

DEĞİŞİK LİPİDLER İLE BESLENMENİN BEYİN LİPİD BİLEŞİMİNE ETKİSİ

Pınar AKAN*, Murat ÖRMEN*, Sedef GİDENER**, Meral FADİLOĞLU*

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalı*
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı**

ÖZET

Bu çalışmada erken gelişim döneminde, beyin lipidlerinin oluşum süreçlerini etkileyen diyetel faktörleri belirlemek amacı ile 25 adet erkek rat yavrusu, esansiyel yağ asidi içerikleri farklı ve doymuş – doymamışlık oranları değişen yağlar ile (yemelik margarin, tereyağı, zeytinyağı, palm yağı) 2 ay beslendi. Ratların beyin dokusunda kolesterol ve fosfolipid fraksiyonları ve yağ asit yüzdeleri çalışıldı. Beyin dokusu fosfatidilkolin düzeylerinin palm yağı ile beslenen grupta daha yüksek olduğu gözlemlendi ($p<0.05$). Beyin dokusu çoklu doymamış yağ asit yüzdeleri ise en az palm yağı ile beslenen grupta bulunurken, en fazla tereyağı ve zeytinyağı ile beslenen gruplarda bulundu. Zeytinyağı ile beslenen grupta beyin ester kolesterolü daha düşük bulundu. Bu bize miyelin matürasyonunun zeytinyağı ile beslenen grupta daha fazla olduğunu düşündürmüştür. Sonuç olarak, iki ay süre uygulanan diyet ile ratların beyin lipid içeriklerinde belirgin değişiklikler elde edilmiştir.

Anahtar sözcükler: Beyin lipidleri, diyet, esansiyel yağ asitleri

SUMMARY

In this study, 25 young male rats were fed for two months with margarine, butter, olive-oil and palm-oil which are different in the rates of saturated and unsaturated fatty acids as well as in the essential fatty acid content. The objective of the study was to determine the dietary factors which affect the formation process of lipids in brain during the early development period. We measured the concentrations of cholesterol and phospholipids fractions, and their fatty acid profiles, in the brain of rats. The phosphatidylcholine was highest in the group fed by palm-oil ($p<0.05$). The levels of polyunsaturated fatty acids in brain were highest in the groups fed by butter and olive-oil, but lowest in the group fed by palm-oil. Ester cholesterol levels were lowest in the group fed by olive-oil, a sign of higher maturation in brain. In conclusion, we have observed substantial differences of lipid composition in rat brain due to feeding with different lipids for two months.

Key words : Brain lipids, diet, essential fatty acids

Beyin lipidleri diğer vücut organları ile kıyaslandığında çok az değişikliğe uğrar. Buna karşılık özellikle erken gelişim döneminde uygulanan ve uzun süreli tüketilen diyetin beyin lipid içeriğini değiştirebildiğine dair çalışmalar mevcuttur. Beyin dokusunda bulunan kolesterol, serebrozidler, fosfatidiletanolamin ve sfingomiyelin çok yavaş bir şekilde metabolize edilirler bununla beraber, glukoz ve yağ asitlerinden sentez edilebilen fosfatidilkolin ve fosfatidilinositol hızlı bir turnover gösterir (1). Beyin lipidlerinin çoğu sellüler ve intrasellüler membranlarda ve miyelin kılıfında bulunur. Miyelin oluşumu memelilerin doğum sırasındaki maturasyonuna bağlı olarak, doğumdan sonra da gelişimini sürdürebilmektedir. Bu durum rat gibi yenidoğanları oldukça immatür olan memeliler için söz konusudur. Miyelin matürasyonunun en iyi belirleyicisinin fosfatidiletanolamin / fosfatidilkolin

oranı olduğu bildirilmiştir. Gelişim süreci içinde bu oran (1.25-1.8) arasında değişebilir (2). Gelişme dönemindeki insan beyninin, gebeliğin ikinci trimesterinde özellikle 17-18. haftalar arası fosfatidiletanolamin yağ asitlerinin %18'inin değiştiği gösterilmiştir. Üçüncü trimesterde ise uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri beyinde çok hızlı bir şekilde birikmektedir. 1981 yılında Clandinin ve arkadaşları bunun omega-3 yağ asitleri için 22 mg / hafta, omega-6 yağ asitleri için 43 mg/hafta olduğunu göstermişlerdir. Beyin dokusu fosfolipidleri ve sinaptik membranlar dokosaheksaenoik asit (DHEA) gibi omega-3 serisi yağ asitlerinden zengindir. Doğumdan sonra 6-12. haftaya kadar insan beyni (DHEA) konsantrasyonlarında az da olsa bazı değişiklikler gözlenir. Besinlerle alınan yağ asidi miktarı ile beyin dokusu (DHEA) miktarı arasında yakın bir ilişki

olduğunu gösteren çalışmalar vardır (1,3). Omega-3 yağ asidinden fakir beslenen deney hayvanlarının nöron ve retina işlevleri ve kavrama yetenekleri olumsuz yönde etkilenmektedir (3-6). Kritik gelişme dönemi denilen, ratlarda doğum sonrası ilk birkaç haftayı kapsayan dönemde sinir sistemi miyelini hızlı bir şekilde oluşturur. Bu dönemde kolesterol ihtiyacı sinir sisteminin matürasyonuna bağlı olarak artar. Sinir sistemindeki bu kolesterolün kaynağı tartışmalı bir konudur. Morrell ve arkadaşlarına göre, gelişim döneminde beyin dokusunda biriken kolesterol lokal olarak sentez edilmektedir (7).

Bu çalışmada organizmadaki fizyolojik önemi çok iyi bilinen lipidlerin, özellikle erken gelişim döneminde beyin dokusunda oluşum süreçlerini etkileyen diyetel faktörler incelenmeye çalışıldı. Amacımız çoklu doymuş, çoklu doymamış ve tekli doymamış yağ asitlerinden zengin diyetlerin beyin dokusu fosfolipid, kolesterol ve yağ asidi miktarlarını ne derece etkilediğini bulmak ve bu şekilde diyetel farklılıkların beyin gelişim ve fonksiyonlarını etkileme sürecini belirlemektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

İki aylık Wistar türü 25 adet erkek rat yavrusu deneysel protokolden 10 gün önce temin edildi. Bu süre içinde ratlar sadece standart rat yemi ile beslendi. Ratlar beşerli gruplar halinde rastgele beş gruba ayrıldılar. Gruplar stok laboratuvar rat yemine ilaveten, yemin ağırlığının % 20'si olacak şekilde bitkisel margarin, tereyağı, zeytinyağı ve palm yağı karıştırılarak sekiz hafta süresince beslendi. Kontrol grubuna ise sadece standart rat yemi verildi. Yemler, Ankara Yem Sanayii'nden temin edildi. Tablo I ve II'de uygulanan deneysel diyetin yağ asidi profili ve standart rat yeminin içeriği izlenmektedir.

Yağdan zengin diyet ile beslenmeye başlamadan önce ratların ağırlıkları 150-200 gram arasında değişmekteydi. Deney süresince ratların vücut ağırlığı ve yiyecek alımları takip edildi. Sekiz hafta süresince ratlar üstten hava filtreli, polikarbonattan yapılmış

kafeslerde barındırıldı. Hava sıcaklığı (21±1)°C'de tutuldu. Gece saat (20) ve sabah saat (09) arası karanlık uygulaması yapıldı. Fenobarbital ile anestezi uygulanan ratların karın kasları disseksiyon ile ayrılarak, vena cava caudalis'den kan örnekleri alındı. Bu örneklerden, taze olarak lipid analizleri gerçekleştirildi. Diyetin; gelişme hızı, serum lipid profili ve aterojenik indeks üzerine etkileri farklı yağlar ile beslenen dört grupta ve kontrol grubunda çalışıldı.

Tablo I. Deneysel diyetin yağ asidi profili (%)

Yağ Asidi	Palm Yağı	Zeytinyağı	Bitkisel Yağ	Tereyağı
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 asidlerinin yaygın adları şöyledir: 14:0 Miristik, 16:0 Palmitik, 16:1 Palmitoleik, 18:0 Stearik, 18:1 Oleik, 18:2 Linoleik, 18:3 Linolenik asit

Tablo II. Standart stok rat yeminin içeriği

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)

Dekapite edildikten sonra ratların beyinleri bütün olarak çıkarıldı. Serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra, analiz edilinceye kadar (-70)°C'de saklandı. Beyinler labil minör lipidleri korumak için hemen donduruldu. Lipid ekstraksiyonu öncesi çözölen beyinlerin, beyaz ve gri cevherini ayırmak mümkün olmadığı için, serebellumları ayrılarak total olarak bütün beyin dokusunda analizler gerçekleştirildi. Ağırlıkları 0.700-1.500 gram arasında değişen beyinlerin lipid ekstraksiyonları yapıldıktan sonra, kimyasal analizler ve kromatografik incelemeleri yapılınca kadar (+4)°C'de saklandı.

Beyin Dokusu Lipid Ekstrelerinin Hazırlanması

Beyin dokusu lipid ekstraktları Folch ve arkadaşları tarafından tarif edilen metodlara göre hazırlanmıştır (8,9). Yaklaşık 0.500-1.00 gram yaş doku on kat hacimde (1/1, v/v) kloroform / metanol solusyonu ilave edilerek yarı otomatik homojenizatörde buz içinde 1500 devirde homojenize edildi. Homojenatlar 3000 rpm'de 10 dakika santirfüj edilerek üst faz ayrıldı. Alt fazın sıvı kısmı azot gazı altında uçurularak, geri kalan ekstre tekrar (2/1,v/v) kloroform / metanol solusyonu ile yirmi misline tamamlandı. Lipid ekstraktlarının organik fazı, içinde %0.5 sülfirik asit içeren su ile ayrıldıktan sonra alt faz total fosfolipid analizi ve fosfolipid fraksiyonlarının belirlenmesi için kullanıldı. Asidik solusyon, alkanil eter bağlarını hasarlamadan asidik fosfolipidleri ayırmak için kullanıldı (1). Ayrıca belirli bir miktar lipid ekstresi, 60°C suda ve azot gazı altında kurutulup, üzerine iki defa kloroform / metanol solusyonu ilave edilerek işlem tekrar edildi. Bu şekilde proteinleri denatüre edilmiş lipid ekstresi kolesterol tayininde kullanıldı.

Kimyasal Analiz

Beyin dokusunda fosfolipid analizi, enzimatik kolorimetrik yöntem ile "Mennarini Diagnostics" kiti kullanılarak manuel olarak yapıldı. Total kolesterol ölçümü için Hoffman ve arkadaşlarının tarif ettiği şekilde, beyin dokusu ekstraktları ölçüme hazırlandı. Enzimatik kolorimetrik yöntemeye dayalı "BioMerieux" kiti kullanılarak total kolesterol ölçümleri yapıldı. Serbest kolesterol ölçümü ise "Boehringer Mannheim" kiti kullanılarak spektrofotometrik olarak gerçekleştirildi (10,11). Ölçümler standartlar ve kontroller varlığında değerlendirildi. Sonuçlar mg/gram yaş doku olarak verildi.

Beyin Dokusu Fosfolipid Ve Kolesterol Fraksiyonlarının Ayrıştırılması

Beyin ekstraktlarındaki fosfolipid ve kolesterol fraksiyonlarının ayrıştırılması için Helena Laboratuvarları tarafından hazırlanan silika jel plakları (10x20 cm) ile kendi laboratuvarımızda hazırlanan Silika H jel plakları (Merck) karşılaştırmalı olarak

kullanıldı. Fosfolipid fraksiyonları için "Fetal Tek 200 marker" ile birlikte tanımlanan bantların 525 nm'de dansitometrik olarak dağılım yüzdeleri belirlendi. Kolesterol fraksiyonları ise ester ve serbest kolesterol şeklinde kalitatif olarak gösterildi (9,12).

Beyin Dokusu Yağ Asidi Analizi

Yaklaşık 10 mg'lık doku için 2 ml kloroform / metanol (2/1,v/v) solusyonu kullanılarak hazırlanan homojenatlara yağ asitleri analizi için ekstraksiyon işlemi uygulandı. Yağ asidi metil türevlerinin oluşturulması için Lepage tarafından önerilen direkt transesterifikasyon yöntemi ile Sun ve Horrocks'un önerdiği alkali metanolizis yöntemi karşılaştırmalı olarak kullanıldı (13,14). Yağ asidi metil esterleri Hewlett Packard, 5890 seri II gaz-likit kromatografisi ile belirlendi. BPX-70, %70 siyanopropil, polisilfenilensiloksan'dan oluşmuş, yüksek derecede polar, silika kaplı bir kolon kullanıldı. Elde edilen pikler, Altech firmasının yağ asidi metil esterleri standartları ve doğal yağlar kullanılarak değerlendirildi. Sonuçlar beyin dokusu total yağ asitlerinin yüzdesi olarak verildi.

İstatistiksel Analiz

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 gösteren 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.

BULGULAR

Ratların yaş beyin dokusu ağırlıkları 0.7-1.5 gram arasında değişmekteydi. Beyin ağırlıkları açısından gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenemedi. Ratların bir haftada (h) gösterdikleri kilo artışları ise kontrol, margarin, tereyağı, zeytinyağı ve palm yağı ile beslenen gruplarda, sırası ile, 2.94 ± 0.2 (g/h), 7.09 ± 0.6 (g/h), 4.09 ± 0.2(g/h), 9.92 ± 0.5 (g/h), 13.7 ± 0.7

(g/h) bulundu. Serum kolesterol değerleri ise kontrol grubunda 71.5 ± 3.8 (mg/dl), margarin grubunda 55.3 ± 3.4 (mg/dl), tereyağı grubunda 65.8 ± 6.5 (mg/dl), zeytinyağı grubunda 46.3 ± 3.4 (mg/dl), palm yağı grubunda 52.8 ± 1 (mg/dl) olarak belirlendi. Haftalık kilo artışı palm yağı ile beslenen grupta en yüksek olarak bulundu ($p < 0.01$).

Tablo III'de beyin dokusu total fosfolipid, kolesterol ve fraksiyonlarını miktarlarını görmek mümkündür. Palm yağı ile beslenen ratların, total fosfolipid ve kolesterol değerleri diğer gruplara ve kontrol grubuna oranla oldukça yüksek bulundu. Margarin ve tereyağı ile beslenen gruplarda beyin kolesterol ve fosfolipid miktarları birbirine yakın bulunurken; zeytinyağı ile beslenen grupta daha düşük sonuçlar elde edildi. Fosfatidilkolin ve fosfatidilserin değerleri, palm yağı ile

beslenen grupta kontrol grubu ve farklı diyet gruplarından anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.05$). Yine tereyağı ile beslenen grupta ilgi çekici bir sonuç olarak fosfatidilinositol değerleri, diğer grupların sonuçlarına göre yaklaşık iki katı yükseklikte belirlendi.

Tablo IV'te 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 dokosaheksaenoik asit miktarları en düşük olarak bulundu. Zeytinyağı ve tereyağı ile beslenen grupta ise dokosaheksaenoik asit değerleri kontrol ve diğer diyet gruplarına göre daha yüksek olarak tespit edildi.

Tablo III. Farklı diyet gruplarının beyin dokusu total, serbest ve ester kolesterol düzeyleri ile fosfolipidfraksiyonlarının değerleri

Diyet Grupları (n=5)	Margarin	Tereyağı	Zeytinyağı	Palm Yağı	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	3636.22±852	5900.38±1397	7750.77±1805	3883.33±600
PG	5406±1113	9185±803	8076±506	9585±2882	4688±861

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 yağ doku başına verilmiştir. # Sonuçlar ± standart hata olarak gösterilmiştir. # (*) p < 0.05

Tablo IV. 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

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

#Sonuçlar ortama ± standart hata olarak verilmiştir. # (*) Gruplar birbiri ile kıyaslandığında p < 0.05

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

TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüzde modern toplumun bir sendromu olarak omega-3 yağ asitlerinden eksik beslenme söz konusudur. Bu nedenle bu yağ asitlerinden fakir beslenmenin metabolik etkileri çok daha fazla önem taşımaktadır. Uzun süre doymuş ve daha az esansiyel yağ asidi ile beslenmenin özellikle erken çocukluk döneminde beyin gelişmesi üzerinde olumsuz etkilerinin olup olamayacağı cevap verilmesi gereken önemli bir sorudur. Beslenmenin lipid metabolizması üzerine olan etkisinde diyetin içeriğinin yanı sıra bunun ne kadar süre uygulanacağı da önemli bir konudur. Hayvan modeli çalışmalarının sonuçları insan modeline birebir uymasa da, özellikle metabolik çalışmalar için en iyi yollardan biridir. Deney hayvanlarında yapılan bu tür beyin lipid metabolizmasına yönelik çalışmalar, daha çok diyetle esansiyel yağ asidi alınmamasının beyin dokusu üzerine olan etkileri ile ilişkilidir (1,3,4,12,15,16).

Bu çalışmada elde ettiğimiz verilere dayanarak ratlara besinlerle verdiğimiz yağ oranlarının rat beyin dokusu yağ asidi içeriklerini etkilemesine rağmen beyinde esansiyel yağ asidi eksikliği oluşturmadığını düşünüyoruz. Esansiyel yağ asidinden eksik diyet ile beslenenlerde omega-9 sentez yolunun aktivasyonu ile eikosatrienoik asit (20:3) düzeylerinde bir artış olması beklenir (17). Bizim çalışmamızda diyet gruplarının hiç birinde (20:3) yüzdelerinde bir artış

olmamıştır. Uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitlerinin dokulardaki konsantrasyonları, diyetle esansiyel yağ asidi alınmasının yanısıra, diyetteki omega-6/ omega-3 yağ asidi oranına bağlıdır. Bu oran fazla ise, dokulardaki uzun zincirli çoklu doymamış yağ asidi konsantrasyonu olumsuz yönde etkilenir. Jean-Marie Boure ve arkadaşları ratlarda yaptıkları bir çalışmada bu oranın eğer farmakolojik etki istenmiyorsa 6 / 1 olması gerektiğini belirtmişlerdir (3). Bizim kullandığımız zeytinyağının omega-6 / omega-3 yağ asidi oranı yaklaşık 15/1, tereyağının ise 9/1 değerindedir. Çalışmamızda bütün beyin homojenatında (18:2) linoleik asit oranı zeytinyağı ile beslenen grupta , diğer gruplara kıyasla yaklaşık iki kat daha yüksek bulundu. Aynı şekilde (18:3) linolenik asit oranı zeytinyağı ile beslenen grupta en yüksek seviyede tespit edildi. Bununla beraber uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitlerinin miktarında gruplar arası belirgin bir fark saptanamadı.

Yaptığımız çalışmada kontrol grubu ile diğer grupların total beyin dokusu fosfolipid konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiş olmasına rağmen, margarin, zeytinyağı ve palm yağı ile beslenen grupta total beyin homojenatındaki fosfatidil kolin miktarı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.025$). Kontrol grubuna göre yüksek enerjili diyetlerle 2 ay beslenmenin beyin dokusu fosfatidilkolinin miktarını artırmasının, bu fosfolipidin tüketilen diyetten oldukça fazla etkilendiğini ve beyin dokusunda oldukça fazla bir turnover gösterdiğini düşündürmektedir. Bu sonuçlarımız literatür ile uyumlu olarak bulunmuştur (1,18,19). Bunun yanında palm yağı ile beslenen grupta, kolinin de novo sentez kaynağı olabilen fosfatidilserin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Tereyağı ile beslenen grupta, fosfatidilinositolün diğer gruplara kıyasla yaklaşık iki katı yükseklikte olması dikkat çekicidir. Çünkü bu fosfolipid sinyal iletiminde önemli rol

oyunayan polifosfoinozidlerin sentezinde prekürsördür. Bilindiği gibi beyin membranlarının yapısını oluşturan fosfolipidlerin seviyeleri kan-beyin bariyeri ve de novo sentez yolu ile kontrol edilmektedir (20).

Zeytinyağı ve tereyağı ile beslenen gruplarda kontrol grubuna kıyasla, çoklu doymamış yağ asitlerinden olan (22:5;DPEA, omega-6) dokosapentaenik asit konsantrasyonu yaklaşık 2 katı yükseklikte bulundu. Palm yağı ile beslenen grup dışında diğer bütün gruplarda ise (22:6;DHEA, omega-3) dokosaheksaenik asit konsantrasyonları, kontrol grubunun yaklaşık iki katı yükseklikte tespit edildi. 1989 yılında Bouré ve arkadaşları rat yavrularının alfa linolenik asitden yoksun diyet ile besleyerek yaptıkları bir çalışmada, beyin dokusunda belirgin bir DHEA azalması ve DPEA artması tarif etmişlerdir. 1992'de Arbuckle ve Innis, domuzların sinaptik plazma membranı ve retinasında yaptıkları bir çalışmada diyet ile eksik linolenik asit (18:3) alınmasının, bu dokularda DHEA konsantrasyonunu azalttığını göstermişlerdir. Baure ve ark 1992'de yaptıkları daha sonraki bir çalışmada 7 ay boyunca diyetsetel α -linolenik asit eksikliğinin yetişkin ratlarda kalp ve karaciğer gibi diğer organların aksine beyindeki dokosaheksaenik asit içeriğini değiştirmediğini belirtmişlerdir. Beyin DHEA miktarının korunmasını, muhtemelen fizyolojik dönüşüm sırasında fosfolipidlerin hidrolizi sonrası açığa çıkan yağ asitlerinin tekrar kullanılması ile açıklamışlardır (12). Linolenik asitden yoksun besleme beyin, sinir uçları ve miyelinde (sırası ile 3., 6. ve 9. haftalarda) DPEA konsantrasyonlarını yükseltmiştir. Bouré ve arkadaşlarına göre bu durum, linolenik asit eksikliğinin yanı sıra linoleik asidin (18:2) miktarlarının fazlalığına bağlı olabilir. Bizim çalışmamızda, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da linoleik asidi en fazla içeren yağlarla beslenen gruplarda DPEA oranı daha yüksek bulundu, DHEA oranı ise palm yağı ile beslenen grupta diğer gruplarla kıyaslandığında daha düşük miktarda tespit edildi. Buna karşılık fosfolipid fraksiyonları daha yüksek olarak bulundu.

İşaretili fosfolipidler ile bunların retinal ve siliar ganglionlarda aksonal taşınması üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda işaretili fosfatidiletanolaminin, fosfatidikoline kıyasla akson - miyelin yüzeyinde daha hızlı bir şekilde birikime uğradığı gösterilmiştir. Bu fosfolipidlerin taşınmalarındaki bir bozukluk miyelin membran devamlılığını değiştirerek, demiyelinizasyon işlemine katkıda bulunabilir. Bizim çalışmamızda palm yağı ile beslenen grupta, fosfatidiletanolamin istatistiksel olarak anlamlı olmasa da en fazla miktarda bulunmuştur.

Beyin gelişimi için gerekli kolesterolün nereden kaynaklandığı cevap verilmesi gereken önemli bir sorudur. Gelişim esnasındaki kolesterol metabolizması hakkında yapılmış en erken ve en detaylı çalışmalardan biri olan Marion Smith'in çalışmasında, sinir sistemi miyelinizasyonu için gerekli olan kolesterolün sinir dokusunun kendisi tarafından sentez edildiği savunulmuştur (21). Waelsch ve arkadaşları ise, ratları döteryumlu sabunlaşmayan lipidlerle besleyerek, beyin kolesterolünün stabilitesinin ilk kanıtlarından birini oluşturmuşlardır (22). Yine radyoaktif maddenin kolesterol içinde belirlenmesi yöntemi ile 1995 yılında Morell ve arkadaşları beyinde biriken bütün kolesterolün lokal olarak sentezlendiği sonucuna varmışlardır (23). Likhodi ve arkadaşları ise gelişim döneminde, ratlara diyet ile verilen çoklu doymamış yağ asitlerinin, beyin dokusu kolesterol bileşimini etkilediğini göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda beyindeki total kolesterol miktarlarında 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 (24). Bizim çalışmamızdaki ratların henüz gelişim döneminde oldukları göz önüne alınırsa bu durum normal karşılanabilir.

Diğer gruplara kıyasla zeytinyağı ile beslenen grupta serum kolesterol değerlerine paralel olarak, total beyin dokusu kolesterol değerleri daha düşük bulundu. Yine benzer şekilde, ester kolesterol miktarları da daha düşük olarak tespit edildi. Zeytinyağı ile beslenen grupta ester kolesterol totalin %7'si iken palm yağı ile beslenen grupta ise %20 olarak belirlendi. Tereyağı ve margarin ile beslenen grupta ise bu oran kontrol grubu ile aynı değerde 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 miyelinde değil, tüm beyin dokusunda çalışmış olmak, bizim bu konuda kesin bir fikre sahip olmamızı engellemiştir. Lokal olarak beyinde sentezlenen kolesterolün, sirküle eden kolesterolden insanlarda sadece doğumdan sonra kısa bir dönem için etkilendiği kabul edilirse erken gelişim döneminde sinir sistemi miyelinizasyonu için gerekli olan kolesterolün mutlaka diyet ile takviye edilmesi düşünülmelidir.

Değişik oranlardaki yağlarla yapılan bu tür çalışmalarda, yağ çeşitlerinin yanısıra bunların ne kadar süre uygulanması gerektiği de önemli bir konudur. 1995 yılında Giron ve ark. kısa dönem uygulanan diyetsel yağların etkisini araştırmışlar ve dokuz günlük bir diyetin beyin dokusu içeriğinde bir değişiklik oluşturmadığını belirtmişlerdir. Mac Donald ve arkadaşları ise yedi ay gibi uzun bir sürede uygulanan diyetin rat beyin total trigliserid ve fosfolipid konsantrasyonlarında bir değişiklik oluşturmadığını, buna karşılık beyin dokusu yağ asidi profillerinde önemli değişiklikler oluşturduğunu göstermişlerdir (1,25).

Sonuç olarak, çalışmamızda gelişme dönemindeki ratlara uygulanan iki ay süreli diyet, beyin lipid içeriğinde bazı değişikliklere neden olmuştur;

1) Uygulanan diyet beyin dokusunda fosfatidilkolin

fraksiyonunda gruplar arasında belirgin bir fark oluşturmuştur ($p<0.05$).

2) Beyin dokusu çoklu doymamış yağ asitlerinin miktarları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmasa da, kullanılan diyetin içeriğine bağlı olarak bazı değişiklikler gözlenmiştir. Beyin gelişimi için çok önemli olan bu yağ asitlerinin miktarları açısından en olumlu sonuçlar tereyağı ve zeytinyağı ile beslenen gruplarda elde edilmiştir.

3) Palm yağı ile beslenen grupta haftalık kilo artışının en fazla olmasının yanı sıra beyin dokusu total fosfolipid, total kolesterol ve ester kolesterol miktarları diğer gruplardan daha yüksek bulunmuştur.

4) Zeytinyağı ile beslenen grupta ise beyin dokusu ester kolesterol miktarı diğer gruplardan daha düşüktür.

Bu çalışmanın daha geniş gruplarda ve ratların bireysel enerji tüketimleri hesaplanmasına olanak verecek şekilde, her bir rat için ayrı kafeslerde uygulanmasının, daha aydınlatıcı sonuçlar vereceğini düşünüyoruz .

Lauer'in belirttiği gibi, omega-6 ve omega-3 yağ asitlerinin birlikte tüketilmesi multiple sklerozun relapslarının şiddetinin azalmasında ve erken görülen vakalarda hastalığın ilerlemesinde faydalı etkiler gösterir (26). Önemli bir çok biyolojik araçların prekürsörü olan çoklu doymamış yağ asitlerinin humoral ve hücrel bağışıklığı azaltıcı etkisi nedeniyle otoimmün kökenli hastalıkların patogenezindeki rollerinin araştırılması ve bunların dışarıdan alınan diyetsel yağlarla ilişkilerinin belirlenmesi, bu hastalıkların tedavisine de ışık tutabilir.

TEŞEKKÜRLER: 0923940110 no.lu projemizi destekleyen Dokuz Eylül Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı'na teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. MacDonald RS, Zhang W, Zhang JP. Brain neutral lipids and phospholipids are modified by long-term feeding of tallow vs. corn oil diets. *J Nutr* 1996;126:1554-1562.
2. Norton WT and Podusio ES. Myelination in rat brain: Changes in myelin composition during brain maturation. *J Neurochem* 1973;21:759-773.
3. Boyle FG, Yuhas RJ, Lien E. Red blood cell and tissue phospholipid fatty acid profiles of weanling rats fed infant formula fat blends containing soya and/or corn oil. *Ann Nutr Metab* 1996;40:234-242.
4. Boure JM, Francois M, Youyou A. The effects of dietary celinolenik acid on the composition of nerve membranes, enzymatic activity, amplitude of electrophysiological parameters, resistance to poisons and performance of learning tasks in rats. *J Nutr* 1989;119:1880-1892.
5. Vauy R, Birch DG, Birch EE. Effects of dietary omega-3 fatty acids on retinal function of very low-birth-weight neonates. *Pediat Res* 1990;28:485-492.
6. Lamptey MS, Walker BL. A possible essential role for dietary linolenic acid in the development of the young rat. *J Nutr* 1976;106:86-93.
7. Morrell P, Jurevics H. Origin of cholesterol in myelin. *Neurochem Res* 1996;21:463-470.
8. Folch J, Lees MA. Simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J Biological Chem* 1957;226:497.
9. Fadiloğlu M. Lipidozlarda Beyin Ve Organ Lipidleri; İnce tabaka kromatografisi ve kimyasal metodlarla inceleme. Uzmanlık tezi; Ege Ü.Tıp.Fak.Biyokimya Kürsüsü, 1971.
10. Carr TP, Andresen CJ, Rudel LL. Enzymatic determinations of triglyceride, free cholesterol and total cholesterol in tissue lipid extracts. *Clin Biochem* 1993;26:232-234.
11. De Hoff JL, Davidson LM, Krichevsky D. An enzymatic assay for determining free and total cholesterol in tissue. *Clin Chem* 1978;24:433-435.
12. Boure JM, Dumont OS, Piciotti MJ, Pascal GA. Dietary ce-linolenik acid deficiency in adult rats for 7 months does not alter brain docosahexaenoic acid content, in contrast to liver, heart and testes. *Biochim Biophys Acta* 1992;1124:119-122.
13. Lepage G, Roy CC. Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification. *J Lipid Res* 1984;25:1391-1396.
14. Horrocks LA, Sun GY. Ethanolamine Plasmalogens. *Research Methods in Neurochemistry* Marks N, Rodnight R.(eds.). Plenum Publications, Newyork 1972;1: 223-231.
15. Gerbi A, Zerouga M, Debray M, Duand G. Effects of dietary alpha-linolenic acid on functional characteristic of Na⁺-K⁺ ATP ase isoenzymes in whole brain membranes of weaned rats. *Biochim Biophys Acta* 1993;1165:291-298.
16. 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⁺-K⁺ATP ase activity at suboptimal concentrations of ATP. *Biol-Pharm-Bull* 1995;18:664-670.
17. Leeden RW, Kunishita T, Wu PS. Phospholipids Synthesis. In: Myelin; Putative role of the axon. Phospholipids in the nervous system. Edited by LA. Horrocks, Raven Press, New York. 1985;2:329-339.
18. Champe PS, Harvey RA, Lippincott's Illustrated reviews; 2nd edition. Lippincott company, Philadelphia. 1997;191-197.
19. Smith E, Hill R, Lehman IR, Leikowitz RJ. Principles Of Mammalian Biochemistry. 7th edition, McGraw-Hill international editions . Singapore 1986;243-266.
20. Sugano M, Tsujita A, Yamasaki M. Lymphatic recovery, tissue distribution and metabolic effects of conjugated linoleic acid in rats. *Nutr Biochem* 1997;8:38-43.
21. Smith E. The metabolism of myelin lipids. *Adv In Lipid Res* 1987;5:241-276.
22. Waelsch H, Sperry WM, Stoyanoff VA. The influence of growth and demyelination on the deposition and metabolism of lipids in the brain. *J Biological Chem* 1941;140:885-897.
23. Jurevics H, Morell P. Cholesterol synthesis made locally, not imported into brain. *J Neurochem* 1995;64:895-901.
24. Krekoski CA, Parhad IM, Fung TS. Aging is associated with divergent effects on Nf-L and GFAP transcription in rat brain. *Neurobiol Aging* 1996;17:833-841.
25. 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;103:123-126.
26. Lauer K. Diet and multiple sklerosis. *Neurology* 1997;49:55-61.