

Trans-9 18:1 Oktadekanoik Asit İzomerinin Sıçan Karaciğer Hücre Zarı Na⁺/K⁺ ATPaz Enzim Aktivitesi ve Plazma Lipoproteinleri Üzerine Etkisi

[Effects of the Trans-9 18:1 Octadecenoic Acid Isomer on Rat Liver Membrane Na⁺/K⁺ ATPase Enzyme Activity and Plasma Lipoproteins]

Ayşe Kaya,
Cemile Topçu,
Mehmet Gürbilek,
Mehmet Aköz,
Mustafa Ünalı

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı, Konya

Yazışma Adresi
[Correspondence Address]

Dr. Cemile Topcu

Adres: Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi,
Biyokimya, KONYA
Tel: 505 468 27 83
332-223 63 26
e-mail: topcu_cemile@yahoo.com.tr

Kayıt tarihi : 30 Mart 2009 ; Kabul tarihi : 19 Şubat 2010
Registered : 30 March 2009 ; Accepted : 19 February 2010]

ÖZET

Amaç: Trans yağ asiti tüketimi, koroner kalp hastalık riskinin artışı ile ilişkilidir. Sıvı yağlar kısmi olarak margarin formuna hidrojene edildiğinde, yağ asitlerinin trans izomerleri meydana gelir. Çalışmamızda diyet ile alınan trans-9 18:1 oktadekanoik asit izomerinin (trans yağ asit izomeri), karaciğer hücre zarı Na⁺/K⁺ ATPaz enzim aktivitesi ve yağ kompozisyonu ile lipit metabolizması üzerinde etkisi olup olmadığını araştırdık

Gereç ve Yöntemler: İki gruba ayırdığımız sıçanlarda çalışma grubuna 10 gün süre ile 50mg/gün trans-9 18:1 oktadekanoik asit izomeri verildikten sonra serum ve karaciğer dokusunda gaz kromatografi analizleri ile yağ asit kompozisyonu incelendi.

Sonuçlar: Çalışma grubunda trans-9 18:1 yağ asidi belirlenirken, kontrol grubunda rastlanmadı. Bu da trans-9 18:1 oktadekanoik asit izomerinin vücutta doğal olarak bulunmadığını gösterdi. Çalışma grubundaki C18:2 6n değerindeki anlamlı artış ve C20:4 6n değerindeki anlamlı azalış, trans-9 18:1 oktadekanoik asit izomerinin desaturaz aktivitesini etkilediğini, C18:2 6n yağ asidinin C20:4-6n yağ asidine dönüşümünü engellediğini göstermektedir. Trans-9 18:1 oktadekanoik asit ile beslenen sıçanlarda HDL kolesterol, HDL2 kolesterol düzeylerinde azalış belirlendi. HDL3 kolesterol, LDL kolesterol, total kolesterol, trigliserit ve Na⁺/K⁺ ATPaz aktivitesi değerlerinde değişme gözlenmedi. Bulgularımız literatür ışığında tartışıldığında TFAların serum HDL kolesterol ve HDL2 kolesterol seviyelerini değiştirdiğini ve bu sonucunda TFA içerikli beslenmenin kalp hastalıklarını yakalanma riskini arttırabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar kelimeler: Trans-9 18:1 oktadekanoik asit, lipoprotein, Na⁺/K⁺ ATPaz.

ABSTRACT

Purpose: The consumption of trans-fatty acids is associated with increasing coronary heart disease risk. When oils are partially hydrogenated to margarine form, trans isomers of fatty acids are formed. In this study we investigated the effects of dietary trans-9 18:1 octadecenoic acid isomer on liver cell membrane Na⁺/K⁺ ATPase enzyme activity, fat composition and lipid metabolism.

Method and Material: This study was conducted on two groups of rats, study and control. Study group was given 50 mg/day trans-9 18:1 octadecenoic acid isomers for ten days. Fatty acid composition of serum and liver tissue was analyzed using gas chromatography

Results: Study group showed trans-9 18:1 fatty acid presence while control group did not, thus trans-9 18:1 octadecenoic acid isomer is not a naturally occurring compound. The meaningful increase of C18:2 6n fatty acid and meaningful decrease of C20:4 6n in study group show that trans-9 18:1 octadecenoic acid isomers affected desaturation activity and prevented C18:2 6n fatty acid from turning into C20:4 6n. Rats fed with trans-9 18:1 octadecenoic acid showed decreased HDL and HDL2 cholesterol levels. No change was observed in HDL3, LDL, total cholesterol, triglyceride and Na⁺/K⁺ ATPase activity. Our findings combined with current literature allow us to conclude; sine TFAs change serum HDL and HDL2 cholesterol levels, nutrition's containing TFA may increase the risk of heart disease.

Keywords: Trans-9 18:1 octadecenoic acid, lipoproteins, Na⁺/K⁺ ATPase

Giriş

Yağ asitlerinin büyük bir kısmı organizmada hücre yapısı elemanı olarak, bir kısmı depo yağ açıl esterleri şeklinde, az bir kısmı ise serbest halde bulunmaktadır. Lipitler birçok organizmada başlıca depo enerji şeklidir. Fosfolipitler ve steroller biyolojik zarların temel yapıtaşlarıdır (1). Lipoproteinler hem hücre zarı hem de stoplazmadaki mitokondrilerde görülen önemli hücre yapışları olup kanda lipitlerin taşınmasında görev alırlar(2). Doğal yağlarda çift bağlar genellikle cis konfigürasyonundadır. Trans yağ asitleri (TFA) trans konfigürasyonunda bir veya birden fazla çift bağ bulunan mono veya çoklu doymamış yağ asitleridir (3). Diyetle alınan TFA çeşitli hastalıklarının oluşmasında önemli yer tutar. İnsan diyetindeki toplam enerjinin %30'dan fazlasının yağlardan gelmesi ve özellikle trans yağ içeriği yüksek gıdaların tüketiminin çok olması kalp hastalıklarına yakalanma riskini artırmaktadır. TFA'lar, doymuş yağ asitlerine benzer metabolize edilirler. Son zamanlarda yapılan birçok çalışmada doymuş yağ asitlerinin diyeti ile TFA'ların diyeti karşılaştırıldığında, ikisinin de plazma TG (trigliserit) konsantrasyonunda artışa ve HDL kolesterol seviyesinde bir azalmaya sebep olduğu belirtilmektedir (4, 5).

Diğer taraftan, doymuş yağ asitleri zar akışkanlığını azaltırken, doymamış yağ asitlerinin cis izomerleri akışkanlığı artırma, trans izomeri azaltma eğilimi gösterir (6). Hücre zar akışkanlığındaki değişiklikler membran lipit bileşimi ile ilişkilidir. Akışkanlık zar bileşimindeki yağ asidi ve kolesterol tarafından kontrol edilir. Akışkanlık üzerine ısı ve zar bileşiminin etkileri de araştırılmıştır. Hücrelerin dış şartlar değiştiğinde sabit bir akışkanlığı sağlamak için lipid bileşimini yeniden düzenlediği tespit edilmiştir (1).

Hücre zarındaki trans yağ asidi konsantrasyonu arttıkça viskozite artar, akışkanlık azalır. Hücre zarındaki TFA artışının reseptör ve enzim aktivitesinde de değişikliklere neden olabileceği düşünülmektedir. Membran akışkanlığında değişiklik gerçekleşmesinin alkalik fosfataz aktivitesinde meydana gelen artış, diyetel TFA nedeniyle enzimin yakınında bulunan lipit mikroçevrede meydana gelen yapısal değişimden kaynaklanabilmektedir. Bu tür değişimlerin genel akışkanlıkta değil, bu küçük etki alanlarındaki lipit akışkanlığında değişikliğe neden olduğu, bu suretle alkalik fosfataz aktivitesinin değiştiği belirtilmiştir (7).

Ekstrinsik enzimler (disakkaridaz, lösin aminopeptidaz ve γ glutamil transpeptidaz) membran lipidlerinden etkilenmezler. Ancak, membran lipid kompozisyonundaki değişimler, intrinsik proteinlerin (alkalin fosfataz ve aminoasit taşıyıcı) aktivitelerinde değişikliğe neden olabilmektedir (8).

Bu çalışmada, diyet ile alınan trans-9 18:1 oktadekanoik asit izomerinin, sıçanlarda lipid metabolizmasına etkisi ve hücre zar akışkanlığı üzerine etkisi sonucu meydana gelen değişikliklerin, karaciğer hücre zarı Na^+/K^+ ATP'az enzim aktivitesi ile ilişkileri araştırıldı.

Materyal ve Metod

Vakaların Oluşturulması ve Gruplandırma: Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edilen 6 aylık ortalama 300g. ağırlığında Sprague Dawley cinsi erkek 45 sıçan iki hafta süreyle 20 ± 1 oC oda ısısında, %35–40 nisbi nemde ve saatte 15 kez oda hava değişimi yapılan odalarda her kafeste 5 hayvan olacak şekilde yağsız sıçan pellet yemi ile beslendi ve önlerinde devamlı su bulunduruldu. Kullanılan sıçan yeminin bileşimi Tablo 1'de verilmiştir. Yüksek kaliteli protein, esansiyel aminoasitlerce zengin, sindirilebilirliği yüksek, yağ haricinde sıçanların tüm besin madde ihtiyaçlarını karşılayan yem kullanılmıştır (Tahıllar ve tahıl ürünleri, Nişasta sanayi yan ürünleri, Mermer tozu, Yağlı tohum küspeleri, DCP, Sodyum bikarbonat, Tuz, Melas, Sentetik aminoasitler, Vitamin ve mineral premiksler, Küf önleyici ve antioksidanlar). Sıçanların beslenmesi Destailats ve ark. çalışmalarındaki periyoda göre yapıldı (9). İki haftalık yağsız sıçan pellet yemi ile beslenmeden sonra sıçanlar rastgele iki gruba ayrıldı. Aynı ortamda çalışmaya devam edildi. 1. Grupta (kontrol grubu);20 sıçana yağsız diyetle 10 gün daha devam edildi. 2.Grupta (çalışma grubu); 25 sıçana rasyonlarına ilaveten sabahları gavaj yoluyla 50mg/gün elaidik asit izomeri (trans-9 18:1 oktadekanoik asit izomeri) 10 gün süreyle verildi. Çalışmamız Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurul raporu alınarak yapılmıştır.

Numunelerin Alınışı ve Hazırlanışı: Tüm sıçanların 24.gün sonunda Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araş-

Tablo 1. Kullanılan sıçan yeminin bileşimi

Kuru Madde	En az	%88	
Ham Protein	En az	%23	
Ham selüloz	En çok	%5	
Ham kül	En çok	%8	
HCl'de Çöz. Kül	En çok	%1	
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	
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.

tırma ve Uygulama Merkezi'nde eter inhalasyonu yapılarak, kalpten kanları alındı ve hipovolamik şok neticesinde yaşamları sonlandırıldı. Kan numuneleri jelli biyokimya tüpüne alındı. Kan alımını takiben serum örneği 3000 devir/dakika toplam 10 dakika santrifüj edilerek elde edildi. Serum numuneleri ikiye ayrılıp bir kısım numuneler GS (gaz kromatografi) ile yağ asit kompozisyonu tayini, ikinci kısım numuneler trigliserit, total kolesterol, HDL kolesterol HDL2 kolesterol, HDL3 kolesterol çalışılmak üzere -80°C'de saklandı. Karaciğer doku örnekleri serum fizyolojik içeren cam tüplere konuldu. Selçuk Üniversitesi Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'nda serum fizyolojik içindeki karaciğer dokularında Harik ve ark. metodu kullanıldı (10). Dokular iki kısma ayrıldı. Bir kısım GS ile yağ asit kompozisyonu çalışılmak üzere, ikinci kısım Na⁺/K⁺ ATPaz aktivitesi çalışılmak üzere -80°C'de saklandı.

Karaciğer dokusu Na⁺/K⁺ ATPaz enzim aktivitesi tayini: Selçuk Üniversitesi Biyokimya Araştırma Laboratuvarında karaciğer dokusundan 1g. tartılarak üzerine 0,32 M sukroz ve 0,5mM EDTA içeren 5 ml. tris-HCl tamponu (pH=7,4) ilave edilip homojenize edildi. Homojenat +4°C'de 3000rpm. de 10dk. santrifüj edildi. Oluşan süpernatant alınıp, +4°C'de 11000 rpm.de 90 dk. santrifüj edildi. Oluşan pellete 1ml.tris-HCl tamponu ile muamele edildi ve -80°C'de saklandı. Çalışma anında -80°C'de saklanmış numuneler çözüldü ve Harik ve ark. (10) metoduna göre enzim aktivitesi tayin edildi. Bu numunelerden 200 µl. alındı ve üzerine 800 µl. medium çözeltisi ilave edildi. 37°C'de 10dk. inkübe edildi. Daha sonra su banyosundan çıkarılarak hiç bekletilmeden reaksiyonu durdurmak için 50 µl 1%10'luk SDS ilave edildi. Alt üst edilerek süpernatandan Boehringer-Mainkeimin photometer 5010 marka spektrofotometrede, Diasis Diagnostic Systems marka inorganik fosfor ve Spinreact marka mikroprotein ticari kitleri kullanılarak Sistem Tıbbi Tahliller Laboratuvarı'nda inorganik fosfor ve mikroprotein tayini yapıldı. Sonuç µ mol Pi.mg protein-1.10 dk⁻¹ olarak hesaplandı.

Serumda trigliserit, total kolesterol, LDL, HDL, HDL2 ve HDL3 kolesterol tayinleri: TG, total kolesterol, LDL, HDL kolesterol tayinleri Nakiboğlu Hastanesi Dade Behring marka, RXL HM model biyokimya otoanalizörlerinde yapılmıştır. HDL2 kolesterol ve HDL3 kolesterol tayinlerinde çift prespitasyon yöntemine dayanan Warnick ve arkadaşlarının (11) metodu kullanıldı.

Karaciğer dokusunda ve serumda yağ asit kompozisyonunun tayini: Karaciğer dokusu ve serum yağ asit kompozisyonlarının analizleri Selçuk Üniversitesi Biyoloji Bölümünde HP (Hewlett Packard) Agilent marka, 6890N model, FID (Flame Ionization Detector, alev iyonlaştırıcı dedektör) dedektörlü otomatik injektörlü gaz kromatografi cihazı ile gerçekleştirildi.

Karaciğer ve serum numunelerinin yağ asit esterlerinin hazırlanmasında Folch ve ark. (12) nin metodlarından yararlanıldı. Yağ asitlerinin gaz kromatografik analizleri Moss ve ark. (13) metodundan yararlanılarak ger-

çekleştirildi. Yağ asitlerinin metillendirilmesinde BF₃-CH₃OH (bortriflorür-methanol) kompleksi kullanıldı.

Bulgular

Diyet ile trans-9 18:1 oktadekanoik asit verilen çalışma grubu ile kontrol grubunun karaciğer dokusu yağ asit kompozisyonlarının gaz kromatografi ölçümü ile hesaplanan alan değerleri Tablo 2'de verildi. Karaciğer dokusu ve serum numunesi gaz kromatogramları Şekil 1 ve 2 de görülmektedir.

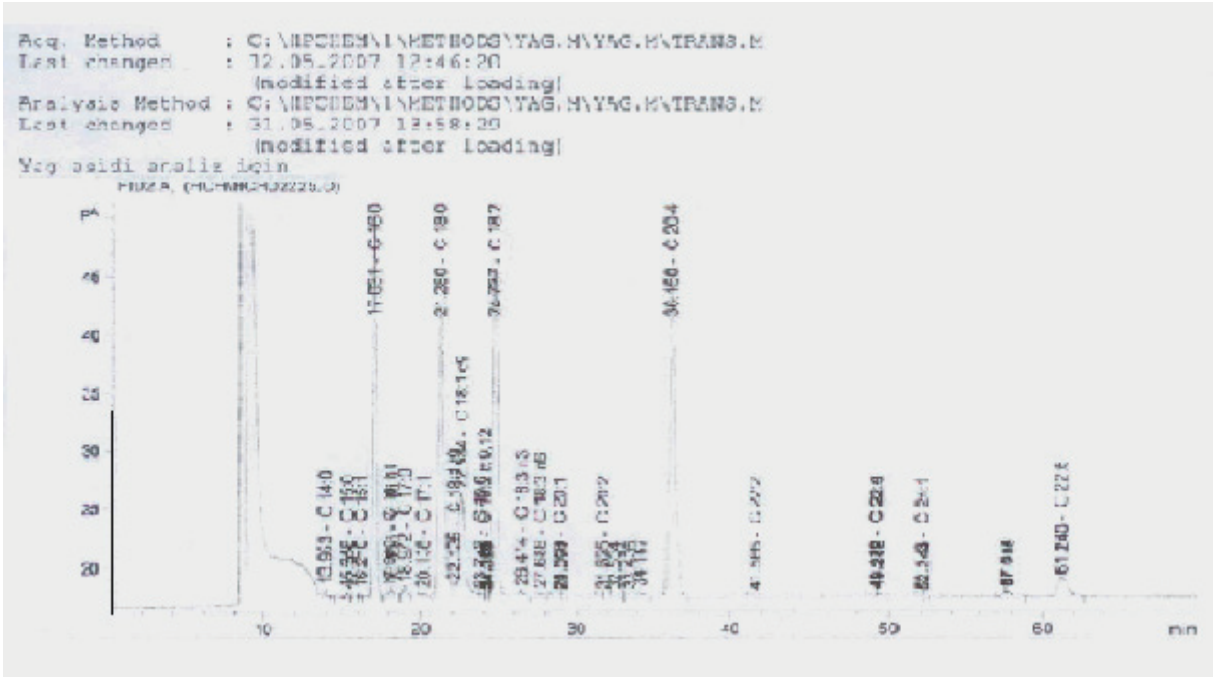
Serumda ve karaciğer dokusunda, çalışma ve kontrol grubunun yağ asit kompozisyonları incelendi ve çalışma grubunda trans-9 18:1 yağ asidinin oluştuğu belirlendi. Çalışma grubundaki C18:2 6n değerinde artış, C20:4 6n değerinde azalış belirlendi (p<0,05).

Aynı sıçanlardan alınan serum numunelerinde ölçülen HDL, HDL2, HDL3, LDL kolesterol, trigliserit, total kolesterol değerleri Tablo 3'de verildi.

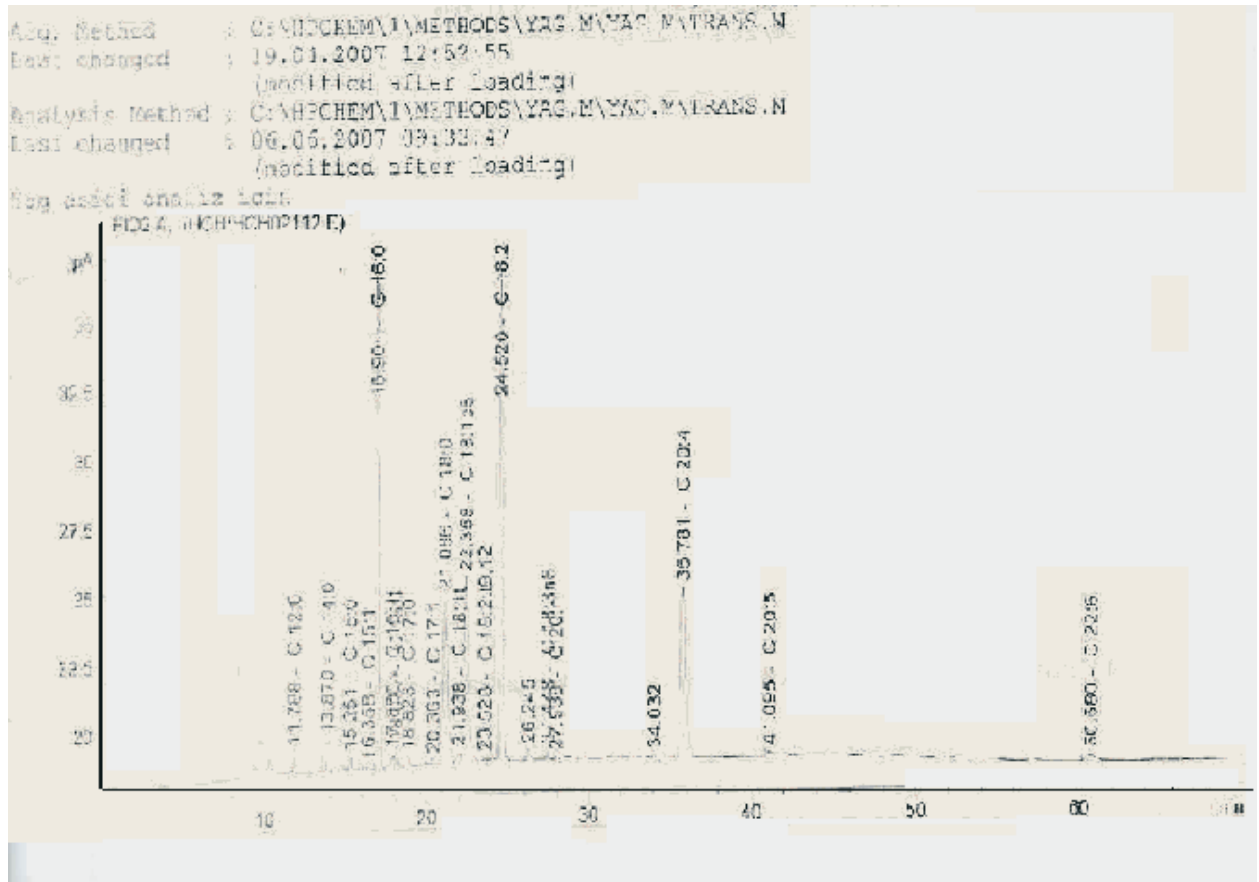
HDL kolesterol ve HDL2 kolesterol değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmış olduğu belirlendi (p<0,05). HDL3, total kolesterol

Tablo 2. Çalışma ve kontrol grubunda karaciğer dokusu yağ asit kompozisyonu.

Yağ Asidi (% alan)	Kontrol ± SD x	Çalışma x ± SD
C 14:0	0,49 ± 037	0,49 ± 0,45
C 15:0	0,31 ± 0,06	0,35 ± 0,26
C 15:1	0,16 ± 0,07	0,19 ± 0,20
C 16:0	17,60 ± 1,65	18,38 ± 3,79
C 16:1t	0,23 ± 0,14	0,23 ± 0,09
C 16:1	1,35 ± 0,55	1,02 ± 0,50
C 17:0	0,67 ± 0,09	0,70 ± 0,15
C 17:1	0,44 ± 0,11	0,38 ± 0,13
C 18:0	21,29 ± 1,23	21,58 ± 2,16
C 18:1 t9	0	0,35 ± 0,32
C 18:1	9,62 ± 0,58	9,35 ± 1,82
C 18:2 6n	15,52 ± 0,72	16,69 ± 1,86
C 18:3 3n	0,33 ± 0,07	0,29 ± 0,14
C 18:3 6n	0,14 ± 0,08	0,17 ± 0,07
C 20:1	0,23 ± 0,13	0,33 ± 0,41
C 20:2	0,20 ± 0,09	0,17 ± 0,11
C 20:4 6n	25,52 ± 2,19	23,39 ± 4,41
C 20:5	0,34 ± 0,18	0,29 ± 0,28
C 22:4	0,38 ± 0,14	0,46 ± 0,15
C 24:1	0,26 ± 0,14	0,23 ± 0,12
C 22:5	0,78 ± 0,37	0,72 ± 0,30
C 22:6	2,45 ± 0,42	2,91 ± 0,67
Diğer yağ asitleri	1,24 ± 0,70	1,32 ± 0,95
TOPLAM	99,87 ± 0,70	99,99 ± 0,95



Şekil 1. Karaciğer dokusu çalışma grubu gaz kromatogramı



Şekil 2. Serum numunesi çalışma grubu gaz kromatogramı

Tablo 3. Kontrol ve çalışma grubunda HDL, HDL₂, HDL₃, LDL kolesterol, trigliserit, total kolesterol değerlerinin karşılaştırılması

(mg/dl)	Kontrol x ± SD	Çalışma x ± SD	t	P
HDL kolesterol	29,11 ± 3,62	24,55 ± 3,98	3,84	0,000
HDL ₂ kolesterol	25,21 ± 3,07	21,05 ± 4,06	3,73	0,001
HDL ₃ kolesterol	3,89 ± 1,45	3,64 ± 1,14	0,63	0,534
LDL kolesterol	16,60 ± 9,46	21,8 ± 10,9	-1,65	0,107
Total kolesterol	61,4 ± 11,7	59,6 ± 12,3	0,48	0,636
Trigliserit	78,6 ± 13,0	79,0 ± 13,0	-0,10	0,92

ve trigliserit değerlerinde istatistiksel açıdan bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

Na⁺/K⁺ ATPaz aktivitesi değerleri karşılaştırıldığında kontrol ve çalışma grupları arasındaki fark anlamlı bulunmadı (*kontrol*; $2,930 \pm 0,71$, *çalışma*; $2,971 \pm 0,500$, $p>0,05$).

Trans-9 18:1 yağ asidi alımı ile HDL kolesterol, HDL2 kolesterol, HDL3 kolesterol, LDL kolesterol, trigliserit, total kolesterol, Na⁺/K⁺ ATPaz aktivitesi arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

Tartışma ve Sonuç

Endüstriyel kaynaklı TFA'ların insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri trans 18:1 izomeri yağ asidi ile ilişkilidir. Trans 18:1 yağ asitleri kısmi hidrojenasyonla elde edilen yağlardaki trans yağ asitlerinin yaklaşık olarak yarısını kapsar (14).

Yetişkin kalp hastalarından alınan plazma numunelerinde total lipid ve trans yağ asidi miktarının tayin edildiği bir çalışmada, 5 trans 18:1 yağ asidi izomeri, 3 trans 18:2 yağ asidi izomeri ve 2 trans 16:1 izomeri belirlenmiştir. Kalp hastalıklarında, ani kalp ölümünün ilk başta geldiği, kırmızı kan hücre membranlarında trans 18:1 yağ asidi izomerinin yüksek düzeyde bulunduğu, trans 18:1 yağ asit izomerlerinin alımı ile ani kalp ölümü arasında ilişki olduğu belirtilmiştir (15)

Trans yağ asidi alımıyla, sıçan sütündeki trans yağ asidi miktarının nasıl değiştiğinin araştırıldığı çalışma sonucunda, kontrol grubuna göre total trans yağ asidi miktarında artış olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte trans yağ asidi alımı olan grupta trans 18:1 yağ asidi ve cis/trans 16:1 yağ asidi izomerlerinin miktarında yükselme olduğu rapor edilmiştir (16).

Diğer bir çalışmada koroner kalp hastalarında deri altı yağlarında gaz kromatografisi yöntemiyle yağ asit kompozisyonu araştırılmış ve diyetdeki trans 18:1 yağ asidi ile koroner kalp hastalığı arasında ilişki olduğu belirtilmiştir (17).

Çalışmamızda trans-9 18:1 oktadekanoik asit izomerinin alımının sıçan serumundaki ve karaciğer dokusundaki yağ asit kompozisyonunu nasıl etkilediğini inceledik. Çalışma grubunda trans-9 18:1 yağ asidi belirlenirken kontrol grubunda rastlanmaması, trans-9 18:1 oktadekanoik asit izomerinin vücutta sentezlenmeyip diyetle alındığını göstermektedir.

Hayvanlar üzerinde gerçekleştirilen çeşitli çalışmalar göstermiştir ki, TFA, desaturaz aktivitesini engellemekte ve bu durum 18:2 6n'nın biyolojik olarak önemli metabolit araşidonik aside (20:4 6n) dönüşmesinde bozuklukla sonuçlanmaktadır (18,19,20).

Çalışma grubumuzdaki C18:2 6n değerindeki artış ve C20:4 6n değerindeki azalış, trans-9 18:1 oktadekanoik asit izomerinin desaturaz aktivitesini etkilediğini ve C18:2 6n yağ asidinin C20:4 n6 yağ asidine dönüşümünü engellediğini göstermektedir.

Serumlardaki yağ asit kompozisyonları incelendiğinde karaciğer dokusu ile orantılı trans-9 18:1 oktadekanoik asit içerdiği ve karaciğer dokusu ve serum yağ asit kompozisyonunun paralel olduğu belirlendi.

Trans yağ asitlerinin plazma lipidleri üzerindeki etkileri çok sayıda araştırmanın konusu olmuştur. Önceki metabolik çalışmalar total kolesterol üzerinde odaklanmıştı ve trans yağ asitlerinin LDL ve HDL üzerindeki karşıt etkileri bulunamamıştı. Trans yağ asitlerinin tüm lipoprotein sınıfları üzerindeki etkilerinin kurulması 1990 yılında başlamıştır(21).

TFA'ların LDL kolesterol ve lipoprotein(a) seviyelerini yükselttiği, HDL kolesterol seviyesini ise düşürdüğü, bunun sonucunda da koroner kalp hastalığı riskinin yükseldiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (22).

Tüketilen yağ ile koroner kalp hastalıkları arasındaki ilişkinin ortaya konulmasından sonra yapılan çalışmalarda doymuş/doymamış yağ asitleri arasındaki oran ve kolesterolün lipid metabolizmasındaki etkisi ve kalp hastalıklarıyla ilişkisi rapor edilmiştir (23). TFA'lardan alınan enerjinin (%2) doymamış yağ ile değiştirmesi ile koroner hastalık riskini %53 oranında azalttığı, doymuş yağlardan alınan enerjinin (%5) doymamış yağlarla değiştirmesinin de, koroner hastalık riskini %42 oranında azalttığı belirlenmiştir (24).

Mersink ve Katan (25) tarafından yapılan çalışmada, doymuş ve TFA nin alımı ile plazma lipid düzeylerinin artışı arasında ilişki olduğu, cis doymamış yağ asitleri yerine doymuş ve TFA geldiğinde her ikisinin de nispeten total ve LDL kolesterol düzeylerini artırdığı ileri sürülmüştür. Doymuş yağ asitleri yerine TFA geldiğinde, HDL kolesterol düzeyinin azaldığı, trigliserit düzeyinin yükseldiği ve total kolesterolün/HDL kolesterole oranının azaldığı belirtilmiştir (26). Diğer bir çalışmada, LDL kolesterolün yükseldiği, HDL kolesterolün düştü-

gü, HDL/LDL oranının azaldığı ve trigliserit düzeyinin fazla değişmediği belirtilmiştir (27).

Wijendran ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, TFA, gerbillerde diyetel 16:0 veya 18:0'le değiştirildiğinde, plazma TG ve karaciğer ağırlığında önemli bir artışa neden olmuştur. Bu durum, TFA'nın alımının sürdürülmesi halinde, Tip II diyabet mellitus ve koroner kalp hastalıkları için bilinen bir risk faktörü olan hipertrigliseridemiye yol açarak TG metabolizmasına zarar verebileceğini göstermektedir (28).

Trans yağ asidinin neden olduğu hipertrigliserideminin temelini oluşturan mekanizma iyi karakterize edilmemiştir. Bir olasılık, bastırılmış hepatik reseptörü aracılığıyla TG yönünden zengin lipoproteinlerin alımı nedeniyle bozulmuş TG klerensi ve/veya 18:0 veya 16:0'ya bağlı olarak adipoz ve iskeletsel kas vasıtasıyla bozulmuş VLDL-TG dışarı atılmasıdır. İkinci bir olasılık, trans-18:1 iskeletsel kasta ve adipozda insülin faaliyetini azaltmıştır ve asilasyon stimulating protein (ASP) aktivitesini zayıflatmıştır, yağ asitlerinin başarısız geri dönüşümüne neden olmuş ve hipertrigliseridemiye yol açmıştır (28). Aslında, Matthan ve ark. tarafından (29) gerçekleştirilen bir çalışmada, TFA'nın ASP aktivitesine zarar verdiği, bu durumun, adipoz dokunun VLDL TG alımını azalttığı ve orta derecede hiperkolesterolemik postmenapozal kadınlarda plazma TG seviyesini yükselttiği bildirilmiştir.

Çeşitli klinik çalışmalarda yüksek trans yağ asidi alımıyla birlikte plazma TG düzeyinde önemli bir artış gözlenirken, diğer çalışmalarda (30,31) bu tür bir etki belirtilmemiştir.

Görüldüğü gibi yapılan birçok klinik ve epidemiyolojik çalışmalarda, diyetle alınan TFA'nın plazma lipit profilini etkilediğini belirlenmiştir. Alınan TFA ile HDL kolesterol ve LDL kolesterol arasındaki ilişki dikkat çekicidir. TFA alımıyla HDL kolesterolün azaldığı ve LDL kolesterolün arttığı rapor edilmiştir.

Kalp hastalığıyla negatif korelasyon gösteren HDL alt fraksiyonunun HDL2 olduğuna inanılmaktadır. Bizim çalışmamızda ise HDL kolesterol ve HDL2 kolesterol seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0,05$).

Çalışmamızda HDL kolesterol ve HDL2 kolesterolün düşüklüğünün trans-9 18:1 oktadekanoik asit izomerinden kaynaklandığı sonucuna varıldı. LDL kolesterol düzeyindeki artış ise istatistiksel olarak önemli bulunmadı. Trigliserit ve total kolesterol değişimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Yağ asit molekülü içeriğinin membran fosfolipidlerinde muhtemel hasara yol açabildiği, fosfolipidlerin ve biyolojik sistemlerin lipid membran yapı ve fonksiyon ilişkisini etkilediği belirtilmektedir (32). Enzim aktivitesindeki değişme membran yapı ve fonksiyonunun değişmesinin bir göstergesidir. Trans yağ asiti beslenme sonucu hücre zarındaki fonksiyon bozukluğunu belirlemek için hücre zar proteini Na^+/K^+ ATPaz aktivitesi ölçülmüştür. Jimoh ve ark (33) çalışmalarında, yer fıstığı yağı ve ok-

side yer fıstığı yağını karşılaştırılmış ve çeşitli dokular da Na^+/K^+ ATPaz aktivitesi ölçülmüştür. Fıstık yağı ile beslenen grupta Na^+/K^+ ATPaz aktivitesi beyin ve böbrek dokularında yüksek bulunmuş. Karaciğer, kalp ve akciğer dokularında kayda değer bir değişme olmadığı belirtilmiştir.

Ekstrinsik enzimler (disakkaridaz, lösin aminopeptidaz ve γ glutamil transpeptidaz) membran lipidlerinden etkilenmezler. Ancak, membran lipid kompozisyonundaki değişimler, intrinsik proteinlerin (alkalin fosfataz ve aminoasit taşıyıcı) aktivitelerinde değişikliğe neden olabilmektedir (8).

Çalışmamızda trans-9 18:1 oktadekanoik asit izomeri ile beslenen sıçanların karaciğer hücresi zar lipit bileşiminde trans-9 18:1 oktadekanoik asit izomeri belirlendi, Na^+/K^+ ATPaz aktivitesi değerleri kontrol ve çalışma grupları arasında karşılaştırıldığında fark anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

Trans yağ asitleri ile yapılan çalışmaların etkisi ile, birçok gelişmiş ülkede gıdalardaki ve özellikle de margarinlerdeki TFA oranı %50'lerden %5'lerin altına düşürüldü. Türkiye de 1995 yılında ilk defa trans yağ içermeyen margarin piyasaya sürüldü. 1997 yılında da tüm kase margarinlerindeki TFA oranını %1'in altına indirdi. Bunu izleyen yıllarda da paket margarinlerdeki trans yağları %2'nin altına düşürdü. Koroner kalp hastalıklarından korunmada bu derece önemli bir konunun, ülkemiz gündeminde daha fazla yer alarak tartışılması, diğer yağ üreticilerini de aynı hassasiyeti göstermeye teşvik edecek ve toplum sağlığımızın iyileştirilmesine önemli katkı sağlayacaktır.

Kaynaklar

- [1] Nelson DL and Cox MM. (2005) Biyokimyanın İlkeleri, Lehninger, Palme yayıncılık, Ankara.
- [2] Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW (2004) Harper Biyokimya, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul.
- [3] Taşan ve Dağlıoğlu (2005) Trans yağ asitlerinin yapısı, oluşumu ve gıdalarla alınması, Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi.2 (1).
- [4] Rivellese AA, Maffettone A, Vessby B, Ulusituba M, Hermansen K, Berglund L, Louheranta A, Meyer BJ and Riccardi G. (2003) Effects of dietary saturated, monounsaturated and n-3 fatty acids on fasting lipoproteins, LDL size and post-prandial lipid metabolism in healthy subjects. *Atherosclerosis*. 167(1):149-207.
- [5] Rasmussen BM, Vessby B, Uusituba M, Berglund L, Pedersen E, Riccardi G, Rivellese AA, Tabse II L and Hermansen K. (2006) Effects of dietary saturated, monounsaturated, and n-3 fatty acids on blood pressure in healthy subjects. *Am J Clin Nutr*.83(2):221-227.
- [6] Gürdöl F ve Ademoğlu E. (2006) Biyokimya. Nobel tıp kitabevleri.
- [7] Ghafoorunissa SA. (2001) Influence of dietary partially hydrogenated fat high in trans fatty acids on lipid composition and function of intestinal brush border membrane in rats. *J. Nutr. Biochem*.12:116-120.
- [8] Brasitus TA, Schacter D and Mamouneas T. (1979) Functional interctions of lipids and proteins in rat intestinal microvillus membranes. *Biochemistry*.18: 4136-4144.

- [9] Destailats F, Berdeaux O, Sebedio JL, Juaneda P, Gregoire S, Chardigny JM, Bretillon L and Anders P. (2005) Metabolites of conjugated isomers α -linolenic acid (CLnA) in the rat. *J. Agric. Food Chem.* 53:1422-1427.
- [10] Harik SI, Doui GH and Dick APK, (1985) Specific ouabain binding to brain microvessels and choroids plexus. *J Cereb Blood Flow Metab.* 36:333-338.
- [11] Warnick GR, Benderson JM and Albers JJ.(1982) Quantitation of high-density lipoprotein subclasses alter separation by Dextran Sulfate and Mg^{++} precipitation. *Clin Chem.* 28:1574-1982.
- [12] Folch J, Lees M and Slone Stanley GH.(1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue, *J Biol Chem.* 63:226:497-509.
- [13] Moss CW, Lambert MA and Mervin WH. (1984) Comparison of rapid methods for analysis of bacterial fatty acids. *Appl Microbiol.* 28:80-85.
- [14] Tyburczy C, Major C, Lock AL, Destailats F, Lawrence P, Brenna JT, Salter AM, Bauman DE.(2009) Individual trans octadecenoic acids and partially hydrogenated vegetable oil differentially affect hepatic lipid and lipoprotein metabolism in golden Syrian hamsters. *J Nutr.* 139(2):257-63.
- [15] Rozenn NL, Irena B, Mozaffarian D, Sotoodehnia N, Thomas DR, Kuller LH, Tracy RP and Siscovick DS. (2006) Plasma Phospholipid Trans Fatty Acids, Fatal Ischemic Heart Disease, and Sudden Cardiac Death in Older Adults. *Circulation.* 114:209-215.
- [16] Largue E, Zamora S and Gil A.(2000) Dietary trans fatty acids affect the essential fatty-acid concentration of rat milk. *Journal of Nutrition.* 130:847-851.
- [17] Dlouhý P, Tvrzická E, Staňková B, Vecka M, Žák A, Straka Z, Fanta J, Páchl J, Kubisová D, Rambousková J, Bílková D and Anděl M. (2003) Higher Content of 18:1 Trans Fatty Acids in Subcutaneous Fat of Persons with Coronarographically Documented Atherosclerosis of the Coronary Arteries. *Annals of Nutrition & Metabolism.* 47:302-305.
- [18] Anderson RL, Fullmer CS and Hollenbach EJ.(1975) Effects of trans isomers of linoleic acid on the metabolism of linoleic acid in rats, *Journal of Clinical Nutrition.* 105: 393-406.
- [19] Lawson LD, Hill EG and Holman RT.(1983) Suppression of arachidonic acid in lipids of rat tissues by dietary mixed isomeric cis and trans octadecenoates. *J Nutr.* 113:1827-1835.
- [20] Mahfouz MM, Smith TL and Kummerow FA. (1984) Effects of dietary fats on desaturase activities and the biosynthesis of fatty acids in rat-liver microsomes. *Lipids.* 19: 214-222.
- [21] Ascherio A.(2006) Trans fatty acids and blood lipids. *Atherosclerosis Supplements* 7:25-27.
- [22] Zock PL and Katan MB. (1997) Trans fatty acids, lipoproteins, and coronary risk. Including Symposium of the Can. Fed. Biol. Soc. 75(3): 211-216.
- [23] Zyriax BC. and Windler E. (2000) Dietary fat in the prevention of cardiovascular disease-a review. *Eur J Lipid Sci. Techn.* 102:355-365.
- [24] Hu FB, Stampfer MJ, Manson JE, Rimm E, Colditz GA, Rosner BA, Jimoh FO, Kitao T and Hattori K.(1983) Inhibition of erythrocyte ATPase activity by aclacynomycin and reverse effect of ascorbate on ATPase activity. *Experientia* 39:1362-1366.
- [25] Mersink RP and Katan MB. (1990) Effect of dietary trans fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects. *New England J.Med.* 323(7):439-484
- [26] Lichtenstein AH, Erkkila AT, Lamarche B, Schwab US, Jalbert SM, Ausman LM. (2003) Influence of hydrogenated fat and butter on CVD risk factors: remnant-like particles, glucose and insulin, blood pressure and C-reactive protein. *Atherosclerosis.* 171: 97-107.
- [27] Peter L, Zock PL and Katan MB. (1992) Hydrogenation alternatives: effect of trans fatty acids and stearic acid versus linoleic acid on serum lipids and lipoproteins in humans. *Journal of Lipid Research.* 33: 399-410.
- [28] Wijendran V, Pronczuk A, Bertoli C and Hayes KC. (2003) Dietary trans-18:1 raises plasma triglycerides and VLDL cholesterol when either 16:0 or 18:0 in gerbils. *Journal of Nutritional Biochemistry.* 14:584-590.
- [29] Matthan NR, Cianflone K, Lichtenstein AH, Ausman LM, Jauhiainen M, Jones PJ. (2001) Hydrogenated fat consumption affects acylation-stimulating protein levels and cholesterol esterification rates in moderately hypercholesterolemic women. *J Lipid Res.* 42: 1980-1990.
- [30] Roos NM, Schouten EG and Katan MB. (2003) Trans fatty acids, HDL-cholesterol and cardiovascular disease. *Eur J Med Res.* 20;8(8):355-402.
- [31] Almendingen K, Jordal O, Krieful P, Sandstad B, Pedersen JL. (1995) Effects of partially hydrogenated fish oil, partially hydrogenated soybean oil and butter on serum lipoproteins and Lp(a) in men. *J Lipid Res.* 36: 1370-1384.
- [32] Odotuga AA and Obaleye JA. (2007) Changes in oxidized groundnut oil and its effect on Na^{+}/K^{+} -ATPase in rat tissues. *Journal of Nutrition.* 6(1):63-67.
- [33] Jimoh FO, Odotuga AA and Obaleye JA(2007) Changes in Oxidized Groundnut Oil and its Effect on Na^{+}/K^{+} -ATPase in Rat Tissues. *Pakistan Journal of Nutrition.* 6 (1): 63-67, 2007