

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TRANS-9 18:1 OKTADESENOİK ASİT İZOMERİNİN İNSÜLİN
DİRENCİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Nezihe PEHLİVANLI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA (TIP) ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Mehmet GÜRBİLEK

KONYA - 2010

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TRANS-9 18:1 OKTADESENOİK ASİT İZOMERİNİN İNSÜLİN
DİRENCİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Nezihe PEHLİVANLI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA (TIP) ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Mehmet GÜRBİLEK

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 09202047
proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA - 2010

ii. ÖNSÖZ

Tezimi hazırlamamda emeği geçen, bilimsel yardımlarını esirgemeyen, ilgi ve desteğini gördüğüm Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerine, deney süresince yardım aldığım Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi çalışanlarına ve Veteriner Hekimi Mehmet ÖZ'E, istatistik çalışmalarımızda yardımcı olan Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Said BODUR'A teşekkür ederim. Ayrıca yüksek lisans eğitimim boyunca maddi ve manevi desteklerini eksik etmeyen aileme sonsuz teşekkür ederim.

Tezimin alışılması Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.

iii. İÇİNDEKİLER

| | |
|----------------------------------------------------------|-----------|
| ii. ÖNSÖZ | i |
| iii. İÇİNDEKİLER | ii |
| iv. SİMGELER VE KISALTMALAR..... | iv |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 1.1. Lipidler..... | 1 |
| 1.1.1. Lipidlerin Sınıflandırılması ve Önemi..... | 1 |
| 1.1.2. Yağ Asitlerinin Yapısı ve Sınıflandırılması | 3 |
| 1.1.3. Yağ Asitlerinde Cis ve Trans İzomerliği | 3 |
| 1.1.4. Trans Yağ Asitleri..... | 4 |
| 1.1.5. Trans İzomerlerin Yapısı ve Özellikleri | 5 |
| 1.1.6. Hücre Zarı | 5 |
| 1.1.7. Akışkanlık..... | 6 |
| 1.1.8. İnsülin Direnci | 7 |
| 1.1.9. Yağ Dokusu ve Yağ Hücresi | 8 |
| 1.1.10. Adiponektin | 10 |
| 1.1.11. Resistin | 10 |
| 1.1.12. Fruktozamin ve Glukoz | 11 |
| 2. GEREÇ ve YÖNTEM..... | 12 |
| 2.1. Gereç | 12 |
| 2.1.1. Vakaların Oluşturulması ve Gruplandırma..... | 12 |
| 2.1.2. Numunelerin Alınışı ve Hazırlanışı | 15 |
| 2.1.3. Kullanılan Cihazlar | 15 |
| 2.1.4. Kullanılan Reaktifler ve Çözeltiler | 15 |
| 2.2. Yöntem..... | 15 |
| 2.2.1. Adiponektin Tayini | 15 |

| | |
|-------------------------------------------|-----------|
| 2.2.2. Resistin Tayini | 16 |
| 2.2.3. Glukoz ve Fruktozamin Tayini | 17 |
| 2.2.4. İstatistiksel Analiz | 17 |
| 3. BULGULAR | 18 |
| 4. TARTIŞMA | 20 |
| 5. SONUÇ VE ÖNERİLER..... | 25 |
| 6. ÖZET..... | 26 |
| 7. SUMMARY | 27 |
| 8. KAYNAKLAR | 28 |
| 9. EKLER..... | 31 |
| EK-A: Etik Kurul Kararı Örneği..... | 31 |
| 10. ÖZGEÇMİŞ..... | 32 |

iv. SİMGELER VE KISALTMALAR

| | |
|---------------------------------|----------------------------------------------------------|
| ASP | : Asilation stimule edici protein |
| CRP | : C-reaktif protein |
| GLUT-4 | : Glukoz tranporter-4 |
| HbA_{1c} | : Hemoglobin A _{1c} |
| HDL | : High densty lipoprotein (yüksek dansiteli lipoprotein) |
| HRP | : Horseradish peroksidaz |
| ICAM-1 | : İntraselüler hücre adezyon molekülleri-1 |
| IGF-α | : İnsülin benzeri büyüme faktörü |
| IL-6 | : İnterlökin-6 |
| LDL | : Low densty lipoprotein (düşük dansiteli lipoprotein) |
| LPL | : Lipoprotein lipaz |
| PAI-1 | : Plazminojen aktivatör inhibitor-1 |
| PG F₂ | : Prostaglandin F ₂ |
| PG I₂ | : Prostaglandin I ₂ |
| PPAR-α | : Peroksizom proliferatör aktive edici reseptör alfa |
| SFA | : Saturated fatty acid (doymuş yağ asidi) |
| T2DM | : Tip 2 diyabetes mellitus |
| TFA | : Trans fatty acid (trans yağ asidi) |
| TGF-α | : Transforming büyüme faktörü alfa |
| Tm | : Transition temperature (geçiş ısısı) |
| TMB | : Tetrametilbenzidin |
| TNF-α | : Tümör nekrosiz faktör alfa |
| VCAM-1 | : Vasküler hücre adezyon molekülleri-1 |

1. GİRİŞ

Trans yağ asitleri; inek ve koyun gibi geviş getiren hayvaların sütlerinde ve yağlarında az miktarda bulunur. Bu yüzden insan beslenmesinde eski zamanlardan bu yana yer almaktadır (Taşan ve Dağlıoğlu 2005). Buna karşın margarin endüstrisinin gelişmesiyle trans yağ asidi içeriği yüksek yağların beslenmedeki yeri artmıştır.

Margarinler kısmi hidrojenasyon yöntemi ile bitkisel yağlardan üretilmektedir. Hidrojenasyon yöntemi süresince doymamış yağ asitlerinin trans izomerleri meydana gelmektedir (Taşan ve Dağlıoğlu 2005).

Trans yağ asitleri; trans konfigürasyonunda en az bir çift bağa sahip doymamış yağ asitleridir (Mozaffarian 2006). Bu asitlerde çift bağ sayısı cis izomerlere göre daha küçük, açıl zinciri daha doğrusaldır. Dolayısıyla erime noktası ve termodinamik stabilitesi daha yüksek olan farklı fiziksel özellikte sert bir molekül ortaya çıkmaktadır (Larque ve ark 2001).

Günümüzde önemli sağlık sorunlarından koroner kalp hastalığı, diyabet, insülin direnci, dislipidemi gibi hastalıkların beslenme şekliyle sıkı bir ilişkisi olduğu düşünölmektedir. Bu hastalıkların patolojisinde insülin direnci temel bir rol oynamaktadır. Yükselmiş resistin, fruktozamin, glukoz konsantrasyonları ve azalmış adiponektin seviyesi insülin direnci, dislipidemi, koroner arter hastalığı riski ve kalp yetmezliği ölüm oranı ile ilişkili olduğu ortaya konulmuştur. Trans yağ asidinin insülin direnci üzerine etkileri ise güncel tartışma konularıdır.

Biz bu çalışmamızda, diyet ile alınan trans-9 18:1 oktadesenoik asit izomerinin insülin direnci üzerine etkisini değerlendirmek için, adiponektin ve resistin aktivitesinde meydana gelen değişiklikler ile araştırmayı amaçladık.

1.1. Lipidler

1.1.1. Lipidlerin Sınıflandırılması ve Önemi

Lipidler canlı organizmaların en önemli bileşenlerinden olup başlıca enerji kaynağını oluştururlar. Lipidler suda çözünmeyen organik biyomoleküllerdir. Hücre ve dokulardan kloroform, benzen, eter gibi organik çözücüler kullanılarak elde edilir.

Susuz olarak depo edilme özelliğinden dolayı iyi bir enerji deposu olan yağ molekülleri, aynı ağırlıktaki karbonhidratlardan daha fazla enerji verirler (Kalaycıoğlu ve ark 2000).

Lipidlerin Biyolojik Önemi

- Enerji için depo ve transport maddesi olarak kullanılırlar
- Pek çok canlı organizmanın dışında koruyucu kılıf teşkil ederler.
- Hücre zarı yapısal bileşeni olarak rol oynarlar.
- Hücre yüzey bileşeni olarak hücrelerin birbirini tanımada önemli rol oynamaktadırlar.

Sınıflandırma

Bloor adlı araştırmacıya göre lipidler, dört gruba ayrılır.

1-Basit lipidler: Yağ asitlerinin çeşitli alkoller ile yaptığı esterlerdir.

a-Yağlar: Yağ asitlerinin gliserol ile yaptığı esterlerdir.

b-Mumlar: Yağ asitlerinin yüksek moleköl ağırlıklı monohidrik alkollerle yaptığı esterlerdir.

2-Karmaşık lipidler: Yağ asitlerinin bir alkol ve bir yağ asidine ek olarak diğer gruplarda içerdiği esterlerdir.

a-Fosfolipidler: Yağ asitleri ve bir alkole ek olarak bir fosforik asit kalıtı içeren lipidlerdir. Bunlar, sıklıkla azot içeren bazlar ve diğer yapı taşlarını içerir; örneğın gliserofosfolipidlerde alkol gliserol, sfingofosfolipidlerde alkol sfingozindir.

b-Glikolipidler (glikozfingolipidler): Bir yağ asidi, sfingozin ve karbonhidrat içeren lipidlerdir.

c-Diğer karmaşık lipidler: Sulfolipidler ve aminolipidler gibi lipidlerdir. Lipoproteinler de bu sınıfa alınabilir.

3-Öncül ve türev lipidler: Bunlar; yağ asitleri, gliserol, steroidler, gliserol ve hidrokarbonları, yağda çözünen vitaminler ve hormonları kapsar.

4-Lipidlerle ilgili diğer maddeler: İzoprenoidler; izopren türevi bileşiklerdir. Karotenoidler ve steroidler önemli izoprenoidlerdir.

1.1.2. Yağ Asitlerinin Yapısı ve Sınıflandırılması

Yağ asitleri birçok kompleks lipidlerin yapısında bulunur ve lipidlerin en basit grubudur. Bir yağ asidi, terminal karboksilik grubu bulunan bir hidrokarbon zincirinden oluşur (Champe ve Harvey 1997).

Yağ asidinin karboksil grubu (COOH) fizyolojik pH'da $-COO^-$ şeklinde iyonize olur ve suya affinitesi vardır. Uzun hidrokarbon zincirin bir ucunda bulunan hidrofilik karboksil grubu, sulu ortamda etkileşirken, hidrofobik uzun hidrokarbon zincir polar olmayan ortama yönelerek moleküle suda erimeme özelliği kazandırır. Bu hidrofilik ve hidrofobik bölgelerin bir arada olması nedeniyle yağ asitleri amfipatik özelliktedir. Bu moleküller suda oldukça güçlü bir çözünmezlik özelliği gösterirler. Bu yüzden plazmada proteinlere (albümin) bağlı olarak taşınır (Champe ve Harvey 1997).

Yağ asitleri ve türevlerinin fizyolojik özellikleri, hidrokarbon zincirinin uzunluğu ve doymamışlık derecesi ile tayin edilmektedir. Polar olmayan hidrokarbon zinciri, yağ asitlerinin suda eriyebilirliğinin zayıflamasına neden olur. Uzun yağ açıl zincir ve birden fazla çift bağ, suda eriyebilirliği azaltır. Buna karşılık çift bağlar bu erime ısını azaltır. Zincir uzunluğu yağ asidinin erime ısını artırır. Buna karşılık çift bağlar bu erime ısını azaltır (Gürdöl ve Ademoğlu 2006).

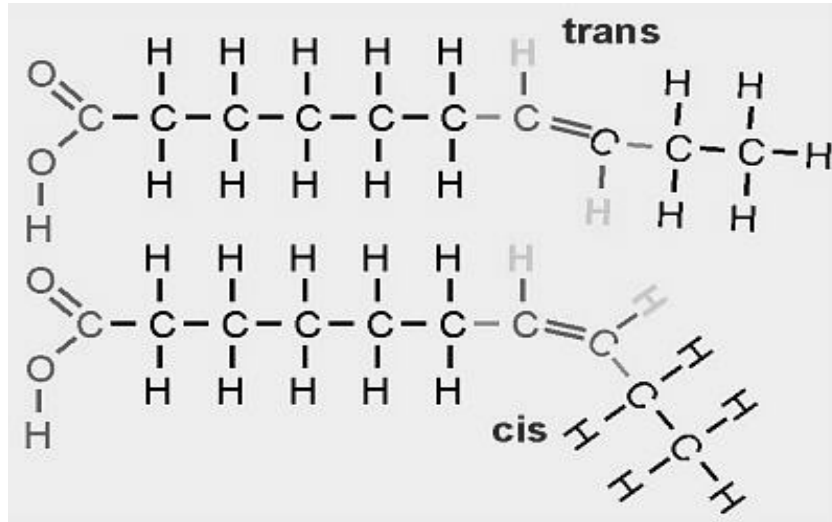
Yağ asitleri dört gruba ayrılır:

1. Doymuş yağ asitleri
2. Doymamış yağ asitleri
3. Hidroksi yağ asitleri
4. Eikozanoidler (Gürdöl ve Ademoğlu 2006).

1.1.3. Yağ Asitlerinde Cis ve Trans İzomerliği

Yağ asitlerindeki çift bağlar, alkil zincirin dönme yeteneğini kısıtlar. Bu durum, çift bağ etrafında cis veya trans biçimi olarak tanımlanan izomerizmin

kaynağını oluşturur. İzomer, kısaca ‘aynı kapalı formüllü bileşiklerin düzlemde veya üç boyutta farklı molekül yapılarına sahip olması’dır. Doymamış yağ asitlerinde belirlenen önemli izomeri çeşitleri yerel (pozisyon) ve uzay (geometrik) olarak incelenebilir (Kayahan 2002). Geometrik izomeri, çift bağlar ucundaki karbon atomlarına bağlı hidrojen atomlarının konfigürasyonlarına göre şekillenir; cis ve trans olarak izomer oluşur. Hidrojen atomları karbon zincirinin aynı tarafında ise cis, aksi yönlerde ise trans izomerler ortaya çıkar. Pozisyon izomerleri ise molekül içerisinde çift bağların yer değiştirmesidir (Mersink ve Katan 1990). Cis formu molekülde bükülmeye yol açarken, trans formu doymuş yağ asitlerinin düz zincirine benzerlik göstermektedir.



Şekil 1.1. Cis ve trans yağ asiti zincirleri (Taşan ve Dağlıoğlu 2005).

Memelilerdeki doğal doymamış yağ asitlerinin tümü cis biçimine sahiptir (Spectochappel 2000).

1.1.4. Trans Yağ Asitleri

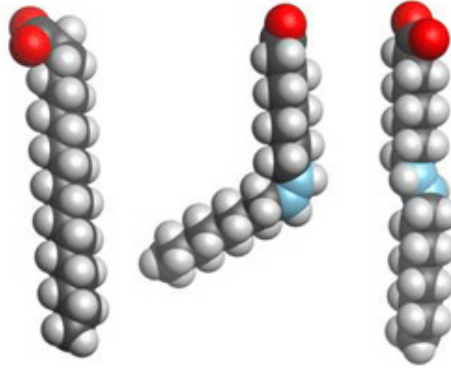
Trans yağ asitleri trans konfigürasyonda en az bir çift bağa sahip doymamış yağ asitleridir (Mozaffarian 2006). Bu asitlerde çift bağ sayısı cis izomerlere göre daha küçük, açıl zinciri daha doğrusaldır. Dolayısıyla, erime noktası ve termodinamik stabilitesi daha yüksek olan farklı fiziksel özellikte sert bir molekül ortaya çıkmaktadır (Larque ve ark 2001).

Trans yağ asitleri ruminal aktiviteden dolayı süt kaynaklı yağlarda, ayrıca hidrojenasyonla oluşmaktadır. Margarinler, şorteningler ve fırın ürünleri nispeten daha fazla trans yağ asidi içermektedir (Taşan ve Dağlıoğlu 2005).

1.1.5. Trans İzomerlerin Yapısı ve Özellikleri

Trans yağ asitlerindeki çift bağ sayısı cis izomerlere göre daha doğrusaldır böylelikle aynı sayıda karbon, hidrojen ve oksijen atomlarına sahip olan iki izomer farklı fiziksel özellikler taşımaktadır. Örneğin; oleik asit (cis-C18:1 n-9) ve elaidik asit (trans-C18:1 n-9) geometrik izomerlerdir. Her iki molekülde de 18 karbon atomu, 34 hidrojen atomu, 2 oksijen atomu ve (n-9) pozisyonunda bir tek çift bağ bulunmaktadır. Oleik asidin erime noktası 13°C, elaidik asitin erime noktası 44°C ve aynı karbon sayısına sahip doymuş yağ asidi olan stearik asidin erime noktası 70°C dir. Bu oldukça yüksek erime noktası, trans izomerlerini yarı-katı yağlar ve şortening üretimi için cazip hale getirmektedir (Taşan ve Dağlıoğlu 2005).

Stearik asit Oleik asit Elaidik asit



Şekil 1.2. Yağ asitlerinin zincir yapıları (Casimir ve ark 2002).

1.1.6. Hücre Zarı

Lipitler, organizmada önemli fonksiyonlara sahip olan organik maddelerdir. Biyolojik membranların yapısında da bulunan lipitlerin incelemeye değer bir yapıları vardır. Membranların en önemli lipidleri; fosfolipidler, sfingolipidler ve kolesteroldür. Triasilgliseroller amfipatik olduklarından (polar ve nonpolar yapıya

sahip) membran lipid tabakalarında bulunmazlar. Membranda en çok bulunan lipid türü gliserofosfolipidlerdir. Bunlar fosfoglisertiler diye de adlandırılır. Zarda bulunan ikinci önemli molekül sfingolipidlerdir. Diğer önemli lipid bileşiği ise steroidlerdir (Kalaycıoğlu ve ark 2000).

Membranlar, farklı elektiriksel yapıların geçebilmesi için yüzey kısımlarında elektirikçe yüklü gruplar ihtiva ederler. Kompleks bir yapıda olan membranlar, üzerlerinde özel reseptörlerde taşımaktadırlar. Bu reseptörlerle hormonların etkilerini göstermede önemli bir yere sahiptirler. Örnek olarak insülin gibi hormonlar hedef hücre yüzeyindeki reseptörlerle birleşerek sinyalleri iletirler (Kalaycıoğlu ve ark 2000).

Genel olarak membranın yapısı; ortada fosfolipid ve bunu çevreleyen protein tabakasından oluşmaktadır. Membranlarda yer alan lipidler, polar tabiattadır ve hücre membranının önemli bir bölümünü oluştururlar. Biyolojik membranların gerçekleştirdiği fonksiyonlar, hayat için vazgeçilmez fonksiyonlar olup hücreleri çevrelerinden ayırma özelliğine sahiptirler. Membranlar yüksek derecede selektif permiablendir bu sayede intraselüler medyumun iyonik kompozisyonunu ve molekülleri düzenlerler. Membranlar hücrenin çevresinde, nükleusta, mitokondride, lizozomda, retikulumda ve bazı organellerin çevresinde bulunurlar (Kalaycıoğlu ve ark 2000).

Membranların genel özelliklerini şöyle sıralayabiliriz;

1. Hücrenin bütünlüğünü korurlar.
2. Membranların yapısı lipid ve proteinlerden oluşur ve bu lipid ve proteinlere bağlı karbonhidratlarda vardır.
3. Membran lipidleri hem hidrofilik hem de hidrofobik yapıya sahip küçük moleküllerdir.
4. Membranlar akışkan yapıdadır ve lipid molekülleri membran düzleminde yayılmıştır.

1.1.7. Akışkanlık

Lipid çift tabakanın akışkanlığı, onun bileşimine bağlıdır. Akışkanlık, bileşimdeki yağ asidi ve kolesterol tarafından kontrol edilir. Düşük ısılarda,

hidrokarbon kuyruklar birbirine yaklaşıp ve katı jel yapı oluşturur. Eğer ısı 41°C'nin üzerine çıkarsa bu düzenlilik kaybolur ve hidrokarbon kuyruklar hareketli hal alır (Kalaycıoğlu ve ark 2000).

Membran, akışkan likit kristal şekle geçmek için yumuşar. Bu yumuşamanın meydana geldiği ısıya geçiş ısısı (transition temperature) denir ve T_m ile gösterilir.

Geçiş ısısı, hidrokarbon kuyrukların yapısına çok duyarlıdır. Membranın PC-16:0/16:0 yerine PC-14:0 14:0 lardan meydana gelmesi (yani kuyrukların sadece iki C atomu kadar kısa olması) geçiş ısısını (41°C den) 23°C ye düşürür. 16 C 'lu kuyruğun her birine bir tek çift bağ katılması (PC-16:1/16:1) geçiş ısısını (T_m) -36°C ye düşürür. Kolesterol, membran akışkanlığında spesifik ve karmaşık bir etkiye sahiptir. Geçiş ısısını belirgin bir şekilde etkilemediği fakat absorpsiyon hızını düşürdüğü ve geçişini uzattığı da görülmektedir. Kolesterolün, geçiş ısısının üstünde membranı pekiştirdiği ve altında ise membranın oluşmasındaki düzenliliği engellediği, hipotezinin ortaya atılmasına yol açmıştır. Kolesterolün bu özelliği, jel ile sıvı hal arasındaki keskin farkı bulanıklaştırır. Kolesterol miktarındaki değişmenin, bazı organizmalarda membran davranışını düzenlemekte kullanıldığını da belirtmek gerekir. Kolesterol, akışkanlığın ara fazlarını oluşturarak, membranlarda bir moderatör molekül gibi davranır (Kalaycıoğlu ve ark 2000).

1.1.8. İnsülin Direnci

İnsülin direnci, insülinin glukozu hücre içine taşıma işlevinin azalması veya kaybolması olayıdır. İnsülin karaciğerde glikoneogenezi ve glikojenolizi inhibe ederek, hepatik glukoz üretimini baskılar. Ayrıca glukozu kas ve yağ dokusu gibi, periferik dokulara taşıyarak, glikojen olarak depolanmasını ya da enerji üretmek üzere okside olmasını sağlar. İnsülin direnci sonunda kanda artan glukoz, insülin salgılama mekanizmasını uyarır. Böylece hiperglisemi ve hiperinsülinemi birlikte oluşur. Bu özellik insülin direncinin en göze çarpan tablosudur. İnsülinin karaciğer, kas ve yağ dokusundaki etkilerine karşı direnç oluşarak, karaciğer kaynaklı glukoz yapımı artar. Kas ve karaciğer dokusuna insülin aracılığıyla olan glukoz alımı azalır (Sönmez 2008).

İnsülin direnci olan bireylerde ancak fazla miktarda insülin ile karbonhidrat metabolizması idame ettirilebilmektedir. Pankreasta bir bozukluk olmadığı sürece kompensatuar hiperinsülinemi ile normal karbonhidrat metabolizması idame ettirilir.

Beta hücresinde programlanmış bir defekt varsa bir süre sonra beta hücresi kompensatuar hiperinsülinemi sağlayamaz. Bozulmuş glukoz toleransı veya tip 2 diyabetes mellitus gelişir. Hiperinsülineminin ateroskleroza uyardığı endotel ve intima kalınlaşmasını artırdığı söylenirse de, ateroskleroza yol açan neden hiperinsülinemi değil, hiperinsülinemi tablosu gösteren insülin direncidir (Sönmez 2008).

İnsülin tedavisi hiperinsülinemi oluşturmaya karşı glisemik kontrolü sağlayarak ve lipoprotein lipazı aktive ederek antiaterojen etki gösterir. Yoğun insülin tedavisi küçük yoğun LDL miktarını ve lipoproteinlerin glikolizasyonunu ve oksidasyonunu azaltarak olumlu etkiler gösterir (Sönmez 2008).

1.1.9. Yağ Dokusu ve Yağ Hücresi

Son zamanlarda yapılan çalışmalar yağ dokusunun sadece bir enerji deposu değil aynı zamanda aktif endokrin organ olduğunu göstermiştir. Beyaz yağ dokusu ihtiyaç fazlası enerjiyi trigliserit halinde yağ hücresinde depolar ve ihtiyaç duyulduğunda hızla dolaşıma verilebilir. Yağ dokusu vücutta en büyük enerji deposudur ve enerjinin yağ hücresinde depolanması ve salgılanması hormonal sinyallerle (insülin, katekolaminler, glukokortikoidler gibi) kontrol edilir (Ergün 2005).

Adipoz doku, preadipositlerden ve stromal vasküler hücrelerden oluşan oldukça kompleks bir dokudur. Adipositler kendi diferensiyasyonlarını düzenleyen faktörler salgılamaktadır (Lara-Castro ve ark 2007). Yağ hücresinden leptin, resistin, tümör nekrosiz faktör- α (TNF- α), adiponektin, adipisin, interlökin-6 (IL-6), plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) transforming büyüme faktörü- α (TGF- α), anjiyotensinojen, asilation-sitimüle edici protein (ASP), insülin benzeri büyüme faktörü- α (IGF- α), prostaglandin I₂ (PG I₂), prostaglandin F₂ (PG F₂) gibi çok sayıda madde salgılandığı saptanmıştır. Yağ dokusu salgıladığı bu ürünlerle vücutta bir çok sistemin fonksiyonunu etkiler (Ergün 2003).

Çizelge 1.1. Yağ dokusundan salgılanan maddeler ve görevleri (Ergün 2005).

| Salgılanan Ürünler | Fonksiyonları |
|-----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Leptin | Enerji homeostasını düzenler ve vücut yağ dokusu hakkında hipotalamusa bilgi verir. |
| Resistin | İnsülin direnci ile ilgilidir |
| TNF- α | İnsülin reseptör sinyaline karıştır ve obezlerde insülin direnci gelişimine neden olur. |
| Adiponektin | Hiperlipidemi patogenezinde yer alır ve insülin direnci ile ilgilidir. |
| Adipsin | Yağ dokusu metabolizmasından sorumludur. |
| IL-6 | Vücut savunmasında ve glukoz ve yağ metabolizmasında yer alır. |
| PAI-1 | Fibrinolitik sistemin en önemli inhibitörüdür |
| TGF- β | Proliferasyon, diferansiasyon ve apoptosis gibi biyolojik cevapları düzenler. |
| Anjiyotensin | Kan basıncını ve elektrolit homeostasında düzenleyici anjiyotensin-II'nin öncü maddesidir. |
| ASP | Trigliserid sentez hızını artırır. |
| IGF-1 | Hücrelerde proliferasyonu stimüle eder ve büyüme hormonunun etkisine aracılık eder. |
| PGI ₂ ve PGF ₂ α | İnflamasyon, pıhtılaşma, ovülasyon, menstrüasyon, ve asit sekresyonu gibi düzenleyici fonksiyonlarda yer alır. |
| MIF | inflamasyon öncesi süreçlerde ve immünitinin düzenlenmesinde yer alır. |

Yağ hücresi pasif bir hücre değildir aksine günlük enerji alımına bağlı sürekli hacim değişikliği gösteren, ekstraselüler sıvıya sitokin, hormon salgılayan bir hücredir. Yağ hücresi bu salgı ürünleri ile endokrin, parakrin ve otokrin yolla diğer hücrelerle haberleşip ya yağ asidini kana verir ya da yağ asitlerini hücre içine alarak depolama yapar (Ergün 2003).

1.1.10. Adiponektin

Adiponektin adipoz dokudan salınan, insülin duyarlılığını artıran, antiinflamatuvar, antiproliferatif, antianjiogenetik özellikleri olan bir peptiddir. Adiponektinin diyabet, dislipidemi, ve aterosklerozdaki nedensel bir rolü olduğu adiponektinden yoksun farelerde yapılan deneylerde ortaya konmuştur. Bu anormallikler adiponektinden yoksun hayvanların özellikleridir ve ekzojen yoldan adiponektin tedavisinin verilmesiyle tamamen geri çevrilmektedir (Ahima 2006).

Genellikle adiponektin düzeyleri obezitenin gelişmesiyle birlikte azalmaktadır ve yaş ve vücut kütle indeksine göre eşleştirilmiş kontrollerle karşılaştırıldığında adiponektin düzeyleri tip 2 diyabetes mellitus ve kardiyovasküler hastalarında önemli derecede daha düşüktür (Pischon ve ark 2004, Hotta ve ark 2000).

Abdominal adipositlerin, plazma glikoz, HbA_{1c} düzeylerinin ve insülin direncinin artmasıyla plazma adiponektin konsantrasyonları azalmaktadır.

Dolaşımdaki adiponektin konsantrasyonları lipid metabolizmasıyla da ilişkilidir. Bu olay; trigliseridler ve LDL kolesterol ile olan negatif korelasyonlar ve tüm vücut yağ oksidasyonu ve HDL düzeyleri ile olan pozitif korelasyonlarının ile ortaya konulmuştur (Lara-Castro ve ark 2007).

Birçok erişkin popülasyonunda yapılan çalışmalar serum adiponektinin tip 2 diyabetes mellitusun bir belirleyicisi olduğu ortaya konmaktadır. Ancak adiponektin ile kardiyovasküler hastalık arasındaki bağımsız ilişkinin güçlü ihtimalinin zayıf olduğu ve HDL düzeyleri üzerindeki bir etki yoluyla adiponektinin kardiyovasküler hastalık riskini modüle edebileceğini göstermektedir (Lara-Castro ve ark 2007).

1.1.11. Resistin

Son yıllarda keşfedilen resistin yağ hücresinden salgılanan bir hormondur (Ergün 2003). Resistin obezite ve tip 2 diyabetes mellitus ile ilgili periferik sinyal molekülü olan yeni bir polipeptiddir. Böylelikle resistin periferik sinyal molekülü olarak glikoz toleransını ve insülinin hücrelere etkisini bozar, hücrelerin glikoz alımını ve insüline duyarlılığını azaltır, insülin direnci gelişimine neden olur ve obezitede adipogenezini inhibe eder (Ergün 2003).

1.1.12. Fruktozamin ve Glukoz

İnsülin direnci oluşmasıyla meydana gelen metabolizmadaki değişiklikleri tanımlayabilmek için kan serumundan fruktozamin ve glukoz değerleri tesbit edilmiştir. Fruktozamin kandaki 2-3 haftalık şeker seviyesini gösterir.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Vakaların Oluşturulması ve Gruplandırma

Çalışmamıza Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilen 40 adet erkek (6 aylık, yaklaşık 280-300 gr ağırlığında) Sprague Dawley albino soyunda sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar tüm çalışma boyunca iklim kontrollü odalarda, $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta, %45 rölatif nem ve 12/12 ışık periyodundaydı.

Çalışmaya başlamadan önce 2009/12 Sayılı proje 13/03/2009 tarihide yapılan SUDAM Deney Hayvanları Etik Kurul Toplantısı'nda kabul edilerek izin alındı.

Sıçanlar polikarbonat malzemeden yapılmış, Tip 4 standardında (tecniplast) kafeslerde, her kafeste 5 sıçan olacak şekilde tutuldu. Yem, su ad-libitum verildi. Çeşme suyu her gün taze olarak verildi. Rasyonları, Kuzucu yem firması tarafından hazırlandı. Rasyonda herhangi bir hayvansal ve bitkisel yağ kullanılmadı. Rasyondaki diğer parametreler standart sıçan yeminde olan değerlerdi. Elaidik asit (trans-9 18:1 oktadecenoik asit) izomeri ve oleik asit her gün düzenli olarak aynı saatte, bir bakıcı tarafından gevşek ense derisi ve kuyruğundan dik pozisyonda getirilen sıçanlara gavaj için özel olarak üretilmiş aparatlar yardımıyla verildi. Gavaj aparatlarının ucundaki bombe uç sayesinde kateterin özafagusa gitmesi mümkün değildi. 20 gün sonra tüm sıçanlardan ketasol anestezi altında intrakardiyak punksiyon ile kan alındı. Alınan kanlar rutin biyokimya tüplerine aktarıldı.

Çizelge 2.1. Kullanılan rat yeminin bileşimi.

| | | | |
|------------------|--------------|----------|---------|
| Kuru Madde | En az | %88,0 | |
| Ham Protein | En az | %23,0 | |
| Ham Selüloz | En çok | %5,0 | |
| Ham Kül | En çok | %8,0 | |
| HCL'de Çöz. Kül | En çok | %1,0 | |
| Kalsiyum | En az-En çok | %1-1,3 | |
| Fosfor | En az | %0,9 | |
| Sodyum | En az-En çok | %0,5-0,6 | |
| NaCl | En çok | %1,0 | |
| Lizin | En az | %1,35 | |
| Metiyonin | En az | %0,45 | |
| Sistin | En az | %0,35 | |
| Vit.A | En az | 15000 | IU/kg |
| Vit.D | En az | 3300 | IU/kg |
| Vit. E | En az | 40 | mg/kg |
| Vit.B2 | En az | 5 | IU/kg |
| Vit.B12 | En az | 20 | mcg/kg |
| Vit.K3 | En az | 5 | mg/kg |
| Metabolik Enerji | En az | 3100 | kcal/kg |

Kullanılan yemin özellikleri:

- Yüksek kaliteli protein kaynakları kullanılmıştır.
- Esansiyel aminoasitlerce zengindir.
- Sindirilebilirliği yüksektir.
- Yağ haricinde ratların tüm besin madde ihtiyaçları karşılanmıştır.

Çizelge 2.2. Rat yemi bileşiminde kullanılan hammaddeler.

| Kullanılan Hammaddeler |
|--------------------------------|
| Tahıllar ve tahıl ürünleri |
| Yağlı tohum küspeleri |
| Nişasta sanayi yan ürünleri |
| Mermer Tozu |
| DCP |
| Sodyum Bikarbonat |
| Tuz |
| Melas |
| Sentetik aminoasitler |
| Vitamin ve mineral premiksler |
| Küf önleyici ve antioksidanlar |

Ratların beslenmesi, Destailillats ve arkadaşlarının çalışmasındaki metoda göre yapıldı (Destailillats ve ark 2005). Ratlar rastgele 4 gruba ayrıldı.

1. Grup (kontrol grubu):10 sağlıklı rata yağsız diyet,
2. Grup (çalışma grubu): 10 sağlıklı rata diyetlere ilaveten sabahları gavaj yoluyla 0,5 cc oleik asit,
3. Grup (çalışma grubu):10 sağlıklı rata diyetlerinin içine margarin ilave edilerek hazırlanmış yem
4. Grup (çalışma grubu): 10 sağlıklı rata diyetlerine ilaveten sabahları gavaj yoluyla 50mg/gün elaidik asit izomeri (trans-9 18:1 oktadekenoik asit izomeri) verildi.

Bu 4 grup 20 gün süreyle beslenildi.

2.1.2. Numunelerin Alınışı ve Hazırlanışı

Tüm rafların 20. gün sonunda Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde ketasol anestezi yapılarak, intrakardiyak punksiyon ile kanları alındı ve hipovolemik şok neticesinde yaşamları sonlandırıldı.

Kan numuneleri jelli biyokimya tüpüne alındı. Ardından numuneler 3000 devir/dakika 10 dakika santrifüj edilip serumları elde edildi. Numuneler gruplamaya uygun olarak ependorf tüplerine ayrıldı ve çalışılmak üzere -85c'de saklandı.

2.1.3. Kullanılan Cihazlar

1. Elisa cihazı RAYTO RT-2100 C microplate reader
2. Elisa cihazı RAYTO RT-2600 T microplate washer
3. Biyokimya cihazı Dade Behring Dimension RxL Max
4. Santrifüj nüve NF 100012
4. Hassas terazi nüve NM 110
6. Vorteks nüve NM 400

2.1.4. Kullanılan Reaktifler ve Çözeltiler

1. Adiponektin tayini için: adiponektin rat kiti; cat no:# EZRADP-62K MILLIPORE marka
2. Resistin tayini için: resistin rat kiti; lot no: RD-2187P2 BioVendor marka
3. Fruktozamin tayini için; lot no: 1583288 Randox marka
4. Glukoz tayini için; lot no: DF-40 Siemens marka

2.2. Yöntem

2.2.1. Adiponektin Tayini

Millipore marka (Millipore Corporation cat no: # EZRADP-62K U.S.A) adiponektin rat kiti Sandwich ELİSA yöntemi ile çalışıldı. Mikroplate kuyucuklarının içerisi adiponektin antikorları ile kaplıdır ve numunedeki adiponektin moleküllerini bağlar. Bu komplekse ikinci bir adiponektin antikor ile bağlanılır.

Oluşan komplekse Horseradish peroksidaz enzimi bağlanır. Bağlanmayan serbest enzim konjugatları yıkama ile uzaklaştırılır. Daha sonra enzimin substratı olan 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin (TMB) ilave edilerek enzim aktivitesi 450 nm dalga boyunda ölçülür.

Absorbansdaki değişiklik bilinmeyen numunedeki rat adiponektin miktarı ile orantılıdır.

İşlem basamakları;

- Kuyucuklarının içeresi adiponektin antikoru ile kaplı plate ilk önce yıkanarak deneye nemli ortamda başlanılır.

- Kuyucukların içerisine bilinen standart, kontrol ve numune pipetlenir ve inkübasyona bırakılır.

- İnkübasyon süresinin dolmasının ardından kuyucuklar yıkanır ve bağlanamayan kompleksler ortamdan uzaklaştırılır.

- Kuyucuklara detection antikor(adiponektin antikoru) ilave edilir ve inkübasyona bırakılır.

- İnkübasyon süresinin bitmesinin ardından kuyucuklar yıkanır.

- Kuyucuklara horseradish peroksidaz enzim solusyonu ilave edilir ve inkübasyona bırakılır.

- İnkübasyon süresinin bitiminde kuyucuklar yıkanarak bağlanamayan serbest enzim konjugatları ortamdan uzaklaştırılır.

- Son olarak enzim substratı ilave edilip bir süre inkübasyona bırakılır. Stop solusyon eklenerek işlem sonlandırılır. Ve oluşan mavi renk 450-590 nm dalga boyunda ölçülür.

2.2.2.Resistin Tayini

BioVendor marka (Research and Diagnostic Products cat no: RD391016200R) resistin rat kiti ELİSA yöntemi ile çalışıldı. Mikroplate kuyucuklarının içeresi resistin antikoru ile kaplıdır ve numunedeki resistini bağlar. Dışarıdan ikinci olarak biotin antikoru ilave edilir. Oluşan komplekse streptavidin horseradish peroksidaz (HRP) enzimi ilave edilir. Ortamdan bağlanamayan serbest

enzim konjugatları yıkanarak uzaklaştırılır. Sonra enzimin substratı olan tetrametilbenzidin (TMB) ilave edilir. Reaksiyon sonucu oluşan sarı renkli ürün 450 nm dalga boyunda ölçülerek numunedeki rat resistin miktarı tesbit edilir.

İşlem basamakları;

- Antikor kaplı kuyucukların içerisine standart, kontrol ve numune pipetlenir ve inkübasyona bırakılır.
- Kuyucuklara, yıkama işleminden sonra biotin bağlı antikor ilave edilerek inkübasyona bırakılır.
- İnkübasyon süresinin bitmesinin ardından kuyucuklara streptavidin HRP enzimi ilave edilir ve inkübasyona bırakılır.
- Ardından kuyucuklar yıkanarak bağlanamayan serbest enzim konjugatları uzaklaştırılır.
- Üzerine TMB enzim substratı ilave edilerek bir süre inkübasyona bırakılır ve stop solüsyon ile işlem sonlandırılır. Oluşan ürün 450 nm dalga boyunda ölçülür.

2.2.3. Glukoz ve Fruktozamin Tayini

Glukoz; Simens marka Dimesion RXL Max model cihazda Simens marka kitle fotometrik olarak çalışılmıştır.

Fruktozamin tayini ise Simens marka Dimension RXL Max model cihazda Randox marka 1583288 katalog numaralı fruktozamin kiti ile kolorimetrik olarak çalışılmıştır.

Bu çalışmalar Konya Sistem Laboratuvarlarında yapılmıştır.

2.2.4. İstatistiksel Analiz

Bulguların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS 15.0 for Windows (2008) istatistik paket programı kullanıldı. Grupların karşılaştırılmasında Kruskal Wallis varyans analizi yapıldı. Sonucu anlamlı çıkması halinde Bonferrani düzeltmeli Mann-Witney U testi yapıldı. Yüzde beşten küçük ($p < 0,05$) p değerleri anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

Parametreler ortalama, standart sapma(ortanca) şeklinde özetlendi.

Grupların karşılaştırılmasında Kruskal Wallis varyans analizi yapıldı. Sonucu anlamlı çıkması halinde Bonferrani düzeltmeli Mann-Witney U testi yapıldı.

Yüzde beşten küçük ($p<0,05$) p değerleri anlamlı kabul edildi.

Tablo 3.1. Trans-9 18:1 yağ asidi, hidrojenize bitkisel yağ ve oleik asidin kontrol grubuna ve birbirlerine göre karşılaştırılması

| Testler | Kontrol | Oleik Asit (serbest yağ asit oranı %1) | Hidrojenize bitkisel yağ(margarin) | Trans 9-18 yağ asidi (elaidik asit) |
|-------------------------------------|--------------------|----------------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------|
| Adiponektin ($\mu\text{g/ml}$) | 28,49 \pm 29,61* | 10,8 \pm 50,77 | 25,95 \pm 58,62 ^b | 11,96 \pm 47,2 ^c |
| Resistin (ng/ml) | 19,80 \pm 2,65 | 22,94 \pm 3,13 | 12,45 \pm 4,69 ^{a,b} | 22,89 \pm 6,65 ^c |
| Fruktozamin (mmol/l) | 3,650 \pm 0,50 | 2,42 \pm 0,35 ^a | 2,93 \pm 0,34 ^{a,b} | 3,16 \pm 0,52 ^b |
| Glukoz (mg/dl) | 292,20 \pm 44,05 | 176,70 \pm 45,44 ^a | 222,40 \pm 36,65 ^a | 243,22 \pm 38,41 ^b |

* Aritmetik ortalama \pm standart sapma

a, kontrole göre $p<0,05$

b, oleik aside göre $p<0,05$

c, margarine göre $p<0,05$

Diyet ile oleik asit verilen çalışma grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; margarin grubundan adiponektin seviyesi anlamlı şekilde düşük, resistin seviyesi anlamlı şekilde yüksek, fruktozamin ve glukoz seviyesi anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. Trans yağ asidi grubundan fruktozamin ve glukoz seviyesi anlamlı şekilde düşük çıkmıştır.

Diyete margarin ilave edilerek verilen grup ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; trans yağ asidi grubundan adiponektin seviyesi anlamlı şekilde yksek, resistin seviyesi ise anlamlı şekilde dkyk çıkmıştır.

Normal diyet verilen kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; oleik asit grubundan fruktozamin ve glukoz seviyesi anlamlı şekilde yksek bulunmuş, margarin grubu ile karşılaştırıldığında ise resistin, fruktozamin ve glukoz seviyesi anlamlı şekilde yksek çıkmıştır.

4. TARTIŞMA

Birçok ÷lkeye ait beslenme ile ilgili istatistiklerde gıda maddeleri üzerinden günlük trans yağ alım miktarları tahmini olarak belirlenmiştir. Buna göre günlük tüketimde trans yağ asitlerinin % 2-8'i süt ürünlerinden kaynaklanırken %80-90 gibi büyük kısmı hidrojenasyon işlemleri ile oluşan trans yağ asitleri oluşturmaktadır (Taşan ve Dağlıoğlu 2005).

Diyetle alınan trans yağ asitleri miktarı toplam yağ asitlerinin Amerika Birleşik Devletlerinde % 6-8'i, İngiltere'de %4-6'sı, Almanya'da %2-4'ü ve İspanyada %1,7'si civarındadır. Genel bir ifadeyle trans yağ asitleri endüstrileşmiş ÷lkelerde daha fazla miktarda tüketilmektedir (Larque ve ark 2001).

Son yıllarda alınan veriler trans yağ asit alım miktarında azalmalar olduğunu göstermiştir. Bunun nedeni olarak yemeklik yağlarda trans yağ asit içeriğinin azaltılması ve hayvansal yağ tüketiminin azalması gösterilebilir (Taşan ve Dağlıoğlu 2005).

Margarin ve şortening üretimlerinde geliştirilen yeni metodların yaygın olarak kullanılmaya başlamasıyla trans yağ asiti içeriği azalmalar belirlenmektedir (Taşan ve Dağlıoğlu 2005). Ancak yine de dünyanın pek çok yerinde margarin ve şortening förmülasyonlarında kısmi hidrojenasyon yöntemi ile elde edilen yağlar önemini korumaktadır. Dolayısıyla margarin/şortening ürünleri trans yağ asitleri alım kaynağı olmaya devam etmektedir. Birçok Avrupa ÷lkesinde margarin kaynaklı trans yağ asiti alım miktarı günlük kişi başına 1,0-1,3 g'dır. ÷lkemizde ise son on yıllık veriler göstermektedir ki kahvaltılık ve yemeklik margarin tüketimi azalma gösterirken, gıda endüstrisinde kullanılan margarin/şortening miktarı artış göstermektedir (Taşan ve Dağlıoğlu 2005).

Trans izomerlerinin insan sağlığı üzerine olumsuz etkilerinin bulunduğu bilinen bir gerçektir (Taşan ve Dağlıoğlu 2005).

Trans yağ asitleri LDL kolesterol miktarını artırırken HDL kolesterol miktarını düşürür ve kalp hastalıklarını riskini yükseltir (Taşan ve Dağlıoğlu 2005).

Kandaki toplam kolesterol konsantrasyonundaki veya LDL kolesterol miktarındaki artışın kalp damar hastalıklarına yakalanma riskini artırdığı, HDL kolesterol miktarındaki artışın ise bu riski düşürdüğü görülmüştür (Feldman 1999).

Doymuş ve trans yağ asitlerin alımı ile plazma lipit düzeylerinin artışı arasında ilişki olduğunu, cis doymamış yağ asitleri yerine doymuş ve TFAlar geldiğinde her ikisinde de nispeten total ve LDL kolesterol düzeylerini artırdığını ileri sürmüşlerdir (Mersink ve Katan 1990).

Doymuş yağ asitleri yerine TFA geldiğinde, HDL kolesterol düzeyinin azaldığı, trigliserid düzeyinin yükseldiği ve total kolesterolün HDL kolesterole oranının azaldığı belirtilmiştir (Lichtenstein ve ark 2003).

Trans yağ asit alımını yapılan çalışmalarda kardiyovasküler hastalık ve T2DM ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur. Metabolik çalışmalar gösterdi ki çeşitli populasyonlarda trans yağ asitleri alınımıyla LDL kolesterolün artışı, HDL kolesterolün düşmesi ve lipoprotein a ve plazma trigliserid seviyelerin artışı oluşmaktadır. Trans yağ asitleri eikosanoid sentez metabolik yolu boyunca trombogenezisi etkiler ve insülin direnci geliştirir (Hu ve ark 2001).

Artan kanıtlar kardiyovasküler hastalığın gelişmesinde endotelial bozuklukların önemli rolü olduğunu göstermiştir ve beslenme faktörleri endotelial fonksiyonun değişimi boyunca kardiyovasküler riski etkileyebilmektedir (Brown ve ark 2001).

Son zamanlarda, alınan trans yağ asitleri sistemik inflamasyon biyomarkırları plazma konsantrasyonları ile ilişkili olduğu bulunmuştur ve endotelial adezyon molekülleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu adezyon molekülleri endotelial aktivasyon edici ve işlev bozucu markırlardır.

Bu çalışmada, trans yağ asit alınımıyla endotelial bozukluk ve inflamasyon biyomarkırları plazma konsantrasyonları arasındaki ilişki incelendi ve sağlıklı kadınlarda C-reaktif protein (CRP), interlökin-6 (IL-6), çözünen tumor nekrosiz factor (sTNF-2), intraselüler ve vasküler hücre adezyon molekülleri (sICAM-1 ve sVCAM-1) maddelere bakıldı (Mozaffarian ve ark 2004).

Diyetle alınan trans yağ asidi sistemik inflamasyonu arttırabilmektedir. Bu sebepten dolayı sistemik inflamasyon belirteçlerinden olan TNF- α , CRP ve IL-6 değerlerinin artması beklenmektedir.

Han ve ark (2002), 11 kadın ve 8 erkeğe 32 gün boyunca %30'u yağ olmak üzere üç çeşit diyet uygulamıştır. Diyetler soya yağı, margarin ve tereyağından oluşturulmuştur. Yapılan çalışmada margarine dayalı diyetle beslenenlerin TNF- α ve IL-6 düzeylerinin önemli şekilde yüksek olduğunu bulmuşlardır.

Baer ve ark (2004), rastgele seçilmiş 50 sağlıklı erkeğe beş hafta boyunca oleik asit ve trans yağ asidi içeren kontrollü bir diyet uygulamışlardır. Trans yağ asidi tüketiminin IL-6 ve CRP plazma seviyelerini arttırdığını bildirmişlerdir.

İnsülin resistans sendromu, insülin resistansı ile gelişen aterojenik gelişmelerin temeli bu patofizyolojinin esasıdır. İnsülin direnci; visceral obezite, ektopik yağ depolanması ve adipoz doku bozukluklarını kapsar. Kas ve karaciğer yağ depolanması patofizyoloji insülin direncini ilişkisi için esastır (Depres ve ark 2008).

Adipoz dokunun şu an için değişik proteinler (adipokinler) üreten dinamik endokrin organ olduğu düşünülmektedir. Adiponektin, adipoz dokudan üretilen özel bir adipokindir ve direkt olarak insülin direnci ile ilgilidir (Candran ve ark 2003, Sheng ve ark 2008).

Serum adiponektin seviyesi tip 2 diyabet ve obezitede azalmaktadır (Hu ve ark 1996, Jazet ve ark 2003). Bununla birlikte insülin direnci olanlarda PPAR- α bağımlı insülin sensitizörleri ile adiponektin seviyesi artmaktadır. (Maeda ark 2001, Yang ve ark 2002).

Saravanan ve ark (2005) çalışmalarında ki sonuçlar, hem TFA hem SFA ile beslenen gruplarda adiposit plazma membranı fosfolipit kompozisyonunda meydana gelen değişiklikler adipoz doku insülin duyarlılığının azalmasıyla ilişkilendirilmiştir ki bu duyarlılık rat adipositlerinde glukoz alımında azalma, antilipolizde azalma, lipolizde artma ile açıklanmaktadır Bununla birlikte diyetsel TFA'nın adiposit insülin direnci üzerindeki etkileri diyetsel SFA'nın etkilerinden daha büyüktür bu da TFA ile beslenen ratlarda adiposit plazma membran akışkanlığının azalmasına bağlanabilir

Bizim çalışmamızda adiponektin seviyesi; trans yağ asid ve margarinle beslenen ratlar arasında trans yağ asid grubunda adipnektin seviyesi diğer gruba göre anlamlı şekilde daha düşük çıkmıştır. Oleik asit ve margarin grubu karşılaştırıldığında ise oleik grubunda margarine göre adiponektin seviyesi anlamlı şekilde daha düşük çıkmıştır.

Zevenbergen ve ark (1988) yaptıkları çalışmada, doymuş ve trans yağ asit diyetlerinin her ikisi de rat adipoz dokusunda insülin direncini indüklediği için, PPAR- α mRNA seviyeleri analiz edilmiştir. Sonuçlara göre adiponektin ve resistin ekspresyon seviyeleri PPAR- α tarafından etkilenmiştir. Önceki çalışmalarda plazma membran fosfolipidlerinin araşidonik asit seviyeleri azaldığı gösterilmiştir ki bunlar PPAR- α ligandlarının prokürsörüdür

Ascherio ve ark (1999) göre yüksek doymuş ve trans yağ asit alımları koroner kalp hastalıkları gelişmesinde risk faktörü olarak rapor edilmiştir. Trans yağ asit alımı LDL ve HDL miktarlarını yükseltmektedir. Ancak kısa süreli insan çalışmalarında insülin duyarlılığında trans yağ asid beslenmesi lipoprotein metabolizmasında değişikliğe sebep olmamaktadır (Louheranta ve ark 1999). Kaya'nın (2007) yaptığı çalışmada, ratlarda 10 günlük trans yağ asidi beslenmesiyle HDL kolesterol miktarında azalma görülmüş, LDL kolesterol miktarında ise bir değişikliğe rastlanılmamıştır.

Trans yağ asidinin rat adipoz dokuda insülin duyarlılığına en büyük etkisi adiposit plazma membran akışkanlığını arttırması olarak bağlanabilir (Ibrahim ve ark 2005).

Ibrahim ve ark (2005) yaptıkları çalışmada, TFA ile beslenmede insülin duyarlılığında azalma SFA ile beslenmeden daha büyük ölçüde olmuştur . Bu durum PPAR- α azalmasına bağlanabilir. (Saravanan 2005).

Çeşitli çalışmalarda her iki beslenmede de plazma trigliserid seviyelerinin arttığı gözlemlenmiştir (Ibrahim ve ark 2005).

TFA ile beslenmede; adiposit plazma membran akışkanlığının ve araşidonik seviyelerinin azalmasıyla adiposit insülin duyarlılığında azalma görülmüştür (Ibrahim ve ark 2005).

TFA ile beslenen ratlarda PPAR- α ekspresyonu azalmasına rağmen adiponektin ekspresyonu değişmez. TFA ile beslenen ratlardaki insülin duyarlılığında ki azalma adiponektinden bağımsız olabilir (Saravanan ve ark 2005).

TFA ile beslenen ratlarda GLUT-4 mRNA seviyesinde değişme olmadığı, insülin duyarlılığında azalma gözlemlendiği bildirilmektedir (Ibrahim ve ark 2005).

Genetik ve diyete bağlı obezitede resistin sekresyonu artmaktadır. Resistin enjeksiyonları glukoz toleransı ve insülinin etkisini bozduğu görülür. Yine bu resistin hücrelerde insüline hassasiyetleri azaltmaktadır (Steppan ve ark 2002, Juan ve ark 2001).

Resistin glukoz toleransını ve insülinin etkisini bozar ve hücrelerin glukoz alımını ve insüline duyarlılığı azaltarak insülin direnci gelişimine neden olur (Ergün 2003).

TFA ile beslenen gruplarda resistin gen ekspresyon artmasıyla adipoz insülin duyarlılığı olabilir (Saravanan 2005).

Hayvan modellerinde insülin resistansı ile plazma proteinleri ve adipoz doku resistin gen seviyelerindeki artış arasında bir korelasyon görülmüştür (Jazet ve ark 2003).

Savaran ve ark (2005) yaptıkları çalışmada TFA ve SFA ile beslenen grupların her ikisinde de resistin mRNA seviyelerinin arttığı görülmüştür. Böylelikle adipoz dokuda insülin duyarlılığı, resistin gen ekspresyonu artmasıyla azaldığı ileri sürülmüştür.

Bizim çalışmamızda ise resistin seviyesi trans yağ asidi ile beslenen grupta margarine göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tükettiğimiz birçok gıdada trans yağ asidi bulunduğu bilinmektedir. Trans yağ asitlerinin insan sağlığını olumsuz etkilediği belirtilmiştir. Bilim adamları tarafından trans yağ asidinin bu olumsuz etkilerini ortaya çıkarabilmek için birçok çalışma yapılmaktadır.

Trans yağ asidi alımıyla insülin direnci geliştiği ve böylelikle adipositlerden salgılanan adiponektin seviyesinin azaldığı, resistin seviyesinin de arttığı yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur.

Bizim yaptığımız çalışmalarda adiponektin seviyesi TFA ile beslenen grupta margarin grubuna göre anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. Ancak kontrol grubuna göre anlamlı bir fark görülmemiştir.

Resistin sonuçlarımız ise TFA ile beslenen ratlarda margarin grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Kontrol grubu ile ise anlamlı bir şekilde fark bulunamamıştır.

Fruktozamin ve glukoz sonuçlarımız ise TFA ile beslenen grupta oleik asit grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Ancak fruktozamin ve glukoz seviyelerinin artıp azalmasına dair literatür bilgilerine sahip olmadığımız için bir beklentimiz olmamıştır.

Vardığımız sonuçlar doğrultusunda trans yağ asitleri tüketiminin insan sağlığı üzerine etkisini araştırmak için adiponektin, resistin, fruktozamin ve glukoz ile ilgili daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Yapılan araştırmalar doğrultusunda tüketilen trans yağ asitlerinin miktarı sağlık açısından büyük önem oluşturduğundan diyetdeki miktarı mümkün olduğu kadar sınırlandırılmalıdır. Bu sınırlandırmaların toplum sağlığı üzerine önemli bir katkısı olacağı kanaatindeyiz.

6. ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Trans-9 18:1 Oktadesenoik Asit İzomerinin İnsülin Resistansı Üzerine Etkileri

NEZİHE PEHLİVANLI

Biyokimya Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ / KONYA-2010

Trans yağ asitleri hücre membran fonksiyonlarını etkileyebilmektedir. Bu nedenle çalışmamızda Trans 9 18:1 oktadesenoik asit izomerinin insülin direnci üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık.

Bu çalışmada 40 adet yaklaşık 280-300 gr ağırlığında erkek Sprague Dawley albino soyundan sıçan kullanıldı. Ratlar dört gruba ayrıldı. 1. Grup yağsız diyetle 2. Grup oleik asit, 3. Grup margarin ve 4. Grup Trans 9 18:1 oktadesenoik asit izomeri(50 mg/day) ile 20 gün boyunca beslendi. Beslenme periyodunun ardından ratların yaşamları sonlandırıldı ve kan örnekleri toplandı. Glukoz ve fruktozamin düzeyleri kolorimetrik metotla, adiponektin ve resistin düzeyleri de ELİSA metoduyla tesbit edildi.

Diyet ile oleik asit verilen çalışma grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; margarin grubundan adiponektin seviyesi anlamlı şekilde düşük, resistin seviyesi anlamlı şekilde yüksek, fruktozamin ve glukoz seviyesi anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. Trans yağ asidi grubundan fruktozamin ve glukoz seviyesi anlamlı şekilde düşük çıkmıştır. Diyete margarin ilave edilerek verilen grup ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; trans yağ asidi grubundan adiponektin seviyesi anlamlı şekilde yüksek, resistin seviyesi ise anlamlı şekilde düşük çıkmıştır. Normal diyet verilen kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; oleik asit grubundan fruktozamin ve glukoz seviyesi anlamlı şekilde yüksek bulunmuş, margarin grubu ile karşılaştırıldığında ise resistin, fruktozamin ve glukoz seviyesi anlamlı şekilde yüksek çıkmıştır.

TFA'nın insülin duyarlılığı üzerindeki etkilerini göstermek için daha kapsamlı çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Anahtar Sözcükler: Trans yağ asidi; adiponektin; resistin

7. SUMMARY

Effects of the Trans-9 18:1 Oktadecenoic Acid Isomer on Insülin Resistance.

Since trans fatty acids (TFA) might interfere with cell membrane functions. Therefore, the aim of our study was to investigate the effect of trans 9:18 1 octadecenoic acid isomer on insülin resistance.

Forty male Sprague Dawley albino rats, body weight 280-300 g, were used in the study. Rats were divided into four groups: group1 were fed oil- free diet(control), group 2 were fed oleic acid, group 3 were fed margarine and group 4 were fed trans-9 18:1 octadecenoic acid isomers 50 mg/day for 20 days. At the end of the nutritional period, rats were sacrificed and examples of blood was collected. Glucose and fructosamine levels was determinated by colorimetric method, as well as plasma adiponectin and resistin levels by ELISA method.

Compared with oleic acid, adiponectin, glucose and fructosamine levels were low in margarine fed rats. Resistin level was high in margarine fed rats. Compared with margarine, adiponectin level was high and resistin level was low in TFA fed rats. Compared with control, fructosamine and glucose levels were high in oleic acid fed rats and resistin, fructosamine, glucose levels were high in margarine fed rats. Large controlled trials have been required to demonstrate adverse effects of TFA on insülin sensitivity.

Key Words: Trans fatty acid; adiponectin; resistin

8. KAYNAKLAR

1. Ahima RS. Metabolic actions of adipocyte hormones: focus on adiponectin. *Obesity* (Silver Spring) 2006; 14 (Suppl 1):9S-15S.
2. Ascheri A, Katan NB, Zock PL, Stampfer MJ, Willett WC. Trans fatty acids and coronary heart disease. *New England Journal of Medicine* 1999, 340:1994-1998
3. Bear DJ, Judd JD, Clevidence BA, Tracy RP. Dietary fatty acids effect plasma markers of inflammation in healthy men fed controlled diets: a randomized crossover study. *Am J Clin. Nutr.* 2004; 79 (6):969-973
4. Brown AA, Hu FB. Dieatry modulation of endothelial function: implications for cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001, 73: 673-686
5. Casimir CA, David BM. Gıda lipidler: kimya, beslenme ve biyoteknoloji. New York : M. Dekker. 2002, 1-2. [ISBN 0824707494](#)
6. Champe PC, Harvey RA. Biyokimya ders kitabı. Nobel Tıp Kitabevleri 1997, 171-173
7. Chandran M, Phillips SA, Ciaraldi T, Henry RR. Adiponectin: more than just another fat cell hormone? *Diabetes Care* 2003; 26: 2442-2450
8. Depres JB, Brewer HB. Metabolic syndrome: thr dysmetabolic state of dysfunctional adipose tissue and insülin resistance. *Eur Heart J* 2008; 10 B1-B3
9. Destailillats F, Berdeaux O, Sebedio JL, Juaneda P, Gregoire S, Charding JM, Bretillion L and Anders P. Metabolites of conjugated isomers a-linolenic acid in the rat. *J Agric Food Chem.* 2005,53:1422-1427
10. Ergün A. Yağ hücresinden salgılanan maddeler, rezistin ve insülin direnci Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası Cilt 56, sayı 1, 2003, 25-30
11. Ergün A. Yağ dokusu ve yağ hücresi, Türkiye Klinikleri J Med Sci 2005, 25: 412-420
12. Feldmann M. Intercellular adhesion molecules, *Immunology*, 1996, 143- 148.
13. Gürdöl F ve Ademoğlu E. Biyokimya kitabı, Nobel tıp kitabevleri, 2006, 76-77.
14. Han SN, Leka L, Lichtenstein A, Ausman L, Schaefer E and Meydani SN. effect of hydrogenated and satured, relative to polyunsaturated, fat on immune and inflamotory responses of adults with moderate hypercholesterolemia. *Journal of Lipid Research.* 2002; 43.
15. Hotta K, Funahashi T, Arita Y, *et al.* Plasma concentrations of a novel, adiposespecific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:1595-1599.
16. Hu FB, Manson JE, Willett WC. Types of dietary fat and risk of coronary heart disease: a critical review. *J. Am. Coll. Nutr.* 2000, 20:5-19
17. Hu E, Liang P, Spiegelman BM. AdipoQ is a novel adiposespecific gene dysregulated in obesity. *Journal of Biological Chemistry* 1996, 271:10697-10703
18. Ibrahim A, Natrajan S, Ghafoorunissa. Dietary trans fatty acids alter adipocyte plazma membrane fatty acid composition and insülin sensitivity in rats. *Metabolism* 2005, 54:240-246
19. Jazet IM, Pijl H, Meinders AE. Adipose tissue as an endocrine organ: impact on insülin resistance. *Netherlands Journal of Medicine* 2003, 61:194-212
20. Juan CC, Au LC, Fang LC, Kang VS, Ko YH, Kuo SF, HSU YP, Kwok CF, Ho LT. Suppressed gene expression of adipocyte resistin in an insülin-resistant rat model probably by elavated free fatty acids. *Biochemical and Biophysical research communications* 2001;289(5): 1328-1333

21. Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamoğlu M, Başınar N ve Tiftik AM. *Biyokimya*, Nobel yayın dağıtım, 2. baskı,. 2000, 176-178
22. Kaya A. Diyet ile alınan trans yağ asit izomerlerinden trans-9 18:1 octadecanoik asit izomerinin, ratlarda hücre zar akışkanlığı üzerine etkisi. 2007, 27-33
23. Kayahan M. Modifiye yağlar ve üretim teknolojileri. ODTÜ Yayıncılık Ankara 2002
24. Lara-castro C, Fu Y, Chung BH, Garvey WT, Adiponektin ve metabolik sendrom: metabolik ve kardiyovasküler hastalık riskine aracılık eden mekanizmalar *Current Opinion in Lipidology* Türkçe Baskı Cilt 2, Sayı 3, 2007, 175-177Y
25. Larque E, Zamora S, Gil A. Dietary *trans* fatty acids in early life :a review. *Early Human Development*, 2001, 65: 31-41.
26. Linchtenstein AH, Erkkila AT, Lamarche B, Schwab US, Jalbert SM, Ausman LM. Influence of hydrogenated fat and but on CVD risk factors: remnant-like particles, glucose and insülin, blood pressure and C-reactive protein. *Atherosclerosis*. 2003, 171: 97-107
27. Louheranta AM, Turpeinen AK, Vidgren HM, Schwab US, Uusitupa MI. A high-trans fatty acid diet and insülin sensitivity in young healty woman. *Metabolism* 1999, 48:870-875
28. Maeda N, Takahashi M, Funahashi T, Kihara S, Nishisawa H, Kishida K, Nagaretani H, Matsuda M, Komuro R, Ouchi N, Kuriyama H, Hotta K, Nakamura T, Shimomura I, Matsuzawa Y. PPAR gamma ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose derived protein. *Diabetes* 2001, 50: 2094-2099
29. Mersink RP, Katan MB. Effect of dietary trans fatty acids on high-density an low-density lipoprotein cholesterol levels in healty subjects *New England J Med*. 1990, 323(7):439-484
30. Mozaffarian D, Pischon T, Hankinson SE, Rifai N, Joshipura K, Willet WC, Rimm EB. Dietary intake of trans fatty acids and systemic inflammation in women. *Am. J. Clin. Nutr.* 2004, 79: 606-612
31. Mozaffarian D. trans fatty acids effects on systemic inflammation and endothelial function. *Atherosclerosis Supplemen.* 2006; 29-32
32. Pischon T, Girman CJ, Hotamisligil GS, *et al.* Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *JAMA* 2004; 291:1730-1737.
33. Saravanan N, Haseeb A, Ehtesham ZN, Ghafoorunissa. Differential effects of dietary saturated and trans fatty acids on expression of genes associated with insülin sensitivity in rat adipose tissue. *European Journal of Endocrinology* 2005, 153:159-165
34. Sönmez B. Plazma adiponektin düzeyi ve diğer insülin rezistansi parametreleri ile mide kanseri arasındaki ilişki. *İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi* 2008, 35-45
35. Sheng T, Yang K. Adiponectin and its association with insülin resistance and type 2 diabetes. *J Genet Genomics* 2008; 35: 321-326
36. Spectochappel MC. *Biyokimya olgu sunumlu yaklaşım.* Palme Yayıncılık 2000
37. SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 15.0 for Windows 2008
38. Stepan CM, Lazar MA. Resistin and obesity-associated insülin resistance. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 2002; 13(1):18-23
39. Taşan M, Dağlıoğlu O. Trans yağ asitlerinin yapısı, oluşumu ve gıdalarla alınması, Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 2005, 2(1):79-88.
40. Yang WS, Jeng CY, Wu TJ, Tanaka S, Funahashi T, Matsuzawa Y, Wang JP, Chen CL, Tai TY, Chuang LM. Synthetic peroxisome proliferator-activeted receptor gamma agonist,





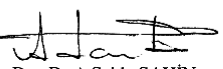
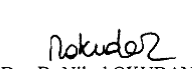
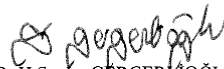


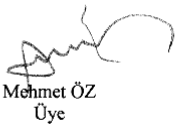

rosiglitazone, increases plasma levels of adiponectin in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2002, 25:376-380

41. Wilson TM, LambertMH, Kliewer SA. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma and metabolic disease. *Annual Review of Biochemistry* 2001, 70:341-367
42. Zevenbergen JL, Houtsmuller UM, Gottenbos JJ. Linoleic acid requirement of rats fed trans fatty acids. *Lipids* 1988, 23:178-186

9. EKLER

EK-A: Etik Kurul Kararı Örneği

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ
DENEY HAYVANLARI ETİK KURUL KARARLARI

| Karar Sayısı: 2009/12 | Karar Tarihi: 13/03/2009 | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalından Prof.Dr.Mehmet GÜRBİLEK ve Nezihe PEHLİVANLI tarafından sunulan "Trans-9 18:1 oktadecenoik asit izomerinin insülin resistansı üzerine etkileri" başlıklı tez projesi dokuz üyenin katılımı ile değerlendirildi.</p> <p>Projede kontrol ve üç farklı yağ asidi olmak üzere toplam dört grupta 40 Sprague Dawley soyu sıçanın kullanılacağı belirtilmiştir.</p> <p>Projenin deney hayvanlarına ilişkin yönlerinin Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesinin 6ncı maddesinde belirtilen "etik kurallara uygunluk esası" dikkate alınarak hazırlandığı belirlenmiştir.</p> <p>Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesinde "Başvuru Sahibinin Sorumlulukları" başlığı altında yer alan kurallar ve madde 6da belirtilen "Hayvan Deneyleri ile İlgili Etik İlkeler" saklı kalmak koşulu ile projenin hazırlanmasında "Etik Kurul Yönergesi İlkelerine Uyulduğuna", çalışmanın deneysel kısmını yapacak çalışmacının "Deney Hayvanları Kullanım Sertifikasına" sahip olduğu dikkate alınarak projenin hayvan kullanım etiği açısından "uygun" olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.</p> | | | |
|  Doç.Dr.K.Esra ATALIK Başkan |  Prof.Dr.Lema TAVLI Üye-Katılmadı |  Prof.Dr.Saïd BODUR Üye |  Prof.Dr.Abdulkadir ŞENGÜN Üye |
|  Doç.Dr.A.Saïde ŞAHİN Üye |  Doç.Dr.Nilsel OKUDAN Üye |  Doç.Dr.H.Serdar GERGERLİOĞLU Üye |  Doç.Dr.Mehmet GÜL Üye |
|  Dr.M.Metin ŞENER Üye |  Mehmet ÖZ Üye |  Mustafa ŞİRİN Üye-Katılmadı | |

10. ÖZGEÇMİŞ

Kırıkkale’de 1986 yılında doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Kırıkkale’de tamamladı. Lisans eğitimini Selçuk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde 2007 yılında tamamladı. 2007 yılında Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya (Tıp Fakültesi) Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı ve halen devam etmektedir.