sinir dokusu, canlı organizmanın dış ortamdaki ilişkilerine yön veren ve organlar arasındaki düzenli çalışmayı sağlayan bir dokudur. Sinir hücreleri ve onların uzantılarından oluşur. İnsan sinir sistemi aşağıdaki tabloda da görüldüğü üzere Santral Sinir Sistemi ve Periferik Sinir Sistemi şeklinde iki ana başlık altında incelenebilir ( 8 ).

A) Santral sinir sistemi	
Beyin ve Spinal Kord	
B) Periferik sinir sistemi	
Kranial ve spinal sinirler ile afferent ( sensory ) , efferent ( motor ) sinir hücrelerini içerir.	
1.Somatik sinir sistemi	a)-Afferent b)-Efferent
2.Visseral sinir sistemi	a)-Afferent b)-Efferent (otonomik sinir sistemi ) -Sempatik -Parasempatik

**TABLO ( 1 )** İnsan sinir sistemi

Sinir sisteminin esas bölümlerini oluşturan beyin, beyincik, omurilik, periferik sinirler, sinir sonlanmaları, özel duyu organlarının fonksiyonel parçasındaki sinir dokuları birbirinden farklı yapısal değişiklikler gösterirler.

## 2.1.1. BEYİN DOKUSUNUN GENEL YAPISAL ÖZELLİKLERİ

Beyin dokusu beyaz ve gri madde olarak adlandırılan bölümlerden oluşmuştur. Gri madde nöronlardan meydana gelirken , beyaz madde ise akson ve bunu saran myelin kılıfından oluşmuştur. Akson , merkezi sinir sisteminde oligodendriogial hücrelerin , periferik sinir sisteminde ise schwann hücrelerinin oluşturduğu myelin kılıf ile sarılmıştır.

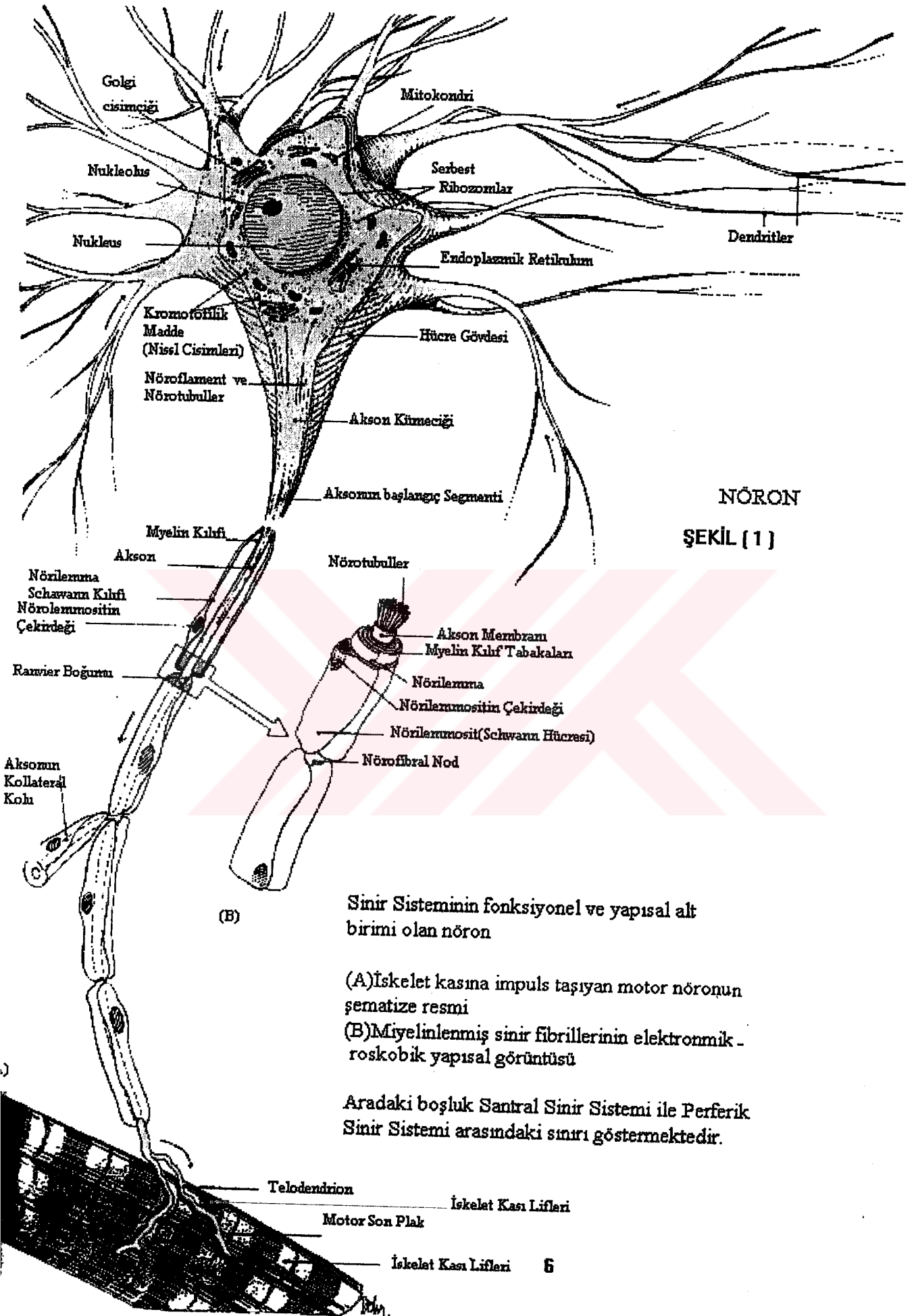
İlk kez Alman patalog Rudolf Virchow tarafından tanımı yapılan bu kılıf , aksonla doğrudan doğruya ilişkilidir. 0.8 - 1 mm aralıklarla kesintili bölgeler vermektedir. Bu bölgelere **Ranvier Boğumu** adı verilmektedir .

Sinir dokusunu oluşturan sinir hücreleri şekil ve görev bakımından birbirinden farklı iki gruba ayrılır : nöron ve nöroglia . Nöron sinir dokusunun temel yapı taşı iken , glial hücreler destekleyici , koruyucu ve beslenmeye aracı görev üstlenmişlerdir ( 9 ).

Nöron organizmanın diğer hücrelerine benzerliği yanında farklılıklar da gösterir. Sitoplazma ve uzantılarının içinde görülen ince fibriller yapılar nörofibrillerdir. Sentez edilen biyolojik materyelin hücre içi ve akson boyunca taşınmasını yönlendirirler. Yine sitoplazmada görülen özel aperey de nukleus yakınında bulunan golgi apereyidir. Çift zarlı , paket şeklinde , sisternal yapıda ve bol veziküllü organellerdir. Lipid ve fosfolipidlerden zengindirler. Mitokondriler ise presinaptik aksomal uçlarda daha yoğun bir şekilde bulunarak hücrenin metabolizması için gerekli enerjiyi sağlama görevini üstlenirler. Nöronlar postmitotik hücrelerdir. Bölünüp yeniden çoğalabilme özellikleri yoktur. Organizmanın en mükemmel , en gelişmiş hücreleridir. Şekil ( 1 ) ' de motor nöronunun şematize edilmiş resmi görülmektedir.

Akson sitoplazmasına aksoplazma denir . Sinir hücre sitoplazmasının % 65' i su ve içinde erimiş maddelerden oluşur. Aksoplazmada ise bu oran daha fazladır. Aksoplazmanın üzeri myelin kılıf ile sarılıdır. Akson sonlanırken sonlanma bölgesinde myelin kılıfı bırakır, hafifçe genişliyerek bir başka nöron veya efektör hücrede sinaptik bağlantısını yapar. Aksonun boyu iki mikrometreyi geçtiği zaman tek bir schwann hücresi kendi plazma membranını gererek akson çapını yüzlerce mikrometre boyunda sarar ( 10 ).

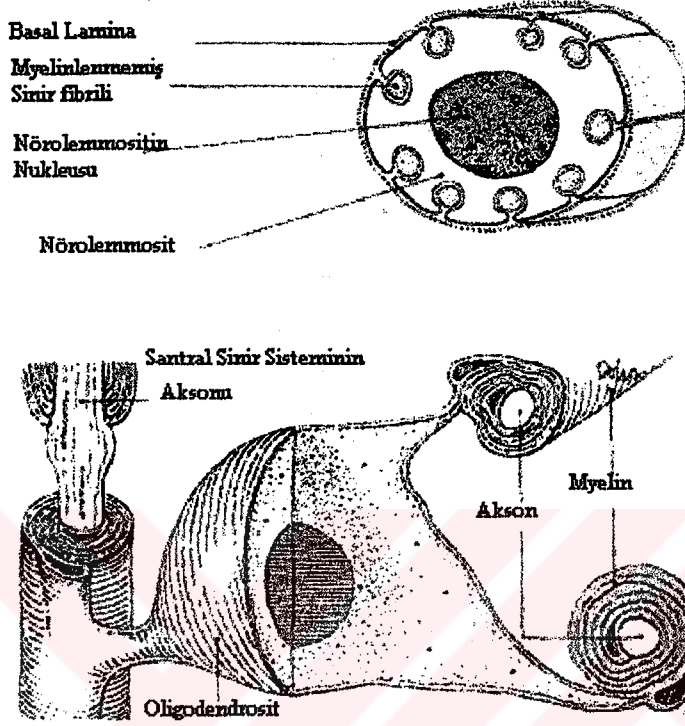
Glial hücrelerin en büyüğü olan astrositler , kan - beyin bariyerinde görev alan önemli hücresel yapılardan biridir. Aksonların ve nöronların yüzeyine bitişik olan hücre stoplazmasından çevreye uzanan kolları vardır. Bu uzantıların bir kısmı kapillerin dış yüzeyini baştan başa kaplamış durumda bulunurlar.



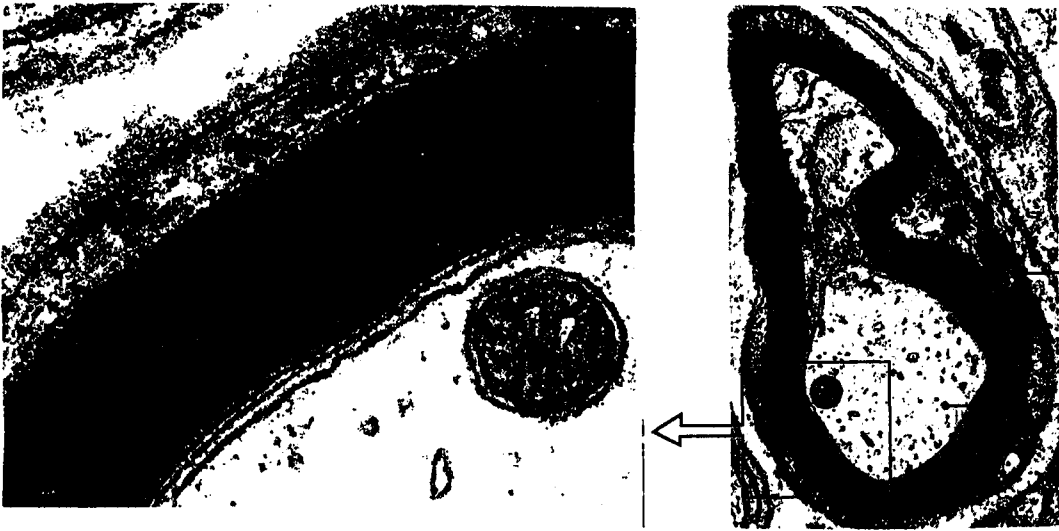


Akson , oligodendrosit ve myelin ilişkisi ( Şekil 2 - A ) 'da görülmektedir. Myelin kılıf , aksunun etrafını multilamellar bir yapı Şeklinde sarar ( Şekil 2 - B ).

ŞEKİL ( 2 - A )



ŞEKİL ( 2 - B )

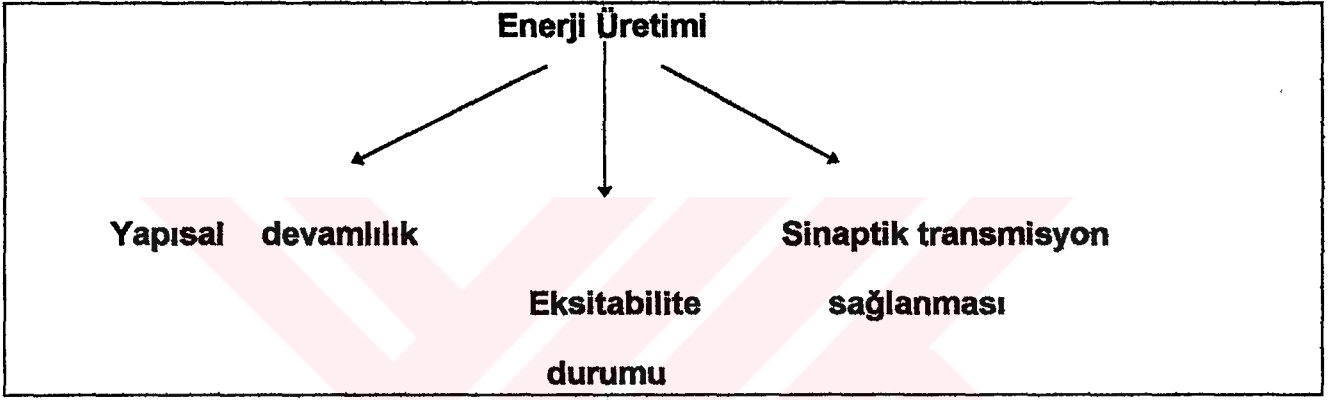


MİYELİN KILIFI

## 2.1.2. BEYİNİN GENEL KİMYASAL YAPISI VE DİĞER YAPI TAŞLARI ARASINDA LİPİDLERİN YERİ

Beyin diğer organlarda olduğu gibi lipidler , proteinler , polisakkaritler ve nükleik asitler gibi temel kimyasal yapılardan oluşur.Bu yapılar nöron ve gliaların sitolojik yapılarını meydana getirirlerken bir yandan da önemli metabolik aktiviteler için fonksiyonel birimleri oluştururlar.

Sinir sistemi vücutta bir noktadan diğer bir noktaya hızlı bir sinyal iletimini sağlar.Bu transmisyon önceden şekillenmiş anatomik yollar boyunca eksitabilite durumunu koruyarak elektriksel bir akımla ve sinir hücreleri arasında sinaptik aralıklarla birlikte periferde sinir-effektör hücresi arasında kimyasal bir iletim ile sağlanır.Sinir dokusunda üretilen enerji stürüktürün devamlılığını,eksitabilitenin ve sinaptik transmisyonun oluşturulmasını sağlar( 1). Aşağıda sinir sisteminde enerjinin temel kullanım alanları görülmektedir ;



Şekil (3)

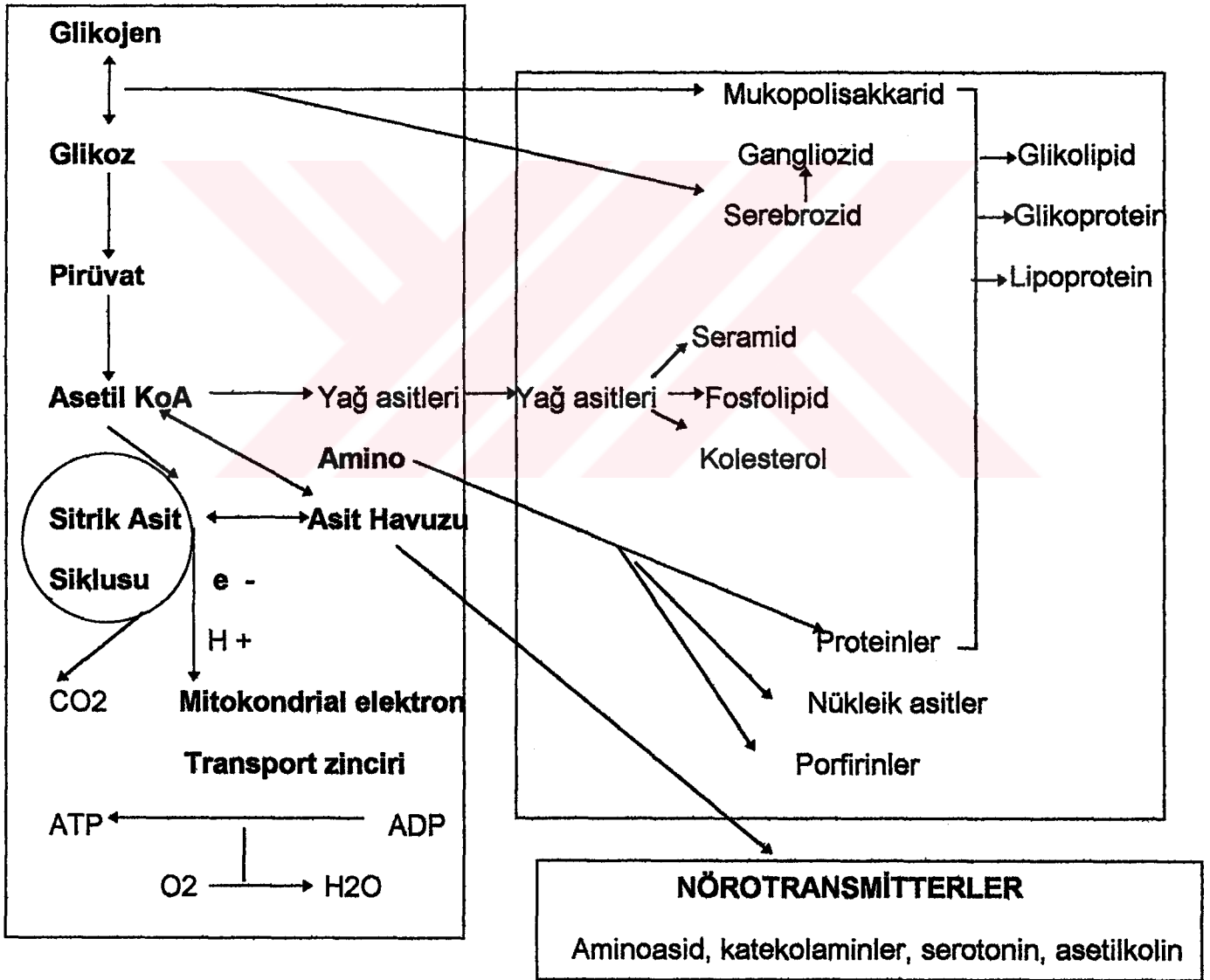
Beynin yaklaşık olarak % 70-78 'i sudur.Bu oran yaşa bağlı olarak değiştiği gibi bölgesel olarak da değişir. Omurilikte ve ak madde de gri maddeye oranla daha az miktarda su bulunur.

Sinir dokusunun katı maddeleri lipidler ve proteinlerden oluşur.Sinir iletimi olayında rol alan  $K^+$  ,  $Na^+$  ,fosfat ve klorürler yaklaşık olarak % 1 oranında bulunurlar.Beyinde proteinler sıklıkla nükleik asitler ve lipidlerle kombine durumda bulunurlar. Karışık bir nükleoprotein düzeneği içinde **Nissl Cisimciği** yapısını oluştururlar.Beyin dokusunda protein dağılışı diğer organlara kıyasla farklıdır.Proteinlerin hemen tamamına yakını globulinler oluşturur.Beyindeki aminoasitlerin bir kısmı lokal olarak transaminasyon gibi enzimatik yollarla ya da glukoz metabolizmasından yapılırlar. Aminoasitler ve diğer maddelerin beyine geçişi **kan beyin bariyeri** ile kontrol edilir.Beyinde homeostazise daha çok ihtiyaç vardır.Beyin vücuttaki herhangi bir kimyasal dengesizlikten korunmalıdır.Beyindeki homeostazis beyine kan sağlayan kapillerle özelleşmiştir.Bu kapillerlerin yapısı diğerlerine göre farklıdır.Diğer kapillerlerin duvarları çoğu maddeyi geçiren penentrabl " gap" ler içerir.Beyin kapillerleri ise " tight junction" lar ile bağlanan endotel hücrelerinden oluşur.Kapillerlerin bu solid duvarları rölatif olarak kan-beyin

bariyerini oluşturur ( 8 ).Beyinde bulunan aminoasitlerin total serebral konsantrasyonu kandakilere göre altı kat daha fazladır.Glutamik asit , gamma amino butirik asit ( GABA ) ve aspartik asit sadece beyinde yüksek konsantrasyonlarda bulunur.Aminoasitlerden bazıları nörotransmitter ve nöromediatör maddelerin öncüsü olarak ya da kendileri böyle bir fizyolojik düzenleyici olarak görev alırlar.Triptofandan serotonin , fenilalanininden dopamin ve noradrenalin meydana gelişi veya GABA 'nın durumunda olduğu gibi.

Serebral aminoasit konsantrasyonları optimal koşullarda oldukça stabildir.Ancak diyetle alınan aminoasitlerin devamlı eksikliği gibi durumlarda nöral stabilite bozularak sistemik ve nörolojik bozukluklara yol açılır.Aminoasitler sinir dokusunda diğer dokulardakinden farklı olarak protein ve peptitlerin meydana gelişinin yanısıra dekarboksilasyon , oksidasyon, transaminasyon , glukoz ve yağ asitleri metabolizmaları ile karşılıklı etkileşime girerler.Nörokimyasal aktiviteyi etkileyen en belli başlı kimyasal yollar şu şekilde şematize edilebilir ( 1 ).

ŞEKİL ( 4 )



### 2.1.2.1. Kolin

Kolin bütün membranların esansiyel komponenti olan fosfolipid , fosfotidilkolin , kolin plasmalojen ve sfingomiyelin yapımı için gereklidir. Bir nörotransmitter olan asetilkolinin biyosentezi için bir prekürsördür ve aynı zamanda labil metil gruplarının önemli bir vericisidir.

Kolinin yeniden kullanımı önemlidir. Çünkü kolinin denovo sentezi metiyoninden üç metil grubunun eklenmesini gerektirir (aktif formu S-adenozil metiyonin). Metiyonin de esansiyel bir aminoasittir. Bu aminoasit insan diyetinde sıklıkla eksik olduğu için kolin de esansiyel bir besin maddesi olabilir ( 11 ). Bazı araştırmacılar kolinin insanlar için esansiyel olduğunu aşağıdaki nedenler ile açıklamaya çalışmışlardır (12 ):

1. İnsan hücre kültürleri kolin ihtiyacı gösterir.
2. Kolinden fakir diyetle beslenen sağlıklı kişilerde plasma kolin konsantrasyonları düşer.
3. Kötü beslenen kişilerde plasma yada serum kolin düzeyleri azalmıştır.
4. Az miktarda ya da hiç kolinsiz sıvılarla intravenöz beslenen kişilerde kolin eksikliği olan hayvanlarda da görüldüğü gibi karaciğer disfonksiyonu gelişir.
5. Diğer memelilerde ( maymun gibi ) kolin eksikliği çeşitli karaciğer bozuklukları ile sonuçlanır.

Kolinin vazgeçilebilir olduğunu hesaba katmamız gereken nedenler ise şu şekilde açıklanmıştır( 12 );

1. Kolinin de novo biyosentezi fosfatidiletanolaminin seküental metilasyonu ile endojen yoldan sağlanabilir.
2. Sağlıklı insanlarda kolin eksikliğini ayırt edebilmek zordur. Çünkü çoğu besin kolin içerir ve kolin talebi büyüme hızına bağlıdır.
3. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda normal kişilerde deneysel olarak kolin eksikliğini indüklemeye hiç çalışılmadı. Bu nedenle kolinin esansiyel bir besin olduğuna dair elimizde kesin veriler yoktur.



**KOLİN**

**ŞEKİL ( 5 )**

### 2.1.3. Beyin Lipidleri

Beynin büyük bir kısmı takriben kuru ağırlığının yarısı lipidlerden yapılmıştır. Bu lipidler genel olarak kimyasal yapılarına ve taşıdıkları tanınabilen kimyasal gruplara göre sınıflandırılırlar. Rossiter'in yaptığı sınıflama bugün için de halen geçerliliğini korumaktadır( 13 ). Bu sınıflamaya göre lipidler 5 grup altında incelenmişlerdir.

#### A.Fosfolipidler

B.Glikolipidler ( Serebrozid , Sulfatid , Gangliozid , Strandin , Mukolipid )

C.Sabunlaşmayan lipidler ( Sterol , Hidrokarbon )

D.Nötral Yağlar ( Triglicerid )

E.Proteine bağlı lipidler ( Proteolipid , Fosfatido peptit , Lipoprotein )

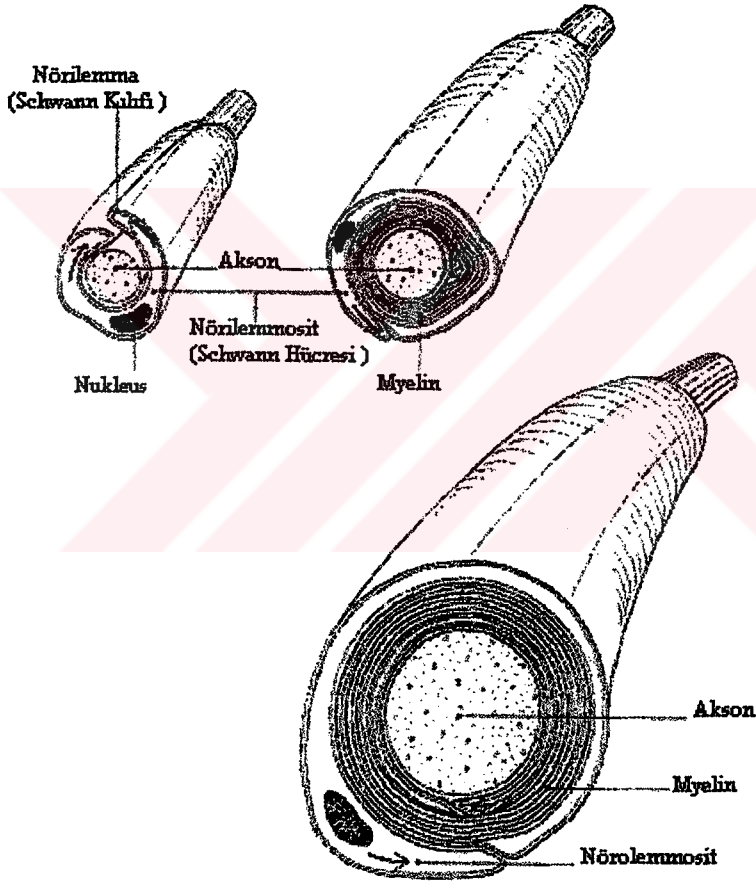
Korteks ve medullada lipidler farklı konsantrasyonlarda bulunurlar. Beyaz cevher başlıca miyelinli sinir lifleri ile glial hücrelerden , korteks ise nöronlarla birlikte bir miktar küçük miyelinli sinir lifleri ve glial hücrelerden yapılmıştır. Beyaz cevherde kortekse oranla daha fazla miyelin lipidleri bulunur. Korteksde ise daha çok gangliozidlerle lesitin ve sefalin türü lipidler hakim durumdadır. Daha düşük konsantrasyonlarda olmakla beraber medullada bulunan lipidler korteksde de bulunurlar. İnsan beyaz cevherinde bulunan fosfolipidler arasında plazmalojen , fosfatidilkolin , fosfatidilserin , fosfatidil etanolamin , sfingomiyelin yüksek konsantrasyonlarda mevcuttur( 13 ).

Beynin kuru ağırlığının % 20-30'u total fosfolipidler, % 7-13'ü sfingomiyelin %12-18 'i kolesterol , % 0-0.8'i ester kolesterol , % 10-16 'sı nötral serebrozid , % 1.6 ' sı sulfatid ve % 0.2-0.3 ' ü total hekzosaminlerden oluşur ( 14 ). Lipid sınıflarının fonksiyonları şu şekilde özetenebilir ( 15 , 16 ); **TABLO ( 2 )**

Lipid Sınıfı	Fonksiyonları
Açıl gliseroller	Yağ asidi saklanması Metabolik ara ürünler
Fosfolipidler	Membran strüktürü , akciğer surfaktanı yapısı, sinyal iletimi, araşidonik asit deposu
Steroller Kolesterol	Membran ve lipoproteinlerin yapısı, steroid hormon yapısı , yağ sindirimi ve absorpsiyonunda önemli olan safra tuzlarına indirgenmek
Yağ Asitleri	Major enerji şekli , çoğu lipidin bileşeni Prostaglandinlerin prekürsörü

### 2.1.3.1. Miyelin Lipidleri

Miyelin lipidleri bütün beyaz cevher lipidlerinin yaklaşık % 65' ini oluşturur. Gelişimini tamamlamış bir miyelinde kolesterol / fosfolipid / galaktolipid oranı 4 / 3 / 2 ' dir. Başlıca fosfolipid fosfatidil etanolamin , başlıca galaktolipid ise serebroziddir. Adult miyelinde kolesterol serbest formda bulunur. Kolesterol öncüsü desmosterol oranı miyelin gelişimi ile azalır. Sfingomiyelin beyin miyelinde periferik sisteme oranla daha düşük oranda bulunurken yaşla birlikte miktarı artar. Fosfatidiletanolamin total miyelin fosfolipidlerinin dörtte birini oluşturmaktadır. Difosfo ve trifosfoinositidler daha çok aksonal membranların yapısında bulunurlar ( 10 ).



**Akson, myelin kılıf ve schwann hücresinin şematize görünümü  
ŞEKİL ( 6 )**



Gelişim süreci boyunca memelilerin miyelin içeriklerinde önemli değişiklikler olur. Miyelin oluşumu memelilerin doğum sırasındaki matürasyonuna bağlı olarak doğumdan sonra da gelişimini sürdürmektedir. Bu özellikle rat gibi yenidoğanları oldukça immatür olan memeliler için söz konusudur. Miyelin matürasyonunun en iyi indikatörünün fosfatidiletanolamin / fosfatidilkolin oranı olduğu bildirilmiştir. Gelişim süreci içinde bu oran 1.25'den 1.7-1.8'e kadar değişebilir ( 17 ) . Matürasyonla birlikte fosfatidiletanolamin ve fosfatidilkolindeki 18:0 yağ asidlerinin azaldığı, 18:1 yağ asidlerinin arttığı belirlenmiştir. Sfingomiyelinde herhangi bir değişiklik gözlenmezken serebrozidlerin 18:0 ve 22:0 yağ asitlerinde azalma ,23:0, 24:0 ve özellikle 24:1 monoansatüre yağ asidlerinde artış gözlenmiştir .



## Miyelin Lipid Ve Protein Kompozisyonu ( 10 )

	<b>% Total Kuru Ağırlık</b>
Lipid	% 75
Protein	% 25
<b>Protein</b>	<b>% Total Protein Ağırlığı</b>
Miyelin basic protein	% 22.5
Proteolipid Proteinleri	% 30
Diğer 2H-20 Proteinleri	%17.5
Çözünür Tioetanol	%2.5
Diğer Proteinler ( Wolfgram , Glycoprotein )	% 27.5
<b>Lipid</b>	<b>%Total Lipid Ağırlığı</b>
Kolesterol	% 27.7
Serebrozid	% 22.7
Serebrozid sülfat	% 3.8
Fosfatidiletanolamin	% 15.6
Fosfatidilkolin	% 11.2
Plazmolojen	%12.3
Sfingomiyelin	% 7.9
Fosfatidilserin	% 4.8
Fosfatidilinositol	% 0.6
Gangliozidler	< % 1

( DEBER VE REYNOLDS 1991 ) **TABLO ( 3 )**



## 2.2. BEYİN DOKUSU FOSFOLİPİD METABOLİZMASI

Fosfolipidler , fosfodiester köprüsü ile ya diasilgliserole yada sfingozine bağlanmış bir alkolden oluşan polar ve iyonik bileşiklerdir.Yağ asitleri gibi her biri hidrofilik bir başa (fosfat grubu ve ona bağlı serin, etanolamin, kolin vs. ) ve uzun hidrofobik bir kuyruğa ( iki yağ asiti zinciri içerir. ) sahiptir. Molekülün hidrofobik bölümü membranların diğer polar olmayan bileşikleri ( glikolipidler, protein ve kolesterol ) ile birlikte bulunur. Fosfolipidin hidrofilik ( polar ) başı membranın dışına doğru uzanır.Membran dışı fosfolipidlerin vücutta başka rolleri bulunmaktadır ( ör; safrada, akciğer surfaktanının yapısında ve plazmada lipoprotein partiküllerinde olduğu gibi ). İki sınıf fosfolipid vardır ( 18 ) ;

### A.Fosfogliseridler

Gliserol içeren fosfolipidler fosfolipidlerin ana sınıfını oluşturur.

**1.Fosfatidik asit ve bir alkolden oluşan fosfolipidler** Fosfatidik asit (PA) üzerindeki fosfat grubu alkol grubu içeren başka bir bileşik ile esterleşebilir.

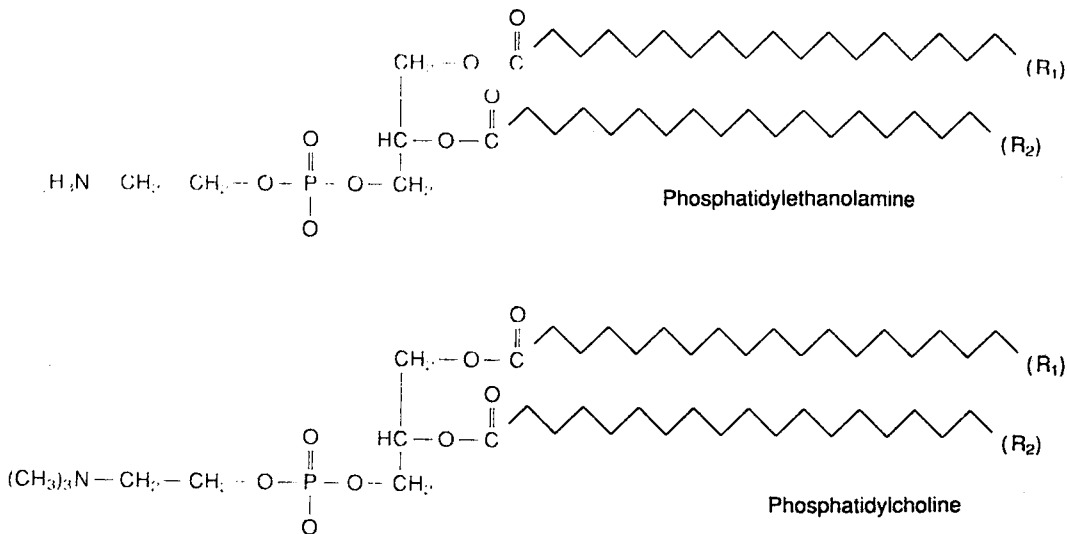
Örneğin ;



### 2.Kardiyolipin

### 3.Plazmalojenler

**B. Sfingomiyelin** Sfingomyelinin omurgası gliserol değil, aminoalkol olan sfingozindir. Bir yağ asiti sfingozinin amino grubu ile bir amid bağı aracılığı ile bağlanırsa **seramid** meydana gelir. Seramid glikolipidlerin bir öncül maddesidir.Sfingozinin birinci karbonundaki alkol grubu fosforilkolin ile esterleşirse sfingomiyelin meydana gelir.Sfingomyelin sinir liflerindeki miyelinin önemli bir bileşenidir.



ŞEKİL ( 7 )

## 2.2.1. NÖRAL MEMBRAN FOSFOLİPİDLERİNİN METABOLİK VE FONKSİYONEL DURUMLARI

Fosfolipidler insan beyinde kuru ağırlığın yaklaşık %20-25 'ini oluşturlar.Fosfolipidler sadece biyomembranların omurgalarını oluşturmazlar ,aynı zamanda membranlara uygun ortam ve akışkanlık ve iyon geçirgenliği sağlarlar.Değişik fosfolipidlerin değişik hızlarda yenilendiği ve bunun yapılarına , farklı hücrelerin membranlarındaki yerleşimlerine bağlı olduğu gittikçe benimsenmektedir.

Fosfolipidlerin denovo sentezi endoplazmik retikulumda olur.Yeni oluşan fosfolipidler daha sonra sitozolde bulunan fosfolipid değişim ve transfer proteinleri tarafından diğer membranöz yapılara taşınırlar. Böylece bir biyolojik membranda fosfolipidlerin dağılımı sadece metabolizmalarında bulunan enzimlerin aktiviteleri tarafından değil aynı zamanda membrana taşınma ve inkorporasyon işlemleri ile düzenlenirler. İşaretli fosfolipidler ile retinal , siliar ve ganglionlardaki acumotor sinirdeki aksonal taşınması üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. İşaretli fosfotidiletanolaminin fosfotidilkolinden daha hızlı değişiminin aksolomma veya akson-myelin yüzeyinde tecihli bir şekilde birikimine neden olduğunu göstermiştir. Buna karşılık etanolamin plazmalojenleri tercihan myeline transfer edilirler ve orada depolanırlar.Taşınmalarındaki herhangi bir bozukluğun myelin membran devamlılığını değiştirebileceği ve demyelinizasyon işlemine katkıda bulunabileceği düşünülür.

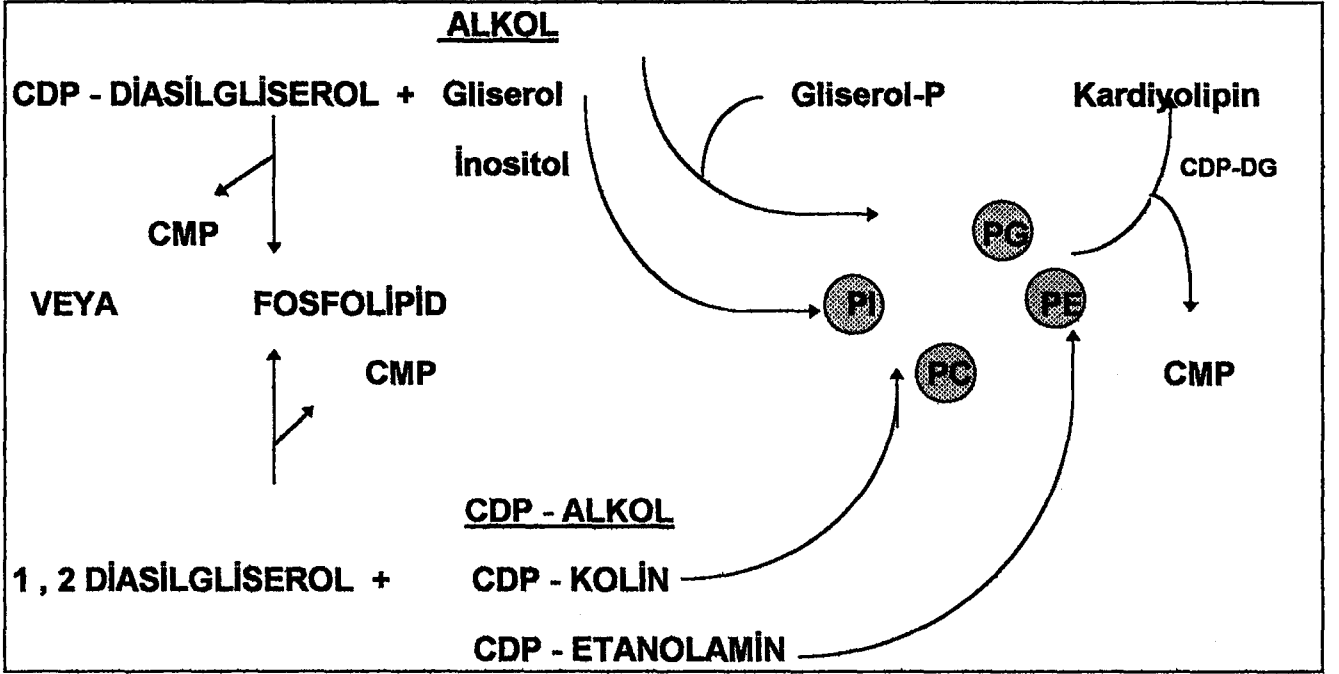
### 2.2.1.1. Miyelinde Fosfolipid Sentezi

Myelinin lipid metabolizmasında bulunan pek çok sayıda enzimi vardır. Diaçilgliserolü etanolamin ve kolin gliserofosfolipidlerine çevirebilme yeteneğine sahip fosfolipid sentezleyen enzimlerin varlığı halen bir araştırma konusudur. Myelinin son zamanlarda hareketsiz bir membran olarak değerlendirilmesi kavramı çürütülmüştür.Bu zamana kadar keşfedilen 20 myelin enziminden yaklaşık yarısı lipid metabolizmasında bulunmaktadır. R.W. Ledeen ve arkadaşlarına göre bir lipid prekürsörünün ( serin ) radyoaktivitesinin aksonal akım ile optik sinir aksonlarına giderken , komşu myelin kılıfındaki spesifik fosfolipidlere transsellüler migrasyon yoluyla taşınması şunları düşündürmektedir;

1.Myeelin içinde fosfolipid sentezleyen enzimlerin varlığı

2.Bu enzimlerin akson tarafından sağlanan substratları kullanıyor olması

Myelinde bulunan diaçil gliserolü, etanolamin gliserofosfolipide çeviren ve kolin sentezinde de rol alan üç enzim söylenebilir ; Etanolamin sentezindeki son adımı katalizleyen CDP etanolamin : 1,2-Diaçil-sn-Gliserol Etanolamin fosfotransferaz , hız kısıtlayıcı CTP:Fosfoetanolamin sitidil transferaz ve etanolaminin fosforilasyonu için substrat oluşturan sitidil transferazı izleyen etanolamin ve kolin kinaz. Bu enzimlerin aktivitesi , 1985 yılında Leeden ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir. Aşağıdaki şemada fosfolipid sentezi şematize edilmiştir ( 18 , 19 ).



ŞEKİL ( 8 )

Fosfolipid molekülleri bir kere nöral membrana yayıldığında " interconversiyon " reaksiyonlarına girerler. Bu reaksiyonlar fosfolipidlerin membranalarda değişim ve yeniden düzenlenmelerinden sorumlu değildir. Membran fonksiyonunun düzenlenmesi ve yapısının korunmasını sağlarlar ( 20 ).

### 2.2.2. Membran Bağımlı Enzimlerin Fosfolipidler Ve Diğer Metabolitlerle Düzenlenmesi

Olgun bir beyinde nöronların çok yavaş bir şekilde çoğaldığı oldukça iyi olarak bilinmektedir. Bu nedenle , karışık biyokimyasal mekanizmalar nöral membranların yapısal bütünlüğünü korumak ve fonksiyonel aktivitesini sağlamak için vardır. Hücresel bütünlüğü korumanın muhtemel bir mekanizması membran bileşenlerinin gereksiz yıkımını önlemektir. Diğer olasılık var olan molekülleri mümkün olduğunca fazlaca tekrar kullanmaktır. Membran fosfolipidlerinin yıkımını ölçmenin oldukça karışık olduğunu belirtmek gerekir.Fosfolipid yapının değişikliğinin fazla olması genelleştirmeyi zorlaştırır.

Nöral membranların değişik metabolik oranlarda sabit olarak dönüşen fosfolipid havuzları vardır. Fosfolipid metabolizma enzimleri serbest yağ asitlerini , açıl-KoA ' yı , diaçilgliserolü ve lizofosfolipidleri salgılatır. Normal koşullarda bu metabolitler nöral membran fonksiyonları , nörotransmitter salınımı , iyon taşınması , kalsiyum hemostasisi , reseptör bağlama ve membran füzyonu gibi işlerde kullanılır.

Nöral membranlar fosfolipid metabolize edici enzimlere ek olarak , aktiviteleri membran fosfolipidlerine bağlı olan Na<sup>+</sup>- K<sup>+</sup> -ATPaz , Ca<sup>++</sup> - Mg<sup>++</sup> -ATPaz ve adenilat siklaz içerirler.

Membrana bağlı enzimlerin aktiviteleri kritik olarak membran akıcılığına bağlıdır. Beyinde yaşlanma membran akıcılığının ve fonksiyonunun azalmasıyla bağlantılıdır. Diyetteki kolin ile yapılan çalışmalar bu metabolitin nöral membranlardaki fosfolipid içeriğini etkilemeden membran akıcılığında artışa neden olduğunu göstermiştir. Akıcılık membran enzimlerinin sadece aktivitesini kontrol etmez aynı zamanda membrandan taşıma işlemini düzenler ve biyolojik membranların karakteristik bir özelliği olan pasif geçirgenliğin bir bileşenini oluşturur ( 20 ).

### 2.3. KOLESTEROL METABOLİZMASI

Bütün hücrelerin membran yüzeylerinin en belli beşli komponenti olan kolesterol lipid sınıfı içinde incelenen steroid alt grubunun bir üyesidir. Kolesterol dokularda yada plazma lipoproteinlerinde ya serbest kolesterol halinde yada uzun zincirli bir yağ asidi ile esterleşmiş konumda bulunur. Bir çok dokuda kolesterol asetil ko A 'dan sentez edilir. Vücuttan safra içinde kolesterol veya safra tuzları şeklinde atılır.

Vücut kolesterolünün yarısı organizmada sentez yoluyla meydana gelirken ( yaklaşık 500 mg/gün ) geri kalanı normal diyetten sağlanır. Total sentezinin % 50 'sinden karaciğer , % 15 ' inden barsaklar ve geri kalanının büyük çoğunluğundan deri sorumludur. Vücuttaki total kolesterolün yarılanma süresi ortalama bir kaç hafta olarak hesap edilmiştir. Besinlerden eksojen olarak alınan total kolesterol diyetteki kolesterol miktarına bağlı olarak değişmekle beraber , 300-500 mg arasındadır. Diyetteki kolesterol miktarı fazla ise kolesterol absorpsiyon oranı azalır, az ise artar. Günde 1 gram kadar kolesterol yaklaşık olarak sentez edilmektedir ( 18 , 21 ).

Siklopentanofenantren ( steran ) halkasına sahip , A halkasındaki üçüncü karbondaki hidroksil grubu bulunan , 27 karbonlu bir bileşiktir. Kolesterolün serbest formu bütün hücre membranlarının komponenti olduğu gibi bir çok dokuda da başlıca bulunmuş şeklidir. Ancak adrenal korteks , plazma ve ateromatöz plaklarda kolesterolün baskın biçimi ester formudur. Beyinde bulunan kolesterolün büyük kısmı miyeline lokalizedir ve serbest formdadır. İntestinal , lenf ve karaciğerdeki kolesterolün önemli bir kısmı ester kolesteroldür.

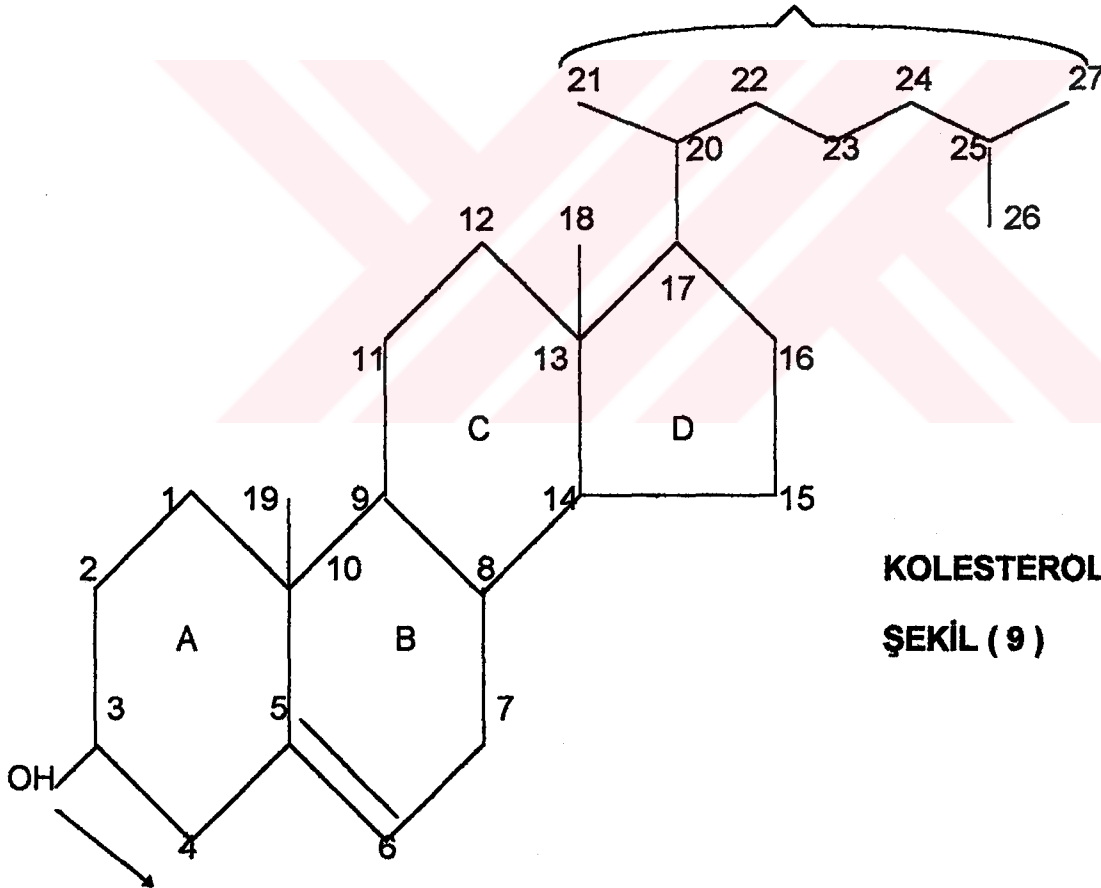
Gerçekte çekirdekli hücreler içeren tüm dokular , kolesterolü sentez edebilme yeteneğine sahiptirler. Hücrenin mikrozomal ( endoplazmik retinakulum ) ve sitozolik fraksiyonu kolesterol sentezinden sorumludur.

Kolesterol sentezinde başlangıç maddesi Asetil-KoA'dır. İki asetil-KoA molekülünden asetoasetil KoA oluştuktan sonra 3-Hidroksi-3-metilglutaril KoA ( HMG CoA ) 'nın sentezi en önemli basamaktır ve HMG CoA redüktaz sentez hızını belirleyen en önemli enzimdir. Bir çok hormon bu noktada kolesterol sentezini etkiler. İnce barsakta kolesterol sentezi ise daha çok absorbe edilen safra asitleri tarafından inhibisyona uğrattılır. Gelişim periyodu sırasında bir çok organın hızlı bir şekilde boyutlarının genişlemesine bağlı olarak

kolesterol ihtiyaçları da artar.Özellikle santral sinir sistemi ve periferik sinir sisteminin gelişimi sırasında kolesterol ihtiyaçı çok fazladır.Kritik gelişme dönemi denilen ratlarda postnatal ilk bir kaç haftayı kapsayan dönemde Santral ve Periferik Sinir Sistemi miyelini hızlı bir şekilde oluşur.Bu dönemde kolesterol ihtiyaçı sinir sistemi maturasyonu ile bağlantılı olarak artar. Sinir sistemindeki bu kolesterolün kaynağı büyük merak konusudur.Diyetle alınan kolesterolden mi yoksa biyosentez yoluyla mı oluştuğu tartışmalıdır.Fakat son yıllarda yapılan çalışmalar , gelişim döneminde beyinde biriken kolesterolün lokal olarak sentez edildiği yönündedir ( 22 )

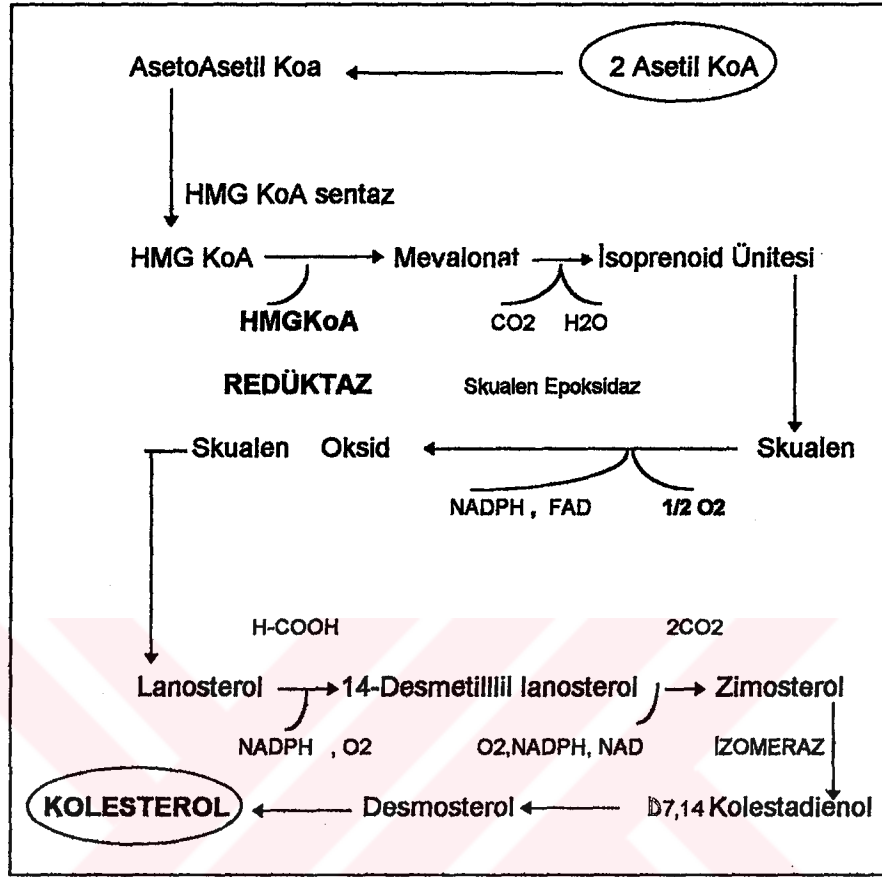
Vücutta kolesterol metabolizmasının son ürünleri genellikle safra asitleridir.Normalde bir günde feçesle atılan kolesterol miktarı , 1.1 g kadardır.Bununla birlikte ince barsağa salınan safra asitlerinin % 90 'ı geri emilmektedir.Kolesterolün bir bölümü de , steroid hormonların yapımında kullanılır ve çok az bir kısmı barsaklar ve deri yoluyla ekskresyona uğrar.Vücutta bulunan kolesterolün % 70 'i ester kolesterol şeklindedir.Kolesterol esterlerinde bulunan yağ asitleri trigliseridlerde bulunan yağ asitlerinden farklıdır ve çok fazla miktarda ansatüre yağ asitleri içerir.

Hidrokarbon kuyruk



**KOLESTEROLÜN YAPISI**  
**ŞEKİL ( 9 )**

Aşağıdaki şemada kolesterol biosentezi görülmektedir ( 2, 18 ) ;



**KOLESTEROL BİYOSENTEZİ ŞEKİL( 10 )**

Kolesterolün bir çok insandaki serum düzeyi 140-250 mg/dl arasında değişir. Bu düzey, genetik, yaş, cinsiyet, diyet, fiziksel aktivite ve hormonlar gibi bir çok faktör tarafından belirlenir (23). Yüksek kolesterol seviyelerinin koroner kalp hastalığında yüksek risk oluşturduğu bugün için bilinen bir gerçektir. Diyetle alınan kolesterolün kısıtlanmasının plazma kolesterol seviyelerinin azaltılmasını sağlamakta ve böylece ateroskleroz oluşum riskini azaltmaktadır. Özellikle gelişim döneminde diyetle kolesterol alınmasının, gelişim döneminde miyelin sentezinde kullanılan kolesterolü temin etmek için yüksek sirküle eden miktarları sağladığı yolundaki görüşler, diyetle çocuklarda kolesterol alınmasının demiyelinizasyonu ve yetişkinlerde Semli-Lemli-Opitz sendromunu önlediğini öne sürmektedirler (22).



## 2. 4. YAĞ ASİDİ METABOLİZMASI

Yağ asitleri organizmanın temel yakıt maddeleri olan alifatik karboksilik asitlerdir. Yağ asidi sentezi için  $\beta$  oksidasyon dizisini içeren mitokondrial bir sistem var olan orta zincirli yağ asitlerinin uzamasından sorumluyken, bundan farklı aktif bir ekstramitokondrial sistem asetil KoA'dan palmitatın tam sentezinden sorumludur. Karaciğerin endoplazmik retinakulumu içinde zincir uzaması için ayrıca aktif bir sistem vardır ( 2 ). Yağ asitleri vücutta başta karaciğer , yağ ve meme dokusu olmak üzere asetil KoA'dan sentez edilirler. İnsülin hormonu yağ asidi ile ilgili bir çok enzimi stimüle ederek yağ asidi sentezinde temel rol oynar.

Yağ asitleri , başlıca doğal katı ve sıvı yağlarda esterleri halinde bulunurlar. Ancak ayrıca plazmada da bir transport şekli olan serbest yağ asidi olarak da esterleşmemiş durumda da bulunabilir. Doğal yağlarda bulunan yağ asitleri genelde düz zincir türevleridir. ve 2 karbonlu birimlerden sentez oldukları için çift sayıda karbon atomları vardır. Bu zincir doymuş veya doymamış olabilir.

Yağ asitleri , özellikle palmitik, oleik ve linoleik asitler, yağ dokusunda trigliserid olarak depolanırlar. Bu ansatüre yağ asitlerinin ,LDL reseptörlerinin aktivitesini düzenleyerek , LDL metabolizmasında önemli rol oynadığı ileri sürülmüştür ( 24 ).

Yağ asitleri serumda serbest yağ asitleri ( FFA ) şeklinde yada albumine bağlı olarak veya diğer bir taşınma şekli lipoproteine bağlı olarak , kompleks lipidler halinde taşınırlar. FFA 'nın çoğu albumine bağlı durumdadır. Turnoverları çok hızlıdır. Dakikada plazmadaki total yağ asitlerinin %20-40 'ı oksidasyon ve reesterifikasyonda kullanılır. Karaciğere gelen FFA 'nın çoğu , reesterifikasyona uğrayarak trigliseridleri oluşturursa da , linoleik asit gibi bazı yağ asitleri fosfolipid yapımında da kullanılırlar. ( 25 , 26)

Organizmadaki yağ asitleri doymuş ve doymamış şeklinde iki grup içinde incelenirler. Yağ asitlerinin hem fiziksel hem de fizyolojik özellikleri kendilerinin zincir uzunluğu ve doymamışlık derecesi tarafından saptanır. Bütün çevresel ısılarda sıvı olması gereken membran lipidleri , depo edilen lipidlerden daha fazla ansatüredir. Doymamış yağ asitlerinde iki ile altı arasında çift bağ bulunur. Bu ansatüre yağ asitlerinin ,LDL reseptörlerinin aktivitesini düzenleyerek , LDL metabolizmasında önemli rol oynadığı ileri sürülmüştür ( 23 ).

Asetil KoA'dan sentezlenen başlıca yağ asidi türü olan palmitik asid (16:0) yağ asidi elangasyon sistemleri ile stearik (18:0), araşidik (20:0), behenik (22:0), ve lignoserik aside (24:0) çevrilebilir. İnsan vücudunda , yukarıdaki yağ asitlerine desatüraz enzim aracılığı ile , karboksil grubundan başlamak üzere 1. ve 9. karbonlar arasına çift bağ sokularak değişik bir çok yağ asidi meydana getirilebilir. Bununla beraber yağ asidinin metil grubundan başlayan 1. ve 7. karbonları arasına çift bağ sokulamaz ve bu yaşamsal öneme sahip yağ asitleri esansiyel yağ asitleri olarak adlandırılıp dışarıdan alınmak zorundadır. İnsan vücudunda palmitik (16:0), stearik (18:0), oleik (18:1) gibi yağ asitleri sentezlenebilmekle beraber linoleik ve linolenik yağ asitleri sentezlenemez ve esansiyel

yağ asidleri olarak isimlendirilir (24 ).Linoleik ve linolenik asid gibi doymamış yağ asidleri dışarıdan yeterli miktarda alındığı taktirde bunlara uyan araşidonik asid gibi uzun zincirli doymamış yağ asidleri vücutta sentez edilebilir. Linoleik ve linolenik yağ asidleri lökotrien , prostaglandin ve lipoksinlerin ön maddesi olup aynı zamanda hücre membran akışkanlığının önemli unsurlarından biridir. Ayrıca bu yağ asidlerinden türeyen dokosaheksaenoik asid , beyin korteksi ve retinada bulunup bu dokuların normal fonksiyonu için gereklidir ( 3 ).

Yaklaşık 60 yıl kadar önce Burr ve arkadaşları esansiyel linoleik asidi tanımlıyarak yayınladılar. Diyetle düşük linoleik asit alınmasının (omega - 6 yağ asidi eksikliği ) büyüme geriliği , deri lezyonları ve üretimde yetersizlik ile birlikte görülebileceğini söylediler. Buna zıt olarak daha sonra yapılan yayınlarda kesin ihtiyacın, (omega-3 , w - 3 ) yağ asitlerine olduğu gösterildi. 1982 yılında Holman ve arkadaşları ve 1987 yılında Bjerve ve arkadaşları uzun dönem parenteral beslenme sonrası yeterli miktarda linoleik asite rağmen çok düşük alfa-linoleik asit düzeyine bağlı olarak nöral defisit ve deri lezyonları tanımlamışlardır.Eksperimental çalışmalar ve preterm infantlarda yapılan çalışmalar omega - 3 yağ asit eksikliğinin retinal fonksiyonları etkilediğini göstermiştir. Bunlara ek olarak kemirgenlerde yapılan çalışmalar ( w-3 ) yağ asit eksikliklerinin hayvanların kavrama yeteneklerini etkilediğini göstermiştir ( 6 ).

Uzun zincirli yağ asidlerinin su ve karbondioksitde katabolizmasının son basamağı karnitine bağlı bir şekilde mitokondride gerçekleşir.Karnitin yağ asid oksidasyonun anahtar enzimi açıl Koa karnitin transferazın esansiyel bir kofaktörüdür.Infantların gelişiminde yağ asid oksidasyonu ve ketogenezis çok önemlidir. Yenidoğan karnitin ihtiyacını anne sütünden yada inek sütü ile hazırlanmış hazır mamalardan almak zorundadır. Postpartum matür sütte ve kolostrumda miktarı aynıdır ( yaklaşık 60 nm/ml ), postpartum ilk iki hafta diğer haftalara göre daha yüksektir ( 15 ) .

Orta zincirli yağ asidleri preterm infantların annelerinin sütlerinde yüksek miktarda bulunur.Midedeki aktif lipaz ile diyetsel yağlardan ayrılır. Kısa ve uzun zincirli yağ asidleri ile aynı yolu izleyerek gastrik mukoza boyunca emilirler. Orta zincirli yağ asidleri diyete eklendiği zaman çocuğun ağırlık gelişimi değişmez ( 15 ).Yapılan çalışmalarda verilen orta zincirli yağ asidlerinin % 90'ına yakınının beslenme kabına yapıştığı ve infantın bundan faydalanamadığı gösterilmiştir .

Yenidoğanın beyin dokusunun en belli başlı enerji kaynağı keton cisimleridir.Kalp ve böbrekte ise keton cisimlerinin kullanımı daha düşüktür.Neonatal ve fetal beyinde oluşan yağ asidi oksidasyonu yetişkin beyinde gözlenmez.Keton cisimleri asetoasetat şeklinde sunulur.Mitokondri iç membranında  $\beta$  hidroksi butirik asid dehidrogenaz ile  $\beta$  hidroksi butirik asid oluşur.Orta zincirli yağ asidleri karnitine bağlı bir transfer şekli göstermeksizin mitokondriye gelir ve iyi bir keton cisimi kaynağı oluşturur.

Uzun zincirli polienoik yağ asidleri ise preterm kolostrum ve geçiş dönemi sütünde yüksek miktarda bulunur.Özellikle çocuğun beyin gelişimi için çok önemlidir.Beyin membranları özellikle (omega-3) serilerinden poliansatüre yağ asidlerinden zengin fosfolipidlerden oluşmuştur.Diğer vücut organları ile karşılaştırıldığında beyin lipidleri diyetsel faktörler ile çok az değişikliğe uğratılmaktadır.Bununla birlikte en son yayınlar uzun süreli belirli diyet



yağları almak ile beyin membranlarındaki spesifik yağ asidlerinde değişiklikler olabileceğini göstermiştir.Yağ asidlerindeki bu değişikliklere bağlı olarak membran enzimlerinde ve diğer fizyolojik değişkenlerde farklılıklar görülür.İnsan beyin sinaptik membranlarında bulunan Na-K ATPaz'ın bu tür modifikasyonlara duyarlı olduğu görülmüştür.

Sinaptik membranlarda dokosaheksaenoik asid gibi (w-3) yağ asidlerinin zenginliği beyinin gelişme dönemindeki diyetteki alfa linoleik asidin gerekliliği hakkında önemli bir ip ucu vermektedir.İnsanlarda alfa linoleik asid eksikliği prostaglandin sentezindeki değişikliklere bağlı klinik belirtilerle kendini göstermektedir. 18:3 (w-3) yağ asidlerinden eksik beslenen domuzların sinaptik plazma membranı ve retinasında 22:6 (w-3) konsantrasyonları daha düşük bulunmuştur.Ratlarda ise beyin gelişimi sırasında yetersiz 18:3(w-3) alımına bağlı eksiklik semptomları (w-3)'den zengin yağ asidi takviyesi ile düzeltilmektedir.Bununla birlikte yetişkin rat beynindeki 22:6 (w-3) konsantrasyonları diyetteki değişikliklere daha dirençlidir ( 4 ).Yetişkin rat beyinde azalmış 18:3 (w-3) konsantrasyonları artmış dokosapentaenoik asid konsantrasyonları ile birlikte dir.Doymuş yağdan zengin diyetlerin trombosit fonksiyonuna etkisinin araştırılmasına rağmen bugüne kadar beyin lipidlerine etkisi çok az araştırma konusu olmuştur.Uzun süreli doymuş yağ asidinden zengin diyetle beslenmenin beyinde 18:3 (w-3) yağ asidi eksikliğine neden olup olamayacağı halen bilinmemektedir.

Triaçilgliseroller ve diaçilgliseroller gibi beyin nötral lipidlerine diyetsetel yağların etkisi hakkında çok az şey bilinmektedir.Beyinde çok az miktarda bulunmalarına rağmen triaçilgliserollerini içeren nötral lipidler beyine besleyici madde sağlamakta önemli bir rol oynarlar.Hücre kültür sistemlerinde triaçilgliserol, işaretlenmiş yağ asidlerinin kültür ortamından membran fosfolipidlerine alınımını ve taşınmasını yürütür.Diaçilgliserol denovo lipid biyosentetik yolu için bir aracıdır ve protein kinaz C 'nin aktivasyonunda ikinci mesajcıdır ( 3 ).

Zincir uzunluklarına göre yağ asidleri şu şekilde sınıflanabilir ( 16 ) :

Zincir uzunluklarına göre yağ asidlerinin sınıflandırılması	
Tip	Karbon Sayısı
Kısa zincirli	2-4
Orta zincirli	6-10
uzun zincirli	12-26

**TABLO ( 4 )**

Memeli dokularında önemli yağ asitleri aşağıdaki tabloda gösterilmiştir;

Tanımlayıcı Adı	Sistematik Adı	Karbon Sayısı	Çifte bağ ve Pozisyonu	Doymamış Y.A. sınıfı
Asetik		2	0	
Laurik	Dodekanoik	12	0	
Miristik	Tetradekanoik	14	0	
Plamitik	Hekzadekanoik	16	0	
Palmitoleik	Hekzadekanoik	16	1 9	omega-7
Stearik	Oktadekanoik	18	0	
Oleik	Oktadekanoik	18	1 9	omega-9
Linoleik	Oktadekadienoik	18	2 9,12	omega-6
Linolenik	Oktadekatrienoik	18	3 9,12,15	omega-3
Araşidonik	Eikozatetraenoik	20	4 5,8,11,14	omega-6
DHA	Dokosohekzaenoik	22	6 4,7,10,13,16,19	omega-3

**TABLO ( 5 )**

Günlük yaşantımızda sıklıkla kullandığımız diyetsel yağların içerikleri TABLO ( 6 ) 'da özetlenmiştir. Diyet ile tüketilen sıvı ve katı yağların , yağ asidi kompozisyonları ve kolesterol içerikleri farklıdır ( 26 ) .

**Çeşitli yağlarda doymuş ve doymamış yağ asitlerinin oransal dağılımı**

Yağ	Doymuş yağ asitleri	Doymamış yağ asitleri	
		Tekli	Çoklu
Tereyağı	% 66	%30	%4
Zeytinyağı	%14	%77	%9
Palmiye yağı	%50	%39	%11
Kuyruk yağı	%57	%38	%5
Mısırözü yağı	%16	%32	%52
Soya yağı	%16	%22	%62
Ayçiçek yağı	%13	%21	%66
Balık yağı	%29	%48	%23

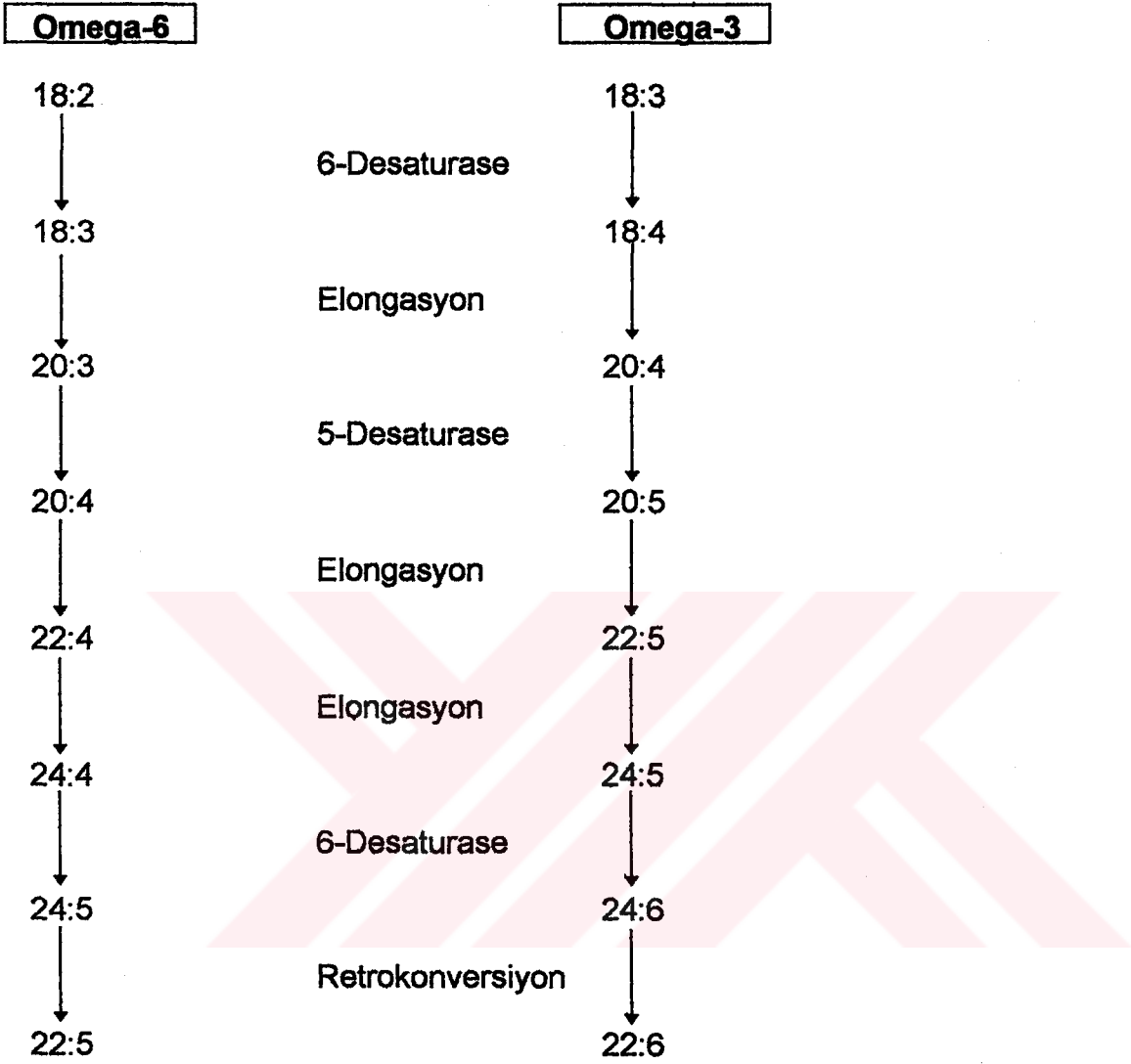
**TABLO ( 6 )**

	Total yağ (g)	Total doymuş yağ asitleri (g)	Tekli doymamış yağ asitleri (g)	Çoklu doymamış yağ asitleri (g)	Kolesterol (mg)
<b>Yağlar</b>					
<b><u>Katı yağlar</u></b>					
Margarin (kahvaltılık)	80.50	14.00	38.80	21.10	3
Tereyağı	81.10	50.50	23.40	3.00	219
<b><u>Sıvı yağlar</u></b>					
Zeytinyağı	100	13.50	73.70	8.40	eser
Mısır yağı	100	12.70	24.20	28.70	eser
Soya yağı	100	14.40	23.30	57.90	eser

Bazı besinlerin 100 gramlarında bulunan yağ, yağ asitleri ve kolesterol miktarları

**TABLO ( 7 )**

**Omega-3 ve omega-6 poliinsature yağ asidlerinin retrokonversiyon, desaturasyon ve elongasyon reaksiyonları ( 16 );**

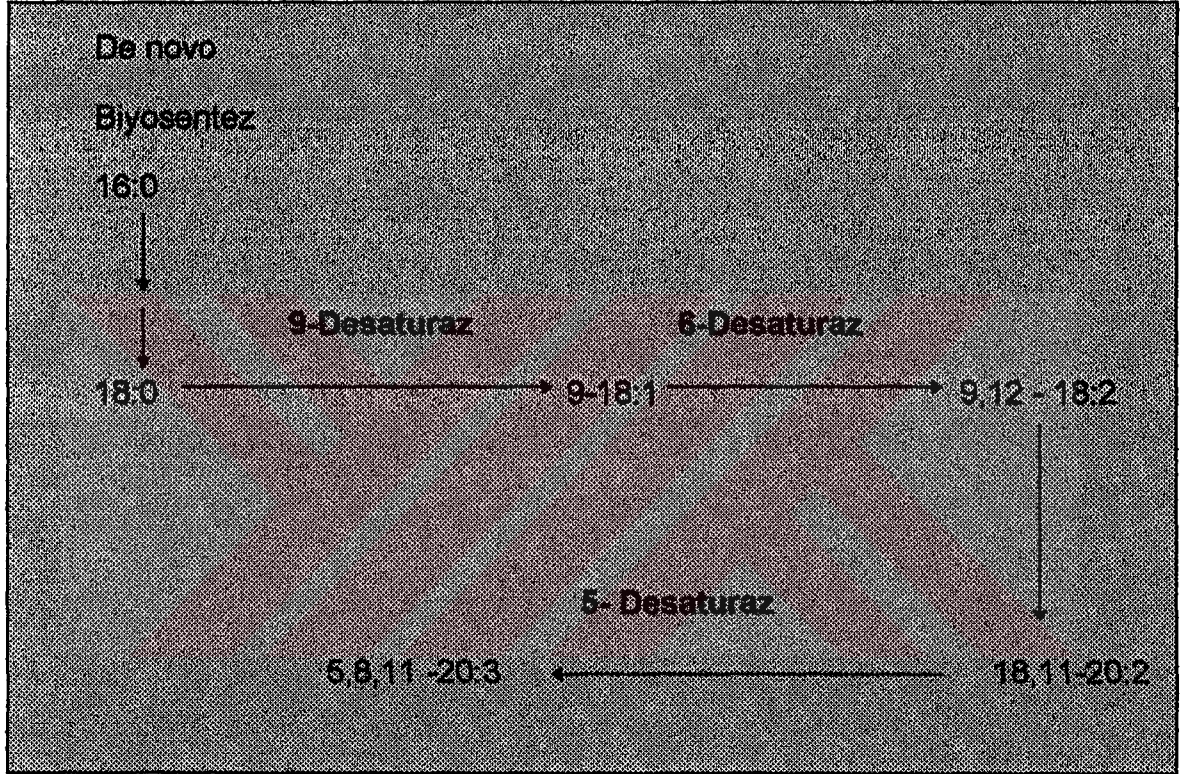


**ŞEKİL ( 11 )**



Diyette yetersiz yağ alımı durumlarında vücut bunu çoklu doymamış yağ asitlerini sentezleyerek kompanse etmeye çalışır. Esansiyel yağ asidi eksikliklerinde plasmada ve dokularda Eikosatrienoik asid ( 20:3 w-9) gözlenir. Fakat bu omega dokuz yağ asitleri omega-3 ve omega-9 yağ asitlerini fonksiyonel olarak kompanse edemez. Çünkü isomerik formları düzgün değildir.

**Esansiyel yağ asid eksikliğinde biriken omega-9 eikosatrienoik asid sentezi ;**



**ŞEKİL ( 12 )**

## 2.5. BEYİN LİPİD METABOLİZMASI VE BESLENMENİN ETKİLERİ

Beyin lipidlerinin çoğu sellüler ve intrasellüler membranlarda ve miyelin kılıfında lokalize olmuştur. Gri cevher lipidleri nöral ve glial membranlarda yeralırken beyaz cevher lipidleri nöral süreci, glial membranları ve miyelini meydana getirirler.

Yetişkin beyninin lipid kompozisyonunun büyük kısmının düşük bir turnover'a sahip olduğu izlenimi vardır. Kolesterol, serobrozidler, fosfatidiletanolamin ve sfingomyelin çok yavaş bir şekilde metabolize edilirler (3). Bununla beraber, glukoz ve yağ asitlerinden sentez edilebilen fosfatidilkolin ve fosfatidilinositol hızlı bir turnover'a uğrarlar. Hatta fosfatidilinositolün metabolizması daha hızlı bir şekildedir. Fosfatidilkolin ve fosfatidiletanolamin ökaryotik hücrelerin çoğunda en çok bulunan fosfolipidlerdir. Sentezde kullanılan kolin ve etanolamin diyetten veya vücut fosfolipidlerinin turnover'ından elde edilir. Kolin ayrıca membranlardaki fosfatidilserinden de novo sentez edilebilir ( 18 ).

Kolesterol genç hayvanlar tarafından büyüme sırasında beyinde sentez edilebilir. Artan yaş ile birlikte hidrosimetilglutaril Ko A redüktaz enziminin miktarı azalır. Memeli beyinde kolesterol sentezi çok az bir şekilde gerçekleşir. Yetişkinlerde düşük bir enzim aktivitesi gösterilebilmiştir. Yetişkin insan beyinde kolesterolün büyük çoğunluğu esterifiye olmamış bir şekildedir ( 27 ). Kolesterol esterleri ise relatif olarak daha çok aktif miyelinizasyonun olduğu alanlarda bulunur. Fosfolipidler diğer organlarda olduğu şekilde sentez edilebilir. Yağ asitleri de glukozdan yada asetoasetat, sitrat ve hatta asetilaspartatdan sentez edilebilir.

Beyin erişkin vücut ağırlığının %2 'sini oluşturmasına rağmen, istirahatteki vücudun basal oksijen tüketiminin % 20' sinden sorumludur. Beyin sabit hızda enerji kullanır. Çünkü; beyin vücudun bütün organlarının düzenli bir şekilde çalışması için hayati bir önem taşır. Bu nedenle beyinin yakıt ihtiyaçlarına özel bir öncelik verilir. Enerji sağlayan maddeler, beyindeki kan damarlarını döşeyen endotel hücreleri boyunca geçebilmelidirler. ( bazen kan-beyin bariyeri olarak adlandırılır. ) Normalde glukoz başlıca yakıttır çünkü; beslenme durumunda keton cisimleri konsantrasyonu, alternatif enerji kaynağı olabilmek için oldukça düşüktür. Ancak, keton cisimleri uzun süren açlıkta enerji kaynağı olarak önemli rol oynarlar. Yaklaşık 140 g/gün miktarında glukoz, karbondioksit ve suya kadar tamamen okside edilir. Beyin önemli miktarda glikojen deposu içermez, bu yüzden tamamen kan glukozunun bulunabilirliğine bağımlıdır. Beyin, anlamlı miktarda triasilgliserol deposuna sahip değildir. Kan yoluyla gelen yağ asitlerinin oksidasyonu enerji üretimine çok az katkıda bulunur, çünkü, yağ asitleri kan-beyin bariyerini etkin olarak geçemezler ( 27 ).



## 2.5.1. YENİDOĞANLARDA LİPİD BESLENMESİNİN BEYİNİN GELİŞMESİNDEKİ ÖNEMİ

Yağlar normal büyüme ve gelişme için hayati önemi olan maddelerdir. İnsan sütü yada yapay bebek mamalarının total kalorilerinin % 40-50 'ini sağlarlar. Normal gelişim için yağlar esansiyeldir. Lipidler beyin gelişimi için gerekli yağ asitlerini sağlarlar ve bütün hücre membranlarının temel bölümleridir. Lipidler anne sütünde yağda eriyen vitaminlerin ve hormonların taşınmasında bir araçtır. Vücutta karbonhidrat ve proteinlere karşı sınırlanmış bir depolama kapasitesine rağmen lipidler neredeyse sınırsız denebilecek bir şekilde depolanırlar ( 28 ).

Doğumdan önce glukoz temel enerji kaynağıdır. Fetal yağ asidi ihtiyacı esas olarak serbest yağ asidi şeklinde anneye ait kan dolaşımından sağlanır. Doğumdan sonra ise lipidler süttten yada hazır mamalardan trigliserid şeklinde temin edilir.

Olgun insan sütü lipid içeriği % 3.5-4.5 'dur. Sütte bulunan yağ membran ile sarılmış **süt yağ globülü** şeklindedir. Globüllerin merkezi total süt lipidinin % 98-99 'u olan trigliseridleri içerir. Globül membranı ise esas olarak fosfolipid , kolesterol ve proteinlerden oluşur. Süt yağ içeriği laktasyon süresince değişir. Bu değişiklikler daha çok doğumdan sonra ilk 1-3 gün , olgun süt gelişimi süresince kolostrumu izleyen 2-3 gün ve süttten kesilme sırasında meydana gelir. Bununla beraber matür süt yağ içeriği devamlı olarak korunur. Erken doğan bebeklerin annelerinin sütü laktasyonun ilk üç ayında yüksek miktarda orta zincirli yağ asitleri içerir. Erken laktasyon süresince de yüksek uzun zincirli polienoik yağ asidi seviyeleri devam eder ( 15 ).

Yaklaşık 60 yıl kadar önce Burr ve arkadaşları esansiyel linoleik asidi tanımlıyarak yayınladılar. Diyetle düşük linoleik asit alınmasının (w 6 yağ asidi eksikliği ) büyüme geriliği , deri lezyonları ve üretimde yetersizlik ile birlikte görülebileceğini söylediler. Buna zıt olarak daha sonra yapılan yayınlarda kesin ihtiyacın w 3 yağ asitlerine olduğu gösterildi. 1982 yılında Holman ve arkadaşları ve 1987 yılında Bjerve ve arkadaşları uzun dönem parenteral beslenme sonrası yeterli miktarda linoleik asite rağmen çok düşük alfa-linoleik asit düzeyine bağlı olarak nöral defisit ve deri lezyonları tanımlamışlardır. Eksperimental çalışmalar ve preterm infantlarda yapılan çalışmalar w 3 yağ asit eksikliğinin retinal fonksiyonları etkilediğini göstermiştir. Bunlara ek olarak kemirgenlerde yapılan çalışmalar w 3 yağ asit eksikliklerinin hayvanların kavrama yeteneklerini etkilediğini göstermiştir ( 5, 6, 29, 30 ).

Orta zincirli yağ asitleri diğer enerji kaynaklarına göre daha hızlı bir şekilde emilerek , kullanılır. Orta zincirli yağ asitlerinden zengin yağlar premature infantların beslenmesinde tercih edilmelidir. Çünkü bunlar besinin osmatik yükünü artırmadan , kalori ihtiyacının karşılanmasında kullanılırlar. Yalnız orta zincirli yağ asitlerinden zengin yağların infantlara verilmesi sırasında bunların biberon gibi besin kaplarına yapışarak % 90 'a varan bir kayıba neden olduklarını bildiren çalışmalar vardır ( 15 ). Bilindiği üzere fetal ve neonatal beyinde yağ asidi oksidasyonu , gelişen beyinde en belli başlı enerji kaynağı olarak kullanılan keton cisimlerini oluşturur. Adult bir beyinde ise yağ asidi oksidasyonunun

gerçekleşmediği bilinmektedir.( 31 ) Orta zincirli yağ asitleri ise karnitine ihtiyaç göstermeden mitokondriye taşınarak iyi bir keton cisimi kaynağı oluştururlar.

Gelişme dönemindeki bir insan beyinde ikinci trimestere göre 17-18 haftalar arası beyin fosfatidiletanolamin yağ asitlerinin % 18 'inin değiştiği gösterilmiştir. Aynı artışlar diğer fosfolipid fraksiyonları içinde söz konusudur . Doğumdan sonra 6-12 haftaya kadar insan beyini 22:6 dokosaheksaenoik asid konsantrasyonlarında az da olsa bazı değişiklikler gözlenir ( 15 ). Bunun gibi uzun zincirli polienoik yağ asitlerinin hamileliğin son trimesterinde çok hızlı bir şekilde beyinde birikmektedir. 1981 'de Clandinin ve arkadaşları bunun omega- 3 yağ asitleri için 22 mg / hafta , omega- 6 yağ asitleri için 43 mg / hafta olduğunu göstermişlerdir.

Uzun zincirli yağ asidi katabolizmasının son basamağı olan su ve karbondioksidede oksidasyonunun mitokondride gerçekleştiği bilinmektedir. Uzun incirli yağ asitleri membran boyunca sadece açil karnitin şeklinde yürüyebildikleri için bu olay karnitine bağımlı olarak gerçekleşir.Karnitin biyosentezinin tam olarak gelişmediği yeni doğanlarda, karnitin esansiyel bir kofaktördür. Karnitin ihtiyacı anne sütünden veya inek sütü ile hazırlanmış mamalardan sağlanır.Fakat soya temelli formulalar karnitin içermezler. Buda karnitin eksikliğine neden olarak beyin gelişimi için önemli olan ketogenezis reaksiyonlarının etkilenmesi ile sonuçlanabilir ( 15 ).



## **2.6.PATOLOJİK VE FİZYOLOJİK OLAYLARDA BEYİNDEKİ LİPİD METABOLİZMASININ ROLÜ VE BEYİN LİPİD PROFİLİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLERLE BİRLİKTE GÖRÜLEN HASTALIKLAR**

Merkezi ve periferal sinir sistemlerinin biyokimyasal çalışmalarında yaygın olarak kullanılan hayvan modeli deneylerinin sonuçları insan modeline birebir uymasa da , hastalık oluşum hipotezlerini test etmek, uygun tedaviyi belirlemek için biyokimyasal olaylar hakkında bilgi edinmenin başka yolu yoktur.

Konvülsif nöbetler, iskemi, hipertansiyon ve yaşlanma gibi bazı patolojik ve fizyolojik olaylar beyin lipid metabolizmasında değişikliklere neden olurlar.

Konvülsif nöbet oluşturulması üzerine deney hayvanlarında yapılan çalışmalar , bazı nöbetlerin bir saatlik kısa bir dönem içinde lipid metabolizması ile ilgili değişikliklere neden olduğunu göstermiştir. Pridoksin, penisilin, oubain gibi bazı konvülzanların serbest yağ asitlerinde artma , fosfatidiletanolamin radyoaktivitesinde bir düşme ve diaçilgliserolde artmaya neden olduğu bildirilmiştir ( 32 ).

Deney hayvanlarında karotis arterinin bağlanması ile ortaya çıkan iskemi ATPnin , fosfokreatinin, glukozun ve glikojenin azalması gibi bir dizi metabolik olayın sonucudur. Eğer iskemi süresi kısa bir zaman periyodu için olursa , oluşan biyokimyasal değişikliklerin geri dönülebilir olduğu bildirilmiştir. 10 dakikalık bir iskemi beyin membranlarının yapısını tehdit etmez. Fakat 10 dakikalık bir iskemi enjekte edilmiş işaretli araşidonik asidin lipid sınıfları arasındaki dağılımını etkiler. Serbest araşidonik asid de artma ile birlikte total fosfolipid aktivitesinde azalma gözlenir. Diğer taraftan diaçilgliseroldeki artmaya rağmen triaçilgliserol içeriği etkilenmeden kalır. İskemi -reperfüzyon hasarında oluşan serbest radikallerin hücre hasarlanmasındaki etkisi günümüzde kabul edilen bir konudur. Beyin iskemisi sırasında kolinofotransferaz reaksiyonunun geriye dönüştürülmesi , fosfolipaz A 2 ve plazmalojenaz aktivasyonunun gerçekleşmesi söz konusudur.Serbest yağ asitleri iskemi sırasında artar. Fosfatidilkolin, fosfatidilinositol ve plasmalojenler iskemik dönemde salgılanan yağ asitlerinin en muhtemel kaynağıdır. Serbest yağ asitlerindeki bu artış tekrar kanlanmayı takiben , iskemi öncesi değerlerine dönebilir.

Hipertansif kişilerin beyinlerinde lipid sentezi aktivitesinin azalması veya katabolizmanın artması söz konusudur. Bu insan vücudunun kendi kendine bir koruma mekanizması oluşturması şeklinde açıklanabilir. İskemi sırasında etkilendiği bilinen araşidonik asidin lipid öncülü olarak kullanıldığı çalışmalar , hipertansiyon esnasında fosfatidilkolindeki radyoaktivitelerinin azaldığını buna rağmen serbest formlarının ise arttığını göstermiştir.

Yaşlanmanın nörokimyasını deney hayvanları üzerinde çalışmak bir çok problem doğurur.Böyle bir çalışmanın sonuçlarını insana uyarılmanın zorluğuna rağmen , insanda yapılamayacak bir çok araştırma bu şekilde gerçekleştirilebilir. Yaşlanmanın beyin lipid profili üzerine etkisi araştırılırken , beyin bölgeleri arasındaki morfolojik ve fizyolojik farklılıklar göz önüne alınmalıdır. Genel olarak bir ratın yaşam eğrisinde 18-20 aydan sonrası yaşlanma süreci içinde incelenir. Yaşlanma sırasında bir çok biyolojik parametre değişikliğe uğrar. Fakat beyin fonksiyonları için membran lipidleri belirgin olarak önem

kazanır. Yaşlanmanın lipid sentezi üzerindeki etkisi sadece nöronlarda bulunur , gliada bulunmaz. Yaşlanma ile birlikte beyin mikrozomlarındaki kolin ve etanolamin fosfotransferaz aktiviteleri etkilenir. Özellikle kolin fosfotransferaz aktivitesindeki bu değişiklik çok belirgindir. Korteks de fosfolipid sentez ve dönüşümü yaşlanma ile birlikte azalmaktadır. Lipidlerin açıl kısımlarının uzamış yarı ömürleri fosfolipaz A 1 ve A 2 deki azalma ile açıklanabilir. Lipid sentezindeki azalma beyinin bütün bölgelerini eşit oranda etkilemez. Özellikle striatum yaşlanma ile en çok etkilenen bölgedir.

Santral sinir sistemindeki miyelinin aktif degradasyonu ile karakterize bir hastalık olan multiple sklerozun etiyolojisinde günümüzde birden çok mekanizma öne sürülmektedir. Otoimmün mekanizmalarla gerçekleşen inflamatuvar bir hastalık olan multiple sklerozun predominant olarak çevresel faktörlerden de etkilenebileceği öne sürülmektedir. Son yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda diyetel faktörlerin muhtemel etiyolojik rolü tartışılabilir. Çeşitli mikrobiyal ajanlarla , bunların barsak lenfoid dokusu ile sıkı ilişkisi biyolojik bir etiyolojik faktör olabilir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalara göre, multiple skleroz oranının belirgin şekilde hayvansal yağ tüketimi , hayvansal protein tüketimi ve balık dışı memeli eti tüketimi ile ilişkili olabileceği söylenmektedir. Aynı bölgelerde sebze ve / veya balık alımının az olması bu besinlerin gerçek faydalı etkileriyle ters orantılıdır ( 33 ).

Günde 20-25 gram gibi büyük miktarlarda poliansatüre w - 6 yağ asidlerinin dışardan verildiği üç kontrollü bir çalışmada , bu yağ asidlerinin hastalık relapslarının şiddetinin azaltılmasında ve erken oluşmuş vakalarda bozukluğun ilerlemesinde faydalı etkiler gösterdiği öne sürülmüştür ( 33 ). W 3 yağ asidlerinin , w - 6 yağ asidleri ile beraber verilmesi , bu etkiler üzerinde çok belirgin olmayan değişikliklere neden olmuştur.

Ateroskleroz damar duvarına karşı gelişmiş çeşitli zedeleyici etkenlere karşı ortaya çıkan fibroproliferatif yanıt şeklinde tarif edilebilir. Zedeleyici etkenler arasında okside olmuş LDL, mekanik zedelenme, homosistein, immunolojik ajanlar toksinler, viruslar vs sayılmaktadır. Genel olarak temel patoloji arter lümeninin lipid birikimi ile daralmasıdır. Yüksek kan kolesterolü ateroskleroz lipoproteinlerin arter duvarına girişini etkileyerek ateroskleroz oluşumunda en başta sayılabilecek risk faktörlerinden birini oluşturur. Ayrıca hayvansal yağlarla beslenmenin bitkisel yağlara oranla ateroskleroz oluşum riskini artırdığı bu gün kabul edilen bir gerçektir. W - 3 ve W - 6 poliansatüre yağ asidlerinden zengin lipid tüketiminin olumlu etkileri mevcuttur. W 6 yağ asidleri ve E vitamininden zengin olan balık yağının tüketildiği toplumlarda ateroskleroz görülme riski azalmaktadır.

Yağ asidi kompozisyonundaki bozukluklar ile beraber görülen nörolojik hastalıklar vardır. Adrenolökodistrofi ve adrenomiyelonöropati ; ester kolesterol , ganglioizid ve galaktosilseramid yapılarında çok uzun zincirli yağ asidlerinin birikmesi ile karakterize hastalıklardır. 22 karbondan daha yüksek yağ asidleri özellikle C<sub>25</sub> ve C<sub>26</sub>, ester kolesterol ve diğer lipid yapılarının normal içeriğini bozarak miyelin kompozisyonundaki değişikliklere neden olurlar. Ayrıca Refsum Sendromu , abetalipoproteinemi , Pelizaeus-Merzbacher hastalığı da yağ asidi içeriklerinde bozukluklara neden olan hastalıklar arasında sayılabilir. Sifingolipidozlar da genel olarak bazı enzim eksikliklerine bağlı gözlenen lipid metabolizma bozukluklarıdır ( Tay-Sachs , Beta galaktozidaz eksikliği gibi ).

Yaşlanma sürecinde olduğu gibi Parkinson Hastalığında da çeşitli metabolik değişiklikler meydana gelmektedir. Parkinson Hastalığındaki dopaminerjik nöron kaybı sonucunda dopamin açığa çıkmakta, bu da dopamin metabolizmasında artışa neden olmaktadır. Dopamin reseptörleri fazla miktarda çoklu doymamış yağ asidi içermeleri nedeniyle oksidatif strese çok daha fazla duyarlıdır. Alzheimer hastalığı da kolinerjik sistemde yetmezlikle beraber giden nöronal kayıplarla ilerleyen bir hastalıktır. Bu hastalıkta da yaşlanma ile artan lipid metabolizması değişiklikleri söz konusudur ( 34 , 35 ).

## ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

### 3.0. GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### 3.1. KULLANILAN GEREÇLER

Distilasyon Sistemi	NS-278	Nüve
Benmari		Kotterman
Homojenizatör	Potter-Elvehjem	S.B.Braun
Etüv	FN 500	NEL
Soğutmalı Santirfuj	2.0 RS	Heraeus
Vorteks	Tip 37600	Thermolyne
Hassas Terazı	EB-330 H	Schimadzu
Gaz Kromatografi	5890 Series-II	Hewlett-Packard
Gaz Kromatografi Kolonu	BPX-70	60 m, 0.32 mm, Fused Silica
İnce Tabaka Kromatografi Cihazı		CAMLAB
Cam plak	( 20 x 20 ; 20 x 10 )	
İnce Tabaka Sürgüsü		
İnce Tabaka Kromatografi Seti	Fetal-Tek 200	Helena
Spektrofotometre	V-550 UV / VIS	Jasco
Spektrofotometre	CL 750	Shimadzu
Dansitometre		Helena

### 3.1.2. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Benzen	$C_6 H_6$	Merck
2-Propanol	$(CH_3)_2CHOH$	Sigma
Hekzan	$C_6H_{14}$	Merck
Kloroform	$CHCl_3$	Merck
Metanol	$CH_3OH$	Merck
Potasyum Hidroksid	$KOH$	Merck
Asetil Klorid	$C_2H_3ClO$	Sigma
Glasiyel Asetik Asit	$CH_3COOH$	Carlo Erba Reagent
Petrolium Eter	_____	Merck
Dietileter	$CH_3CH_2OCH_2CH_3$	Carlo Erba Reagent
Trietilamin	$N(C_2H_5)_3$	Merck
Sulfürik asid	$H_2SO_4$	Baker Analyzed
Silika H gel	_____	Sigma

### 3.2. DENEYSEL MODELİN PLANLANMASI , DENEY HAYVANI SEÇİMİ VE ÇALIŞMA MATERYELLERİNİN ELDE EDİLMESİ

Beyin lipidlerinin diğer vücut organlarının lipidleriyle kıyaslandığında diyetsel faktörlerden daha az etkilendiği bilinen bir gerçektir. Bununla birlikte bu konuda yapılan en son yayınlar beyin lipidlerinin uzun süreli diyetsel faktörlerden ve erken gelişim döneminde diyetsel farklılıklardan etkilendiğini göstermiştir. Beyin membranları özellikle poliansatüre yağ asitlerinden zengin fosfolipidlerden oluşmuştur. Diyet yağlarının etkisiyle özellikle gelişme döneminde gerekliliği bilinen linolenik asid gibi esansiyel yağ asidlerinin eksikliğinin erişkin dönemde etkilerinin ne olacağı halen bilinmemektedir. Bu nedenle diyetsel farklılıkların beyin lipid profili üzerine etkilerinin belirlenebilmesi için iki aylık ratlar deneysel protokolden on gün önce temin edildi. Bu süre içinde sadece standart rat yemi ile beslenildi. Farklı diyet gruplarına ayrılan ratların serum total kolesterol analizi ve lipoprotein elektroforezlerinin yanısıra beyin fosfolipidleri , ester ve serbest kolesterol miktarları ve beyin dokusu yağ asidi profilleri incelendi.

Deneye 45 adet Winstar türü erkek ratlar ile başlandı. Ratlar beşerli bir şekilde rastgele dokuz gruba ayrıldılar. Gruplar standart stok laboratuvar yemi ile buna ilaveten total tüketilen yemin %20'si ve % 10'u olacak şekilde farklı yağları içeren diyetlerle sekiz hafta süresince beslendiler. Deneysel diyetlerin yağ asidi profilleri tabloda gösterilmiştir ( Tablo 9 ). Bir grup ise sadece standart stok rat yemi verilerek beslendi. Yemler , ağırlık olarak % 20 'si ve % 10'nunu oluşturacak şekilde , büyük kaplar içinde eritilmiş yağlara karıştırılarak verildi. Her bir gruba eşit miktarda bu karışımdan yedirildi. Yemler Ankara Yem Sanayinden temin edildi. Hayvanlara uygulanan diyetler aşağıda belirtilmiştir.

- |  |  |
|--|--|
| 1) A) %20 bitkisel margarin + standart yem | B) % 10 Bitkisel margarin + standart yem |
| 2) A) %20 tereyağı + standart yem          | B) % 10 tereyağı + standart yem          |
| 3) A) %20 zeytinyağı + Standart yem        | B) %10 zeytinyağı + standart yem         |
| 4) A) %20 Palm yağı + standart yem         | B) % 10 Palm yağı + standart yem         |
| 5) Standart yem                            |  |

Diyetin gelişme hızı , serum lipid profili ve aterojenik indeks üzerine etkileri farklı yağ oranları uygulanan beş grupta da analiz edildi. Fakat diyetsel farklılıkların beyin dokusu lipid profiline etkisi teknik yetersizliklerden dolayı, sadece daha yüksek enerji diyeti uygulanan grup üzerinde belirlenmeye çalışıldı. Palm yağı, zeytinyağı ve margarin ile beslenen 5'şer rat ve tereyağı ile beslenen 4 rat üzerinde analizler yapıldı. Sadece standart yem ile beslenen gruptan ise 3 rat değerlendirmeye alınabildi.

Yağdan zengin diyet ile beslemeye başlamadan önce ratların ağırlıkları 150-200 gr olarak tesbit edildi. Çalışma boyunca vücut ağırlığı ve yiyecek alımı takip edildi. Ratlar üstten hava filtreli polikarbonatdan yapılmış kafeslerde barındırıldılar. Oda sıcaklığı 21±1 °C'de tutuldu. Saat 20-09 arası karanlık uygulaması yapıldı. Fenobarbitalle anestezize edilen ratların karın kasları disseksiyonla ayrılarak vena cava caudalisden kan örnekleri alındı.



Serumlardan taze olarak lipid analizleri gerçekleştirildi. Kan örnekleri alındıktan sonra dekapite edilen ratların beyinleri serum fizyolojik ile yıkanarak analiz edilinceye kadar -70°C'de saklandı. Beyinlerin yaş ağırlığı 07-1.500 gram arasında değişmekteydi. Aşağıdaki tabloda ratlara uygulanan diyetin yağ asidi profili gözlenmektedir ;

### EKSPERİMENTAL DİYETİN YAĞ ASİDİ PROFİLİ ( % )

Yağ Asidi	Palm Yağı	Zeytinyağı	Bitkisel Yağ	Tereyağ
14:0	1.12	—	1.12	12.1
16:0	46.99	19.53	59.12	24.02
16:1	—	1.33	—	—
18:0	3.80	5.01	0.90	4.12
18:1	38.44	53.97	39.41	29.31
18:2	8.97	18.27	24.02	8.29
18:3	—	1.20	—	0.9

TABLODA GEÇEN YAĞ ASİDLERİNİN YAYGIN ADLARI ŞÖYLEDIR :

**TABLO ( 8 )**

14:0 MIRİSTİK , 16:0 PALMITİK , 16:1 PALMITOLEİK ,18:0 STEARİK , 18:1 OLEİK , 18:2 LİNOLEİK ,18:3 LİNOLENİK ASİD

### STANDART STOK RAT YEMİNİN KOMPOZİSYONU

#### İçerik

Protein	% 19.0
Yağ	% 4.5
Lif	% 4.0
su	% 12.0
kül	% 7.5
Kolin	2.4 ( mg/1000 g )
Metiyonin	5.3 ( g/1000 g )

**TABLO ( 9 )**

### 3.3. YÖNTEMLER

Bu deney için serebrumdaki özel beyin alanları dissekke edilememiştir. Çünkü beyinler, deney sonucunda labil minor lipidleri korumak için hemen -70 derecede dondurularak saklanmışlardır. Beyin lipid ekstraksiyonu öncesi çözölen beyinlerin , beyaz ve gri cevherini ayırmak mümkün olamamıştır. Bu yüzden , serebellumları ayrılarak total olarak bütün serebrum dokusunda analizler gerçekleştirilmiştir. Lipid ekstraksiyonları yapıldıktan sonra , ince tabaka kromatografi , kimyasal analiz ve gaz kromatografisine enjekte edilinceye kadar + 4 derecede saklanmışlardır. Materyalimiz ancak ekstraksiyona yetecek miktarda olduğu için , ayrıca patolojik bir inceleme yapılamamıştır.

Beyin dokusunda total fosfolipid analizi , fosfolipid fraksiyonlarının belirlenmesi , total kolesterol , serbest kolesterol , ester kolesterol fraksiyonlarının kalitatif ve kantitatif değeriendirilmesi ve yağ asidi metil esterlerinin analizi için aşağıda tarif edilen yöntemler kullanılmıştır.

#### 3.3.1. BEYİN LİPİD EKSTRELERİNİN HAZIRLANMASI

Beyin lipid ekstreleri Folch ve arkadaşları tarafından tarif edilen metodlara göre hazırlanmıştır .İncelenmesi gereken numuneden alınan yaklaşık 0.5-1.0 gram doku önce ( 1/1 v/v ) kloroform -metanol solusyonunda homojenize edildi. Sonra 3000 rpm 'de 10 dakika santirfüj edilerek üst faz ayrıldı. Alt faz azot gazı altında uçurularak , geriye kalan ekstreye tekrar ( 2/1 v/v ) oranında kloroform-metanol solusyonu orjinal miktarının yaklaşık yirmi misline tamamlanacak şekilde ilave edildi ( 13 , 36 ) .

Lipid ekstrelerinin organik fazı içinde % 0.5 sülfirik asid içeren su ile ayrıldıktan sonra , alt faz analiz edilmek üzere + 4°C'de saklandı. Asidik solusyon, alkenileter bağlarını hasarlatmadan asidik fosfolipidleri ayırmak için kullanılmıştır ( 3 ). Bilinen bir miktar lipid ekstresi 60 °C suda ve azot gazı altında kurutulup üzerine 2 defa klorofom-metanol ilave edilerek işlem tekrar edilmiştir.Bu şekilde proteinleri denatüre edilmiş lipid ekstresi kolesterol tayininde kullanılmıştır ( 16 ) .

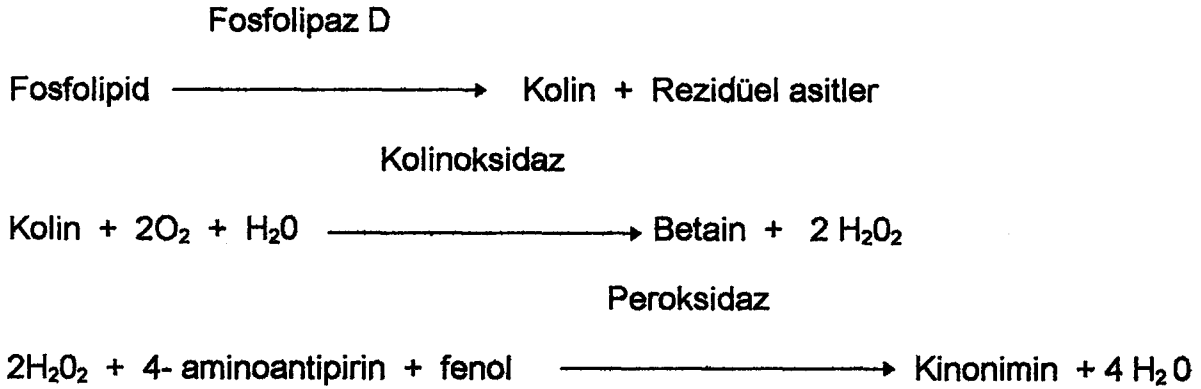


### 3.3.2. BEYİN DOKUSU TOTAL FOSFOLİPİD ANALİZİ

Beyin dokusu ekstratları asidik solusyonla organik fazı ayrıldıktan sonra total fosfolipid analizi için kullanıldılar.

Analiz yöntemi olarak ; enzimatik ilkelere dayalı " Mennarini Diagnostics" kitleri kullanılarak manuel olarak fosfolipid tayini yapıldı ( 37 )

Prensip;



Teknik;

	Örnek	Standart	Kör
Çalışma solusyonu	2 ml	2 ml	2 ml
Beyin ekstraktı	0.02 ml	—	—
Standart	—	0.02 ml	—
Distile su	—	—	0.02 ml

37 °C'de 15 dakika inkübasyondan sonra, köre karşı standart ve örneklerin optik dansitesi 500 nm'de okundu. Standart absorbansına göre örneklerin absorbansı değerlendirildi.

absorbans (örnek )

$$\text{Fosfolipid ( mg/dl )} = \frac{\text{absorbans (örnek )}}{\text{absorbans ( standart )}} \times \text{Standart konsantrasyonu ( mg / dl )}$$

### 3.3.3. BEYİN DOKUSU FOSFOLİPİDLERİNİN AYRIMLANMASI

Beyin dokusu fosfolipidlerinin ayırılması için günümüzde tercih edilen metod adsorbsiyon kromatografisidir. Silika jelin cam bir kolona doldurulması ile adsorbsiyon kromatografisi, cam plaklar üzerine yayılması ile ince tabaka kromatografisi gerçekleştirilmektedir. Çalışmamızda fosfolipid fraksiyonlarının ayırımı için Helena Laboratuvarları tarafından hazırlanmış silika jel plakları ( 10x20 cm ) yanısıra silika jel H ( Merck) kullanılarak cam plaklar üzerine kendimizin hazırladığı silika jeller adsorban olarak kullanılmıştır. Sonuçlar karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

#### 3.3.3.1. İNCE TABAKA KROMATOĞRAFİ YÖNTEMİNİN UYGULANMASI

##### Prensip

Polar ve çözünmeyen bir madde olan silika jel üzerine az bir miktarda ekilen lipid ekstraları organik solvent karışımı ile doyurulmuş ( mobil faz ) bir kapalı sistem içinde ( tank ) solventin hareketiyle birlikte yürüyen lipidlerin yüklerine göre plak ekim yerinden farklı uzaklıklara göç etmesine dayanır. Silika jel polar olduğu için polar lipidler , buna sıkıca tutunduklarından fazla uzağa göç edemezler . Nötral lipidler ise aplikasyon noktasından çok daha fazla uzağa göç etme eğilimindedirler.

Beyin ekstralarındaki fosfolipid fraksiyonlarının ayırılması için Helena Laboratuvarları tarafından hazırlanan silika jel plakları ile kendi laboratuvarımızda hazırlanan silika H jel plakları karşılaştırmalı olarak kullanılmıştır. Her iki yöntemde de aynı solvent sistemi kullanıldı ( 38 )

##### Ayırıcılar

###### 1. Solvent Karışımı

Kloroform , metanol , 2-propanol , trietilamin , distile su ( 30 / 9 / 25 / 25 / 7 ; v / v ) oranlarında çok yavaş bir şekilde karıştırılarak mobil faz hazırlandı.

###### 2. Kuprik asetat spray reaktifi , %3 (w/v)

Helena laboratuvarları tarafından hazırlanmış durumda alınan kuprik asetat % 8 (v/v) fosforik asid içinde çözüldü.

### 3. Fetal Tek 200 marker

İçinde bilinen miktar Sfingomiyelin, fosfotidilkolin, fosfatidilinositol, fosfatidilserin, fosfatidiletanolamin fosfatidilgliserol içeren marker kullanıldı.

Sfingomiyelin ( Bovine Brain ) 0.03 mg/ml

Lesitin (egg yolk ) 0.32 mg/ml

fosfatidilinositol (soy bean ) 0.08 mg/ml

fosfatidiletanolamin ( egg yolk ) 0.07 mg/ml

fosfatidilgliserol (egg yolk ) 0.15 mg/ml

#### Teknik

İnce tabaka kromatografi cihazı olarak Stahl tarafından tarif edilene uygun şekilde yapılmış olan Camlab marka cihaz kullanıldı.

Etanol ve eter ile dikkatli bir şekilde temizlenmiş olan aynı kalınlıkta cam plaklardan bir küçük ( 5x20 cm ) , beş büyük ( 20x20 cm ) ve en son bir küçük cam plak yanyana gelecek şekilde sırayla plak tablası üzerine dizildiler.

Silika jel H ( Merck ) 40 gram tartılarak , ağırlığının iki misli su ile homojen bir eriyik haline gelecek şekilde karıştırıldı. 2-3 dakika çalkalamadan sonra ince tabaka sürgüsüne dökülen jel vakit kaybetmeden sürgü kolu 180 ° çevrilerek kapatıldı ve plakların üzerine 350 mikron kalınlığında muntazam bir tabaka elde edilecek şekilde sürgü çekildi. Daha sonra plaklar oda ısında bir saat kurumaya bırakıldı. Kuruduktan sonra serin ve kapalı bir yerde saklandı. Plaklar , ekim yapılmadan önce yaklaşık bir-bir buçuk saat 100° 'de aktive edildi. Plaklar soğutulduktan sonra ekim yapıldı.

Daha önce tarif edilen şekilde hazırlanmış lipid ekstraları aktive olmuş ve soğutulmuş plaklara alt kenardan 2 cm yükseklikte ve birbirinden 2 cm aralıklı olacak şekilde birden fazla örnek konarak ekilmişlerdir.

İnce tabaka kromatografi cam tankları çözücü developman sistemi konarak en az bir buçuk saat bekletilerek solventle doygunluğa ulaşması sağlanmıştır. Solvent yaklaşık olarak 0.5-1 cm olacak şekilde kuvetlere konmuştur.

Ayrıca beyin ekstralarındaki fosfolipidlerin ayırımı için , Helena Laboratuvarlarının hazır ticari kromatografi seti de kullanıldı. Bu setin silika jel plakları ( 10x20 cm ) üzerine ekim yapılarak Heilweil ve arkadaşlarının ince tabaka kromatografi yöntemi uygulandı ( 39 , 40 ).

Plağın göçtürülme işlemi , yaklaşık tüm plak ıslanıncaya kadar 70 dakika sürdürülmüştür. Tanktan çıkarılan plak 180°C lik fırında 2-3 dakika kurutulduktan sonra kuprik asetat reaktifi ile tamamen ıslanacak şekilde boyanmıştır.

Plak yine 180 °C 'lik fırında 7-8 dakika tutularak fosfolipid bantlarının görünür hale gelmesi sağlanmıştır. Marker ile birlikte tanımlanan bantlar 525 nm 'de dansitometrik olarak taranarak dağılım yüzdeleri belirlenmiştir.

### **3.3.4. BEYİN DOKUSU KOLESTEROL FRAKSİYONLARININ İNCE TABAKA KROMATOĞRAFİSİ İLE AYRIMLANMASI**

Daha önce tarif edildiği şekilde hazırlanan proteinleri denatüre edilmiş lipid ekstraktları analiz için kullanılmışlardır. Kolesterol fraksiyonlarının ayırılması için iki ayrı solvent sistemi kullanılmıştır ( 13 , 41 ).

#### **Solvent Sistemleri**

Elde edilen lipid fraksiyonlarının değişik literatürlerde tarif edilen banyolara göre farklılığını ortaya koymak için iki farklı solvent sistemi kullanılmıştır.

1.Petrolium eter / Dietileter / Glasiyel asetik asit ( 82 / 18 / 1 : v / v / v )

2.n-Hexan / Dietileter / Glasiyel asetik asit ( 90 / 10 / 2 : v / v / v )

#### **Plakların Boyanmasında kullanılan Reaktifler**

##### **1.Sülfirik asit ile kömürleştirme**

Sülfirik asit su karışımı ( 1/1 v/v ) oranında plakların üzerine püskürtülüp 20 dakika 150 ° 'de inkübe edildi.

##### **2. İyod buharı**

İyod buharı içeren bir cam kabta plaklar yaklaşık 3 dakika bekletilerek kolesterol fraksiyonlarının sarı renge boyanması sağlandı.

#### **Teknik**

Helena Laboratuvarları hazır plate'lere ve kendi laboratuvarımızda hazırlanan silika H gel platelerine ekim yapılmıştır. Plaklar örnek ekimi öncesi 100 ° C de 1 saat aktive edildiler.

Aktive edilmiş ve soğumuş plakların üzerine birbirinden 2 cm aralıklı olacak şekilde birden fazla örnek konuldu. Her bir lipid ekstraktından 40'ar mikrolitre ekim yapıldı.

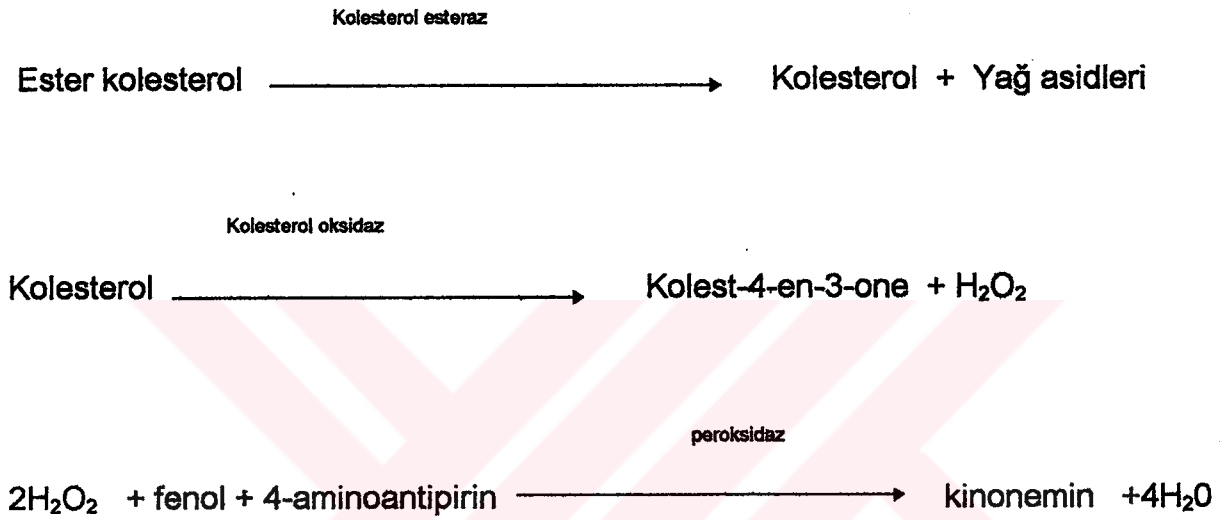
Ekim yerleri vakit kaybetmeksizin kurutulduktan sonra plaklar , daha önceden solventle yaklaşık 2 saat öncesinden doyurulmuş tanklarda ayrışmaya bırakıldı. Tankların içi iyi bir satürasyon elde etmek için süzgeç kağıdı ile kaplanmışlardır.

Daha sonra iyod buharı veya sülfirik asit ile renklendirilen kolesterol fraksiyonları elimizde bulunan standartlara göre belirlendi.

### 3.3.5. BEYİN DOKUSU TOTAL KOLESTEROL DÜZEYLERİNİN ENZİMATİK YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ

Daha önce tarif edildiği şekilde hazırlanan beyin dokusu ekstraktları analiz edilinceye kadar +4 ° de saklandı. Dokuda total kolesterol tayin etmek için Hoff ve arkadaşlarının tarif ettiği biçimde lipid ekstraktları total kolesterol ölçümüne hazırlandı. Ekstraktların total kolesterol içeriği enzimatik kolorimetrik yöntemle manuel olarak belirlendi ( 41 , 42 ) . Analiz için BioMereux firmasının total kolesterol kiti kullanıldı.

#### İlke



#### Reaktifler

**Reaktif 1;** Fosfat buffer 0.1 mol/l

Fenol 15 mmol/l

Sodyum kolate 3.74 mmol/l

Surfaktant

**Reaktif 2;** 4-aminoantipirin 0.5 mmol/l

peroksidaz 1000 U/l <

kolesterol oksidaz 200 U/l <

kolesterol esteraz 125 U/l <

## Teknik

### Kolesterol ölçümü için lipid ekstraktlarının hazırlanması

1. 2/1 oranında kloroform-metanol ile daha önce hazırlanmış lipid ekstraktlarından 500' er mikrolitre alınarak azot gazı altında uçuruldu. Kalan rezidünün miktarını belirlemek için tekrar tartıldı.
2. Lipidleri solubilize etmek amacıyla eşit volümde Triton-X 100 / kloroform ile working solusyonu hazırlandı. Kuru rezidünün miligram olarak ağırlığının 6 katı olacak şekilde mikrolitre working solusyonu , lipidleri solubilize etmek için yeterlidir.
3. Karışımın üzerine 500 mikrolitre kloroform ilave edildi. İyice karıştırıldıktan sonra bu karışımdan 50 mikrolitre alınarak azot gazı altında uçuruldu. Kalan rezidü total kolesterol analizi için kullanıldı.
4. Toplam kullanılan Triton-X 100' ün miktarı enzimatik aktiviteyi inhibe etmemesi için 25 mikrolitreyi aşmamalıdır. Ölçülecek kolesterol aralığı 20-75 mikrogram arasında olmalıdır.

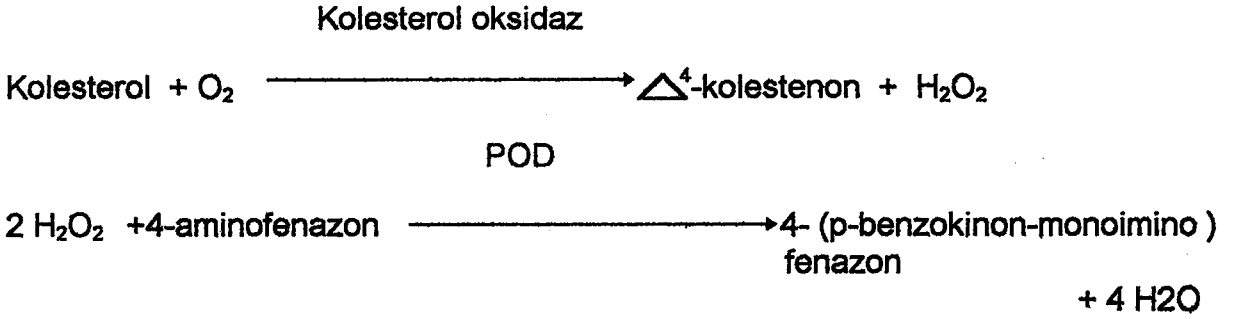
### Total kolesterol Ölçümü

1. 10, 20, 50, 100, 200 mikrogram/ml konsantrasyonlarında kolesterol standartı (Biomeruex) kloroform içerisinde hazırlandı. Eşit miktarda alınan standart solusyonları 50 mikrolitre Triton-X 100/ kloroform ile iyice karıştırıldıktan sonra solvent azot gazı altında uçuruldu.
2. Tüplerde kalan Triton-X 100 ile solubilize edilmiş beyin dokusu rezidüsü 5 ml reaktif 1 ile çözülerek 2.5 ml 'si örnek körü için ayrıldı. Aynı işlem standartlar için de tekrarlandı.
3. Daha sonra her bir tübe reaktif 1 ile çözülerek hazırlanan reaktif 2 , 1'er mililitre ilave edildi. İyice karıştırıldıktan sonra 37 ° C 'de 25 dakika inkübe edildi. 500 nm'de her bir örnek ve standart kendi körüne karşı spektrofotometrik olarak okundu. Oluşturulan standart eğrisine göre ölçümler değerlendirildi.

### 3.3.6. SERBEST KOLESTEROL ÖLÇÜMÜ

Beyin dokusu ekstraktları lipid solubilizasyonu total kolesterol ölçümünde olduğu gibi hazırlandı. Beyin dokusu serbest kolesterolü Boehringer Mannheim firmasının serbest kolesterol kiti kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü. Yine aynı firmanın kontrol serumları ve standartları ile ölçüm değerlendirildi. Serbest kolesterol ölçümü için hazırlık Timothy Carr ve Janet I. De Hoff 'un tarif ettiği üzere yapıldı ( 41 , 42 ).

## Prensip



## Reaktifler

Fenol buffer 20 mmol/l

4-aminofenazon buffer 2mmol/l

Kolesterol oksidaz / kolesterol peroksidaz (12 U/ml : 8/ml <)

## Teknik

1. Total kolesterol ölçümünde anlatıldığı şekilde lipidler solubilize edildi. Solvent azot gazı altında uçuruldu.
2. Eşit miktarda fenol ve 4-aminofenazon tamponundan her bir örneğe 5'er mililitre konuldu. 2.5 ml'si örnek körü için ayrıldı.
3. Örnek tüpleri ve standartlara 50'şer mikrolitre kolesterol oksidaz / peroksidaz ilave edilerek iyice karıştırıldı. 37 °C de 60 dakika inkübe edildi. Örnek körüne karşı örnek absorbansları 500 nm'de okundu. Oluşturulan standart eğrisine göre ölçümler değerlendirildi. Boehringer Mannheim firmasının kontrol serumları kullanıldı.



### 3.3. 7. BEYİN DOKUSU YAĞ ASİDİ METİL ESTERLERİNİN GAZ KROMATOĞRAFİSİ İLE BELİRLENMESİ

Yağ asitleri analizinde Gaz-likid Kromatografi ( GLK ) en iyi ayırımı sağlayan klasik bir yöntemdir. GLK , hareket etmekte olan bir gaz fazın, üstü uçucu olmayan bir sıvı ile kaplanmış inert katı maddeden oluşmuş stasyonere bir faz üzerinde absorbe olması ile fiziksel ayrılmayı sağlayan bir tekniktir.Katı faz, aktif grulu silikon polimerleri veya doymuş hidrokarbonlar , hareketli faz ise gazdır.

İnert katı madde ile doldurulan cam veya metal kolonun bir ucunda yağ asidi metil esterleri buhar haline getirilir.İnert gazın sürekli akışı yağ asidi metil esterlerinin kolon boyunca hareketini sağlar. Stasyonere faza karşı affinitelerine göre kolondan çıkışları değişir. Yağ asidi metil esterlerinin kolondan çıkışı fiziksel yada kimyasal yollarla tesbit edilir.Bizim çalışmamızda yağ asidi metil esterleri için çok hassas kabul edilen BPX 70, 60 metre kolon kullanılmıştır. Bu kolon , % 70 siyanopropil, polisilfenilen-siloksandan oluşmuş yüksek derecede polar , silika kaplı bir kolondur. Resim 1 'de gaz-kromatografi cihazı görülmektedir.

Bir GLK 'de başlıca şu kısımlar vardır;

1. Sabit basınçlı sürekli gaz kaynağı
2. Katı ve sıvı fazı içeren kolon
3. Hem kolonu hem dedektörü ısıtan bir ısıtma sistemi
- 4.Dedektör
- 5.Dedektörden alınan bilgilerin kaydedildiği kaydedici

#### Örneklerin GLK için hazırlanması

Daha önceki bölümlerde de anlatıldığı şekilde , Folch ve arkadaşlarının tarif ettiği üzere beyin dokusu homojenize edildi. Yaklaşık 10 mg lık doku için 2 ml kloroform / metanol ( 2 / 1 , v/v ) solusyonu kullanılarak hazırlanan homogenatlar , yağ asitleri için ekstraksiyon işlemine tabi tutuldu.

Yağ asitlerinin kromatografiden önce ekstraksiyon işlemi için bir çok yöntem vardır. Yağ asitlerinin polifonksiyonel gruplarının kimyasal reaksiyonlarla türevlerinin oluşturulması kromatografi analizini mümkün kılar. Biz yüksek verimliliği ve pürifikasyon aşamasından önce yapılması ile uygulama kolaylığı sağlayan, Lepage tarafından önerilen, direkt transesterifikasyonla yağ asitlerinin ayrımlanması metodunu seçtik. Yağ asidi metil türevlerinin oluşturulması için aynı zamanda Sun ve Horrocks'un önerdiği alkali metanolizis yöntemi de kullanıldı (43 , 44 ).

Beyin dokusu , fosfatidilkolin yağ asitlerinin metil esteri türevlerinin hazırlanması için alkali metanolizis ve benzen ile metanolizis yöntemleri karşılaştırmalı olarak kullanıldı. Plaklar üzerine ekilen örnek miktarlarının 40 mikrolitre ile sınırlanmış olması yüzünden ,



bu örneklerin yağ asidi metil esterlerinden gaz kromatografide oldukça düşük şiddette pikler elde edildi. Bu piklerin değerlendirilmesi oldukça zor oldu. Kanımızca örnek miktarının çok az olmasına bağlı , bu sonuç ile karşılaşıldı. Total beyin homojetından yapılan gaz kromatografi sonuçları ise çok daha demonstratif bulundu.

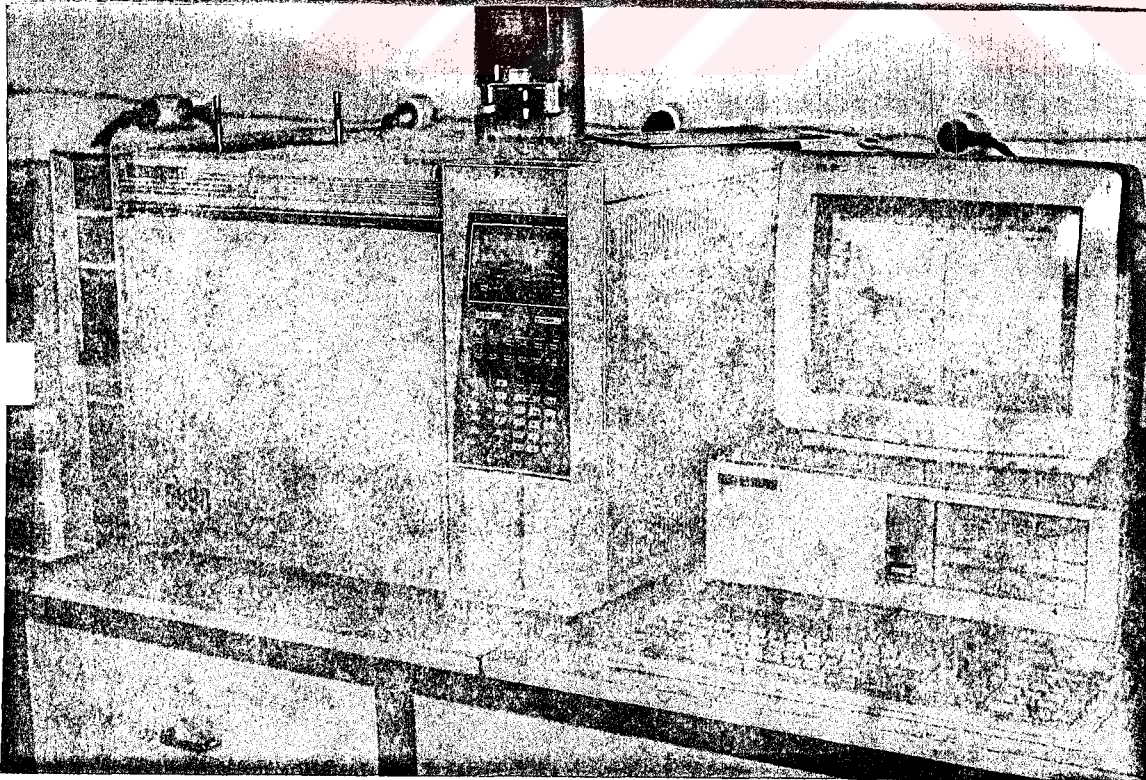
## **Direkt transesterifikasyon yöntemi ile yağ asidi türevlerinin ayrılması**

### **Ayırıcılar**

Metanol , Benzen , Asetil klorid , Kloroform

### **Teknik**

1. Kullanılan bütün cam malzemeler analiz öncesi 2/1 ( v/v ) kloroform / metanol ile yıkanıp azot gazı altında kurutuldu.
2. Her bir örnek yaklaşık 10 mg'lık doku için 2 ml 2/1 kloroform / metanol ile ekstrakte edildi. Faz oluşumu sağlandıktan sonra alt faz ayrıldı ve azot gazı altında uçuruldu. Aynı işlem bir kez daha tekrar edildi.
3. Kalan rezidü 1 ml metanol-benzen (3/2 - v/v ) içinde çözüldü. Karışımın üzerine 1 ml asetil klorid-metanol ( 5/100 - v/v ) eklendi. Karışım metanolizis için 100° C 'de 1 saat kaynatıldı. Tüpler kaynatmadan önce ve sonra herhangi bir örnek kaybını belirlemek için tartıldı.
4. Hazırlanan örnekler gaz kromatografisine verilmeye kadar +4 derecede saklandı. 1,5 mikrolitre kolona enjekte edildi. Elde edilen pikler , Altech firmasının yağ asidi metil esteri standartları ve doğal yağlar ( zeytinyağı , balıkyağı gibi ) standart gibi kullanılarak değerlendirildi.



**RESİM ( 1 )**

### **Alkali metanolizis ile yağ asidi metil esteri türevlerinin hazırlanması ;**

Beyin dokusu lipid ekstraktları yağ asidlerinin metil esteri türevlerinin hazırlanmasında alkali metanolizis yöntemi de denendi ( 3, 44 )

Gerekli malzemeler:

KOH , Metanol , distile su

#### **Teknik**

1. 13 gram KOH 20 mililitre distile su içinde eritilir.Bu karışımın üzerine 100 mililitre metanol eklenir. Bu şekilde metilante çözeltisi hazırlandı.

2. Beyin dokusu lipid ekstraktlarının her birinden 2'şer ml alınarak azot gazı altında uçuruldu.

3.Tüplerde kalan rezidü 2ml metilante çözeltisi ile çözüldü. Oda sıcaklığında 10 dakika iyice karıştırıldıktan sonra 0.5 ml n-hexan ilave edildi.Alt üst edilerek çok iyi bir şekilde karıştırılan karışım yaklaşık 5 dakika faz oluşumu için bekletildi. Üst fazdan 1.5 mikrolitre gaz kromatografisine enjekte edildi. Çıkan pikler standartlar eşliğinde değerlendirildi.

### **Fosfatidilkolin bandının yağ asidi yüzdelerinin belirlenmesi ;**

Helena Laboratuvarları tarafından hazırlanan ince tabaka plate'i üzerinde görünür hale getirilen fosfatidilkolin bantlarının tümü her bir rat için ayrı ayrı kazınarak , yağ asidi metil esteri türevleri hazırlandıktan sonra GLK 'e enjekte edildi.Fosfolipid bandından silika jelin uzaklaştırılması ve yağ asidlerinin serbestleştirilerek türevlendirilmesi için Sun ve Horrocks 'un yöntemi kullanılmıştır ( 44, 45 ).

### **Fosfolipid bandından silika jelin uzaklaştırılması ;**

1.Fosfatidilkolin bantları silika jel üzerinden kazınarak kapaklı tüplere aktarıldı.

2. Tüplerin üzerine 4 ml kloroform, 2 ml metanol, 1.5 ml distile su ilave edilerek kuvvetlice çalkalandı. Fosfatidilkolinin kloroform fazına geçişi sağlandı.

3. Üst faz atılarak, alt faz whatman no:1 filtre kağıdından iki kez süzülerek silika jel ortamdan uzaklaştırıldı.

4.Tüplerdeki kloroform fazı azot gazı altında uçuruldu.

### **Yağ asidlerinin serbestleştirilerek türevlendirilmesi ;**

1. Her örnek için 22.5 ml metanol , 7.5 ml benzen , 0.3 ml ml sülfirik asid karıştırılarak metilasyon reaktifi hazırlandı.
2. Örnekler metilasyon reaktifi ile yıkanarak bir balona aktarıldı.
3. Balon bir düz geri soğutucu ile birlikte ısıtıcı üzerine yerleştirilerek çeker ocak altında bir saat kaynatıldı.
4. İçerik soğutularak ayırma hunisine aktarıldı. Üzerine 5-6 ml hekzan, 3-4 ml distile su ilave edilerek 10 dakika kuvvetlice çalkalandı. Bu işlem iki kez tekrarlandı.
5. Hekzan içinde çözülmüş örnek azot gazı altında hekzanı uçurularak saklandı. GLK ' ye enjekte edilmesinden önce 50 mikrolitre hekzan ile çözüldü. 1.5 mikrolitresi enjekte edildi. Standartlar varlığında zamana göre çıkan pikler sırası ile değerlendirildi.

### **Gaz Kromatografisi çalışma şartları aşağıdaki tabloda görülmektedir ;**

**Cihaz** : Hewlett Packard, 5890 Series- II

**Kolon** : BPX-70 , % 70 siyanopropil, polisilfenilen siloksan ( highly polar ) , 60 metre , 0.32 mm , silika kaplı

**Detektör** : FID ( Flame iyonizasyon detektörü )

#### **Gazlar** :

Taşıyıcı gaz : 1.5 ml / dk , He

Yanıcı gaz : H<sub>2</sub> , 30 ml / dk ve hava 400 ml/ dk

**Split oranı** : 1/ 70

#### **Sıcaklıklar** :

Oven: 180 °C

Detektör : 260°C

İnjektör : 220 °C

**TABLO ( 10 )**

## DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

### 4.0. BULGULAR

Dokuz Eylül Üniversitesi Farmakoloji Anabilim Dalı tarafından farklı diyetlerin ratlarda serum lipid profili ve aterosjenik indeks üzerine etkilerini araştıran bir projenin devamı niteliğinde gerçekleştirilen çalışmamızda yine farklı diyetlerin beyin lipid profili üzerine etkileri araştırılmıştır. Elde edilen bulgular tablolar ve grafiklerde verilmiştir.

#### **İstatistiksel analizler;**

Elde edilen verilerin değerlendirilmesi için öncelikle ortalama değer ve standart sapmaları hesaplandı. Grupların ortalama değerlerinin birbirinden anlamlı derecede farklı olup olmadığını belirlemek için nonparametrik Kruskal-Wallis varyans analizi kullanıldı. Kruskal-Wallis ile anlamlı farklılık görölen parametreler için ikili grup analizi yapıldı. Grup sayısı 30'dan az olduğu için Mann Whitney U testi tercih edildi. Grup parametreleri arasındaki korelasyonu belirlemek için Spearman Korelasyon testi kullanıldı.

Farklı Diyetlerle Beslenen Ratların Beyin Dokusu Total, Serbest Ve Ester Kolesterol Düzeyleri İle Fosfolipid Fraksiyonlarının Değerleri ;

Diyet Grupları	Margarin ( n = 5 )	Tereyağı ( n = 4 )	Zeytinyağı ( n = 5 )	Palm Yağı ( n = 5 )	Kontrol (Yağsız)
T.Kolesterol	15.52±8.31	15.78±6.79	9.74±2.83	22.82±7.07	6.34±0.78
S.Kolesterol	12.59±5.98	12.86±6.24	8.28±2.87	13.87±3.86	5.17±0.47
E.Kolesterol	2.93±2.38	2.92±1.67	1.46±0.56	8.95±3.66	1.17±0.44
T.Fosfolipid	21.91±2.27	23.55±1.55	25.51±1.80	33.20±5.8	15.28±2.19
Sfingomiyelin	1872.3± 584	1311.0±298	2074.5±381	2847.9± 730	1345.6± 619
Lesitin* ( PC )	6556.59± 1038	5174.71± 1290	6063.53± 642	9327.49± 2109	3066.92± 62
PS*	992.84±393	329.76±148	841.91±355	2711.8±805	1269.3±805
PI	1169±346	2852±786	1963±852	845.27±438	429.25±309
PE	5793.83± 1596	3836.22± 852	5900.38± 1397	7750.77± 1805	3883.33± 600
PG	5406±1113	9185±803	8076±506	9585±2882	4688±861

TABLO ( 11 )

# T.Kolesterol= Total Kolesterol , S.Kolesterol= Serbest Kolesterol , E.Kolesterol= Ester Kolesterol , T.Fosfolipid= Total Fosfolipid , PC= Fosfatidilkolin , PS= Fosfatidilserin , PI= Fosfatidilinositol , PE= Fosfatidiletanolamin , PG= Fosfatidilgliserol

# Kolesterol değerleri ve total fosfolipid değeri mg / gr yağ doku başına verilmiştir.Fosfolipid fraksiyonları ise mikro gr / gr yağdoku başına verilmiştir. Fosfolipid fraksiyonlarının değerleri , total fosfolipid miktarı üzerinden kromatografi ile elde edilen bantların dansimetrik yüzdelere göre hesaplanmıştır.

# Sonuçlar ± standart hata olarak gösterilmiştir.

# ( \* ) p < 0.05



## Deney Gruplarının Beyin Dokusu ( % ) Yağ Asidi Profilleri ;

( % )	Margarin	Tereyağı	Zeytinyağı	Palm Yağı	Kontrol (Yağsız)
16:0	30.14±1.29	28.18±0.85	25.42±1.80	36.46±1.01	29.38±0.3
16:1	0.49±0.37	1.78±1.39	3.69±1.59	0.51±0.22	0.00
18:0*	24.19±0.71	24.36±0.69	20.05±2.99	31.90±2.33	29.43±0.5
18:1	23.06±0.86	21.81±1.74	22.09±1.58	17.52±2.16	21.12±0.5
18:2	3.13±0.99	2.67±0.43	6.27±1.88	2.59±0.89	2.13±0.23
18:3	0.91±0.39	0.62±0.32	2.09±0.69	1.88±1.28	1.09±0.32
20:0	1.68±0.17	2.25±0.60	1.54±0.17	1.95±0.48	1.58±0.15
20:1	0.90±0.38	0.83±0.23	0.46±0.46	2.00±1.01	0.00
20:4	10.60±0.91	10.66±0.62	9.40±1.72	8.66±1.15	10.29±0.56
22:5	3.21±0.24	6.41±2.21	6.66±3.78	2.46±0.49	3.86±0.20
22:6	2.05±0.30	2.06±0.19	2.07±0.45	1.14±0.38	1.42±0.12

TABLO ( 12 )

Tabloda geçen yağ asidlerinin yaygın kullanılan adları ; 16:0 = palmitik asid, 16:1=palmitoleik asid, 18:0= Stearik asid, 18:1=oleik asid, 18:2=Linoleik asid, 18:3= linolenik asid, 20:0=araşidik asid, 20:1=gadoleik asid, 20:4= araşidonik asid, 22:5= dokosapentaenoik asid, 22:6= dokosahekzaenoik asid .

#Her bir yağ asidi türü total yağ asidlerinin yüzdesi olarak verilmiştir.

#Sonuçlar ortama ± standart hata olarak verilmiştir.

# ( \* ) p < 0.05

Ratların yaş beyin dokusu ağırlıkları 0.7 - 1.5 gram arasında değişmekteydi. Beyin ağırlıkları açısından gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Ratların total vücut ağırlıklarının ise 150 - 200 gram arasında olması her ne kadar erişkin rat ağırlığına uysa da , ılıman iklimli bölgelerde diğer canlılarda olduğu gibi ratlarda da gelişim hızının oldukça yüksek olduğu fikrini desteklemektedir.

Farklı diyetler ile beslenen ratların haftalık kilo artışları ile serum kolesterol ve lipoprotein sonuçları aşağıdaki ( Tablo 14 ) ' de verilmiştir. Haftalık kilo artışı ve serum kolesterol değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Her iki enerji seviyesinde beslenen ratlar içinde palm yağı ile beslenen grupta serum kolesterol değerleri kontrol grubu ve diğer diyet gruplarının değerlerine göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (  $p < 0.01$  ) .

Diyet grupları		Margarin		Tereyağı		Zeytinyağı		Palmyağı	
Yağ oranı	Kontrol	% 10	% 20	% 10	% 20	% 10	% 20	% 10	% 20
kilo artışı (g/h)	2.94±0.2	1.1±0.1	7.09±0.6	3.92±0.3	4.09±0.2	1.31±0.6	9.92±0.5	1.07±0.1	13.7±0.7
Kolesterol (mg/dl)	71.5±3.8	51.8±6.2	55.3±3.4	63±6.3	65.8±6.5	54±3.4	46.3±3.4	76.2±4.3	52.8±1
Prebeta LP	41.8±2.7	62.4±7.1	67.2±7	52.06±5.3	18.5±11	37.94±9.1	69.5±21	39.56±4	80.2±0.4
Beta LP	20.24±2.4	13.68±3.7	14.75±3	25.04±3.4	68.2±4.1	18±3	13.1±1.7	23.3±3.5	2.45±0.4
Alfa LP	39.12±1.9	23.8±4.1	17.9±4.4	23.6±4.9	13.7±2.4	47.51±9.7	17.4±1.6	38.±5.8	17±0.8

**TABLO (13) Farklı diyetlerle beslenen ratlarda diyetin gelişme hızı ve serum lipidleri üzerine etkileri**

\*Sonuçlar ± standart hata olarak gösterilmiştir.

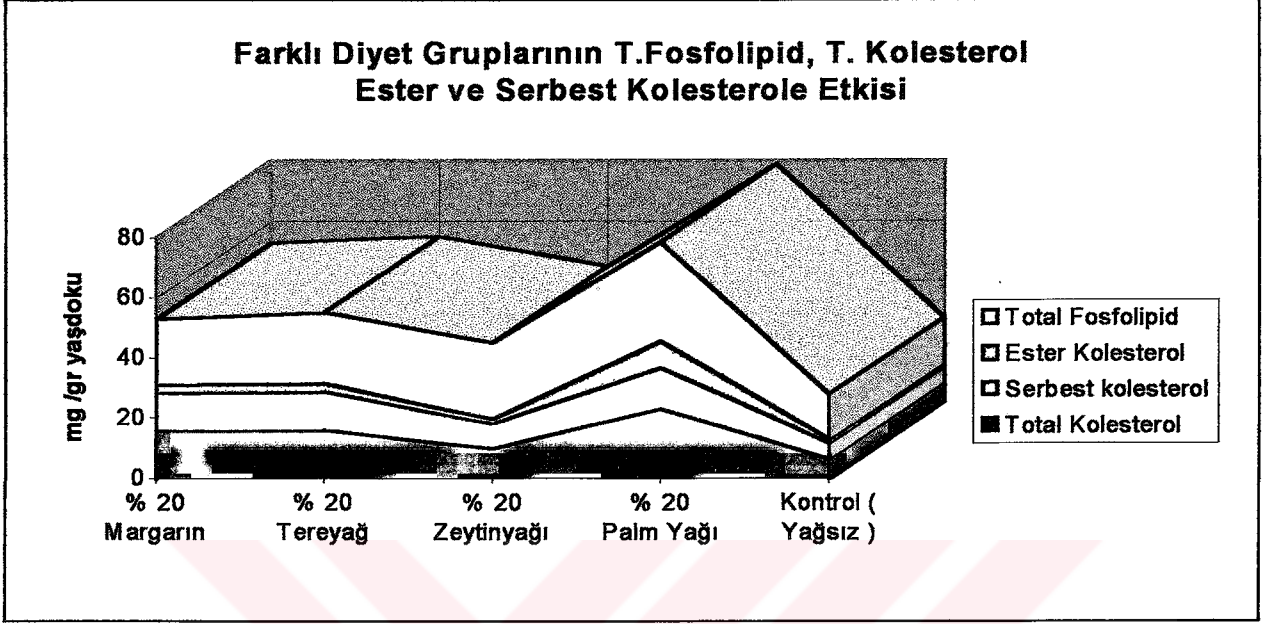
\*LP : Lipoprotein

Düşük enerjili diyet ile beslenen gruplarda , tereyağı ile beslenen ratlarda haftalık kilo artışı istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksektir (  $p < 0.05$  ). % 20 yağ ilavesi ile beslenen grupta ise en yüksek kilo alımı palm yağı beslenen grupta elde edilmiştir (  $p < 0.01$  )

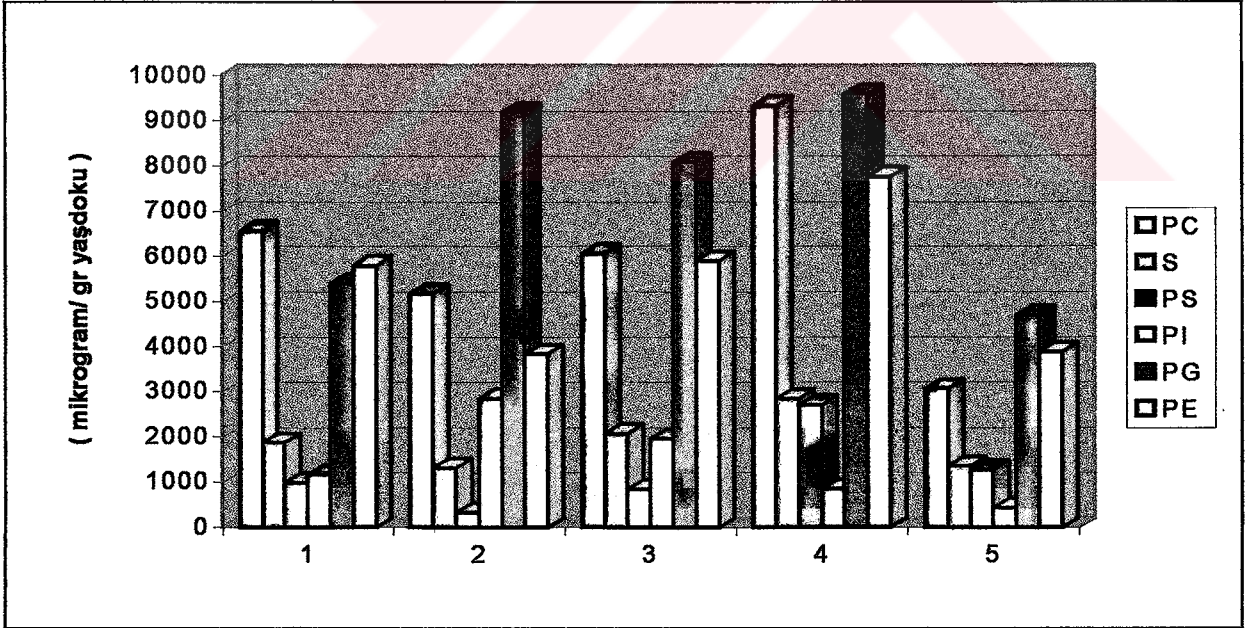


GRAFİK ( 1 )

Farklı Diyetlerle Beslenmiş Ratların Beyin Kolesterol Ve Fosfolipid Değerleri ;



Farklı Diyetlerle Beslenmiş Ratların Beyin Fosfolipid Bileşimleri ; GRAFİK ( 2 )

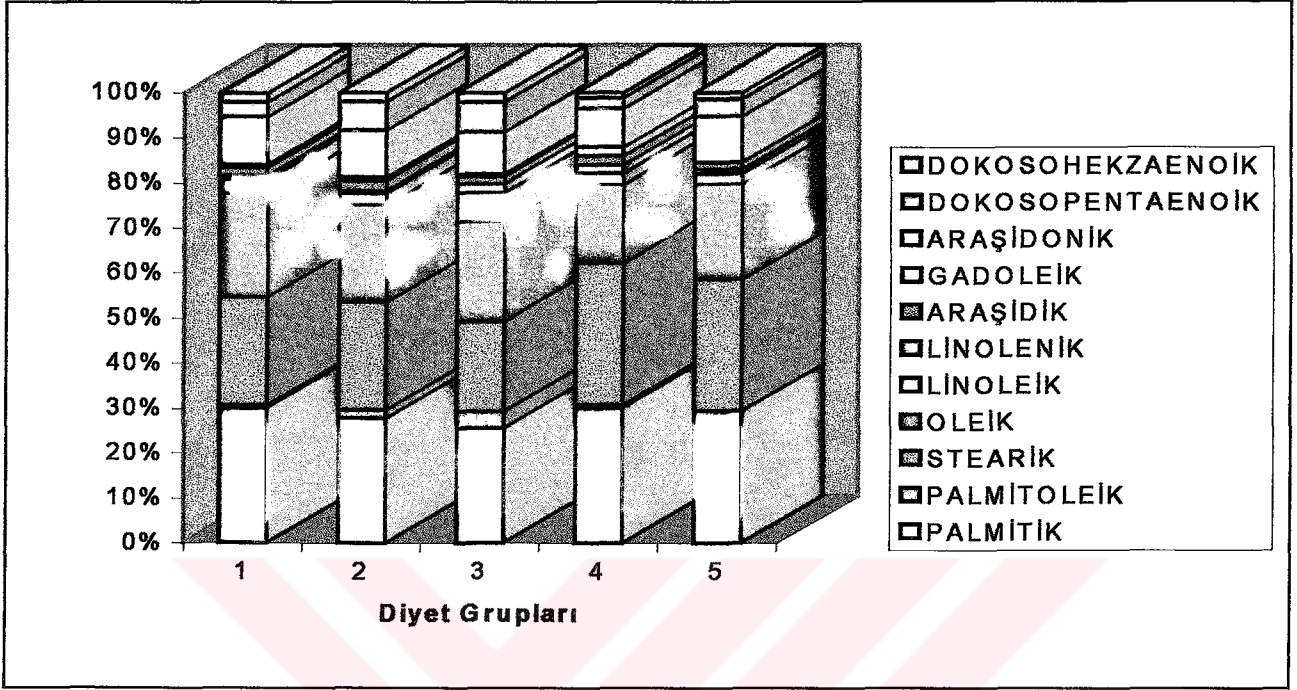


1= Margarin , 2=Tereyağı , 3=Zeytinyağı 4= Palm yağı ile beslenen grup 5=Kontrol

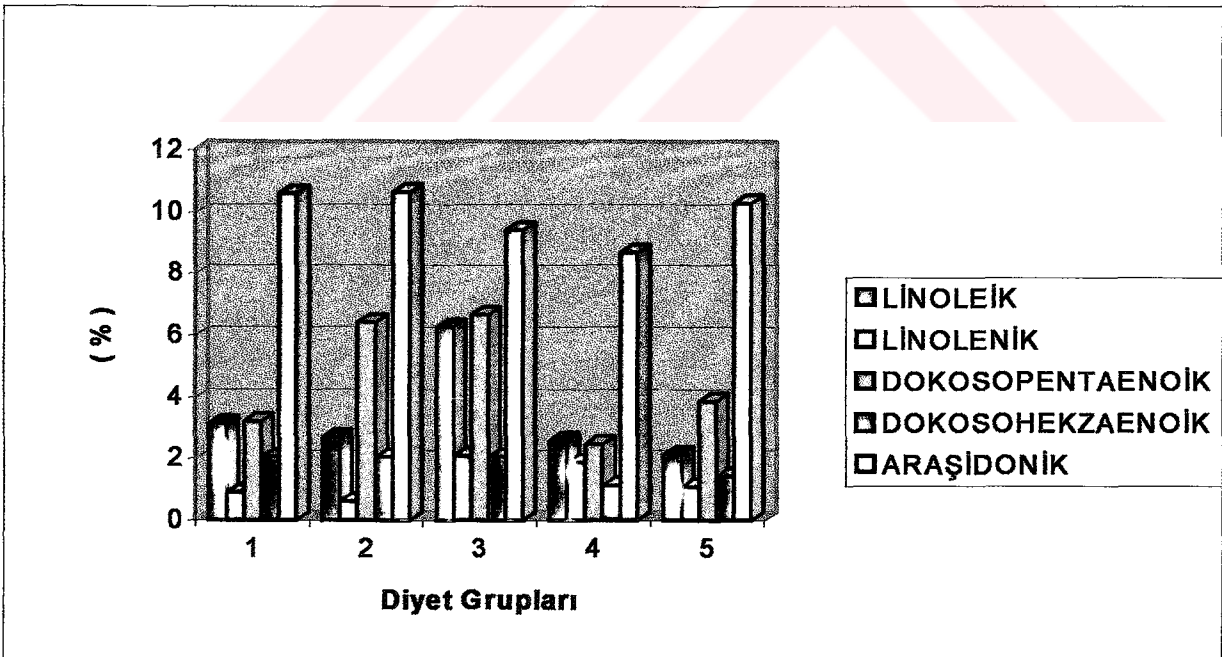
( PC= Fosfatidilkolin ve PS= Fosfatidilserin için p <0.05 )Mann-Whitney U ;

S = Sfingomiyelin, PI= Fosfatidilinositol, PG= Fosfatidilgliserol , PE = Fosfatidiletanolamin

**Diyet Gruplarının Beyin Dokusu Yağ Asidi Yüzdeleri ; GRAFİK ( 3 )**



**Beyin Dokusu Esansiyel Ve Çoklu Doymamış Yağ Asidi Yüzdeleri ; GRAFİK ( 4 )**



(1= Margarin , 2=Tereyağı , 3=Zeytinyağı 4= Palm yağı ile beslenen grup 5=Kontrol)

Grafik 1 'de beyin dokusu total fosfolipid ve kolesterol miktarlarının gruplar arasındaki dağılımı gözlenmektedir. Palm yağı beslenen ratların total fosfolipid ve kolesterol değerleri diğer gruplara ve kontrol grubuna oranla oldukça yüksek olarak bulunmuştur. Margarin ve tereyağı ile beslenen gruplarda beyin kolesterol ve fosfolipid miktarları birbirine yakın değerlerdeyken, zeytinyağı ile beslenen grupta , kontrol ve diğer diyet gruplarına kıyasla daha düşük sonuçlar elde edilmiştir.

Grafik 2'de de görüldüğü gibi palm yağı ile beslenen grubun fosfatidilkolin ve fosfatidilserin değerleri , kontrol grubu ve farklı diyet gruplarından anlamlı olarak yüksek bulunmuştu (  $p < 0.05$  ). Beyin dokusu fosfatidilgliserol ve fosfatidiletanolamin değerleri , sadece standart yem ile beslenen gruba kıyasla diğer bütün gruplarda yüksek olmasına rağmen , margarin ile beslenen grupta sonuçlar kontrol grubu değerlerine oldukça yakın olarak bulundu.

Farklı diyetlerle beslenen bütün gruplarda fosfatidiletanolamin ve fosfatidilgliserol değerleri birbirine çok yakın olmasına rağmen , tereyağı ile beslenen grupta fosfatidilgliserol değerleri , fosfatidiletanolamin değerlerine göre neredeyse iki katı yükseklikteydi. Yine tereyağı ile beslenen grupta ilgi çekici bir sonuç olarak fosfatidilinositol değerleri diğer grupların sonuçlarına göre yaklaşık iki katı yüksekte bulundu. Zeytinyağı ile beslenen grubun fosfatidilinositol değerleri ise , tereyağı grubunun çok az bir farkla altındaydı.

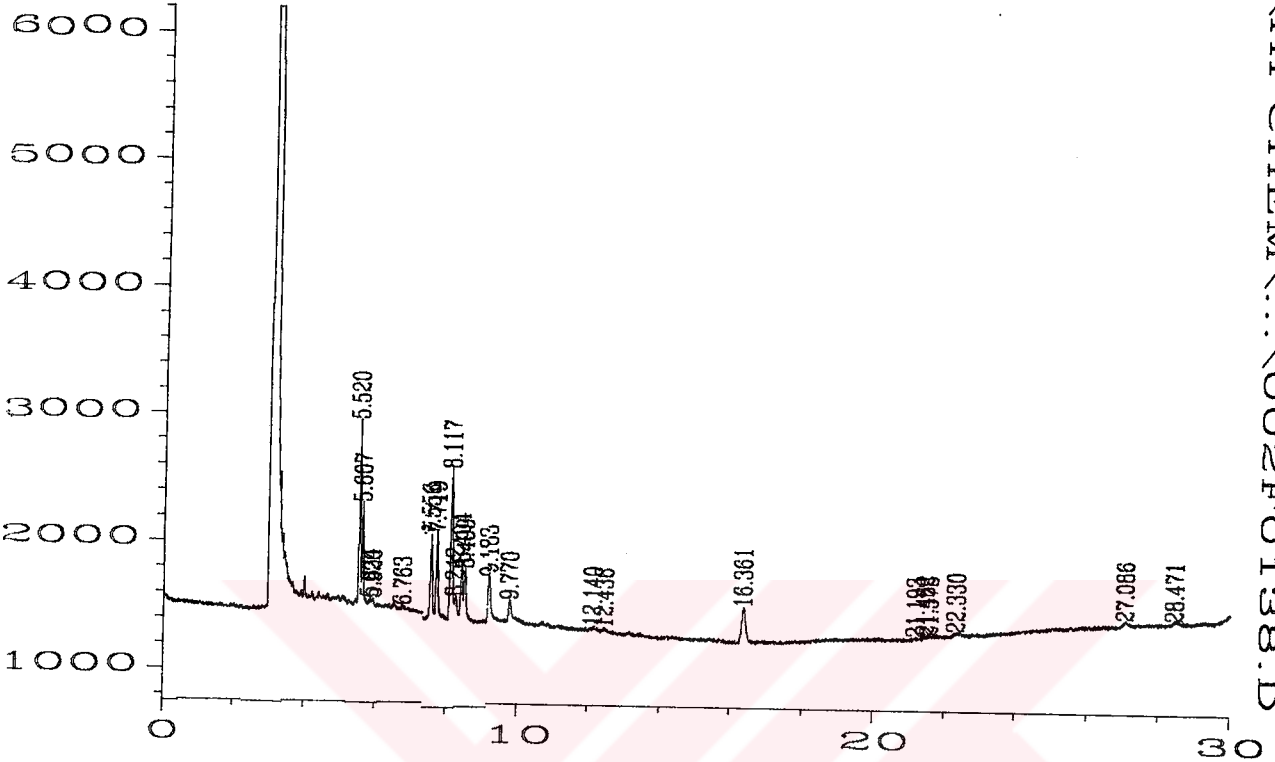
Grafik 3 ve 4' de ise beyin dokusu yağ asidi yüzdeleri izlenmektedir. Palm yağı ile beslenen grupta stearik asidin , diğer bütün gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olmasına rağmen (  $p < 0.05$  ) , beyin dokusu membranları için oldukça önemli olan dokosahekzaenoik asid miktarları en düşük olarak bulundu. Zeytinyağı ve tereyağı ile beslenen grupta ise dokosahekzaenoik asid değerleri kontrol ve diğer diyet gruplarına göre daha yüksek olarak tesbit edildi.

Beklenen bir sonuç olarak beyin dokusu linoleik asid yüzdesi , bu yağ asidini en fazla içeren yağ olan zeytinyağı ile beslenen grupta , daha yüksek olarak tesbit edildi. Araşidonik asid miktarları açısından ise gruplar arasında belirgin bir farklılık bulunamadı. Linolenik asid miktarları en fazla zeytinyağı ve palm yağı ile beslenen grupta bulunmasına rağmen , en düşük araşidonik asid değerleri palm yağı ile beslenen grupta saptandı.

Aşağıda farklı diyetlerle beslenen ratların yağ asidi kromatogramları verilmiştir ;

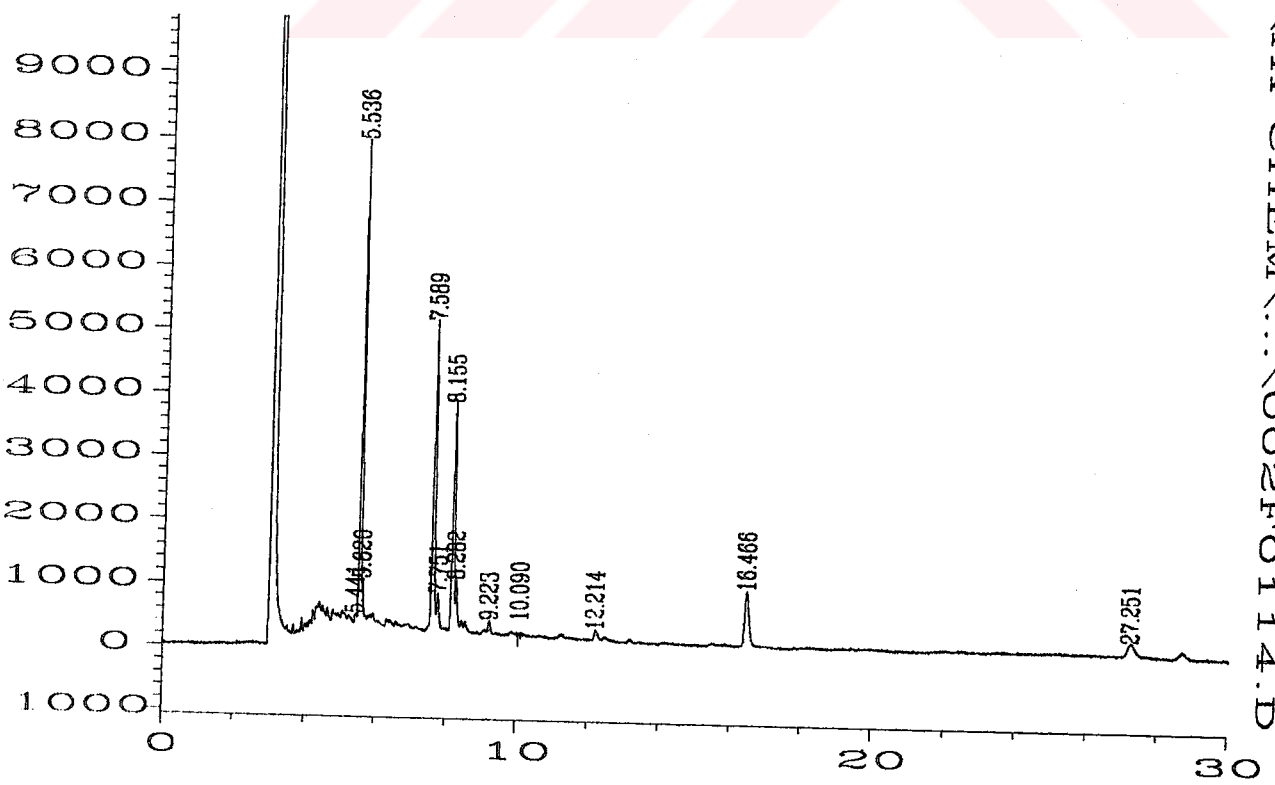
**Zeytinyağı ile beslenen grubun beyin dokusu yağ asidi kromatogramı**

C:\NHP\CHEM\...\002F0138.D



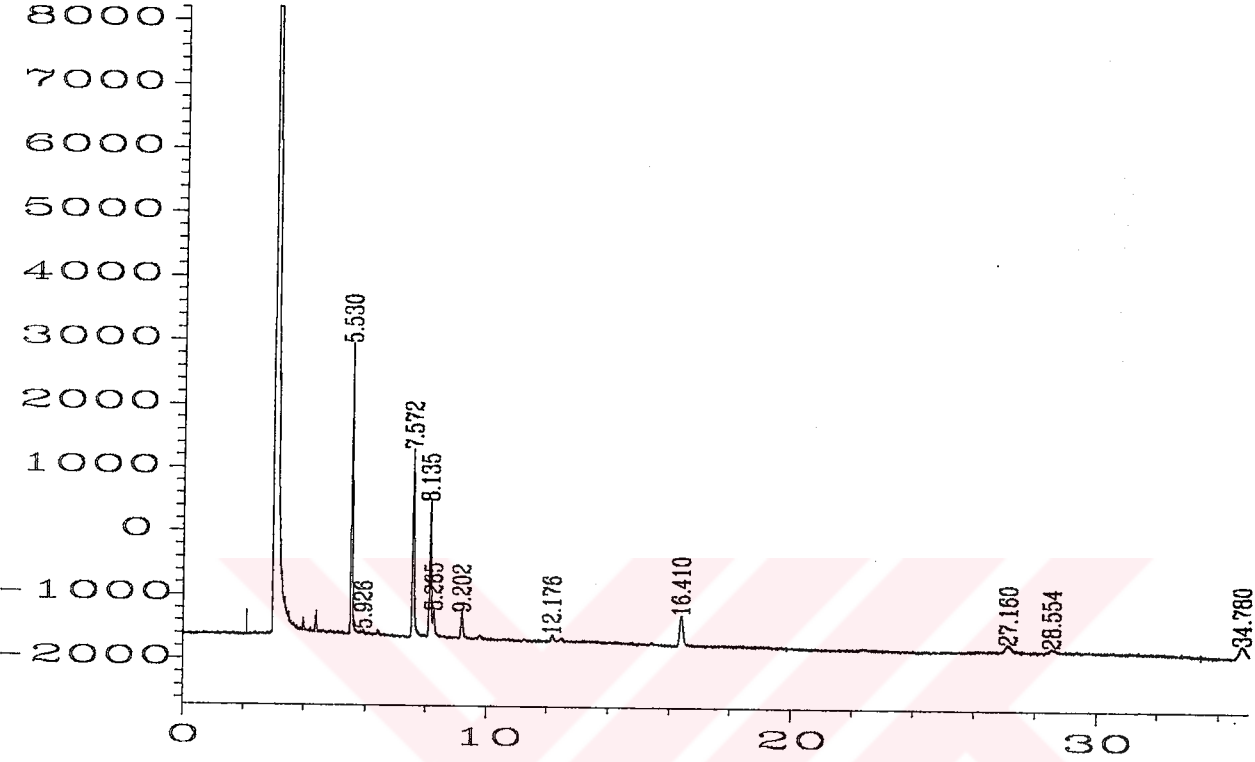
**Kontrol grubunun beyin dokusu yağ asidi kromatogramı**

C:\NHP\CHEM\...\002F0114.D



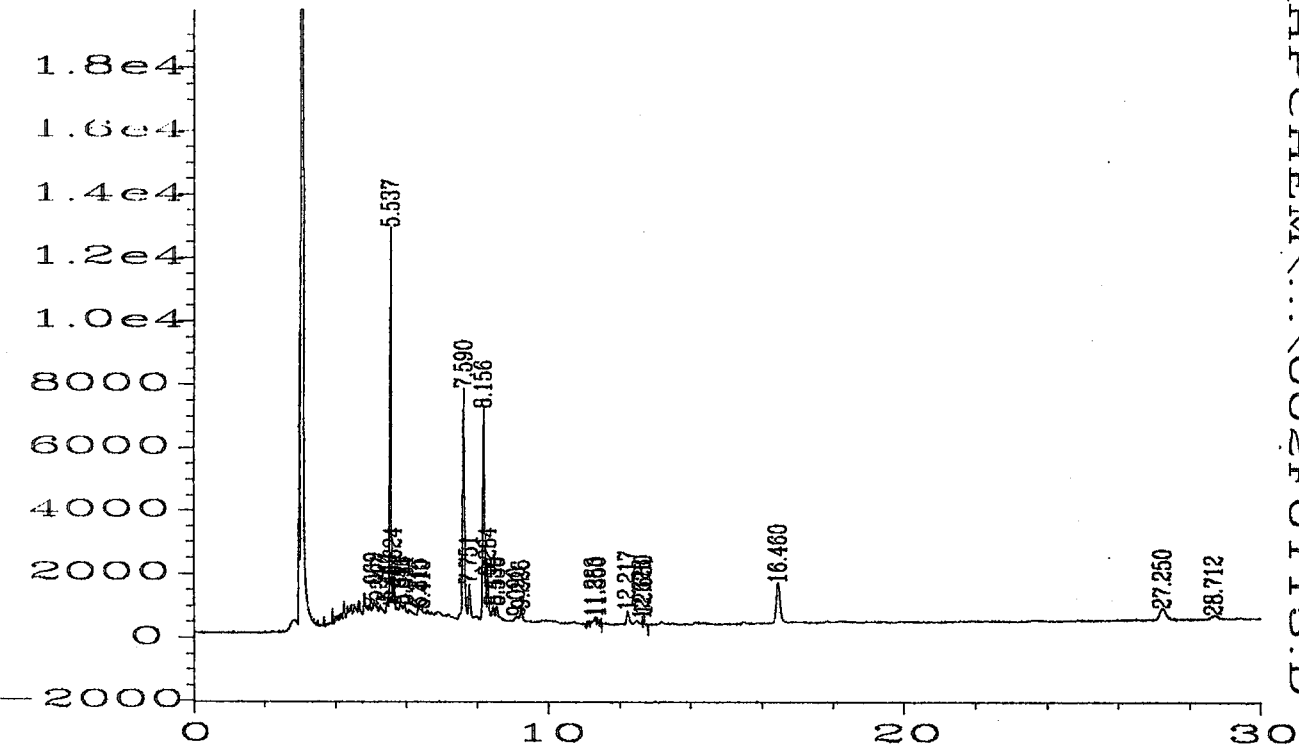
**Palm yağı beslenen grubun beyin dokusu yağ asidi kromatogramı**

C:\NHP\CHEM\...\002F0135.D



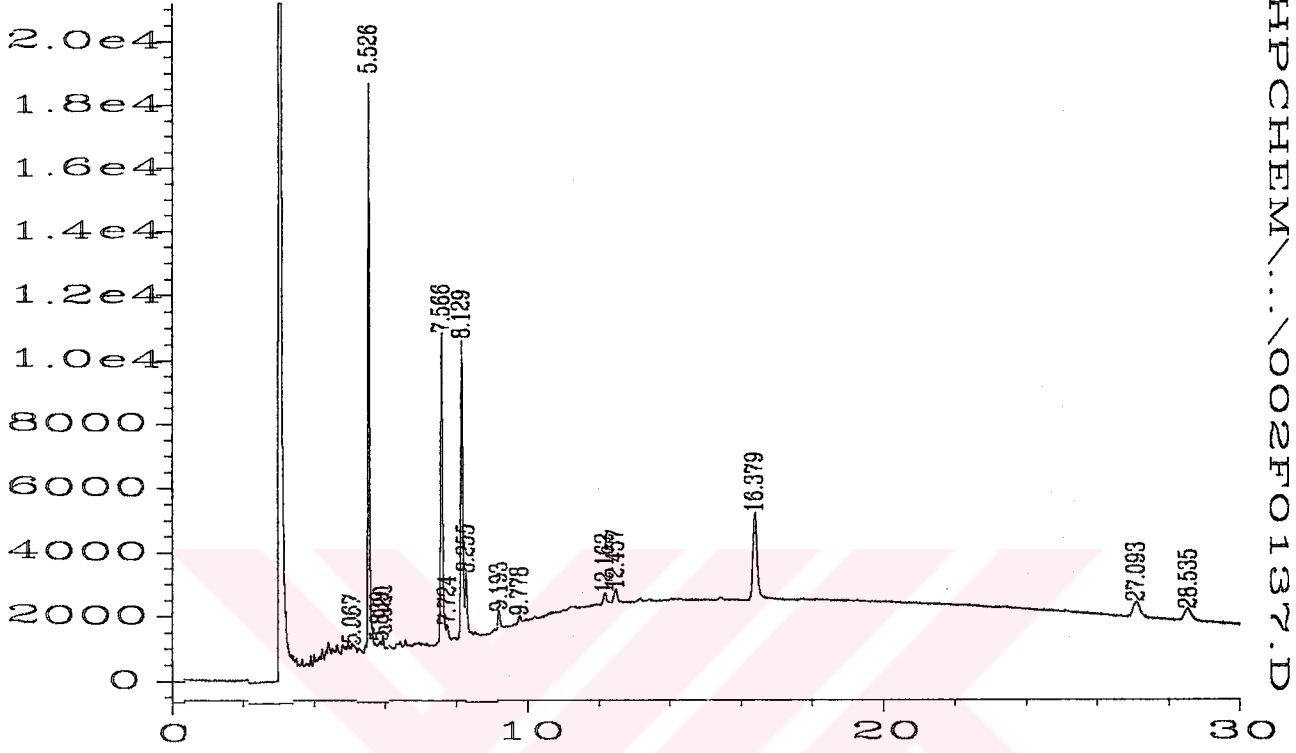
**Tereyağı ile beslenen grubun beyin dokusu yağ asidi kromatogramı**

C:\NHP\CHEM\...\002F0115.D



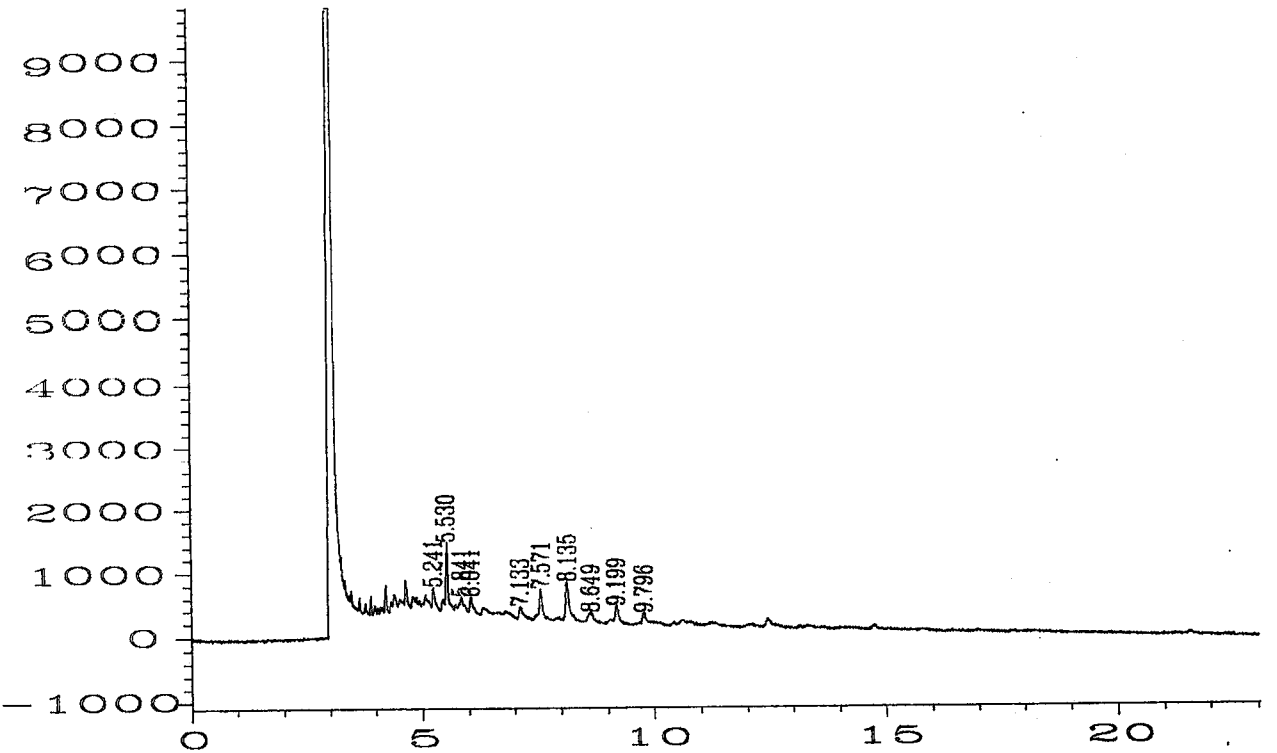


**Margarin ile beslenen grubunun beyin dokusu yağ asidi kromatogramı**



C:\HPCHEM\...\002F0137.D

**Margarin ile beslenen ratın beyin dokusu fosfatidilkolin fraksiyonunun yağ asidi kromatogramı ;**



C:\HPCHEM\1\DATA\002F0276.



Bilindiği üzere diyetten en çok etkilenen fosfolipidler fosfatidilkolin ve fosfatidiletanolamindir. Yine fosfatidiletanolamin ve kısmen fosfatidilserin fosfatidilkoline dönüşebilirler ( 18 ). Beyin homojenatının Helena Laboratuvarları tarafından hazırlanmış ince tabaka plakları üzerinde yapılmış kromatografi sonucu elde edilen fosfolipid bandlarından, fosfatidilkolin kazanarak , sadece bu bandın yağ asidi yüzdeleri belirlenmek istendi. Örnek sayısında kısıtlama getirmemiz zorunluluğu olduğu için sadece fosfatidilkolin bandı çalışılabilir.

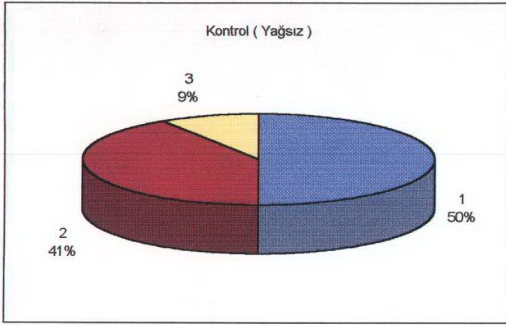
Ancak kromatogramlarda da görüldüğü gibi fosfatidilkolinkolinin yağ asidi pikleri oldukça düşük pikler olarak elde edildi. Bu durum plaklara ekilen örneğin miktarının az gelmesine bağlandı. Bu sonuçlar istatistiksel değerlendirmeye alınmadı.

Spearman Korelasyon testi sonuçlarına göre grupların beyin dokusu stearik asid ile fosfatidilserin değerleri arasında pozitif bir korelasyon bulundu (  $p < 0.01$  ,  $r = 0.781$  ). Stearik asid ve palmitik asid sonuçları arasında pozitif bir korelasyon varken (  $p = 0.007$  ,  $r = 0.567$  ) ; stearik asid ile dokosaheksaenoik asid ve dokosapentaenoik asid sonuçları arasında negatif bir korelasyon tesbit edildi ( sırası ile ,  $p = 0.007$   $r = -0.584$  :  $p = 0.033$   $r = -0.477$  ).

Grup içi beyin dokusu dokosaheksaenoik asid ve dokosapentaenoik asid değerleri arasında ise pozitif bir korelasyon sonucu bulundu . Bu durum MacDonald ile arkadaşlarının sonuçları ile uyum göstermemektedir (  $p < 0.01$  ,  $r = 0.774$  ).

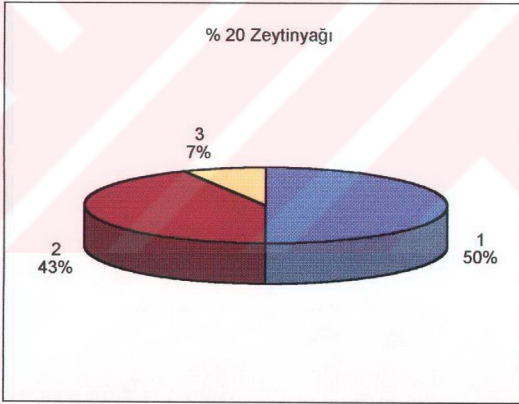
Grupların ayrı ayrı beyin dokusu linoleik ve araşidonik asid değerleri arasında yapılan istatistiksel değerlendirmeye göre , bu parametreler arasında herhangi bir korelasyon saptanamadı. Yine esansiyel yağ asidleri ile dokosaheksaenoik ve dokosapentaenoik asidler arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı.

## BEYİN DOKUSU SERBEST VE ESTER KOLESTEROL YÜZDELERİ ;



GRAFİK ( 5 )

Kontrol Grubunun Kolesterol bileşimi (1; Mavi = Total K. , 2; Bordo = Serbest K. 3; Sarı= Ester K. )

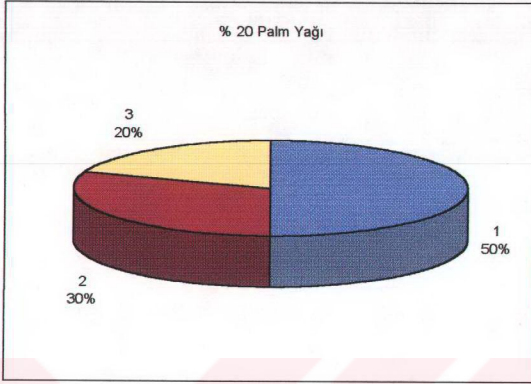


GRAFİK ( 6 )

Zeytinyağı ile beslenen grubun kolesterol bileşimleri

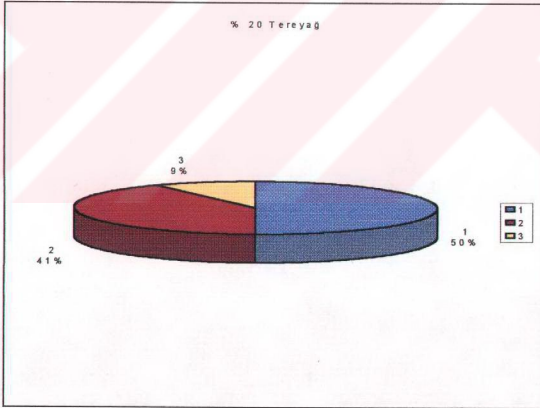
(1; Mavi= Total Kolesterol, 2;Bordo= Serbest K., 3;Sarı= Ester K. )

GRAFİK ( 7 )



Palm yağı ile beslenen grubun kolesterol bileşimleri (1; Mavi = Total Kolesterol 2;Bordo= Serbest K. , 3; Sarı= Ester K. )

GRAFİK ( 8 )

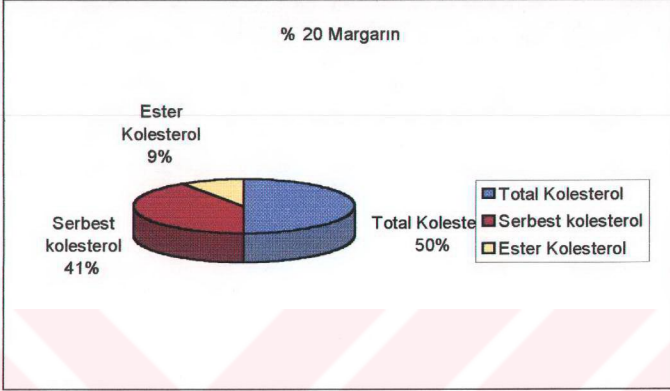


Tereyağı ile beslenen grubun kolesterol bileşimleri

(1; Mavi = Total Kolesterol 2;Bordo= Serbest K. , 3; Sarı= Ester K. )

## GRAFİK ( 9 )

Margarin ile beslenen grubun beyin dokusu ester ve serbest kolesterol yüzdeleri ;



Grafik 5 , 6 , 7 , 8 ve 9' da beyin dokusu ester ve serbest kolesterol yüzdeleri görülmektedir. Zeytinyağı ile beslenen grupta ester kolesterol miktarı oldukça düşük olarak bulundu. Palm yağı ile beslenen grupta ise belirgin olarak yüksekti.

Resim 2 ve 3'de hazır plaklar üzerinde farklı kolesterol banyolarında yürütülen beyin dokusu ekstraktları gözlenmektedir. Her iki banyoda da benzer kolesterol fraksiyonları elde edildi. Plaklar üzerinde beyin ester kolesterolünün varlığı kalitatif olarak tesbit edildi. Kendi hazırladığımız silika H jel plaklar üzerinde , beyin dokusu kolesterolü serbest ve ester kolesterol şeklinde ayrımlanabilmiş fakat hazır plaklarda bulunanan oldukça fazla sayıdaki bandlar elde edilemedi. Bu durum hazır plakların daha hassas sonuçlar verdiğini düşündürmektedir. Elimizde yeterli standart olmadığı için , ester ve serbest kolesterol dışındaki fraksiyonlara kesin tanımlamalar yapılamamıştır. Bu bandların farklı yağ asitlerinin kolesterol esterlerinden , serbest yağ asitlerinden ve triaçilgliserolden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Resim 5 'de beyin dokusu fosfolipid içerikleri ince tabaka kromatogramları üzerinde gözlenmektedir. Bu plakların dansitometrik incelenmesi ile kantitatif sonuçlara gidilmiştir. Total fosfolipid değerleri üzerinden fosfolipid fraksiyonlarının mikrogram / gr yağ doku miktarları hesaplanmıştır.

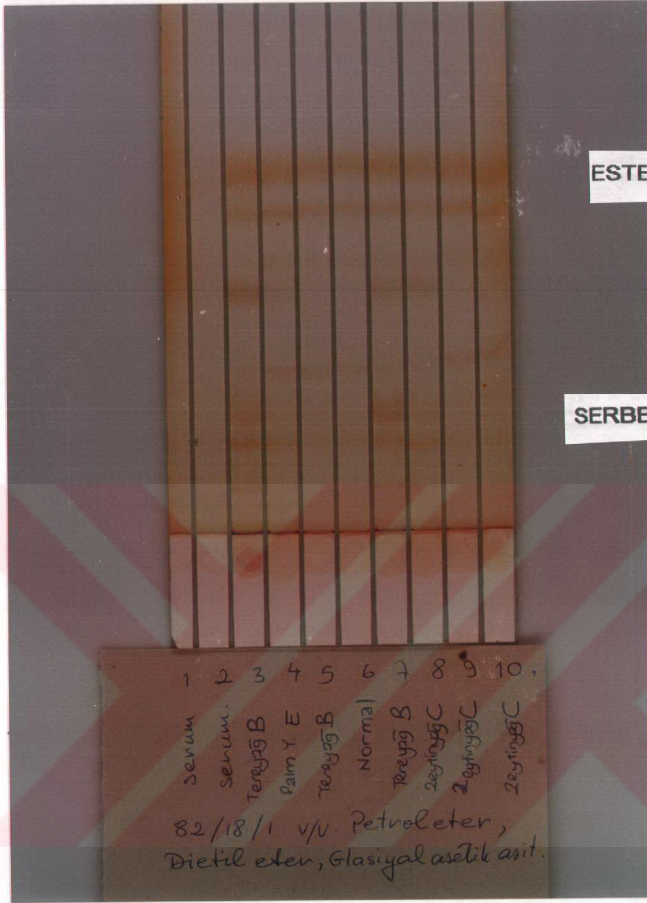




**Beyin dokusu kolesterol fraksiyonlarının ayırılması için hekzan, dietileter, glasiyel asetik asid ( 90/10/2, v/v ) banyosunda yürütülen ince tabaka kromatogramı**

### RESİM ( 2 )

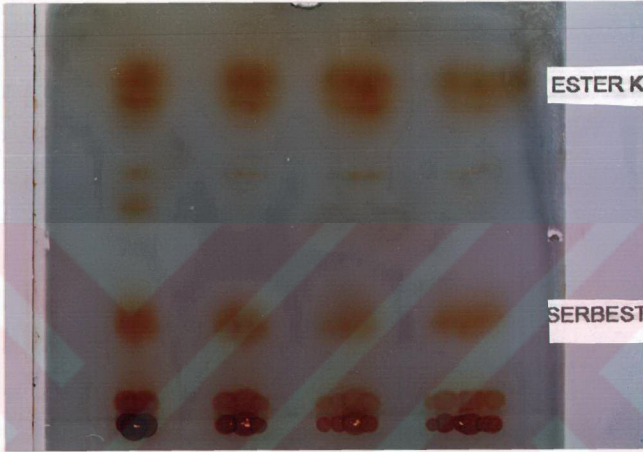
( 1; standart , 2; tereyağ ile beslenen grup , 3; palm yağı ile beslenen grup 4; tereyağı ile beslenen grup , 5; normal- sadece standart yem ile beslenen grup , 6; tereyağı ile beslenen grup , 7; zeytinyağı ile beslenen grup , 8; zeytinyağı ile beslenen grup , 9; zeytinyağı ile beslenen grup , 10 ; serbest kolesterol standartı , 11 ve 12 ; serum ekstraktları )



Petroleum eter , dietileter, glasiyel asetik asid ( 82 / 18 / 1 , v/v ) banyosunda yürütülen ince tabaka kromatogramı üzerindeki kolesterol fraksiyonları RESİM ( 3 )

( 1;serum , 2;serum , 3;tereyağı ile beslenen grup , 4;palm yağı ile beslenen grup , 5;tereyağı ile beslenen grup , 6; standart yem ile beslenen grup , 7;tereyağı ile beslenen grup , 8; zeytinyağı ile beslenen grup , 9; zeytinyağı ile beslenen grup , 10; zeytinyağı ile beslenen grup )





ESTER KOLESTEROL

SERBEST KOLESTEROL

1

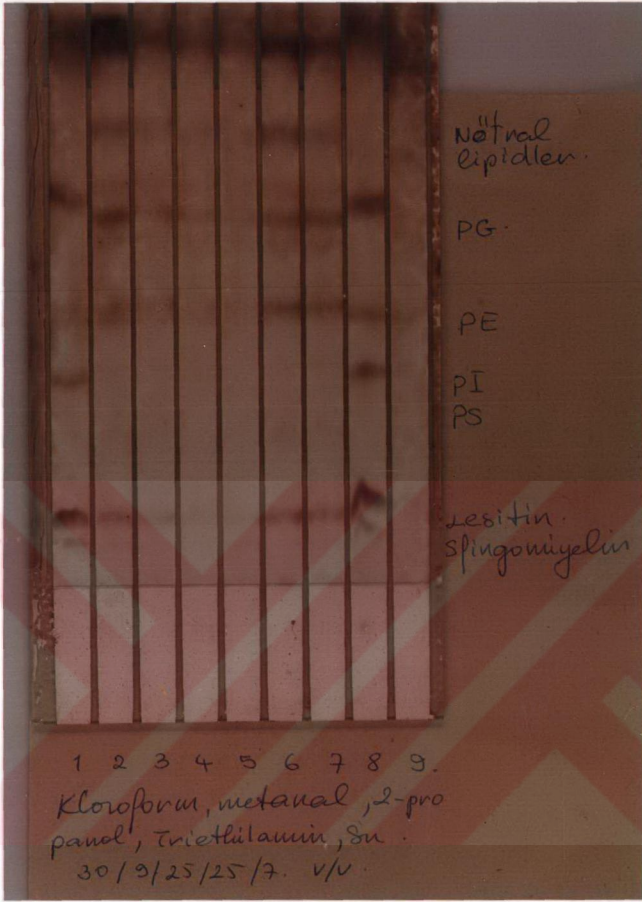
2

3

4

Kendi hazırladığımız silika H jel plaklar üzerinde ayrımlanan beyin kolesterol fraksiyonları ; ( Banyo : n-hekzan , dietil eter , glasiyel asetik asid , 90 / 10 / 2 )  
RESİM ( 4 )

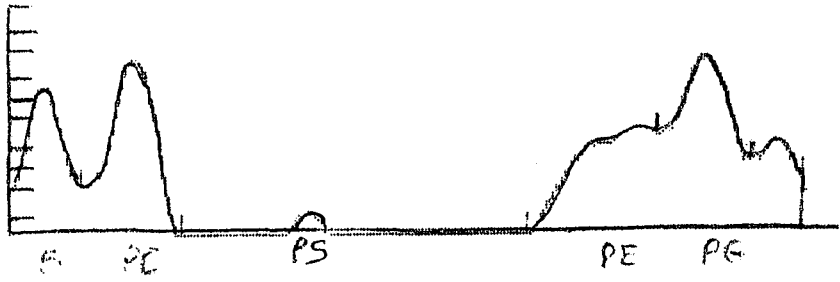
- 1 : Palm yağı ile beslenen grup
- 2: Margarin ile beslenen grup
- 3: Tereyağı ile beslenen grup
- 4: Zeytinyağı ile beslenen grup



**Kontrol ve deney grubunun beyin ekstraktlarının fosfolipid ince tabaka kromatogramı RESİM (5)**

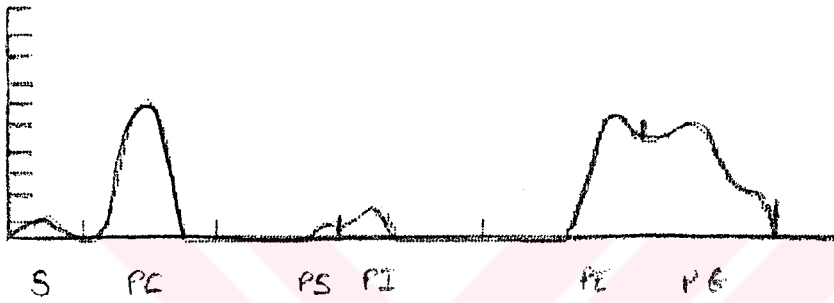
( 1; fosfolipid standartı , 2; tereyağı ile beslenen grup , 3;palm yağı ile beslenen grup , 4;tereyağı ile beslenen grup , 5; sadece standart yem ile beslenen grup , 6;tereyağı ile beslenen grup , 7; zeytinyağı ile beslenen grup , 8; fosfolipid standartı )

**Farklı diyetler ile beslenen grupların ve kontrol grubunun beyin dokusu fosfolipid bandlarının dansitometrik kromatogramları ;**



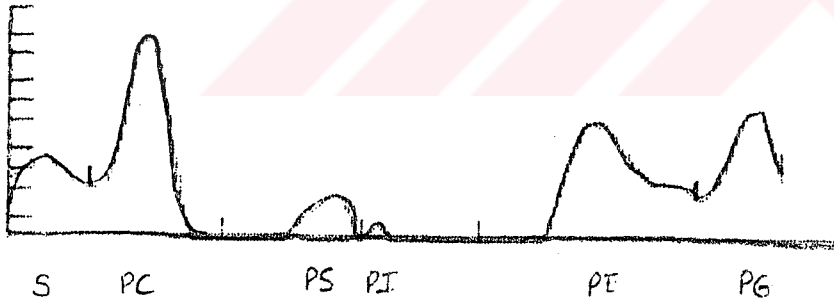
DÜZCE EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ BİYOKİMYA LAB

**Kontrol grubu**



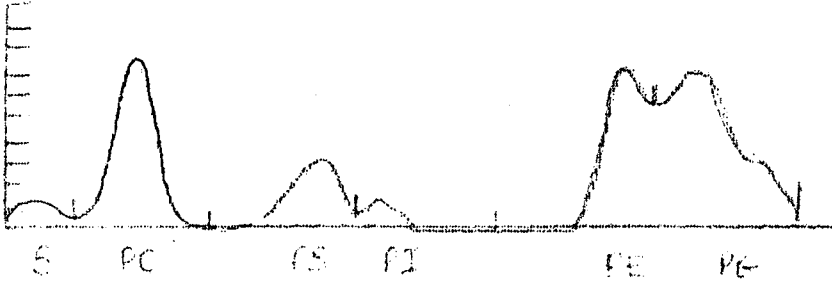
DÜZCE EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ BİYOKİMYA LAB

**Tereyağı ile beslenen grup**



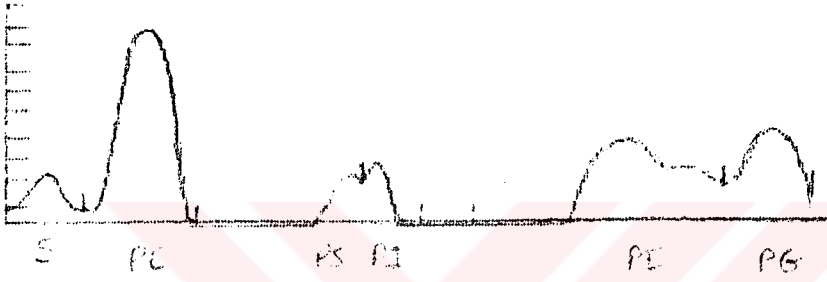
DÜZCE EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ BİYOKİMYA LAB

**Zeytinyağı ile beslenen grup**



ERZURUM ULUSU UNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ BİYOKİMYA LAB

### Palm yağı ile beslenen grup



ERZURUM ULUSU UNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ BİYOKİMYA LAB

### Margarin ile beslenen grup

## 5.0 TARTIŞMA VE SONUÇ

Beyin lipidlerinin diyetteki yağ değişikliklerine verdiği cevabı inceleyen günümüze kadar bir çok çalışma yapılmıştır. Merkezi sinir sisteminin biyokimyasal çalışmalarında hayvan modelleri yaygın olarak kullanılmıştır. Hayvan modeli çalışmalarının sonuçları insan modeline birebir uymasa da , özellikle metabolik araştırmalar için en iyi yollardan biridir. Memelileri dokularının membran yağ asidi kompozisyonları vücut kitle oranına bağlı olarak değişmektedir ( 3, 46 ) Ratlar daha kolay bulunma ve yetiştirme kolaylığı yüzünden diğer deney hayvanlarına karşı tercih edilmiştir. Deney hayvanlarında yapılan bu tür beyin lipid metabolizmasına yönelik çalışmalar , daha çok diyetle esansiyel yağ asidi alınamamasının beyin dokusu üzerine olan etkisi ile ilişkilidir. Bu tür çalışmaların sonuçları bize oldukça ilgi çekici bilgiler vermektedir.

Diyetle esansiyel yağ asidi alınamamasının beyin lipid metabolizması üzerindeki etkisi bir çok araştırmacı tarafından detaylı olarak incelenmiş olmasına rağmen , doymuş yağ asidinden zengin diyetle beslenmenin , beyin dokusu yağ asidi profilini ne şekilde etkileyeceği günümüzde tam olarak bilinmemektedir . Uzun süre daha fazla doymuş ve daha az esansiyel yağ asidi ile beslenmenin beyinde linolenik asid eksikliğine neden olup olamayacağı halen cevaplanmamış bir sorudur. 31 hafta gibi uzun bir süre farklı diyetlerle beslenmenin beyin lipid profilinde bazı değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir. Beyin lipid bileşiminde değişiklik oluşturmak için ne kadar süre farklı diyetlerle beslenmek gerektiği araştırılan bir konudur. Beyin lipid bileşimi üzerine diyetin etkisini araştıran çalışmalar şu konulara açıklık getirmelidir ;

1) Günümüzde modern toplumun bir sendromu olarak omega-3 yağ asidlerinden eksik beslenme söz konusudur. Bu nedenle bu yağ asidlerinden fakir beslenmenin metabolik etkileri çok daha fazla önem taşımaktadır. Uzun süre doymuş ve daha az esansiyel yağ asidinden beslenmenin özellikle erken çocukluk döneminde beyin gelişmesi üzerine olumsuz etkilerinin olup olamayacağı cevap verilmesi gereken bir sorudur.

2) Beslenmenin lipid metabolizması üzerine olan etkisinde diyetin içeriğinin yanısıra , bu diyetin ne kadar süre ve hangi yaş grubunda uygulanması gerektiği önemli bir konudur.

3) Yapılan bazı epidemiyolojik çalışmalarda hayvansal yağlarla beslenen toplumlarda multipl skleroz gibi demiyelinizasyonla karakterli hastalıkların insidansı daha fazla görülmektedir. Hayvansal ve bitkisel yağlarla iki ay gibi bir süre beslenmenin beyin serbest ve ester kolesterolüne etkisi ilgi çekicidir.

4) Önemli bir çok biyolojik araçların prekürsörü olan çoklu doymamış yağ asidlerinin humoral ve hücrel bağışıklığı azaltıcı etkisi nedeniyle otoimmün kökenli hastalıkların tedavisinde diyetle ek besin olarak verilmesi söz konusu olabilir.

Beyindeki esansiyel yağ asidi eksikliğinin beyin lipid metabolizması üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmalar şu şekilde özetlenebilir ;

Beyin membranları özellikle omega-3 çoklu doymamış yağ asidlerinden zengin fosfolipidlerden oluşmuştur. 1989 yılında Boure ve arkadaşları rat yavrularının alfa linolenik asidden ( omega - 3 ) yoksun diyet ile beslendiklerinde , beyin dokusunda belirgin bir dokosahekzaenoik asid ( DHA ; 22:6 , omega -3 ) azalması ve dokosapentaenoik asid (22:5 , DPA ; omega-6 ) artması tarif etmişlerdir.

Arbuckle ve Innis'in 1992 yılında domuzların sinaptik plazma membranı ve retinasında yaptıkları bir çalışmada diyet ile eksik linolenik asid alınmasının , bu dokularda dokosahekzaenoik asid ( 22:6 ) gibi omega - 3 yağ asidlerinin konsantrasyonunu azalttığı gösterilmiştir.

Yine 1992, Bourre ve arkadaşlarının belirttiği üzere , diğer vücut organları ile karşılaştırıldığında ( karaciğer , kalp ve testisler ) beyin dokusu erişkinde , diyet modifikasyonlarına çok az yanıt vermektedir. Boure ve arkadaşları 7 ay boyunca diyetsel alfa linolenik asid eksikliğinin yetişkin ratlarda beyindeki dokosahekzaenoik asid içeriğini değiştirmedeğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada 60 günlük ratlar yeterli miktarda linoleik ve linolenik asid ile beslenerek üç gruba ayrılmıştır. Bir grup aynı diyete devam ederken diğer iki gruba sırasıyla % 2 ve % 3 'lük ayçiçek yağı ile beslenmiştir. ( Bilindiği üzere



ayçiçek yağı linoleik asid içerir fakat alfa linolenik asid içeriği çok azdır.) Hayvanların beslenmesi yağ asid içeriği bilinen semi-sentetik bir diyet ile sağlanmıştır. Hayvanlar yeni diyetlerini aldıktan sonra çeşitli zamanlarda öldürülmüşlerdir ( 1-31. haftalarda ). Yüksek ayçiçekyağı ile beslenen gruptaki hayvanların tüm beyinde, miyelin ve sinir uçlarında dokosahekzaenoik asid konsantrasyonlarında bir eksiklik görülmemesine karşın karaciğer, kalb ve testislerde 3. haftada bu yağ asidinin konsantrasyonu düşmüş ve bu süreden sonra hep sabit kalmıştır. Dokosahekzaenoik asid konsantrasyonlarındaki bu azalmaya paralel olarak testislerin aksine kalb ve karaciğerde dokosapentaenoik asid konsantrasyonları yükselmiş ve bu yükseklik farklı zamanlarda beyin, sinir uçları ve miyelinde de gözlenmiştir ( sırası ile 3. , 6. ve 9. haftalarda ).Bu sonuçlara göre beyin dokosahekzaenoik asid miktarı fazlasıyla korunmuştur veya diğer organlarda harcanarak sabit tutulmuştur.

Daha önce alfa linolenik asid ile beslenip daha sonra yine alfa linolenik asid içeren diyet ile beslenmeye devam edilen ratların beyin dokusundaki dokosahekzaenoik asid ( DHA ) miktarının değişmemesi , bu yağ asidinin büyük ölçüde korunduğunu düşündürmüştür. Boure ve arkadaşları bu korunmanın muhtemelen fizyolojik dönüşüm sırasında fosfolipidlerin hidrolizi sonrası açığa çıkan yağ asidlerinin tekrar kullanılarak ya da diğer organların harcaması ile beyin dokusundaki miktarının sabit kaldığını ileri sürerek açıklamışlardır ( 4 ). Alfa linolenik asidinin düzeyi ile birlikte, linoleik / linolenik asid oranının da dokulardaki dokosahekzaenoik asid konsantrasyonunu kontrol ettiği düşünülmektedir. Boure ve arkadaşlarına göre dokosapentaenoik asidin düzeyindeki yükselme , linolenik asid eksikliğinin yanısıra linoleik asidin miktarının fazlalığına bağlı olabilir. 60 günlükten itibaren linolenik asidden yoksun bir diyet ile beslenen ratlar beyin DHA konsantrasyonlarını en az 31 hafta süresince koruyabilmişlerdir.

Sinaptik membranlarda DHA gibi omega- 3 yağ asidlerinin zenginliği beyinin gelişme döneminde diyetdeki linolenik aside ihtiyaç konusunda dikkat çekicidir.1987 'de Bjerve , Fisher ve Alme'nin belirttiği gibi diyetle esansiyel yağ asidlerinden linolenik asidin az alınması prostaglandin sentez ve metabolizmasındaki değişikliklere bağlı klinik semptomlarla birlikte dir.

1974'de Sun ve arkadaşları, 1993 ve 94'de Gerbi ve arkadaşları uzun süreli belirli diyet yağları almak ile spesifik bazı yağ asidlerinde değişikliklerin yanısıra bazı fizyolojik değişkenlerde de farklılıklar olabileceğini göstermişlerdir. Beyin sinaptik membranlarında bulunan Na-K ATP' az özellikle diyet modifikasyonlarına duyarlı olarak bulunmuştur. Boure ve arkadaşları ayçiçek yağı beslenen ratların sinaptik membranlarında Na-K ATP az aktivitesinin soya yağı ile beslenen ratların membranlardakinin % 60'ı , tüm beyin homojenatındaki 5' Nükleotidazın % 80'ni , 2',3' -siklik nükleotid 3' fosfodiesterazın ise % 88'i kadar olduğunu göstermişlerdir ( 5, 47, 48 ).

Bebek mamalarında , soya yağı ve mısır yağı esansiyel yağ asidi ihtiyaçlarını sağlamak için sıklıkla kullanılırlar. Mısır yağı gelişmiş oksidatif stabilitesine bağlı olarak bir formül içine girmektedir. Fakat her iki yağ linoleik asid bakımından zengin olmasına rağmen , mısır yağı linolenik asid bakımından çok fakirdir. 1996 yılında Frances Boyle ve arkadaşları bu iki yağ ile hazırlanmış diyetleri alan ratların eritrosit ve doku fosfolipid yağ asidi yüzdelerini araştırmışlardır. Diyet modifikasyonları anne sütünden kesilmiş yavru ratlarda uygulanmıştır. Eritrositlerin yanısıra beyin dokusu ve karaciğer dokusundaki omega-3 yağ asidlerinin birikimi incelenmiştir. Bu çalışmaya göre mısır yağının gerekli esansiyel yağları yeterli miktarda içermediği için infant beslenmesinde kullanılmaması gereken bir yağ olduğu sonucuna varılmıştır ( 6).

Bir yağın yağ asidi bileşimi sabit değildir. Bitkisel yağlar , bitkinin gelişme durumu gibi bir çok fizyolojik parametreden özellikle etkilenir ( 6 , 49 ). Uzun zincirli çoklu doymamış yağ asidlerinin dokulardaki konsantrasyonları , diyetle esansiyel yağ asidi alınmasının yanısıra , diyetteki omega-6 / omega-3 yağ asidi oranına bağlıdır. Bu oran ne kadar fazla ise linolenik asid eksikliği o kadar fazla miktarda dokulardaki uzun zincirli çoklu doymamış yağ asidlerinin konsantrasyonlarını etkiler. Beyin doymuş ve doymamış yağ asidi kaynakları günümüzde yeterince belirlenmiştir ( in situ sentez ve diyetteki kaynağı ). Buna karşılık sinir dokularında poliansatüre yağ asidlerinin metabolizması daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

1989' da Jean-Marie Boure ratlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada organ farkı olmadan membran sentezi için gerekli alfa linolenik asidin diyetteki gereksiniminin aynı olduğunu

göstermişlerdir ( 200 mg / 100 gr diyet ). Linoleik asid gereksinimi ise organa bağlı olarak 150 - 1200 mg / 100 gr diyet arasında değişmektedir. Eğer farmakolojik etki istenmiyorsa omega-6 / omega-3 oranının 6 / 1 olması gerektiğini belirtmişlerdir. İnsan metabolizması ile deneysel hayvan modelinin benzer olması nedeni ile bu sonucun insanlar içinde geçerli olduğu düşünülebilir. Fakat rat vücut alanı göz önüne alındığında da bu ihtiyacın insanlarda çok daha yüksek olması muhtemeldir ( 5). Serebral gelişme dönemi sırasında beyinin omega-3 çoklu doymamış yağ asidi miktarı ile diyetdeki alfa linolenik asid arasında, bu yağ asidi yaklaşık 200 mg / 100 gr oluncaya kadar çizgisel bir ilişki bulunmuştur ( Toplam diyetsetel enerjinin % 0.4 'ü kadar ). Eğer linolenik asid total enerjinin % 0.4 'ünü oluşturuyorsa membranlardaki dokosaheksaenoik asid düzeyi linoleik asidin miktarından çok az etkilenir.

Linolenik asidden düşük bir diyetin ratlardaki motor aktiviteye etkilerinin çok az olmasına karşın öğrenme yeteneklerinin "Shuttle Box" testi ile değerlendirilmesinde önemli farklılıklar olduğu bildirilmiştir ( 5). Bu bilgi linolenik asidin beyin gelişimi sırasındaki önemine dikkat çekmektedir. Boure ve arkadaşları eksikliği önlemek için , gelişim döneminde linolenik asidin en az total günlük enerjinin % 0.4 ' ü olması gerektiğini savunmaktadırlar.

Bu çalışmada , doymuş, tekli ve çoklu doymamış yağ asidlerinden zengin diyetler ile 2 ay beslenmenin beyin kolesterol , fosfolipid fraksiyonları ile total beyin homojenatındaki ve beyin fosfatidilkolin bandındaki yağ asidi içeriği üzerine etkileri araştırıldı.

Deneyin ilk kısmında % 10 ve %20 oranında değişik enerji seviyelerindeki diyetin serum total kolesterol ve lipoprotein konsantrasyonlarındaki etkileri araştırılmıştır. Deneyin ikinci kısmında ise diyetin etkilerinin muhtemelen daha fazla olacağı , daha yüksek yağ içeren diyetle beslenen ratların beyin lipid profilleri incelenmiştir.

Bu çalışmanın sonucunda elde ettiğimiz verilere dayanarak ratlarda esansiyel yağ asidi eksikliği oluşmadığını düşünüyoruz. Çünkü ;

Daha önceki çalışmalar esansiyel yağ asidinden eksik diyet ile beslenenlerde omega-9 sentez yolunun aktive olduğunu ve eikosatrienoik asid ( 20: 3 ) düzeylerinde bir artış

olması gerektiğini göstermişlerdir ( 19 ). Bizim çalışmamızda diyet gruplarının hiç birinde 20:3 yüzdelerinde bir artış olmamıştır. Bu da tüm ratların yeterli 18: 2 ( omega- 6 ) aldığını göstermektedir. Beyinde 18:3 ( omaga-3 ) yağ asidinden eksik diyet ile beslenmenin rat beyinlerinde 22:6 ( omega -3 ) konsantrasyonlarında bir azalmaya neden olmasına rağmen bu , yaşa bağlı olarak daha belirgin olabilir ( 3 ). Bir çok çalışma 18:3 eksikliğinde 22:5 ( omega-6 ) da bir artış olacağını göstermiştir.

Esansiyel yağ asidi içeriği en yüksek olan zeytinyağı dışındaki diğer diyet gruplarında en düşük konsantrasyonda ( 18:3 ) linolenik asid konsantrasyonu beklenir. Bizim çalışmamızda ise gruplar arasında beyin ( 18: 3 ) linolenik asid değerlerinde istatistiksel olarak hiç bir fark gösterilemedi. Yalnız istatistiksel olarak anlamlı olmasa da zeytinyağı ile beslenen grubun beyin dokusu ( 18:2 ) linoleik asid değerleri oldukça yüksek olarak bulundu. Grupların hiç birinde ( 22:5 ) dokosapentaenoik asid ve ( 22:6 ) dokosahekzaenoik asid yüzdelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterilememiştir. Esansiyel yağ asidi eksikliği ile yukarıda sayılan bu yağ asidlerinin ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar dikkate alınır , aldığımız sonuçlar bizim çalışmamızda ratların hiç birinde esansiyel yağ asidi eksikliği gelişmediğini düşündürmektedir ( 3 , 4 , 5 ). Fakat istatistiksel olarak anlamlı olmasa da palm yağı ile beslenen ratlarda 22:6 konsantrasyonları daha düşük düzeyde bulunmuştur. Rat sayıları artırılarak yapılan bir çalışma bu konuda bize daha çok fikir verebilir.

Deney sırasında % 20 bitkisel margarin, % 20 tereyağı , % 20 zeytinyağı ve % 20 palm yağı eklenmiş ve yağ eklenmesi yapılmamış kontrol grubunda haftalık kilo artışı ( g/ h ) sırası ile  $7.09 \pm 0.6$  ,  $4.09 \pm 0.2$  ,  $9.92 \pm 0.2$  ,  $13.7 \pm 0.7$  ve  $2.94 \pm 0.2$  bulunmuştur. Palm yağı ile beslenen grupta kilo artışı istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde (  $p < 0.05$  ) yüksekti. Bunu zeytinyağı eklenmiş grup takip ediyordu. Tereyağı ile beslenen grupta ise kontrol grubundan yüksek olmakla birlikte en düşük haftalık kilo alışı söz konusuydu. %10 'luk yağ ilavesinin yapıldığı gruplarda ise en fazla kilo alışı tereyağı ile beslenen ratlarda gözlenmişti. Diğer gruplarda ise kilo alımı birbirine yakın düzeyde seyrediyordu.

Ratların beşerli gruplar halinde kafeslerde barındırılmalarının bireysel metabolik olayları değerlendirmede bazı sakıncalar getirmiş olabileceğini düşünüyoruz. Düşük yüzdeli yağ

alımının olduğu grupta beklenildiği üzere haftalık kilo alımı , daha yüksek yağ ile beslenen gruplara göre daha düşük seviyedeydi. Yağ alımının % 10 'dan % 20'ye çıkarılması ile ,margarin ile beslenen grupta kilo alımı yaklaşık 7 kat, tereyağı beslenen grupta 1.04 kat, zeytinyağı ile beslenen grupta 7.5 kat, palm yağı beslenen grupta ise 13 kat artmış durumdaydı. Yağ oranının artması ile birlikte, haftalık kilo alımının tereyağı ile beslenen ratlarda en fazla olduğu durum , palm yağı ile beslenen ratların lehine çevrilmiştir. Bu durum palm yağının ratlar tarafından çok iyi bir şekilde metabolize edilebildiği sonucunu düşündürebilir.

Daha öncede belirtildiği gibi doğal diyetsel yağların yağ asidi bileşimleri bazı fizyolojik etkenlerden etkilenmektedir. Bitkisel yağlarda bitkinin gelişme dönemine bağlı olarak içerdiği omega-3 ve omega-6 yağ asidlerinde değişiklikler olur. Hayvansal kökenli yağlarda özellikle tereyağında ise yağ asidi bileşimleri kullanılan sütün içeriğine bağlı olarak değişmektedir. İnek sütü yağ asidleri ise yemleme, bireysel nedenler, mevsimler, laktasyon, süt verimi, ırk, genetik özellikler gibi bir çok faktör etkisi ile değişmektedir. Günlük süt veriminin artması ile birlikte yağın bileşimindeki 18 karbonlu yağ asidlerinin daha az salgılandığı, serum kolesterolünü artırdığı , bilinen orta zincirli yağ asidlerinin ise fazlalaştığı bilinmektedir. Özellikle yaz aylarında doymamış yağ asidleri artarken , kısa zincirli yağ asidleri azalmakta kışın ise tam tersi olmaktadır ( 49 ).

Günümüze kadar yapılan çalışmalardan süt yağının yağ asidleri bakımından çok zengin olduğu ve yapısında 200 adet farklı makro ve mikro seviyede C4 ve C26 arasında değişen çift ve tek karbonlu yağ asidleri içerdiği anlaşılmıştır. Bu kadar çeşitli yağ asidinin diğer besin maddelerinin yağında bulunmadığı göz önüne alınırsa, süt yağının beslenme fizyolojisindeki önemi daha iyi anlaşılmaktadır. Bu bilgilere dayanarak inek sütünden yapılan tereyağının da özellikle erken gelişim döneminde beyin dokusu başta olmak üzere diğer organların gelişimi için gerekli bir yağ çeşidi olduğunu söyleyebiliriz. Soy geçmişinde ateroskleroz olmayan yetişkinlerde de tereyağı kullanımı faydalı olabileceğini düşünürüz. Ülkemizde kolesterolü azaltılmış tereyağı üretimi ve diğer bazı özelliklerinin araştırılması üzerine yapılan çalışmalar , özellikle modern şehir toplumunda tereyağı tüketimini olumlu yönde etkiliyebilecek bir faktör olabilir (49 , 50 ).



Yaptığımız çalışmada kontrol grubu ile diğer diyet gruplarının total fosfolipid konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiş olmasına rağmen fosfatidilkolin değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlendi (  $p < 0.05$  ). Margarin, zeytinyağı ve palm yağı ile beslenen grupta total beyin homojenatındaki fosfatidilkolin miktarları kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (  $p=0.025$  ). Diğer fosfolipid fraksiyonlarında ise kontrol grubu ile farklı diyet grupları arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Kontrol grubuna göre yüksek enerjili diyetlerle 2 ay beslenmenin beyin dokusu fosfatidilkolinin miktarını arttırmasının , bu fosfolipidin tüketilen diyetten oldukça fazla etkilendiğini ve beyin dokusu turnover' ının oldukça yüksek olduğunu düşündürmektedir. Bu sonuçlarımız literatür ile uyumlu olarak bulunmuştur ( 3 , 18 , 27 ).

Palm yağı ile beslenen grupta fosfatidilinositolün kontrol grubuna kıyasla yüksek olması dikkat çekicidir.Çünkü bu fosfolipid sinyal iletiminde önemli rol oynayan polifosfoinozidlerin sentezinde prekürsördür. Yine benzer şekilde palm yağı ile beslenen grupta margarin, tereyağı ve zeytinyağı ile beslenen gruplara kıyasla fosfatidilserin miktarları fazla bulunmuştur. Beyin gelişimi ve fonksiyonu , beyin membran lipidlerindeki değişikliklerden açıkca etkilenir. Beyin membranlarının yapısını oluşturan fosfolipidlerin seviyeleri kan-beyin bariyeri ve denovo sentez yolu ile kontrol edilmektedir ( 50 ).

İşaretli fosfolipidler ile retinal , siliar ve ganglionlardaki okulomotor sinirdeki aksonal taşınması üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. İşaretli fosfatidiletanolaminin fosfatidilkolinden daha hızlı değişiminin aksolomma veya akson-myelin yüzeyinde tercihli bir şekilde birikimine neden olduğunu göstermiştir. Buna karşılık etanolamin plazmalojenleri tercihan myeline transfer edilirler ve orada depolanırlar. Taşınmalarındaki herhangi bir bozukluğun myelin membran devamlılığını değiştirebileceği ve demyelinizasyon işlemine katkıda bulunabileceği düşünülür. Bizim çalışmamızda palm yağı ile beslenen grupta fosfatidiletanolamin miktarları en fazla bulunmuştur. Fakat gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur.

1992 yılında Kabi ve arkadaşlarının siproheptadin verilen ratların beyin kolesterol ve fosfolipid konsantrasyonlarını değerlendirdiği bir çalışmanın sonuçları ilgi çekicidir ( 52 ). Siproheptadin antiserotonerjik bir ilaçtır. Özellikle anoreksia nervosa gibi durumlarda ve



yaşlı hastalarda stimulant olarak kullanılır. Beyin için önemli bir nöromediatör olan 5-HT beyin kolin ve fosfolipid sentezini inhibe ederek etkisini göstermektedir. Bu çalışmada beyin total fosfolipid miktarı siproheptadin verilen grupta kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Beyin total kolesterol miktarı da benzer şekilde yüksek olarak bulunmuştur. Siproheptadinin 5-HT reseptörlerini bloke ederek beyin kolesterol ve fosfolipid miktarında bir artışa neden olduğu ileri sürülmektedir.

Kullandığımız zeytinyağının omega-6 / omega-3 yağ asidi oranı yaklaşık olarak 15 / 1 di. Bu oran tereyağında ise 9/ 1 değerinde idi. Palm yağı ve bitkisel margarin ise yapılarında linolenik asid içermiyordu. Bütün beyin homojenatında ( 18:2 ) linoleik asid oranı zeytinyağı ile beslenen grupta , istatistiksel olarak anlamlı olmasa da diğer gruplara kıyasla yaklaşık 2 kat daha yüksek olarak bulundu. Yine ( 18:3 ) linolenik asid oranı zeytinyağı beslenen grupta en yüksek seviyede tesbit edildi. Literatürle uyumlu olarak araşidonik asid konsantrasyonlarında , gruplar arasında belirgin bir farklılık gösterilemedi. Bu durum 20:4 ( araşidonik asid, omega-6 )' ün sıkı bir metabolik kontrol altında olduğunu ve bunun diyetel faktörler ile fazlaca etkilenmediğini düşündürmektedir ( 3 ).

Bununla beraber diğer vücut organlarında araşidonik asidin , diyetteki linolenik asid konsantrasyonları ile ayarlanabildiği gösterilmiştir. Bunun karşılığında araşidonik asid konsantrasyonundaki değişiklikler değişen eikosanoid üretimi ile bağlantılı olarak bulunmuştur ( 3 , 4 ). Zeytinyağı ile beslenen grupta kontrol grubu ve diğer yağlarla beslenen gruplara kıyasla daha düşük araşidonik asid konsantrasyonu belki de diğer grupların daha çok eikosanoid üretmesi ile olmaktadır. Mac Donalds ve arkadaşları 1996 yılında yayınlanan çalışmalarında , sığır kuyruk yağı ve mısırözü yağı ile 31 hafta beslenen ratların beyin fosfolipid yağ asidi konsantrasyonlarında benzer sonuçlar bulmuşlardır.

1991 yılında Kwon ve arkadaşları tarafından insan deneklerinde yapılmış bir çalışmada deneklere 3 hafta boyunca kontrollü olarak doymuş yağ asidi verilmesinin trombositlerin hem yağ asidi profillerini hem de fonksiyonlarını etkilediği gösterilmiştir. Buna bağlı olarak doymuş yağ asidi ile beslenmenin , beyin araşidonik asid profilinde yapmış olduğu

değişiklikler beyinin yapısal düzeni , eikosoenoidlerin üretimi ve sinir ileti fonksiyonları için önemli olabilir ( 53 ).

Diyetlerinde linolenik asid içeren iki grup olan zeytinyağı ve tereyağı ile beslenen gruplarda kontrol grubuna kıyasla ( 22:5 ) dokosapentaenoik asid konsantrasyonu yaklaşık 2 kat yükseklikteydi. Palm yağı beslenen grup dışında diğer bütün gruplarda ise ( 22:6 ) dokosahekzaenoik asid konsantrasyonları , kontrol grubunun yaklaşık iki katı yükseklikte bulunmuştur. Palm yağı ile beslenen grubun beyin dokusu stearik asid yüzdelerinde margarin, tereyağı ve zeytinyağı ile beslenen gruba kıyasla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. %20 lik palm yağı ile beslenen grubun en yüksek haftalık vücut ağırlığı artışı göstermesine rağmen en düşük 22:6 dokosahekzaenoik asid konsantrasyonu göstermesi dikkat çekicidir. Bilindiği üzere beyin sinaptik membranları 22:6 yağ asidinden oldukça zengin durumdadır.

Çoklu doymamış uzun zincirli yağ asidlerinin total konsantrasyonları genel olarak tereyağı ve zeytinyağı ile beslenen grupta daha fazla bulunmuştur. Esansiyel yağ asidlerinden zengin bu diyetlerle beslenen ratların beyin dokusundaki bu sonuç , özellikle erken gelişim döneminde zeytinyağı ve tereyağının oldukça önemli yağlar olduğu fikrini destekler görünümündedir.

Margarinle beslenen grupta stearik asid ile dokosapentaenoik asid arasında ve oleik asid ile dokosahekzaenoik asid arasında negatif bir korelasyon bulunmuştur. (  $r = -0.9$  ,  $p=0.037$  ). Tereyağı ile beslenen grupta ise gadoleik ve stearik asid ile dokosahekzaenoik asid arasında negatif bir korelasyon vardır. Yine palmitoleik asid ile dokosapentaenoik asid arasında da negatif bir korelasyon söz konusudur (  $r = -0.9$  ,  $p=0.037$  ). Tekli doymuş yağ asidlerinden daha zengin beslenen bu ratlarda doymuş yağ asidleri ile uzun zincirli çoklu doymamış yağ asidleri arasındaki negatif korelasyon dikkat çekicidir. Ancak yorum getirebilmek için daha ilerki çalışmalarda denek sayısını artırarak çalışmanın daha yararlı sonuçlar vereceğini düşünüyoruz.

Çoklu doymamış yağ asidleri önemli biyolojik araçların prekürsörüdür. Poliansatüre ( çoklu doymamış ) yağ asidlerinin eksikliğine genel olarak bebek mamaları ile beslenen

çocuklarda , üçüncü dünya vatandaşlarında , parenteral beslenen yoğun bakım hastaları ile cerrahi müdahale görmüş hastalarda rastlanmaktadır. Esansiyel yağ asidlerinin eksikliği immun sistem üzerine negatif etkiler göstermektedir. Humoral ve hücresele bağışıklığı azalttığı gibi hipersensitivite reaksiyonlarının önlenmesinde de etkileri vardır. Omega-3 çoklu doymamış yağ asidlerinin faydalı etkileri arasında ateroskleroz ve kalb hastalıklarını önleme , kolesterol düşürücü ve antiinflamatuvar etkileri sayılabilir ( 54 ). Bu kadar önemli fonksiyonları olan omega-3 yağ asidlerinin , diyetle ek besin olarak verilmesinin immun sistem üzerinde etkilerini araştıran çalışmalar bir çok otoimmun hastalığın patogeneze ve tedavi yaklaşımlarına önemli bir ışık tutabilir ( 55 , 56 ).

Beyin gelişimi için gerekli kolesterolün nereden kaynaklandığı cevap verilmesi gereken önemli bir sorudur. Beyin dokusundaki kolesterolün diyetten mi , yoksa sentezlenerek mi sağlandığı uzun süreden beri araştırılmaktadır. Gelişim esnasındaki beyin kolesterol mekanizması ile ilgili çalışmalar şu şekilde özetlenebilir;

Marion Smith adlı bir bayan araştırmacının çalışmaları gelişim esnasındaki kolesterol metabolizması hakkında yapılmış en erken ve en detaylı çalışmalardır. Smith , sinir sistemi miyelinizasyonu için gerekli kolesterolün sinir dokusunun kendisi tarafından sentez edildiğini savunmuştur ( 57 ).

Waelsch ve arkadaşları ise ratları döteryumlu sabunlaşmayan lipidlerle besleyerek yaşa bağıli değışen kolesterol ihtiyacına bağıli olarak kolesterol biyosentezini göstermişlerdir. Olgun ratlarda döteryumun beyin kolesterolüne düşük alınımı rapor edilmiştir. Bu da beyin kolesterolünün stabilitesinin ilk kanıtlarından olmuştur. Diğer çalışmalar bunu takip etmiştir( 58 ). Myelinde bulunan kolesterolün orjinine ait çalışmalar üç farklı sınıfa ayrılabilir ( 22 ) ;

#### 1) Gelişim sırasında doku kolesterol birikimi üzerine yapılan çalışmalar

Bu 2-3 günlük aralarla öldürülen ratlarda standart analitik metodlar kullanılarak organda bulunan kolesterolün miktarını belirleme esasına dayanır. Bu şekilde günlük dokudaki kolesterol artışı hakkında bilgi edinilebilir.

## 2) Organda yeni sentez edilen kolesterolün birikimi üzerine yapılan çalışmalar

Bu çalışmalar radyoaktif prekürsörlerin verilmesi ile kolesteroldeki isotopların belirlenmesi prensibine dayanır. Prekürsör havuzundaki spesifik aktivitenin değerlendirilmesi yeni sentezlenen kolesterolün sentez hızı hakkında bilgi verir.

## 3) Yeni sentezlenen kolesterolün orjini hakkında yapılan çalışmalar

Radyoaktif prekürsörlerin verilmesi sonrasında organ kolesterolü lokal olarak mı sentezler? Yoksa karaciğerde sentezlenen kolesterol beyin dokusuna alınır ? Sirküle eden kolesterolün bir organ kolesterol kaynağı olduğu söylenebilir mi ?

1995 yılında Piere Morell ve arkadaşları ratlarda siyatik sinir , böbrek , beyin ve serumda kolesterolün birikme hızını radyoaktif yöntemler ile ölçmüşlerdir. Bu durum beyinde , gelişim döneminde belirli zaman aralıkları içinde artan sterol konsantrasyonları ile belirlenmiştir. Yeni sentez edilen kolesterol miktarı ise ratlara öldürülmeden bir kaç saat önce enjekte edilen radyoaktif maddenin kolesterol içinde belirlenmesi ile ölçülmüştür. Sterol fraksiyonu ile birlikte olan radyoaktivite ve serumdan kaynaklanan spesifik aktivite , gerçek sentez edilen kolesterolü belirlemek için kullanılmıştır. Bu çalışmada Morell ve arkadaşları gelişim dönemi içinde beyinde biriken bütün kolesterolün lokal olarak sentezlendiği sonucuna varmışlardır ( 59 ).

Beyindeki lokal kolesterol biyosentezi , sinir sistemi gelişimi için kolesterol kaynağınının özelliklerine ve miyelin formasyonu ile ilgili bazı hastalıklara bağlıdır. Postnatal ilk hafta boyunca çok fazla olan lipid ihtiyacına bağlı olarak , sadece bu kısa dönem için sirküle eden kolesterol önem taşır ( 22 ). Daha sonra diğer organlardan farklı olarak sinir sisteminde lokal kolesterol biyosentezi sirküle eden kolesterolden bağımsız gelişir. Bilindiği üzere karaciğer serum kolesterol seviyesine göre , hidroksi metil glutaril Ko A reduktaz aktivitesini artırarak eksikliği kompanse etmeye çalışır ( 18 , 27 ). Fakat sirküle eden kolesterolün bu denetimi , kolesterol sentezinde blok olan Smith-Lemli- Optiz sendromu gibi bazı periferik sinir sistemi hastalıklarında , bu dokuları demiyelinizasyona karşı koruyamaz ( 22 ).

Omega-6 yağ asidlerinin omega-3 yağ asidleri ile birlikte verildiği durumlarda multiple sklerozun relapslarının şiddetinde ve erken gözlenen vakalarda bozukluğun ilerlemesinde faydalı etkiler gösterdiği bildirilmiştir ( 33 ). Bu demiyelinizasyon üzerindeki olumlu etki , çoklu doymamış yağ asidlerinin immunosuppresif etkilerinin bir sonucu olabilir.

1995 yılında Likhodii ve arkadaşları diyetteki poliansatüre yağ asidlerinin karbonlarının, erken postnatal gelişim döneminde rat beyin kolesterol sentezine etkisini araştırmışlardır. Yenidoğan ratlara intragastrik olarak işaretli poliansatüre yağlar verilerek <sup>13</sup>C-NMR ile beyin ve karaciğer total lipid bileşimi analiz edilmiştir ( 60 ). Bu çalışma ile erken postnatal gelişim döneminde diyet ile verilen poliansatüre yağ asidlerinin , beyin dokusu kolesterol bileşimini etkilediği gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda , beyindeki total kolesterol miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmasa da ester kolesterol miktarları oldukça yüksek bulundu. Bilindiği üzere beyindeki kolesterolün tamamına yakını serbest kolesteroldür. Krekoski ve arkadaşlarına göre ratlarda 3 aylık dönem genç , 13 aylık dönem orta yaş , 29 aylık dönem ise yaşlılık dönemi olarak tarif edilmiştir ( 61 ). Bizim çalışmamızdaki ratların henüz gelişim döneminde oldukları göz önüne alınırsa bu durum normal karşılanabilir ( 27 ).

Ratların beyin dokusu total kolesterol değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmasa da , zeytinyağı ile beslenen grupta en düşük kolesterol miktarları tesbit edildi. Yine benzer şekilde , zeytinyağı ile beslenen grupta ester kolesterol miktarı diğer gruplara göre daha düşük olarak bulundu. Zeytinyağı ile beslenen grupta ester kolesterol totalin % 7'si iken , Palm yağı ile beslenen grupta bu fark % 20 ye çıkmış olarak belirlendi. Tereyağı ve margarinle beslenen grupta ise bu oran kontrol grubu ile aynı olarak bulundu. Ratların iki ay süre ile beslenmesinin sonunda elde edilen bu sonuçlara göre zeytinyağı kullanımının yararlı etkileri olabileceği düşünülse de , çalışma grubunun küçüklüğü ve sadece myelinde değil , tüm beyin dokusunda çalışmış olmak , bizim bu konuda kesin bir fikre sahip olmamızı engellemiştir. Lokal olarak beyinde kolesterolün sentez edilmesi ve bunun sirküle eden kolesterolden sadece doğumdan sonra ilk hafta etkileniyor olması nedeniyle erken gelişim döneminde sinir membranları elongasyonu, endotelial



proliferasyon için gerekli olan kolesterolün mutlaka diyet ile takviye edilmesi gerektiği düşünölmelidir.

Beyin dokusundan lipidlerin izolasyonu ve ekstraksiyonu için bir çok metod vardır. Beyin dokusunda fosfolipid ve kolesterol miktarının ölçölmesi için ilk basamak olarak Folch ve arkadaşlarının ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır ( 36 , 62 ). Fosfolipid miktarı total homojenattan ölçöldükten sonra , Helena Laboratuvarları tarafından hazırlanan silika jel üzerine ekim yapılarak fosfolipid bandları ayırt edilmeye çalışılmıştır. Farklı biyolojik sıvılardaki fosfolipidleri ince tabaka kromatogramlarında ayırıştırıp, miktarını belirlemek için genellikle üç metod kullanılır ; İsole edilen bileşenlerin gaz-likid kromatografi ile ayrırılması , fosfatlarının direkt kolorimetrik ölçümü yada ince tabaka plakların direkt dansitometrik değeriendirilmesi.

Plakların direkt dansitometrik olarak değeriendirilmesi hızlı , kolay olmasının yanısıra sensitiv bir metoddur ( 63 , 64 ). Beyin dokusundan fosfolipidlerin ekstraksiyonu için Folch ve arkadaşlarının yöntemi fazla miktarda doku ve büyük volümlerde solvent gerektirmektedir. Ekstraksiyonunun daha iyi bir şekilde olması amacı ile solventin uçurulup tekrar işleme sokulması oldukça zaman almaktadır. Bununla birlikte bu ekstraksiyon işlemleri ile oldukça hassas sonuçlar alınabilmektedir.

Hazır plaklar ve kendi döktüğümüz plaklar üzerinde kolesterol ve fosfolipid analizi ayrı ayrı gerçekleştirildi. Her iki plakta da benzer sonuçlar alındı. Kendi döktüğümüz silika jel plaklar maliyet açısından oldukça avantajlı olarak bulundu. Fakat hazır plaklarda , özellikle kolesterol için hazırlanmış farklı banyolarda kendi döktüğümüz plaklara göre daha fazla band ayrırımı gözlemlendi. Bu sonuç , hazır plakların daha hasas olduklarını düşöndürmüştür.

Kolesterol fraksiyonlarının ayrırılması için iki farklı solvent sistemi kullanıldı. Petrolyum eter / dietileter / glasiyal asetik asid ve n-Hekzan / dietileter / glasiyal asetik asid ile hazırlanmış banyolarda ayrırılaştırılan örneklerde benzer şekilde ve sayıda bandlar elde edildi. Tezin bulgular bölümünde farklı banyolarda yapılan ince tabaka kromatogramları verildi ( resim 2 , 3 , 4 ). Ester ve serbest kolesterolü ayırmak için Biomeruex firmasının



serbest kolesterol standartının yanısıra , ester kolesterol ayırımı için insan serum ekstraktlarından da yararlanıldı. Bu şekilde rat beyin dokusunda ester kolesterolün varlığı , kalitatif olarak gösterilebildi .

Beyin dokusunun yağ asitleri analizi için gerekli olan gaz kromatografi cihazı deneysel çalışmanın yapıldığı sırada hastanemizde olmadığı için İzmir İli Tarım Bakanlığı Kalite Kontrol ve Pestisit Laboratuvarında analizlerimiz gerçekleştirildi. Burada çalışan kişilerin kendi rutin işlerinin yanısıra , ek olarak bizim çalışmamızı yapıyor olmaları nedeniyle örnek sayısında bir kısıtlamaya gidildi. Bu nedenle total beyin homojenattındaki yağ asid miktarları çalışılarak , yeterli sayıda örnekte olmasa da her bir beyin için ayrı ayrı fosfatidilkolin bandındaki yağ asidi yüzdeleri çalışıldı. Fakat fosfatidilkolin içeriğindeki yağ asidi yüzdeleri , örnek sayısı az olduğu için istatistiksel değerlendirmeye alınmadı.

Yağ asitlerinin gaz kromatografiye enjekte edilmeden önce metil esteri türevlerinin hazırlanması için farklı yöntemler kullanıldı. Fosfatidilkolin içeriğindeki yağ asitlerinin analizi için alkali metanolizis ve asidik esterleştirme yöntemleri denendi . Her iki yöntem aynı sonuçları verdiği halde , yapımının çok daha kolay olması ve daha az zaman alması nedeniyle alkali metanolizis daha avantajlı bulunmuştur. Aynı şekilde total beyin homojenatından çalışmak için , asetil klorid, metanol ve benzen ile yapılan ekstraksiyon, alkali metanolizis ile yapılan esterleştirmeye göre benzer sonuçlar vermiştir. Yalnız çalışılan materyalin miktarı oldukça az olduğu için , asetil klorid ile yapılan esterleştirme işlemi sonunda daha düşük şiddette pikler elde edilmiştir. Sonuç olarak Mac Donads ve arkadaşlarının da kullandığı gibi, alkali metanolizis işlemi oldukça kolay ve uygun sonuç elde edilebilen bir yöntem olduğu için tercih edilmiştir. Gaz kromatografisinde, " Hewlett Packard " marka , yağ asidi için spesifik 60 metre BpX-70 ,silika jel ile kaplı oldukça hassas bir kolonun kullanılması yöntemimizin duyarlılığını artırmaktadır.

Beyin lipid metabolizması üzerine özellikle erken gelişim döneminde diyetel faktörlerin etkisi vardır. 1995 yılında Giron ve arkadaşları kısa dönem diyetel yağların etkisini araştırırken ( 9 gün ) , 1996 yılında Mac Donald ve arkadaşları 7 ay gibi uzun bir dönem uygulanan diyetin beyin lipid metabolizması üzerinde oluşturduğu değişiklikleri araştırmışlardır ( 65 , 3 ). Giron ve arkadaşları 9 günlük bir beslenmenin beyin yağ asidi

kompozisyonunda bir değişiklik oluşturmadığını belirtmişlerdir. Fakat 7ay gibi uzun süre farklı diyetler ile besleme yeni gelişen rat beyin total trigliserid ve fosfolipid konsantrasyonunda bir değişiklik oluşturmasa da , yağ asidi profillerinde önemli değişiklikler olduğunu göstermişlerdir.

**Sonuç olarak ;** bizim çalışmamızda 2 aylık bir sürede yağ asidi profilleri farklı diyetler ile beslenme , gelişim dönemindeki rat beyin dokusunda özellikle fosfatidilkolin fraksiyonunda istatiktiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmuştur (  $p < 0.05$  ). Beyin dokusu çoklu doymamış yağ asidleri açısından , gruplar arasında istatiktiksel olarak anlamlı bir fark olmasa da , kullanılan diyetsetel yağın kompozisyonuna bağlı olarak bazı değişiklikler meydana gelmiştir.

Kontrol grubuna göre , farklı diyetler ile beslenen diğer gruplarda beyin dokusu fosfatidilkolin miktarlarının yüksek bulunması , bu fosfolipidin hızlı bir turnoverinin olduğunu düşündürmektedir. Palm yağı ile beslenen grupta ise , beyin dokusu fosatidilkolin değerlerinin diğer gruplara göre daha yüksek olarak bulunması , bu yağın yağ asidi profilinin beyin fosfolipid içeriğini olumlu bir şekilde etkilediğinin bir göstergesi olabilir. Sinir dokusunda membran yapısının devamlılığı , membran akışkanlığı , sinir ileti fonksiyonu ve hafızanın oluşması gibi bir çok önemli fonksiyonu olduğu düşünölen fosfatidilkolinin palm yağı ile beslenen grupta oldukça yüksek olması ilgi çekici bir sonuçtur.

Beyin dokusu kolesterol değerlerimiz , Lauer ve arkadaşlarının belirttiği sonuçlarla uyumlu olarak diyetsetel farklılıklardan istatiktiksel olarak anlamlı bir şekilde etkilenmemiştir. Yalnız genel olarak zeytinyağı ile beslenenlerde daha düşük ester kolesterol belirlenmesi , bu yağın faydalı bir etkisi olarak kabul edilebilir.

Grup içi örnek sayımızın az oluşu , istatiktiksel değerlendirmede bize dezavantajlar getirmiştir. Bundan sonraki çalışmalarda daha geniş bir grup ile çalışmak gerektiğini düşünöyoruz. Ratların beşli gruplar halinde kafesler içinde barındırılmalarının yerine , her bir rat için ayrı kafeslerin kullanılması bireysel enerji tüketimlerini ayırt etme açısından bize daha yararlı sonuçlar verebilir.

## ÖZET

Genel olarak potansiyel bir enerji kaynağı olarak kabul edilen lipidler , beyin dokusunda daha çok yapısal ve fonksiyonel bir görev üstlenirler. Normal büyüme ve gelişmede önemli fonksiyonları olan lipidlerin sağlıkta ve hastalıkta üstlendiği roller günümüzde halen araştırılan önemli bir konudur.

Diyetsel faktörlerin kalp , karaciğer ve testis gibi dokuların yanısıra , beyin dokusu lipid bileşimleri üzerine etkisi bir çok bilim adamı tarafından araştırılmış bir konudur. Diğer vücut organlarına kıyasla beyin dokusu , diyetel faktörlerin etkilerine çok daha dirençlidir. Özellikle erken gelişim döneminde , belirli diyetel yağları almakla beyin dokusu yağ asidi içeriklerinde bazı değişiklikler olabileceği daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Kullanılan diyetin yanısıra bunun ne kadar süre uygulanması gerektiği henüz tam olarak bilinmemektedir.

Diyetsel faktörlerin beyin dokusuna etkisini araştıran çalışmalar daha çok , mısırozü yağı - ayçiçek yağı , sığır kuyruk yağı - mısırozü yağı yada soya yağı - ayçiçek yağı gibi esansiyel yağ asidi içerikleri farklı olan ve bunun yanısıra doymuş - doymamışlık oranları değişen yağ kombinasyonlarının etkileri üzerinedir. Bizim çalışmamızda ise toplam 23 tane erkek rat yavrusu , standart yemlerine yemin ağırlığının % 20'si olacak şekilde tereyağı , yemeklik margarin , zeytinyağı ve palm yağı ilave edilerek 2 ay süresince beslenmişlerdir. Bu sürenin sonunda ratların beyin dokularında total yağ asidi yüzdeleri , total fosfolipid , total kolesterol , ester kolesterol ve serbest kolesterol analizleri yapılmıştır. Beyin dokusu yağ asidi analizleri gaz-kromatografi cihazında gerçekleştirilmiştir. Fosfolipid fraksiyonları , ince tabaka kromatografi tekniği ile ayrılmış , çıkan bantlar dansitometrik olarak kantite edilmiştir. Beyin dokusunda serbest ve ester kolesterolün varlığı yine ince tabaka kromatografi yöntemi ile kalitatif olarak gösterilmiştir. İnce tabaka kromatografi analizleri hazır ticari plakların yanısıra , kendi laboratuvarımızda hazırladığımız plaklar üzerinde karşılaştırılmalı olarak yapılmıştır. Fosfolipid ve kolesterol analizleri için ise enzimatik kolorimetrik yöntemler kullanılmıştır.

Sonuç olarak 2 ay süre ile yağ asidi profilleri farklı diyetler ile beslenme beyin lipid bileşiminde bazı değişikliklere neden olmaktadır. Fosfolipidlerin çalışılmasında beyin dokusu fosfatidilkolin ( PC ) değerleri , palm yağı ile beslenen ratlarda diğer ratlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek bulunmuştur (  $p < 0.05$  ). İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da tereyağı ile beslenen ratlarda beyin fosfatidilinositol miktarları diğer gruplara oranla oldukça yüksektir. Zeytinyağı ile beslenen ratlarda ise beyin ( 18:2 , omega-6 ) linoleik asid yüzdeleri , diğer grupların değerlerinden yaklaşık iki kat yüksek olarak bulunmuştur. Yine zeytinyağı ile beslenen grupta beyin ester kolesterol miktarları da diğer gruplara oranla çok daha düşük seviyededir. Palm yağı ile beslenen rat yavrularının , beyin ( 22:6 , omega-3 ) dokosaheksaenoik asid değerleri ise oldukça düşüktür. Bütün gruplarda ise beyin (20:4 ) araşidonik asid miktarları birbirine yakındır. Bu sonuç bu yağ asidinin oldukça sıkı bir metabolik kontrol altında olduğunu düşündürmektedir.

Zeytinyağı ile beslenen ratlarda beyin ester kolesterol miktarının düşük olması , hayvani yağlarla beslenen toplumlarda multiple skleroz gibi demiyelinizasyonla seyreden hastalıkların insidansının yüksek olması durumu ile uyum göstermektedir. Ayrıca ateroskleroza bağlı damar hastalıklarında zeytinyağının kabul edilen faydalı etkisini de desteklemektedir. Linolenik asid (18:3 , omega-3 ) 'den fakir olan palm yağı ile beslenen grupta beyin dokusu membranlarında önemli rolleri olan ( 22:6 , omega-3 ) dokozahekzaenoik asid miktarlarının düşük bulunması ilgi çekici bir sonuçtur.

Tüketilen diyetle zeytinyağının oranının artırılmasının, beyin dokusunun yapısal ve fonksiyonel düzenlenmesinde, çalışmamızdaki diğer yağlara kıyasla daha yararlı olabileceğini düşünülmektedir. Fakat örnek sayımızın az olması nedeniyle bu çalışmanın tüketilen diyetin yağ asidi kompozisyonlarını daha belirginleştirerek daha geniş bir rat grubunda tekrarlanması , daha anlamlı sonuçlar alınmasını sağlayabilir.

Anahtar sözcükler : Beyin lipid metabolizması , diyet , linoleik asid , linolenik asid , dokosahekzaenoik asid

## KAYNAKLAR

1. Eadie M.J. and Tyrer J.H. Biochemical Neurology, .MTP Press , 1983 ;1-7.
2. Murray R.K. , Mayes P.A. , Granner D.K. , Rodwell W.V. ,Harper 's Biochemistry ,1990 ;171-186
3. MacDonald R.S. , Zhang W. , Zhang J.P. Brain neutral lipids and phospholipids are modified by long-term feeding of beef tallow vs. corn oil diets. Journal Nutrition, 1996; 126: 1554-1562
4. Boure J.M. , Dumont O.S. , Piciotti M.J. , Pascal G.A. Dietary  $\alpha$ -linolenik acid deficiency in adults rats for 7 months does not alter brain docosahexaenoic acid content, in contrast to liver, heart and testes ,Biochimica et Biophysica Acta, 1992;1124 : 119-122
5. Boure J.M. , Francois M. , Youyou A. The effects of dietary  $\alpha$ - linolenik acid on the composition of nerve membranes, enzymatic activity, amplitude of electrophysiological parameters, resistance to poisons and performance of learning tasks in rats , J. Nutrition 1989;119: 1880-1892
6. Boyle F.G. , Yuhas R.J. , Lien E. , Red blood cell and tissue phospholipid fatty acid profiles of weanling rats fed infant formula fat blends containing soy and / or corn oil. Annals Of Nutrition and Metabolism 1996 ,40:234-242
7. Reiter R.J. : Oksidative processes and antioksidative defense mechanisms in the aging brain , FASEB J. 1995; 9: 526-533
8. Troyer J.R. , Pratt N.E. Rypins' Medical Boards Review , Anatomy , 1989 ; 64-105
9. Prof.Dr. Erdoğan Cireli , Genel Histoloji : Hücre ve Dokular , 1983 ; 279-303 Beta Basım
10. Deber C.M. and Reynolds S.J. , Central Nervous System Myelin : Structure , Function and Pathology , Clinical Biochemistry 1991; 24: 113.134.
11. Zeisel S.H. , Costa K. , Franklin P.D. , Choline , an essential nutrient for humans , FASEB J.1991; 5 : 2093-2098
12. Zeisel S.H. Choline deficiency , J.Nutrion Biochem , 1990; 1: 332-349
13. Fadiloğlu M. Lipidozlarda Beyin Ve Organ Lipidleri ; İnce tabaka kromatografisi ve kimyasal metodlarla inceleme . Uzmanlık tezi ; Ege Ü. Tıp Fak. Biyokimya Kürsüsü , 1971.



14. Cumings J.N. The chemistry of myelin and some aspects of myelination in: Mechanism of demyelination eds. Rose A.S. and Pearson , C.M. Mc Graw Hill book comp. Inc.N.Y. 1963 .P.44
15. Hamosh M. Lipid metabolism in premature infants , Biol. Neonate , 1987 ; 52 : 50-74
16. Montgomery R. , Conway T.W. , Spector A. Cappell D. Biochemistry 1996 : 295-325 , Von Hoffman Press.
17. Norton W.T. and Poduslo E.S. Myelination in rat brain : Changes in myelin composition during brain maturation, J. Neurochemistry , 1973; 21 : 759-773
18. Champe P.S. , Harvey R.A. , Lippincott's Illustrated reviews : Biyokimya (çeviri) 1997 ; 191-197: Nobel Tıp Kitapevi
19. Leeden R.W., Kunishita T. , Wu P.S. Phospholipids Synthesis in Myelin : Putative rol of the axon , Phospholipids in the nervous system, 1985; 2: Raven Press, New York
20. Farooqui A. , Horrocks L. A. Metabolic and Functional aspects of neural membrane phospholipids , Phospholipids in the Nervous System 1985 ; 2 Raven Press Newyork
21. Lehninger A.L. , Nelson D.L. , Cox M.M. Priciples of Biochemistry 1993 ; 240-268
22. Morrell P. , Jurevics H. Origin of cholesterol in myelin , Neurochemical Research , 1996 ; 21 (4) : 463-470
23. Thompson G.R. A Handbook of hyperlipidemia. Merck Co. , Inc. , current science ltd. London , 1989
24. Köseoğlu M. Anjiografi ile koroner kalp hastalığı tanısı konmuş kişiler ile tip 2 diyabetik kişilerde , serum lipid, lipoprotein, yağ asidleri ve malondialdehit değerleri üzerine çalışmalar Doduz eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi ; 1996
25. Kaplan A.L. ; Clinical Chemistry . Mosby Company , Missouri.1994
26. Baysal A. , Keçeçioğlu S. , Güneyli U. , Yücecan S. , Pekcan G. , Arslan P. ,Çehrelil R. , Besinlerin Bileşimleri , Türkiye Diyetisyenler Derneği Yayını :1 , 1988
27. Smith E. , Hill R. , Lehman I.R. , Lefkowitz R.J. Principles Of Mammalian Biochemistry , 1986 ; 243-266
28. Patton V.S. , Rigler M.W. , Liao T.H. Hamosh P. , Hamosh M. Hydrolysis of triacylglycerol emulsions by lingual lipase-microscopic study . Biochim Biophys. Acta 1987; 712 : 400-407



29. Vaay R. , Birch D.G. , Birch E.E. Effects of dietary omega-3 fatty acids on retinal function of very low-birth-weight neonates , *Pediatric Research* 1990 ; 28 : 485-492
30. Lamptey M.S., Walker B.L. A possible essential role for dietary linolenic acid in the development of the young rat. *Journal Nutrition* 1976 ; 106 : 86-93
31. Yoshida T. , Roux J.R. In vitro metabolism of palmitic acid in human fetal tissue *Pediatric Research* 1972 ; 6 : 675-679
32. Porcellati G. Lipid metabolism in experimental brain and nerve disturbances ; *Phospholipids in nervous system* ,1985 ; 2 : 1-9 Raven Press , Newyork
33. Lauer K. Diet and multiple sklerosis *Neurology* 1997 ; 49 ( 2 ) : S55-S61
34. Ebadı M. , Shashi K. , Srivansan and Mayur D.B. Oxidative stress and antioksidant terapy in parkinsons disease progress in , *Neurobiology* , 1996; 48:1-19
35. Goldman J. ,Cote L. Aging of brain : dementia of the alzheimer type, In *Principles science Third edition* , 1991; 975-983
36. Folch J. , Lees M. A siple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue ; *J. Biological Chem.* 1957 ; 226 : 497
37. Tietz W.N. *Texbook Of Clinical Chemistry* ; W.B. Saunders Company , Phidelphia ,1994
38. Helmy F.M. Some contributions to the thin-layer chromatographic analysis of complex natural phospholipid and neutral lipid mixtures , *Journal of Chromatography* , 1986 ; 374 : 61-72
39. Heilweil E. , Touchstone J.C. Theophylline analysis by direct application of serum to thin-layer chromatograms, *Journal Chromatography Science* 1981; 19(11) : 594-597
40. Van Voorst tot Voorst , E.J.G.M. , Effects of centrifugation , storage and contamination of amniotic fluid its total phospholipid content. *Clinical Chemistry* 1980; 26 : 232-234
41. Carr T.P., Andresen C.J. , Rudel L.L. , Enzimatic determination of trigliseride, free chollesterol, and total cholesterol in tissue lipid extracts. *Clinical Biochem.*1993; 26:39-42
42. De Hoff J.L. , Davidson L.M. , Krichevsky D. , An enzymatic assay for determining free and total cholesterol in tissue, *Clin. Chemistry* 1978 ; 24(3) : 433-435
43. Lepage G. , Roy C.C. , Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification , *Journal Lipid Research* , 1984 ; 25 : 1391-1396

44. Horrocks L.A. , Sun G.Y. , Ethanolamine Plasmalogens , Research Methods In Neurochemistry Marks N ; Rodnight R - EDS Plenum PUBL Newyork , 1972 ; 1 : 223-231
45. Gezer S. Bakır deplesyonunun beyin mitokondrial sitokrom oksidaz aaktivitesi ve myelinizasyon üzerine etkilerinin incelenmesi Doktora Tezi , Dokuz Eylül Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü , 1996
46. Couter P. , Hulbert AJ. , Membrane fatty acid composition of tissues iis related to body mass of mammals , J. Membr- Biology 1995 ; 148(1) : 27-39
47. Gerbi A. , Zerouga M. , Debray M. Duand G. , Effects of dietary alpha-linolenic acid on functional characteristic of Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATP ase isoenymes in whole brain membranes of weaned rats , Biochim.Biophys. Acta 1993; 1165 : 291-298
48. Tsutsumi T. , Yamauchi E. , Suzuki E. Effects of a high alpha-linolenate and high linolenate diet on membrane-associated enzyme activities in rat brain-modulation of Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATP ase activity at suboptimal conncentrations of ATP Biol-Pharm-Bull. 1995 ; 18(5) : 664-70
49. Urkun T. Kolesterolü azaltılmış tereyağı üretimi ve bazı özelliklerinin araştırılması Doktora Tezi, Tarım Ve Köy İşleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müd. Genel Yayın No:28 , 1997
50. Sugano M. , Tsujita A. , Yamasaki M. Lymphatic recovery, tissue distiribution, and metabolic effects of conjugated linoleic acid in rats Nutritional Biochemisstry ,1997; 8 : 38-43
51. Colemann R.A. ,Bell R.M. Molecular biology of complex lipid synthesis Phospholipids in Nervous System 1985; 2: 259-264
52. Kabı BC. , Rao-YN. , Parsı B. Brain cholesterol and phospholipid levels in cyproheptadine treated albino rats. Indian-J. Physiol. Pharmacology 1993 ; 37 (2) : 165-6
53. Kwon JS. , Snook JT. , Wardlaw GM. Effect of diets high in saturated fatty acids, canola oil, or safflower oil on platelet function, thromboxane B2 formation and fatty acid composition of platelet phosphlipids. Am. J. Clin.Nutr. 1991; 54 : 351-358
54. Newsholme E. Supplementation of diets with nutritional pharmaceuticals Nutrition ,1997 ; 13 : 837-839

- 54.** Newsholme E. Supplementation of diets with nutritional pharmaceuticals *Nutrition* ,1997 ; 13 : 837-839
- 55.** Wild G. , Madsen K. , Thomson A.B.R. Intestinal tight junctions and their importance in health and disease : role of dietary lipids *Nutritional Biochemistry* 1997; 8 : 2-12
- 56.** Barker D.J.P. Maternal nutrition, fetal nutrition, and disease in later life , *Nutrition* 1997; 13 : 807-813
- 57.** Smith M.E. The metabolism of myelin lipids. *Adv. in Lipid Research* 1987 ; 5 : 241-278
- 58.** Waelsch H. , Sperry WM. , Stoyanoff V.A. The influence of growth and demyelination on the deposition and metabolism of lipids in the brain *J. Biological Chem.* 1941 ; 140 : 885-897
- 59.** Jurevics H , Morell P Cholesterol synthesis made locally, not imported into brain , *J. Neurochem.* 1995; 64: 895-901
- 60.** Likhodii SS. , Cunnane SC. Utilization of carbon from dietary polyunsaturates for brain cholesterol synthesis during early post natal development in the rat : <sup>13</sup> C NMR study , *Magn-Reson-Med* 1995 ; 36(6) : 803-13
- 61.** Krekoski CA. , Parhad IM. Fung TS. Aging is associated with divergent effects on Nf-L and GFAP transcription in rat brain , *Neurobiol Aging* 1996 ; 17 ( 6 ) : 833-841
- 62.** Kolarovic L. , Fournier N.C. A comparison of extraction methods for the isolation of phospholipids from biological sources. *Analytical Biochemistry* 1986 ; 156 : 244-250
- 63.** Gustavson L. Densitometric quantification of individual phospholipids improvement and evaluation of a method using molybdenum blue reagent for detection *Journal Of Chromatography* ,1986 ; 375 : 255-266
- 64.** Masella R. , Cantafora A. Determination of phospholipids in biological samples by an improved densitometric method on thin-layer chromatograms *Clinica Chimica Acta* 1988; 176: 63-70
- 65.** Giron MD. , Criado MD. , Lara A. The short-term effect of dietary fats on the brain fatty acid composition in rats , *Arch. Physiol. Biochem.* 1995 ; 103(1) : 123-6