

T.C.  
GENELKURMAY BAŐKANLIđI  
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ  
HAYDARPAŞA EğİTİM HASTANESİ  
BİYOKİMYA VE KLİNİK BİYOKİMYA SERVİSİ

İLK ATAK PSİKOZ, DEPRESYON VE ANKSİYETE  
HASTALARINDA YAğ ASİT, FOLAT VE KOBALAMİN  
METABOLİZMALARİ İLE PROLİDAZ ENZİM  
AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ

Burhanettin BOLAT  
Hv.Tbp.Yzb.

UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL

2007

T.C.  
GENELKURMAY BAŐKANLIĐI  
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ  
HAYDARPAŞA EĞİTİM HASTANESİ  
BİYOKİMYA VE KLİNİK BİYOKİMYA SERVİSİ

İLK ATAK PSİKOZ, DEPRESYON VE ANKSİYETE  
HASTALARINDA YAĞ ASİT, FOLAT VE KOBALAMİN  
METABOLİZMALARINI İLE PROLİDAZ ENZİM  
AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ

**Burhanettin BOLAT**

Hv.Tbp.Yzb

**UZMANLIK TEZİ**

TEZ DANIŞMANI

Mustafa GÜLTEPE

Prof.Ecz.Kd.Alb.

**İSTANBUL**

**2007**

GATA Askeri Tıp Fakültesi Dekanlığı'na:

'ilk atak psikoz, depresyon ve anksiyete hastalarında yağ asit, folat ve kobalamin metabolizmaları ile prolidaz enzim aktivitesinin incelenmesi' konulu bu çalışma jürimiz tarafından Biyokimya ve Klinik Biyokimya Servisi'nde uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : Prof.Ecz.Kd.Alb. Mustafa GÜLTEPE

Üye : Prof.Ecz.Kd.Alb. Kemal ERBİL

Üye : Prof.Ecz.Kd.Alb. Cumhur BİLGİ

Üye : Prof.Hv.Tbp.Kd.Alb. Mesut ÇETİN

Üye : Prof.Tbp.Kd.Alb. Levent DEMİRTÜRK

Üye : Doç.Hv.Tbp.Yb. Cengiz BAŞOĞLU (YD)

Üye : Doç.Hv.Tbp.Kd.Alb. M. Emin ÖNDE (YD)

Hv.Tbp.Yzb. Burhanettin BOLAT'ın 15/10/2007 tarihinde savunduğu bu tez Akademi Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı bana tez konusu olarak veren, engin bilgi ve deneyimleri ile uzmanlık eğitimim süresince bana gerçek bilimsel bakış açısına sahip, onurlu ve kişilikli bir uzman olma yolunda tüm desteği esirgemediği sağlayan ve öğrencisi olmaktan gurur duyduğum Sayın Hocam Prof.Ecz.Kd.Alb. Mustafa GÜLTEPE'ye sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Yrd.Doç.Dr. Osman Metin İPÇİOĞLU ve Yrd.Doç.Dr. Ömer ÖZCAN'a teşekkür ederim.

Tüm uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalışmaktan mutlu olduğum ve tez çalışmalarım sırasında yardımını benden esirgemeyen Uzm. Dr. Hüseyin KAYADİBİ'ne teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalıştığım uzmanlık öğrencisi arkadaşlarıma ve tez çalışmamda katkısı bulunan Uzm. Dr. Hayrettin ÇÜRÜKSULU'ya teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmalarım sırasında her türlü desteği esirgemeyen Biy.Lale ÖZOĞUL, Biy.İsmail ARICI, ,Lab.Tek.Nuri SÜRMELE, Lab.Tek.Özden DAŞ, Lab.Hidayet ATEŞOĞLU, Sağ.Bçvş.Selahattin ÇALIŞAL, Biy.Hüseyin AYDIN, Yük.Hem.Yıldız KOCAMAN, Yük.Hem.Emine ÖNCÜLER, Ord.Hem.Nursen KAHRAMAN'ın şahsında GATA HEH biyokimya servisinde görevli diğer tüm laboratuvar personeli ve hemşirelere teşekkür ederim.

Ayrıca tez çalışmalarımda bana yardımcı olan başta GATA HEH Psikiyatri Servis şefi Prof.Hv.Tbp.Kd.Alb. Mesut ÇETİN olmak üzere, Psikiyatri servisi uzmanlık öğrencileri Dr. Hüseyin GÜNAY ve Dr. Cengiz GÜNEŞ ile GATA HEH Psikiyatri Servisinde görevli diğer tüm doktor, hemşire ve personele teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim ve tezimi hazırlamam esnasında bana katlanmak zorunda kalan ve her zaman bana destek olan sevgili eşim Neslihan ile küçük arkadaşlarım Ayşegül ve Aykut'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Burhanettin BOLAT

## ÖZET

### **İlk Atak Psikoz, Depresyon ve Anksiyete Hastalarında Yağ Asit, Folat ve Kobalamin Metabolizmaları ile Prolidaz Enzim Aktivitesinin İncelenmesi,**

Bu çalışma psikiyatrik hastalıklarda yağ metabolizması, kobalamin metabolizması ve prolidaz enzim aktivitelerinde meydana gelen değişiklikleri ortaya koymak amacıyla yapıldı. Vaka-kontrol çalışması şeklinde planlanan çalışmaya DSM IV'e göre teşhis konan 30 anksiyete, 36 depresyon ve 25 ilk atak psikoz hastası olmak üzere 81 hasta ve 43 sağlıklı gönüllü dahil edildi. Yapılan biyokimyasal tetkikler sonucunda, üç hasta grubunda da yükselmiş plazma total homosistein (tHcy) değerleri saptandı. İlk atak psikozlu ve depresyonlu hastaların eritrosit membranı palmitik asit (16:0) ve stearik asit (18:0) seviyelerinde sağlıklı kişilere göre anlamlı bir düşüklük yanında ilk atak psikozlu hastaların serum prolidaz enzim aktiviteleri de sağlıklı kişilere göre anlamlı olarak düşüktü. Psikiyatrik hastalıkların büyük bir kısmını oluşturan psikoz, depresyon ve anksiyete hastalarında tHcy seviyelerindeki artış homosistein-metyonin döngüsünde bir bozukluğun göstergesi olabilir. Psikoz ve depresyon gruplarındaki eritrosit membran palmitik asit (16:0), stearik asit (18:0) seviyelerinde görülen azalma bu iki hastalığın daha çok organik temelli olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca ilk atak psikoz grubunda prolidaz enzim aktivitesindeki düşüklük, enzimin inhibitörü olan ve aynı zamanda glutamat ve GABA metabolizmalarında değişime yol açabilecek prolin seviyelerindeki bir artışın sonucu olabilir. Bu nedenle daha sonraki çalışmalarla bu hastalarda prolin düzeylerinin incelenmesine ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler** : ilk atak psikoz, depresyon, anksiyete, folat, kobalamin, eritrosit membran yağ asitleri, prolidaz, MDH, G6PD,

**Destekleyen Kurumlar** : GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi.

**Yazar Adı** : Burhanettin BOLAT

**Danışman Adı** : Mustafa GÜLTEPE.

## SUMMARY

### **The Investigation of Fatty Acid, Folate and Cobalamine Metabolism and Prolidase Enzyme Activity in Patients with First-Episode of Psychosis, Depression and Anxiety**

In this study we aimed to assess the alterations in prolidase enzyme activities cobalamine and fatty acid metabolisms in patients with psychiatric disorders. It was planned as a case-control study. We enrolled to the study 43 healthy-volunteers and 81 psychiatric patients diagnosed according to the DSM IV criteria as 25 first-episode of psychosis, 36 depression and 30 anxiety patients. As a result of biochemical analyses, all of the three patient groups had high total homocysteine (tHcy) levels. Although red blood cell membrane (RBC) palmitic acid (16:0) and stearic acid (18:0) levels of patients with first-episode of psychosis and depression were less than healthy controls, the levels of serum prolidase enzyme activities of patients with first-episode of psychosis also were low compared with controls. Elevated tHcy levels in patients having psychosis, depression and anxiety which are the most frequently seen psychiatric disorders, may indicate impaired homocysteine-metionin cycle. The decrease in the level of RBC membrane palmitic acid (16:0) and stearic acid (18:0) of patients with first-episode of psychosis and depression led us to consider that both of these disorders may have an organic base. Furthermore, the decrease in the serum prolidase enzyme activities in the patients with first-episode of psychosis might be the result of increased proline levels which is an inhibitor

of enzyme and also may lead to changes in glutamat and GABA metabolisms. This the prolin levels should be further investigated in those patients.

**Key words** : **First-episode of psychosis, prolidase, depression, anxiety, folate, cobalamine, G6PD, MDH, RBC membrane fatty acids,**

**Supported by** :**GATA Haydarpasa Training Hospital.**

**Author** : **Burhanettin BOLAT.**

**Counsellor** : **Mustafa GÜLTEPE.**

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR .....	iv
TÜRKÇE ÖZET.....	v
İNGİLİZCE ÖZET .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR .....	x
ŞEKİLLER .....	xii
TABLolar .....	xiii
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Yağ Asitlerinin Metabolizması.....	3
2.1.1. Yağ Asitlerinin Sentezi.....	7
2.1.1.1. Asetil-KoA ve Malonil-KoA Sentezi.....	7
2.1.1.2. Asetil-KoA ve Malonil-KoA'dan Yağ Asidi Sentezi.....	9
2.1.1.3. Yağ Asiti Sentezi İçin NADPH Kaynakları .....	10
2.1.1.4. Yağ Asit Zincirlerinin Uzatılması ve Çift Bağ Katılması.....	15
2.1.2. Yağ Asitlerinin Oksidasyonu.....	18
2.1.2.1. Beta ( $\beta$ )-oksidasyon .....	19
2.1.2.2. Alfa ( $\alpha$ )-oksidasyon .....	20
2.1.2.3. Omega ( $\omega$ )-oksidasyon.....	21
2.1.3. Hücre Membranlarında Yağ Asitlerinin Yerleşimi.....	21
2.2. Kobalamin Metabolizması.....	23
2.2.1. Metil Malonik Asit (MMA) Metabolizması.....	24
2.3. Folat Metabolizması.....	26
2.3.1. Homosistein Metabolizması.....	28
2.4. Prolidaz Enzimi.....	29
2.4.1. Prolin Metabolizması.....	30
GEREÇ VE YÖNTEM.....	32
3.1. Gereçler.....	32

3.2. Biyokimyasal Yöntemler.....	34
3.3. İstatistiksel Yöntemler.....	43
BULGULAR.....	45
TARTIŞMA .....	50
SONUÇ VE ÖNERİLER .....	66
KAYNAKLAR .....	67

## SİMGELER VE KISALTMALAR

5MTHF	: 5-metil THF
AA	: Araşidonik asit
ACP	: Açil taşıyıcı protein
ark.	: Arkadaşları
ATP	: Adenozil tri fosfat
Bkz.	: Bakınız
CBS	: Sistatyonin-b-sentaz
DER	: Düz endoplazmik retikulum
DHA	: Dokozahekzaenoik asit
EPA	: Eikozapentaenoik asit
FAS	: Yağ asit sentaz
G6PD	: Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz
GABA	: Gama amino bütirikasit
GC	: Gaz kromatografi
GCPII	: Glutamat Karboksipeptidaz II
Hb	: Hemoglobin
LA	: Linoleik asit
MAT	: Metyonin adenozil transferaz
MDA	: Malondialdehit
MDH	: Malat dehidrogenaz
MMA	: Metil Malonik Asit
MUFA	: Monounsature yağ asitleri
NAD	: Nikotin Adenin Dinükleotit.
NADP	: Nikotin Adenin Dinükleotit Fosfat
NAE	: N-asetil etonolaminler
NMDA	: N-Metil-D-Aspartat
NO	: Nitrik oksit
OAA	: Okzaloasetik asit
PFY	: Pentoz fosfat yolu
PPP	: Pridoksal pirofosfat

PROD : Prolin dehidrojenaz  
PUFA : Poliunsature yağ asitleri  
ROS : Reaktif oksijen türleri  
SAM : S-adenozilmetyonin  
SFA : Sature yağ asitleri  
SSS : Santral sinir sistemi  
TG : Trigliserid  
tHcy : Total homosistein  
THF : Tetrahidrofolat  
TIT : Tam idrar tetkiki  
TK : Transkobalamin  
t-MDH : Trombosit içi MDH  
USFA : Unsature yağ asitleri  
vit B12 : vitamin B12  
VKİ : Vücut kitle indeksi

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1. Doymuş ve doymamış yağ asitlerinin zincir yapısı ve yer aldıkları yapılardaki konfigürasyonları	6
2.2. Yağ asidi sentezinde asetil KoA ve NADPH kaynakları	8
2.3. Asetil KoA karboksilaz enziminin regulasyonu.	9
2.4. Yağ asit sentaz (FAS) kompleksinin yapısı.	10
2.5. Yağ asit sentezinde reaksiyonlar dizisi.	11
2.6. Pentoz Fosfat Yolu (PFY)	13
2.7. Yağ asit zincirlerinin uzatılması	16
2.8. n3 ve n6 PUFA'ların çift bağ eklenme, zincir uzatma, zincir kısaltma işlemleri ve metabolitlerine dönüşümü	17
2.9. Yağ asitlerinin aktiflenmesi ve $\beta$ -oksidasyonu	20
2.10. Yağ asitlerinin membranlarda yerleşimi	22
2.11. Vitamin B12'nin kofaktör olarak kullanıldığı iki önemli tepkime.	24
2.12. Propiyonil KoA'nın metabolizması ve MMA oluşumu.	25
2.13. Metyonin ve folat döngüleri	27
2.13. Prolidaz enzimi ve prolin metabolizması	31

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
2.1. İnsan Dokularında Bulunan Önemli Yağ Asitleri	4
2.2. Yağ Asit Zincirlerindeki Karbon Atomlarının Numaralandırılma Sistemleri	4
3.1. Thermo Focus GC Gaz Kromatografi Cihazının Kromatografik Sistemi	43
4.1. Hasta Ve Kontrol Gruplarının Demografik Özellikleri	45
4.2. Biyokimyasal Parametreler ve Karşılaştırmaları	46
4.3. Biyokimyasal Parametreleri referans aralıkların Dışında Olan Hastaların Oranları	46
4.4. Eritrosit Membranı Yağ Asit Düzeyleri	48

## GİRİŞ

Bu tez konusu Gülhane Askeri Tıp Akademisi Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Servisi'nin 10 Ocak 2005 tarih ve 0530-1-05/8 sayılı yazısıyla verilmiş ve çalışmaya başlanılmıştır.

Bu çalışma, psikiyatrik hastalıklar içinde en sık görülen psikoz, depresyon ve anksiyete bozukluğunda vitamin B12 (vit B12), folat metabolizmaları, lipojenik enzim düzeyleri, eritrosit membranı yağ asit kompozisyonu ve prolidaz enzim aktivitelerinde meydana gelen değişiklikler ile bu değişiklikler arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amacıyla yapılmıştır.

Çağımızda teknolojinin gelişmesiyle birlikte psikiyatrik hastalıkların görülme sıklığında da artış olmuştur. Bu durum araştırmacıların bu hastalıklara ilgisini artırmış özellikle nedenlerini ortaya koymak için birçok araştırma yapılmaya başlanmıştır. Bu çalışmaların sonuçları genetik faktörlerle birlikte diyetsel etkenlerinde psikiyatrik hastalıkların gelişiminde önemli olabileceği görüşünü ortaya koymuştur. Günümüzde modern toplumların yaşam tarzındaki değişimler, endüstriyel gıdalarla ve fast-food tarzı beslenmeyi beraberinde getirmiştir. Özellikle diyetin lipit ve vitamin içeriğindeki dengesizlikler birçok hastalıkla birlikte psikiyatrik hastalıkların etyolojisinde de suçlanmıştır.

Psikiyatrik hastalıklarla ilgili yapılan çalışmalar özellikle psikotik ve depresif hastalarda folat ve vit B12 metabolizmalarında santral sinir sistemi (SSS) ile ilişkili bozukluklara yol açabilecek değişiklikler olduğunu ortaya koymuştur. Benzer olarak bu hastaların serum ve hücre membranı yağ asit düzeylerinde de değişiklikler olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir.

Çalışmamızda, psikiyatrik hastalıkların büyük bir kısmını oluşturan psikoz, depresyon ve anksiyete bozukluğu olan hastalar incelenmiştir. Bu hastaların folat, vit B12 metabolizmaları ile lipogenez ve eritrosit membranı yağ asit düzeylerinde meydana gelen değişiklikler yanında prolidaz enzim aktivitelerindeki farklılıklar ortaya konulmaya çalışılmıştır. Çalışmamız psikiyatrik hasta populasyonunda bu ilişkilerin incelenmesi açısından özgün bir çalışmadır. Diğer yandan psikoz, depresyon ve anksiyeteli hastaların

serum prolidaz enzim aktivitelerinde meydana gelen değişiklikler ve bu değişikliklerin hastalıkların gelişimiyle ilişkisinin incelenmesi açısından ise literatürdeki ilk çalışmadır.

## GENEL BİLGİLER

### 2.1. Yağ Asitlerinin Metabolizması

Organizmada önemli fonksiyonları olan lipitlerin yapıtaşları olan yağ asitleri bir ucunda karboksil grubu, diğer ucunda metil grubu içeren uzun hidrokarbon zincirlerinden oluşan moleküllerdir. Amfipatik özellikte olan yağ asit moleküllerinde hidrokarbon zincir hidrofobik özellik taşıırken diğer uçtaki karboksil grup hidrofilik özellik taşır. Karboksil grubunun  $pK_a$  değeri 4,8 dir ve bu nedenle pH 7'de iyonize haldedir. Bu sayede karboksil grup suyla etkileşerek, yağ asidine suda erime özelliği kazandırırken, hidrofobik hidrokarbon zincir polar olmayan ortama yönelerek suda erimeme özelliği kazandırır (1).

Yağ asitleri organizmada yağ açıl esterleri şeklinde, az bir kısmı ise serbest halde bulunmaktadır. Trigliseridler (TG), fosfolipitler, glikolipitler, sfingolipitler, prostoglandinler ve kolesterol esterlerini içeren birçok bileşiğin yapısında yağ açıl esterleri halinde bulunurlar. Serbest yağ asitleri ise bütün hücre ve dokularda düşük konsantrasyonlarda bulunur ve esterleşmemiş haldeki yağ asitlerini ifade ederler (1,2). Serbest yağ asitleri hücre içinde yağ asit bağlayıcı proteine bağlı halde iken plazmada uzun zincirli serbest yağ asitleri albümin ile bağlanmış olarak taşınırlar. Kısa zincirli yağ asitleri ise iyonlaşmamış veya anyon halinde suda daha fazla çözünür halde bulunurlar(1,2).

Doğal olarak bulunan yağ asitleri genellikle çift karbon sayısına sahiptirler ve doymuş (çift bağ içermeyen) ya da doymamış (bir ya da daha fazla sayıda çift bağ içeren) yağ asiti zincirlerine sahip olabilirler. Yağ asitlerinin ve türevlerinin erime dereceleri zincir uzunluğu artışı ile doğru orantılı, çift bağ sayısı ile ters orantılıdır. Örneğin 25 °C'de 12-24 karbon atomuna sahip doymuş yağ asitleri katı iken, aynı uzunluğa sahip doymamış yağ asitleri sıvıdır. Lipitlerin yağ asidi içerikleri fonksiyonlarına bağlı olarak değişmektedir. Depo lipidleri katı halde olmaları nedeniyle daha çok doymuş yağ asidi içerirken membran lipidleri ise tüm vücut ısılarında sıvı halde olacak şekildedirler (1,2).

**Tablo 2.1.** İnsan Dokularında Bulunan Önemli Yağ Asitleri. Altan (3)'dan alınmıştır.

Özel İsim	Sistemik İsim	Karbon Atomu Sayısı	Çift Bağ Sayısı	Çift Bağın Yeri	Omega Sınıfı*
Laurik asit	Dodekanoik asit	12	0		
Miristik asit	Tetradekanoik asit	14	0		
Palmitik asit	Hekzadekanoik asit	16	0		
Palmitoleik asit	Hekzadekanoik asit	16	1	9	Omega-7
Stearik asit	Oktadekanoik asit	18	0		
Oleik asit	Oktadekanoik asit	18	1	9	Omega-9
Linoleik asit	Oktadekadienoik asit	18	2	9, 12	Omega-6
Linolenik asit	Oktadekatrienoik asit	18	3	9, 12, 15	Omega-3
Araşidonik asit (AA)	Eikozatetraenoik asit	20	4	5, 8, 11, 14	Omega-6
EPA	Eikozapentaenoik asit	20	5	5, 8, 11, 14, 17	Omega-3
DHA	Dokozahexaenoik asit	22	6	4, 7, 10, 13, 16, 19	Omega-3

\*Doymamış yağ asitleri için

Yağ asitleri isimlendirilirken karbon sayısının sonuna –oik eki getirilir. Doymuş yağ asitleri –anoik, doymamış yağ asitleri ise –enoik eki alır. Karbon atomlarının numaralandırılmasında ise değişik sistemler kullanılır; karbon atomları karboksil grubundan (karboksil veya  $\Delta$  numaralandırma sistemi) veya karboksil gruba en uzakta bulunan metil grubundan (omega veya n numaralandırma sistemi) başlanarak numaralandırılır (Tablo 2.2) (1,2).

**Tablo 2. 2.** Yağ Asit Zincirlerindeki Karbon Atomlarının Numaralandırılma Sistemleri

	COOH-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub>									
Karboksil veya $\Delta$ numaralandırma sistemi	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Omega veya n numaralandırma sistemi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
Yunan harfleri ile gösterim		$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$					$\omega$

Yağ asitleri genellikle kısa sembollerle gösterilir. Örneğin 16 karbonlu palmitik asit 16:0 şeklinde gösterilirken 18 karbonlu ve 9 ve 10. karbonlar

arasında bir çift bağ içeren oleik asit  $18:1\Delta^9$  şeklinde gösterilir.  $\omega$  veya  $n$  numaralama sisteminde ise aynı yağ asidi  $18:1\omega(n)-9$  şeklinde gösterilir (1,2).

Yağ asitleri karbon sayılarına göre kısa (2-4 karbon), orta (6-10 karbon) ve uzun (12-24 karbon) zincirli yağ asitleri olarak sınıflandırılabilir (4). Kısa ve orta uzunluktaki yağ asitleri membranlardan kolaylıkla geçebilirken uzun zincirli yağ asitlerinin membranlardan geçmesi için taşıyıcı sistemlere ihtiyaçları vardır (2).

Yağ asitleri ayrıca içerdikleri çift bağlara göre şu şekilde sınıflandırılabilirler (2);

- A. Doymuş yağ asitleri (sature yağ asitleri, SFA)
- B. Doymamış yağ asitleri (unsature yağ asitleri, USFA)
  - a. Tekil doymamış yağ asitleri (Monounsature yağ asitleri; MUFA)
  - b. Çoğul doymamış yağ asitleri (poliunsature yağ asitleri; PUFA)

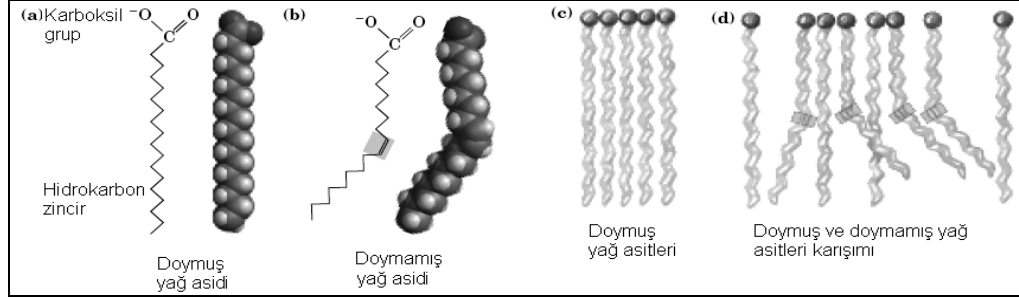
### **A. Doymuş Yağ Asitleri**

Yapılarında çift bağ içermeyen yağ asit zincirleridir. Vücutta bulunan tüm TG ve fosfolipitlerin sn-1 pozisyonunda genellikle doymuş yağ asitleri yer alır. Doymuş yağ asitleri omurgalarındaki tek bağlar nedeniyle kendi etraflarında rahatça dönebilen ve bükülebilen düz bir hidrokarbon zincir yapısına sahiptirler. Bu nedenle çeşitli şekiller alabilirler. Düz zincir yapıları sayesinde özellikle membranlarda olmak üzere yer aldıkları yapı içinde sıkıca paketlenerek sert veya katı alanlar oluştururlar (Şekil 2.1).

### **B. Doymamış Yağ Asitleri**

Moleküllerinde bir veya daha fazla çift bağ içerirler. Çift bağlar hidrokarbon zincirde bir veya birden çok sert bölge oluştururlar. Doymamış yağ asitleri yapılarındaki karbon atomlarının çift bağ eksenindeki dizilişlerine göre geometrik izomerizm gösterirler. Açıl zincir çift bağla aynı taraftaysa oleik asitte olduğu gibi cis-, ters tarafta ise oleik asidin doğal olmayan bir izomeri olan elaidik asitte olduğu gibi trans- haldedir. Çift bağ cis pozisyonunda iken hidrokarbon zincirine göre  $120^\circ$ lik bir açı oluştururken

trans pozisyonunda ise düz bir zincir oluşturur (1,2). Memelilerde görülen doğal doymamış yağ asitlerinde bulunan çift bağların tümü cis konumundadır (3). İki veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinde çift bağlar ardışık gelmeyip aralarında bir metilen köprüsü vardır. Bu özellik yağ asitlerini otooksidasyondan korumaya yöneliktir (4).



**ŞEKİL 2.4:**Doymuş ve doymamış yağ asitlerinin zincir yapısı ve yer aldıkları yapılarındaki konfigürasyonları: (a) Doymuş yağ asidi (b) doymamış yağ asidinin zincir yapısı, (c) doymuş yağ asitleri, (c) doymuş ve doymamış yağ asitleri karışımının konfigürasyonları. Kılıç (5)'dan alınmıştır.

Bir yağ asidindeki cis çift bağların sayısındaki artış yağ asidinin değişik şekiller almasına yol açar. Örneğin araşidonik asit yapısındaki dört tane cis çift bağ nedeniyle "U" şeklinde bir yapı sergiler. Yağ asitlerinin aldıkları bu şekiller membranlar içinde paketlenmelerinde önemlidir. Trans çift bağların varlığı bu ilişkileri bozarak membran yapılarında değişikliklere neden olur. Trans yağ asitleri doğal sıvı yağların katılaştırılması veya hidrojenlenmesi (doyurulması) sırasında ara ürün olarak oluşmaktadır. Ayrıca doymamış yağ asitleri katalizör eşliğinde ısıtıldığında da çift bağlar cis şeklinden (L-şekli) trans şekline (düz şekil) dönüşür (1,2).

Doymamış yağ asitleri omega sınıflandırılması ile başlıca  $\omega 3$ ,  $\omega 6$ ,  $\omega 7$  ve  $\omega 9$  olmak üzere dört sınıfa ayrılır. Her sınıf bir yağ asidi ailesini oluşturur. Memelilerde  $\omega 7$  ve  $\omega 9$  ailesinin üyeleri ihtiyaç olduğunda organizmada sentezlenebilmektedir. Ancak  $\omega 3$  ve  $\omega 6$  ailesinin üyelerinin sentezi, ancak o sınıflara ait kaynak yağ asitleri olan linolenik asit ( $18:3\omega 3$ ) ve linoleik asit

(18:2 $\omega$ -6) varlığında yapılabilir. Bundan dolayı bu yağ asitleri esansiyel yağ asitleri olarak kabul edilmektedirler.

Doymamış yağ asitleri özellikle PUFA'lar membran fosfolipitlerinin yapısına katılarak membran organizasyonu ve membran akışkanlığının sürdürülmesini sağlarlar. Aynı zamanda elektriksel sinyal iletimi, norotransmitter serbestlenmesi ve reseptör duyarlılığı gibi membran fonksiyonlarında önemlidirler (6-9). Omega-3 ve omega-6 serisi PUFA'lar eikozanoidlerin sentezinde prekürsör olarak kullanılırlar (7,10-12).

### **2.1.1. Yağ Asitlerinin Sentezi**

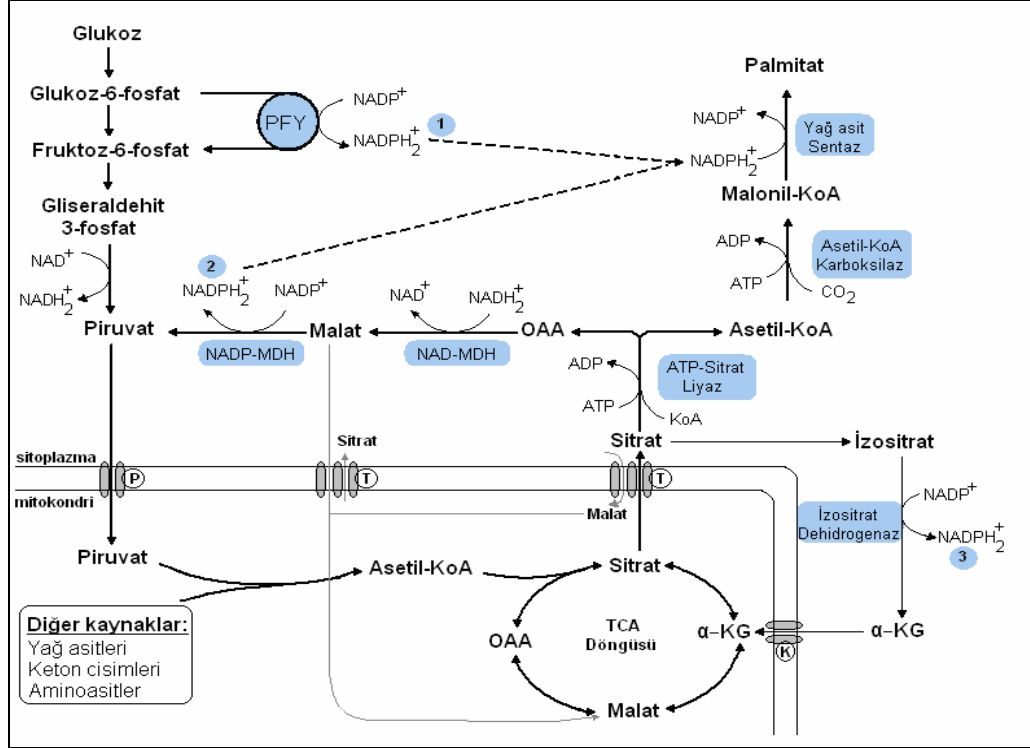
İnsan organizması için gerekli yağ asitlerinin çoğu besinlerle sağlanır. Ancak başta karaciğer olmak üzere beyin, böbrek, meme bezi ve yağ dokusu gibi çeşitli dokularda “*de novo*” yağ asiti sentezi yapılır. Besinsel karbonhidrat alımı fazla olduğunda, karbonhidratlar yağ asitlerine dönüştürülerek TG halinde yağ dokusunda depolanır (1).

Birçok dokuda aynı şekilde gerçekleşmekte olan yağ asiti sentezindeki ana yol sitozolde yer alır. Tam veya “*de novo*” sentez olarak da bilinen bu metabolik yol enerjinin büyük miktarlarda bulunduğu durumda yani yüksek adenosil tri fosfat (ATP) içeriğine sahip olduğunda gerçekleşir (3). Sentezin düzenlenmesi karbon vericisi olan malonil-KoA'nın sentezlendiği basamakta yapılır.

#### **2.1.1.1. Asetil-KoA ve Malonil-KoA Sentezi**

Yağ asiti sentezinde asetil KoA'lardan gelen karbonlar kullanılır. Bu asetil-KoA'ların kaynağı çoğunlukla glikoliz yolunda üretilen piruvattır. Taşıyıcı sistemlerle mitokondriye giren piruvat yanında yağ asitlerinin, keton cisimlerinin ve amino asitlerin yıkımından da asetil KoA oluşur. Oluşan asetil KoA, okzaloasetat (OAA) ile kondanse olarak krebs döngüsünün ilk ara ürünü olan sitratın yapısına katılır. Enerjinin fazla olduğu durumlarda büyük miktarda ATP'nin varlığı “izositrat dehidrogenaz” enzimini inhibe ederek sitrat ve izositrat birikimine neden olur. Mitokondri içerisinde biriken sitrat sitozole geçerek “sitrat liyaz” enzimi tarafından ATP gerektiren bir reaksiyon

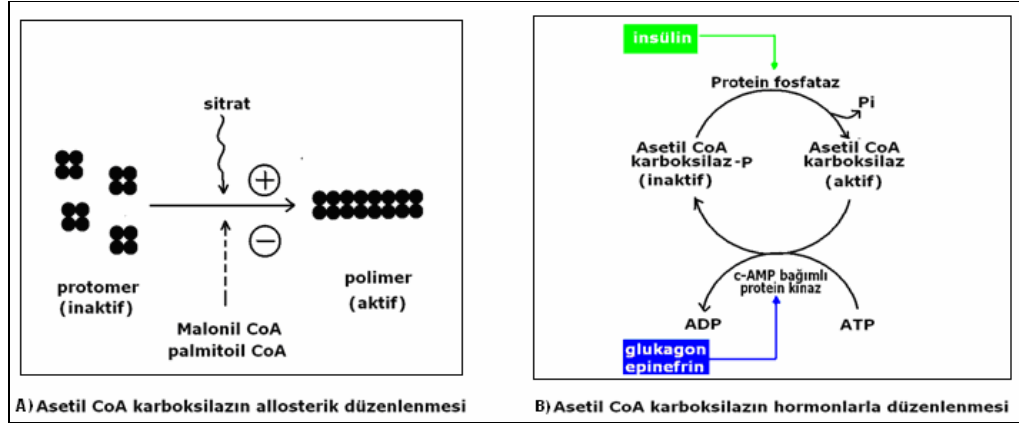
ile sitozolik asetil KoA ve OAA'e parçalanır. Sitozolda Asetil-KoA gene ATP'nin kullanıldığı bir tepkime ile malonil-KoA'ya karboksile edilir. Kofaktör olarak biyotin kullanan "asetil-KoA karboksilaz" enzimi tarafından katalizlenen bu tepkime yağ asiti sentezinin hız kısıtlayıcı basamağıdır (Şekil 2.2) (2,3,13).



**Şekil 2.2:** Yağ asidi sentezinde asetil KoA ve NADPH kaynakları. PFY: Pentoz fosfat yolu, OAA: Okzalo asetik asit, KG: Ketogluterat, P: Piruvat taşıyıcı sistem, T: Trikarboksilat taşıyıcı sistem, K: Ketogluterat taşıyıcı sistem.

Asetil-KoA karboksilaz, birbirine benzer alt birimlerden oluşmuş protomer yapıda bir enzimdir. Her alt birim biyotin, biyotin karboksilaz, biyotin karboksil taşıyıcı protein, transkarboksilaz ve düzenleyici bir allosterik nokta içerir. İnaktif protomer halinde sentezlenen enzim, sitrat tarafından polimer haline getirilerek aktiflenir. Malonil KoA ve palmitoil KoA ise polimeri bozarak enzimi inaktif hale getirir (Şekil 2.3A) (3).

Asetil KoA karboksilaz aktivitesi fosforilasyon yoluyla da kontrol edilir. Enzim glukagon ve epinefrin varlığında fosforillenerek inaktifleşir, insülin varlığında ise defosforilasyon ile aktifleşir (Şekil 2.3B) (14).

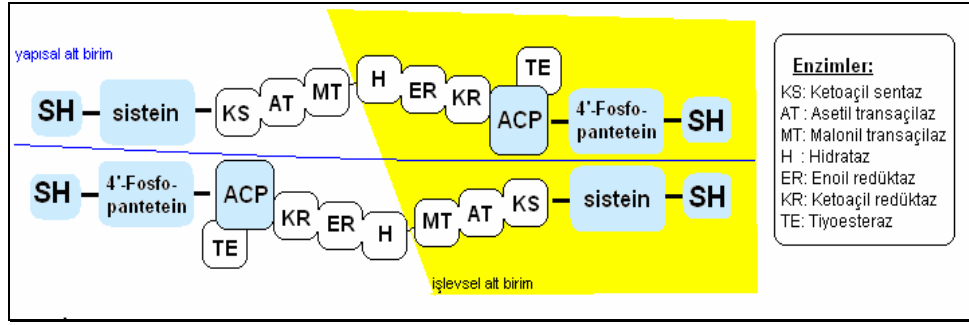


**Şekil 2.3:** Asetil KoA karboksilaz enziminin regülasyonu.

Bu iki kontrol mekanizmasının etkisi dakikalar içinde meydana gelmektedir. Bu nedenle de “enzimin kısa vadeli kontrolü” olarak bilinmektedir. Bunun dışında ayrıca “uzun vadeli kontrol mekanizması” da denilen ve enzim sentezi üzerinden gerçekleşen bir kontrol mekanizması da vardır. Diğer yağ asidi sentezi enzimleri olan yağ asit sentaz (FAS), sitrat liyaz, glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) ve malat dehidrogenaz (MDH) için de geçerli olan bu kontrol mekanizması, enzimlerin hücre içi konsantrasyonlarının düzenlenmesi şeklindedir. Karbonhidratça zengin veya yağdan yoksun beslenildiğinde bu enzimlerin sentezi artar. Mutlak açlık durumunda ise bu enzimlerin sentezi azalır (2).

### 2.1.1.2. Asetil-KoA ve Malonil-KoA'dan Yağ Asidi Sentezi

Yağ asidi sentezi, birbiriyle eş görünümlü iki monomerden oluşan FAS enzim kompleksi (EC 2.3.1.85) tarafından katalizlenir. Büyük bir protein (500 kDa) olan enzimin her bir monomeri, yapısında yedi enzim, bir açıl taşıyıcı protein (ACP), bir sistein-SH grubu ve bir adet de 4'-fosfopantetein-SH gurubu içerir (Şekil 2.4) (1,14).



**Şekil 2.4:** Yağ asit sentaz (FAS) kompleksinin yapısı.

FAS enzim kompleksinin sistein-SH grubuna bir asetil-KoA molekülünün bağlanmasıyla başlayan yağ asit sentezi yedi basamaklı bir reaksiyon döngüsüdür. Her döngüde enzimin fosfopantetein-SH grubuna bağlanan bir malonil-KoA molekülünden gelen iki karbonlu birimler sistein-SH grubundaki zincire aktarılır. Reaksiyon döngüsünün ard arda tekrarlanması ile 12-16 C'lu yağ asidi sentezlenir. Bu işlemlerde enerji kaynağı olarak nikotin adenin dinükleotid fosfat (NADPH) kullanılır (Şekil 2.5) (2).

Sentezlenen yağ asitinde bulunan karbonların başlangıçta asetil KoA'dan alınan iki tanesi hariç tamamı malonil KoA'dan gelir. Orijinal asetat kalıntısı yağ asitinin omega (metil) ucunda bulunurken, malonil KoA'dan gelenler karboksilik ucu oluştururlar (2).

Yağ asiti sentezi zincir 16 karbona ulaştığında durur. Bunun nedeni ACP-SH'dan açil grupları koparan tiyoesteraz enziminin aktivitesini en fazla 16 karbon uzunluğundaki yağ asitleri üzerinde gösterebilmesidir. Enzim sistemi tarafından sentezlenen yağ asidi açilgliserole eklenebildiği gibi, kolesterol esterifikasyonunda veya zinciri uzatılarak uzun zincirli yağ asitlerinin sentezinde de kullanılabilir (2).

### 2.1.1.3. Yağ Asiti Sentezi İçin NADPH Kaynakları

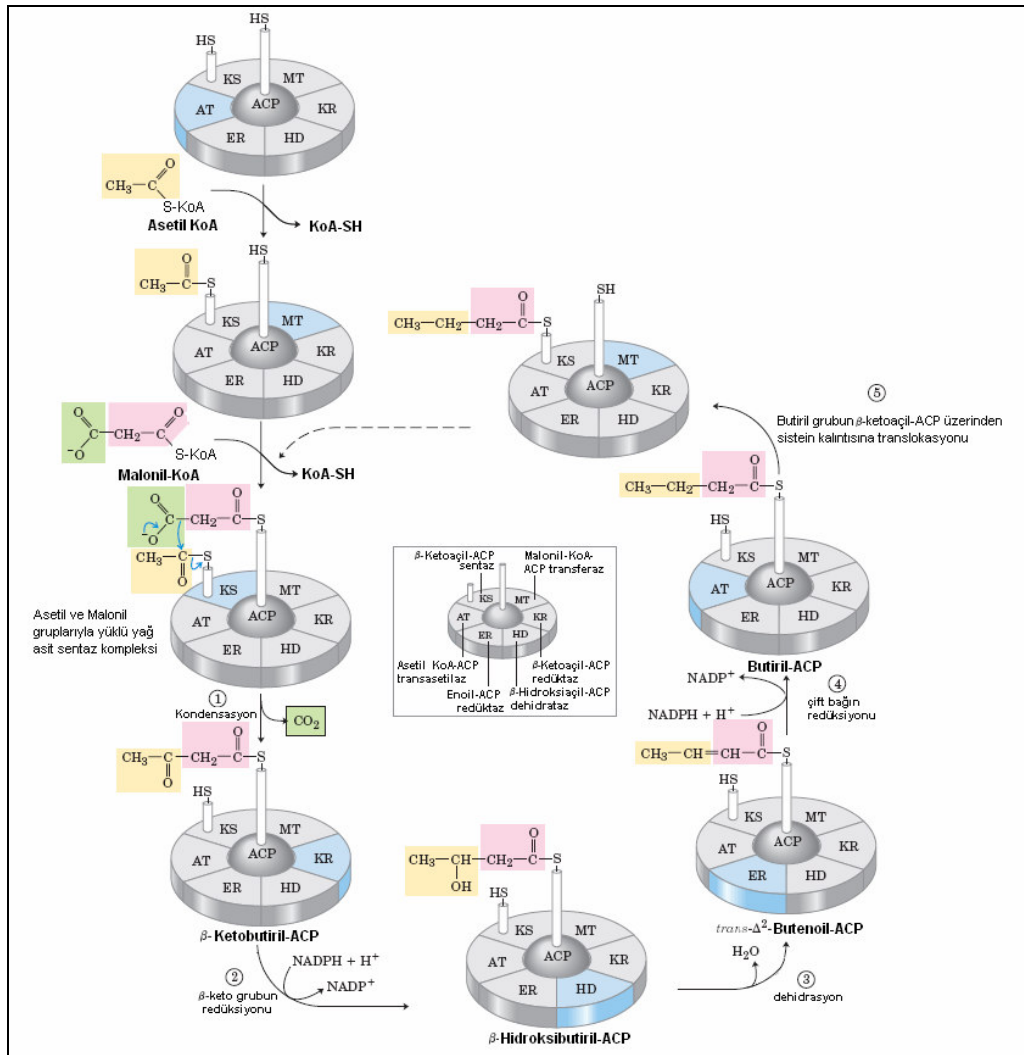
Yağ asit sentezinde indirgeyici ekivalanların vericisi olarak NADPH kullanılır. Bu NADPH'ların elde edildiği başlıca kaynaklar şunlardır (2); (Bkz. Şekil 2.2)

1. Pentoz Fosfat Yolu (PFY) (başlıca kaynak)

## 2. NADPH bağımlı MDH

## 3. Mitokondri dışı izositrat dehidrogenaz.

Aktif lipogenez koşullarında karaciğer hücrelerinde sitozolik NADPH/NADP oranının yüksek olması, yağ asit sentezi ve diğer biyomoleküllerin sentezi için indirgeyici bir ortam sağlar. Bu koşullarda sitozolik NADH/NAD oranının düşük olması, glikoliz ile yağ asit sentezinin aynı ortamda gerçekleşmesini mümkün kılar. Böylece karbonhidrat yıkım ürünlerinin lipogenezde kullanılması da sağlanmış olur (1).



Şekil 2. 5: Yağ asit sentezinde reaksiyonlar dizisi. Kılıç (5)'dan alınmıştır.

### **2.1.1.3.1. Pentoz Fosfat Yolundan NADPH Elde Edilmesi**

Yağ asit sentezinde kullanılan NADPH'nın ana kaynağı pentoz fosfat yoludur (PFY) (Bkz. Şekil 2.2). Bu yol, temel amacı organizmaya NADPH ve pentozlar sağlamak olan bir yoldur. PFY'de ATP üretilmez, oluşan NADPH'lar sitoplazmada gerçekleşen birçok reaksiyonda hidrojen vericisi olarak kullanılır. Elde edilen pentozlar DNA, RNA, ATP, KoA, NAD, FAD gibi birçok önemli bileşenin yapısına katılır. NADPH ise (1);

- a. Yağ asit, kolesterol ve steroidlerin sentezinde
- b. Ksenobiyotiklerin zehirsizleştirilmesinde kullanılan oksidaz sistemlerinde
- c. Glutasyonun indirgenmesinde
- d. Bazı aminoasitlerin metabolizmasında
- e. Glukronik asit metabolizmasında kullanılır.

Karaciğer, yağ dokusu, böbrek üstü bezler, tiroid, alyuvarlar, testis ve emzirme dönemindeki meme bezi gibi lipogenezin yoğun olduğu dokular etkin bir PFY'na sahiptir (2). Her iki yol da sitozolde olduğundan, PFY'da oluşan NADPH'ların yağ asit sentezinde kullanılması için herhangi bir membran ya da bariyer geçilmesi gerekmez (2).

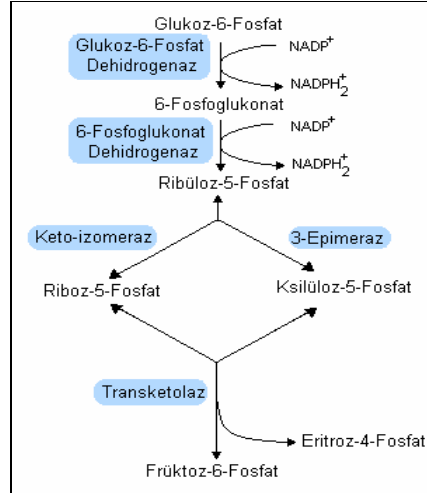
Glukozun metabolize edilmesinde glikolize alternatif yollardan biri olan PFY iki basamakta gerçekleşen bir yoldur (Şekil 2.6). Geri dönüşümsüz olan birinci basamak; PFY'nun hız kısıtlayıcı enzimi G6PD ve 6-fosfoglukonat dehidrogenaz tarafından katalizlenir. Bu sırada Glukoz 6 fosfat ribüloz 5-fosfata dönüşürken NADPH elde edilir. Yolun ikinci basamağı ise geri dönüşümlü olup oluşan bu 5 C'lu şekerler metabolize edilir.

#### **Glukoz 6-Fosfat Dehidrogenaz (G6PDH):**

G6PDH (E.C.1.1.1.49) molekül ağırlığı 60 kDa olan ve birbirine benzer alt ünitelerden oluşmuş bir dimerdir (4). İnsanlarda elektroforetik ve kinetik olarak yaklaşık 400 varyantı tespit edilmiştir (4).

G6PD, PFY'nun hız-kısıtlayıcı enzimi olduğu için hem lipogenezin hem de glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde rol alır (15). Aktivitesi, NADPH üretimi ve PFY'na karbon akışını sağladığından dolayı tüm hücreler

için gereklidir. Aynı zamanda nükleotit sentezinin öncül molekülü olan riboz 5-fosfat sentezinin düzenlenmesinden de sorumludur (16). Enzim aktivitesi hormonal ve besinsel faktörlerin kontrolü altındadır (2).



**Şekil 2. 6:** Pentoz Fosfat Yolu (PFY). Dikmen ve ark (2)'dan alınmıştır.

G6PD aktivitesi dokular arasında farklılık gösterir ve çoğunlukla büyüme hızı, indirgeyici biyosentez ve oksidatif streste dokuya özgü farklılıkları yansıtır. Yağ asit sentezini katalizleyen diğer enzimlerle birlikte G6PD, lipojenik enzim ailesini oluştururlar. G6PD dahil bu enzimlerin aktiviteleri hücredeki yağ asit sentez hızı ile paralel olarak değişir. Şiddetli açlık ya da yağdan zengin bir diyetle beslenildiğinde aktiviteleri azalırken yüksek karbonhidratlı bir yemek sonrası lipogenez hızındaki artışa bağlı olarak aktiviteleri artar (16).

İnsanlarda G6PD eksikliği "favizm" olarak bilinen, primer olarak oksidatif ajanlar veya viral hastalıklar gibi ekzojen stres varlığında klinik bulguların ortaya çıktığı bir hastalığa neden olur. Bu bulgular, lipogenezle ilişkili olarak değil hücrede indirgenmiş glutatyonun azalmasına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Oksidatif stres G6PDH aktivitesinde azalmaya neden olur. Bunun sonucunda NADPH seviyelerinde ve dolayısıyla da indirgenmiş glutatyon seviyelerinde azalma meydana gelir. Hücre içi indirgenmiş glutatyon azalınca eritrositler hemolize karşı savunmasız kalırlar. Yüksek

G6PD aktivitesi hem nöronal hücreleri hem de fibroblastları hidrojen peroksid bağımlı hücre ölümünden de korumaktadır (16)

#### **2.1.1.3.2. NADPH Bağımlı MDH'dan NADPH Elde Edilmesi**

Mitokondriden sitoplazmaya geçen sitratın parçalanmasıyla açığa çıkan asetil KoA, yağ asit sentezine yönelirken sitoplazmada serbest kalan OAA, sitoplazmik "NADH bağımlı MDH (NADH-MDH)" ile malata dönüştürülür. Bu reaksiyon için gereken NADH glikolizden sağlanır. Daha sonra malatın "NADPH bağımlı MDH (NADPH-MDH)" ile piruvata dönüştürülmesi esnasında NADPH elde edilir (Bkz. Şekil 2.2).

Malatın tamamı NADPH elde edilen bu yola girmez. Bir kısmı sitratın mitokondri dışına taşınmasında kullanılan trikarboksilat taşıyıcı sistem de sitrat ile değiş-tokuş için kullanılarak mitokondri içine sokulur. Oluşan piruvat "piruvat taşıyıcılar" aracılığıyla mitokondri içine sokularak yeniden kullanıma kazandırılır (Bkz. Şekil 2.2) (2).

#### **Malat Dehidrogenaz (MDH)**

MDH'lar alt birimleri 30-35 kilodalton molekül ağırlığına sahip dimer ya da homotetramer yapısında benzer alt üniteler içeren multimerik enzim grubudur (17-19). Bu enzimler hücrelerde malat ve OAA arasındaki geri dönüşümlü tepkimede katalizör olarak görev alırlar.

MDH'ların hücredeki yerleşimleri, koenzim özgülükleri ve fizyolojik fonksiyonları farklı birçok tipi vardır (20). Memeli hücrelerinde üç tip MDH tanımlanmıştır. Sitozolik NADPH bağımlı malik enzim (s-NADPH-MDH), sitozolik NADH bağımlı malik enzim (s-NADH-MDH) ve mitokondrial NADH/NADPH bağımlı malik enzim (m-NADH/NADPH-MDH) (19). Sitoplazmada yer alan NADPH-MDH (EC 1.1.1.40)  $Mg^{2+}$  veya  $Mn^{2+}$  varlığında malatın, piruvata dekarboksilasyonunu katalizler (19,21,22). Bu reaksiyon sonucunda NADPH oluşurken bir molekül de  $CO_2$  açığa çıkar. Enzim süksinil-KoA, asetil- KoA ve palmitoil- KoA tarafından aktive edilir.

NAD bağımlı MDHlar ise ökaryotik hücrelerde mitokondri ve sitoplazma olmak üzere iki farklı bölümde yer almaktadır (20,22,23).

Sitoplazmik MDH kofaktör olarak NADH kullanarak OAA'in malata dönüşümünü katalizleyen ve kimyasal olarak 35000 dalton ağırlığında alt birimlerden oluşmuş bir enzimdir. Mitokondrial MDH ise (EC 1.1.1.37); krebs döngüsünde yer alır ve NADH açığa çıkan bir reaksiyon olan malatın OAA'e dönüşümünü katalizler. Enzim kofaktör olarak hem NADH hem de NADPH kullanabilmekle birlikte, fizyolojik şartlarda NADH tercih edilmektedir (19).

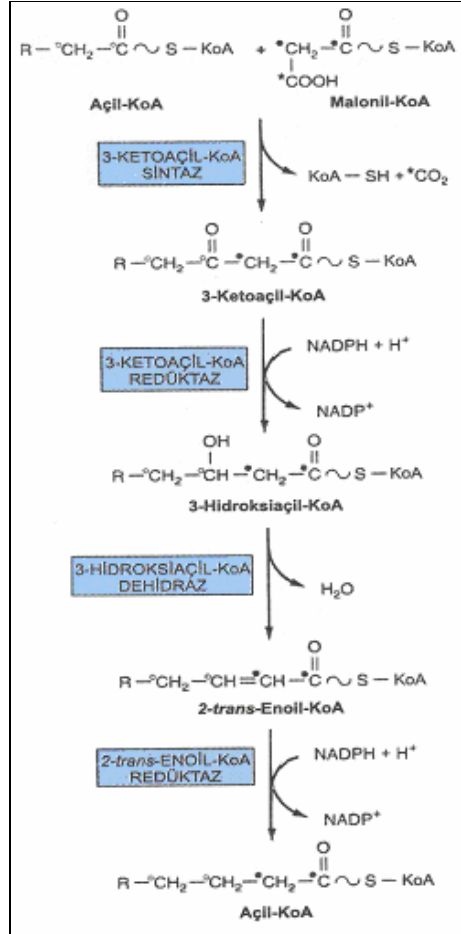
#### **2.1.1.4. Yağ Asit Zincirlerinin Uzatılması ve Çift Bağ Katılması**

Yağ asit sentez reaksiyonlarının son ürünü 16 karbonlu palmitik asittir. Ancak insanlarda daha uzun zincirli (18, 20, 22 ve 24 C'lu) yağ asitlerine de gereksinim vardır. Bu uzun zincirli yağ asitleri diyetten veya düz endoplazmik retikulum (DER) (mikrozomal elangasyon sistemi) ve mitokondride yağ asit zincirlerinin uzatılmasıyla elde edilir (1). DER'larda daha aktif olan bu işlem, en az 10 karbon uzunluğunda olan doymuş ve doymamış yağ asitlerine malonil-KoA'dan iki karbonlu birimlerin aktarılmasıyla gerçekleştirilir. İnsanlarda çoğunlukla palmitik asit (16:0) ve stearik asit (18:0) öncül molekül olarak kullanılır. Dört reaksiyonda gerçekleşen işlemde enerji kaynağı olarak NADPH tercih edilmekte ancak NADH'da kullanılabilir (Şekil 2.7) (2). Mikrozomal zincir uzatma sistemleri aracılığıyla başlıca karaciğerde 18-24 C'lu yağ asitleri sentezlenir. Özellikle miyelinizasyon sırasında beyinde de bu işlem çok artarak, sfingolipit sentezi için gerekli 22-24 C'lu yağ asitleri sağlanır (1).

Mitokondri de bulunan sistemde ise, asetil vericisi olarak asetil-KoA kullanılır. Bu sistem kabaca  $\beta$ -oksidasyonun tersi gibi düşünülebilirse de farklı enzimler kullanılmaktadır. NADH bağımlı olan bu sistem artmış alkol oksidasyonu gibi NADH/NAD oranının yüksek olduğu durumlarda daha aktiftir (1).

Organizma uzun zincirli yağ asitlerini sentez edebilme yeteneği yanında yağ asit zincirlerine çifte bağlar sokabilme yeteneğine de sahiptir. Bu sayede uzun zincirli tekil veya çoğul çifte bağlı yağ asitleri sentezlenebilmektedir. İnsan dahil birçok memeli hücreninin DER'lerinde,  $\Delta^4$ ,  $\Delta^5$ ,  $\Delta^6$ ,  $\Delta^9$  karbonlara cis konumunda çift bağ katan dört farklı desaturaz

enzimi bulunmaktadır. Acil-KoA desaturazlar (EC 1.14.99), sitokrom b<sub>5</sub>'i de kapsayan monooksijenaz sistemi enzimleridir (2).  $\Delta^9$  desaturaz enzim sistemi ile palmitik asit (16:0) ve stearik asitten (18:0) sırasıyla palmitoleik asit (16:1 $\omega$ 7) ve oleik asit (18:1 $\omega$ 9) sentezlenir (2).



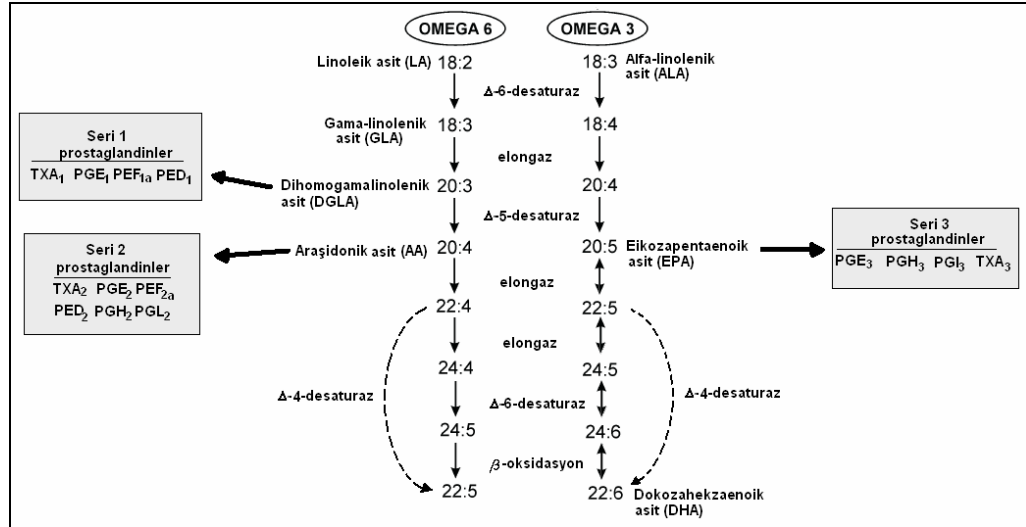
**Şekil 2.7:** Yağ asit zincirlerinin uzatılması. Dikmen ve ark (2)'dan alınmıştır.

Çift bağ eklenme işleminde doymuş bir yağ asidine sokulan ilk çift bağ hemen daima  $\Delta^9$  konusundadır. Doymamış yağ asitlerine katılan çift bağlar ise daima karboksil grup ile karboksil gruba en yakın çift bağ arasına katılır. Ayrıca var olan doymamış yağ asitlerine sokulan ek çift bağlar birbirlerinden bir metilen köprüsüyle ayrılırlar.

İnsanlarda  $\Delta^9$  konumdan daha ileriye çift bağ sokabilecek enzimler bulunmaz. Bu nedenle palmitik asit (16:0) ve stearik asitten (18:0),  $\alpha$ -linolenik asit (18:1 $\omega$ -3) ve linoleik asit (18:2 $\omega$ -6) sentezleyemezler (1).

İnsanlar için esansiyel olan bu yağ asitlerinin varlığında  $\omega 3$  ve  $\omega 6$  sınıfının diğer üyelerinin sentezi yapılabilir. Ancak hiçbir zaman  $\omega 3$  ve  $\omega 6$  sınıfı yağ asitleri birbirlerine dönüştürülemezler (9).

$\Delta 9$  desaturaz enziminin ana ürünlerinden biri olan oleik asit memeli yağ dokusu TG'lerinin yapısındaki temel yağ asididir. Ayrıca fosfolipit ve kolesterol esterlerinin sentezinde önemli roller almaktadır (24).  $\Delta 5$  ve  $\Delta 6$  desaturazlar ise çoğul doymamış yağ asitlerinin sentezi için gereklidirler. Zincir uzatma ve doymamış bağ eklenme işlemlerinin dönüşümlü olarak gerçekleşmesiyle hücre membran fonksiyonlarında çok önemli rolleri olan PUFA'lar sentezlenir.



**Şekil 2.8:**  $n 3$  ve  $n 6$  PUFA'ların çift bağ eklenme, zincir uzatma, zincir kısaltma işlemleri ve metabolitlerine dönüşümü. TX:Tromboksan, PG: Prostaglandin.

Memelilerde desaturazlar transkripsiyonel seviyede kontrol edilirler (24). Membran fosfolipitlerinin üretiminin devamlılığı açısından, üç desaturazın kontrolü de genel geri-bildirim mekanizmaları ile yapılır. Ancak  $\Delta 9$  desaturazın kontrolü  $\Delta 5$  ve  $\Delta 6$  desaturazlardan farklılık göstermektedir. Çünkü  $\Delta 9$  desaturazın ürünleri daha fazla çeşitlilikte lipit gruplarıyla bağlar

yapmaktadır. Bu karmaşık düzenleme birçok transkripsiyon faktörünün birleşimi ile yapılmaktadır (24).

### 2.1.2. Yağ Asitlerinin Oksidasyonu

Yağ asitleri asetil-KoA'dan başlanarak sentez edilirken, okside olduklarında da gene asetil-KoA oluştururlar. İşlemlerden birinin başlangıç maddesi diğerinin son ürünü olmasına rağmen yağ asidi oksidasyonu ile yağ asidi sentezi birbirlerinin ters çalışan şekilleri olmayıp tamamen farklı işlemlerdir ve hücrenin farklı organellerinde gelişir. Yağ asit sentezi sitoplazmada gerçekleşirken, oksidasyon mitokondri, endoplazmik retikulum ve peroksizomlarda gerçekleşir. Yağ asitleri, başlıca beta ( $\beta$ )-oksidasyon olmak üzere hücrelerin farklı organellerinde alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ) ve ( $\gamma$ ) oksidasyona uğrarlar. Yağ asit sentezinde koenzim olarak NADPH kullanılmasına ve enerji gerektirmesine karşılık, yağ asitlerinin oksidasyonunda en önemli yol olan  $\beta$ -oksidasyonda, enerji üretilir ve koenzim olarak NAD ve FAD kullanılır (2). Oksidasyon oksijen varlığı gerektiren aerobik bir işlemdir. Üretilen enerjinin %40'ı ATP yapısında toplanırken geri kalanı ısı olarak salınır (3).

Yağ asitlerinin metabolizmalarından sorumlu enzimlerle reaksiyona girmeden önce aktive form olan açil-KoA formuna çevrilirler. Bu işlem "açil-KoA sentetaz (tiyokinaz)" olarak da bilinen "açil-KoA ligaz" tarafından sağlanır (2). Bu olay yağ asit yıkımında enerjiye ihtiyaç duyulan tek basamaktır ve iki yüksek enerjili fosfat kullanılır (Şekil 2.9). "Açil-KoA sentetazlar", iç ve dış mitokondri membranlarının yanı sıra, endoplazmik retikulum ve peroksizom membranlarında da bulunurlar (2). En az beş farklı açil-KoA sentetaz tanımlanmıştır. Bunlar asetat (2C) ve propiyonatı (3C) aktive eden kısa-zincir Açil-KoA sentetaz; 4-10 karbonlu yağ asitlerini aktive eden orta-zincir Açil-KoA sentetaz; 12-18 karbonlu yağ asitlerini aktive eden uzun-zincir açil-KoA sentetaz; araşidonik asite özgün açil-KoA sentetaz ve sadece peroksizomlarda yerleşmiş 24-26 karbonlu yağ asitlerini aktive eden çok uzun-zincir açil-KoA sentetazdır (3).

### 2.1.2.1. Beta ( $\beta$ )-oksidasyon

Sitoplazmada aktive edilen açıl-KoA'lar  $\beta$ -oksidasyona uğramak için mitokondri matriksine geçmek zorundadırlar. Kısa ve orta uzunluktaki yağ asitleri herhangi bir taşıyıcı gerektirmeden mitokondri matriksine geçebilirken, uzun zincirli yağ açıl-KoA'lar iç mitokondrial membranı geçebilmek için karnitine ihtiyaç duyarlar (3).

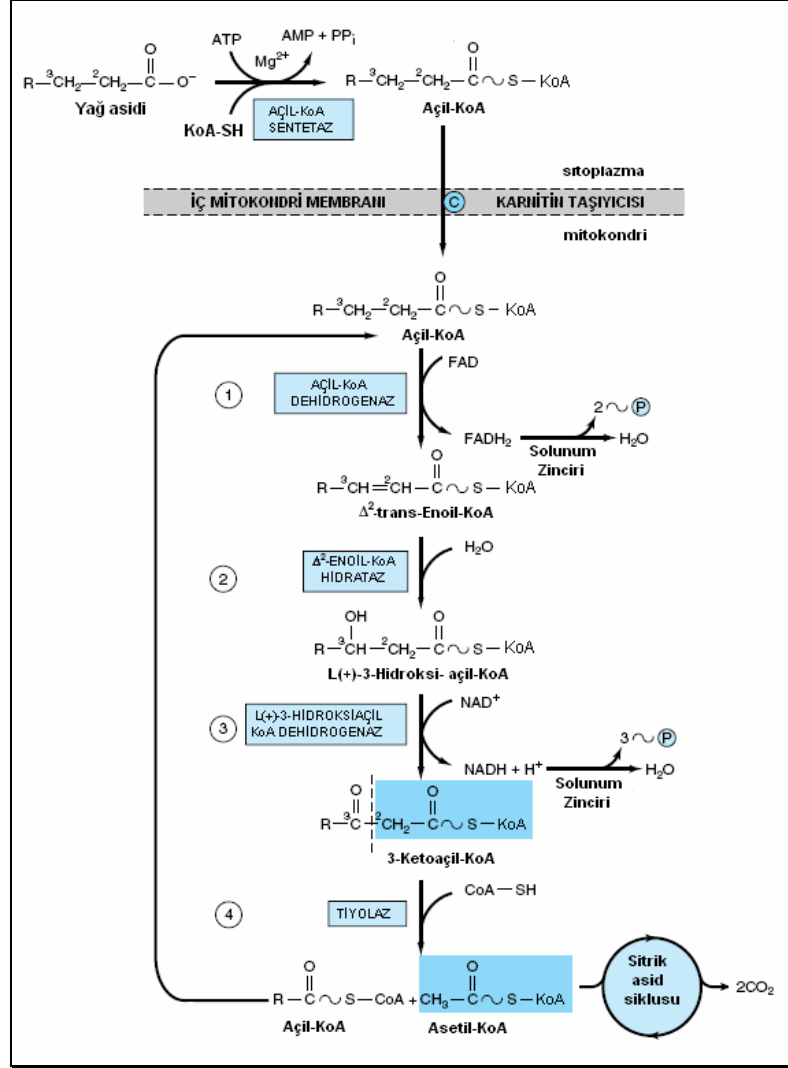
$\beta$ -oksidasyon, mitokondri yatağında solunum zincirine bitişik olarak bulunan yağ asit oksidazlar tarafından katalizlenir (2). Dört basamakta gerçekleşen reaksiyon zincirinin her döngüsünde zincirin  $\alpha$  ve  $\beta$  karbonları arasındaki bağ koparılarak yağ açıl KoA'dan iki karbonluk birimler, asetil KoA'lar halinde ayrılır (Şekil 2.9). Oksidasyon işlemi esnasında açığa çıkan  $\text{NADH}_2$  ve  $\text{FADH}_2$ 'ler ATP oluşturmak üzere elektron transport zincirine aktarılırken, oluşan asetil KoA'lar ise Krebs döngüsüne girerek  $\text{H}_2\text{O}$  ve  $\text{CO}_2$ 'e kadar metabolize edilir.

Tekli veya çoklu doymamış yağ asitlerinin  $\beta$ -oksidasyonu da küçük farklılıklarla beraber benzer yolla yapılır. Ancak her çift bağ için Açıl-KoA dehidrogenaz basamağı atlanmakta ve bu nedenle 1 molekül  $\text{FADH}_2$  eksik üretilmektedir.

Doğal lipitlerde genellikle çift karbon sayılı yağ asitleri bulunmasına rağmen bazı bitkilerde ve deniz hayvanlarında önemli miktarlarda tek karbon sayılı yağ asitleri bulunmaktadır (1). Diyet yoluyla alınan bu tek karbon sayılı yağ asitlerinin  $\beta$ -oksidasyonu da çift karbon sayılı yağ asitlerinin oksidasyonuna benzerdir. Ancak yağ asit zincirinden Asetil-KoA'lar ayrıldıktan sonra kalan son ürün asetil-KoA yerine üç karbonlu propiyonil-KoA'dır. Propiyonil-KoA, metilmalonil-KoA'nın ara ürün olarak oluştuğu ve biyotin ile vit B12'nin koenzim olarak kullanıldığı bir dizi reaksiyonla süksinil-KoA'ya dönüştürülerek TCA döngüsüne sokulur (1,2). Böylece asetil-KoA yerine oluşan bu ürün de enerji elde edilmesinde kullanılır.

Ağırlıklı olarak mitokondri matriksinde meydana gelen  $\beta$ -oksidasyon bazı farklılıklarla peroksizomlarda da gerçekleşmektedir. Enerji üretimi gerçekleşmeyen bu olayda  $\text{H}_2\text{O}_2$  oluşmaktadır. 20-26 karbonlu veya dallı zincirli yağ asitleri ile hidrosillenmiş yağ asitlerinin oksidasyonunu

kolaylaştıran bu yolda yağ asitleri tamamen okside olmaz (2). Yağ açıl-KoA'ların peroksizom içine girmeleri için karnitin türevlerine çevrilmelerine gerek yoktur (3). Oluşan asetil-KoA'lar ve daha kısa zincirli yağ asitleri peroksizomlardan uzaklaştırılarak, her ikisi de mitokondride ileri oksidasyona uğratılır (2).



**Şekil 2. 9:** Yağ asitlerinin aktiflenmesi ve  $\beta$ -oksidasyonu. Dikmen ve ark.(2)'dan alınmıştır.

### 2.1.2.2. Alfa ( $\alpha$ )-oksidasyon

Peroksizomlarda meydana gelen ve özellikle beyin dokusunda gözlemlenen bir yoldur  $\beta$ -oksidasyona göre daha az önemli olan bu yolda

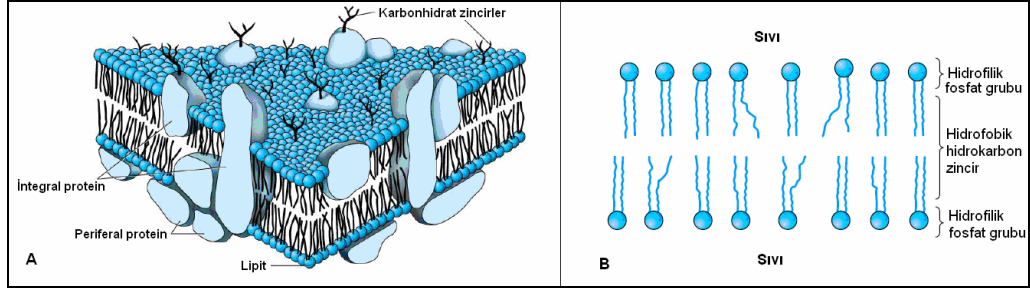
NAD<sup>+</sup> ile askorbat kullanılır (2). Ara ürünler ko-A türevleri şeklinde değildir ve ATP üretimi gerçekleşmez. Zincir her defasında bir karbon kısalır. Bundan dolayı tek karbon sayılı yağ asitleri ile çift karbon sayılı yağ asitleri bu yol ile birbirlerine çevrilebilir. Ayrıca, α-hidroksi yağ asitlerinin de elde edilmesinde kullanılan bir yoldur. Bu yol özellikle dallı zincirli yağ asitlerinin katabolizmasında önemli bir yer tutmaktadır (1-3).

### **2.1.2.3. Omega (ω)-oksidasyon**

Yağ asidinin omega ucundaki karbonun oksitlendiği, önemsiz bir yoldur. Karaciğer ve böbrek DER'lerinde sitokrom p-450'yi kapsayan hidroksilaz enzimleri tarafından gerçekleştirilir. NADPH'ın kullanıldığı ω-oksidasyonda, substrat olarak KoA türevleri değil serbest yağ asitleri kullanılır. Sonuçta dikarboksilik asitler oluşur (1,2).

### **2.1.3. Hücre Membranlarında Yağ Asitlerinin Yerleşimi**

Membranlar lipit, protein ve karbonhidratlardan oluşmuş kompleks yapılar (2) olup, hücreleri dış çevreden ayırır ve hücre içini kısımlara bölerler (3). Membran yapısının en yaygın kabul şekli olan sıvı mozaik modelinde; biyolojik membranlar içinde protein yapıların yüzdüğü fosfolipit çift tabakadan oluşan viskoz yapılar şeklinde tanımlanmıştır (3). Lipit çift tabakayı oluşturan fosfolipit ve glikosfingolipitlerin yapısındaki yağ asitlerinin hidrokarbon zincirleri, bu yapının iç tarafına doğru uzanarak membranın hidrofobik kısmını oluştururken; gliseril-fosforil-baz bileşenlerden oluşan fosfolipitlerin baş grupları ise çift tabakanın her iki yüzüne yerleşmişlerdir. Bu gruplar, membranın su ile temas halindeki yüzeyine hidrofilik özellik kazandırılırlar (3). Bu yapı içinde yer alan doymuş yağ asitleri düz kuyuklar oluştururlar. Doymamış yağ asitleri ise cis formundadırlar ve kıvrımlı kuyuklar oluştururlar. Kuyuklara ne kadar fazla sayıda kıvrım girerse membran o kadar az sıkı paketlenir yani daha akışkan hal alır. Bu kıvrımlar aynı zamanda polar baş gruplar arasındaki mesafeyi de arttırarak, hareket edebilmek için daha geniş bir alan oluşturur (Şekil 2.10) (2).



**Şekil 2. 10:** Yağ asitlerinin membranlarda yerleşimi. A; Membran yapısının sıvı mozaik modeli. Membran iki tabakalı bir lipit yapıdan oluşur. B. Fosfolipitlerden oluşmuş bir çift tabakalı membranın şematik görünümü. Doymamış yağ asitlerinin kuyruklarındaki kıvrımlar fosfolipitlerin baş kısımları arasında daha geniş boşluklara ve zarın akışkanlığının artmasına sebep olur. Dikmen ve ark.(2)'dan alınmıştır.

Yağ asitleri membranlarda fosfolipitlerin ve glikosfingolipitlerin yapısında yer alırlar. Fosfolipitler, gliserofosfolipitler ve sfingofosfolipitlerdir. Gliserofosfolipitler 1. ve 2. karbonunda yağ asidi, 3. karbonunda ise esterleşmiş bir fosforik asit taşıyan açilgliserollerdir. Genel olarak 1.karbona (*sn*-1 pozisyonu) bağlı yağ asidi doymuş iken, *sn*-2 pozisyonu bağlı olanlar bir veya daha fazla çift bağ içerirler (3). Yağ asit bileşenleri çoğunlukla 16 veya 18 karbonludur (2). Fosfaditilkolin, fosfatidilserin ve fosfatidilinozitol fosfolipitlerden bazılarıdır.

Sfingofosfolipitler ise 17. karbonunda bir amino grubu taşıyan 18 karbonlu sfingozin türevidirler. Sfingozinin amino grubuna bir yağ asidi bağlanmasıyla seramidler oluşur. Seramidin uçtaki hidroksil grubuna bir fosforil kolin bağlanmasıyla sfingomiyelin oluşur. Sfingomiyelin doymuş ve 24 C'lu yağ asitlerinden zengindir (3) ve bazı membranlarda en fazla bulunan lipit tipidir. Beyinde miyelin kılıflarda baskın olarak bulunan sfingomiyelin (2) eritrosit membranlarında da %22-30 oranında bulunur (3).

Seramidin uçtaki hidroksil grubuna bir veya daha fazla şeker ünitesi bağlanmasıyla oluşan seramid türevlerine ise glikosfingolipitler denir.

Glikosfingolipitler bağlanan şeker ünitesinin türüne ve sayısına göre değişik isimler alır (3).

Fosfolipit ve sfingolipitlerdeki yağ asit türlerindeki farklılığın yanı sıra hücre membranlarının lipit içerikleri de dokulara göre farklılık göstermektedir. Bunun yanında membranların yağ asit bileşimleri de her zaman sabit değildir ve diyetteki yağın tipine göre belli derecede değişiklik gösterebilir. Diyette fazla miktarda doymuş yağ olması membran fosfolipitlerindeki doymuş ve tek çift bağlı yağ asitlerinin oranını artırır (3). Yağ asit içeriği bir membranın akışkanlığı ve buna bağlı olarak fonksiyonlarını sürdürmesinde önemli bir yer tutmasından dolayı membranların yağ asit içeriklerinin ve bunların birbirlerine oranının ortaya konması hücrelerin fonksiyonlarını değerlendirmek açısından oldukça önemlidir. Ayrıca yağ asit içeriklerinin diyetteki yağların cinsinden etkilenmesi bu önemi daha da arttırmaktadır.

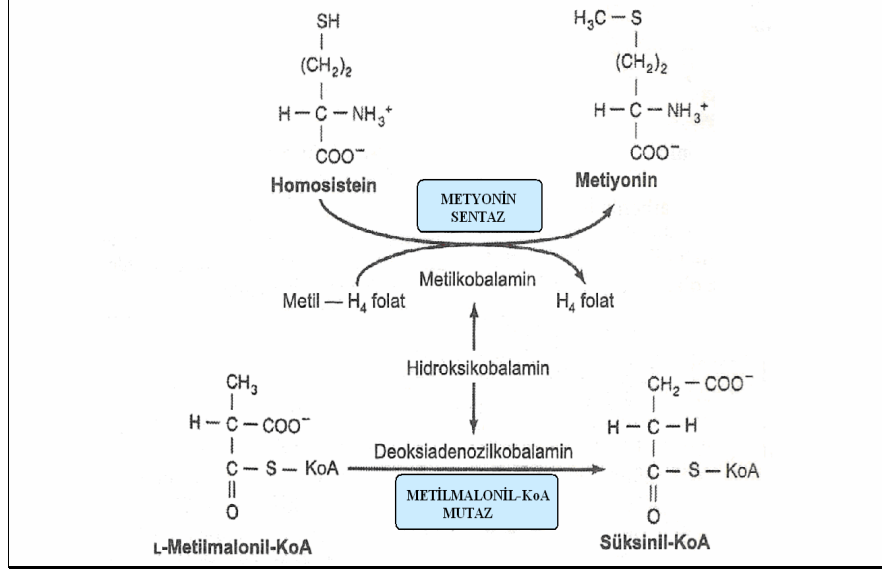
## **2.2. Vitamin B12 (Kobalamin) Metabolizması**

Vit B12 (kobalamin), ortasında kobalt atomu bulunan 4 pirol halkasından oluşmuş korrin halkasına sahip kompleks bir moleküldür. Sadece mikroorganizmalar tarafından üretilir ve memeli karaciğerinde, metilkobalamin, adenzilkobalamin ve hidroskobalamin halinde depolanır. Gastrik mukozadan salınan interensek faktör varlığında bağırsaklardan emilir. Emildikten sonra plazmada transkobalamin (TK) II ile dokulara taşınır. Karaciğerde TK I'e bağlı halde depolanır. Kanda taşındıktan sonra, serbest kobalamin, hücrelerin sitozolüne hidroskobalamin halinde salınır. Sitozolde ya metilkobalamine dönüşür ya da mitokondri içine girerek 5'-deoksikobalamine dönüşür. Bu iki metabolit kobalaminin aktif formlarıdır (2).

Metilkobalamin, vücutta birçok metilasyon reaksiyonunda metil vericisi olarak görev yapan metyonin sentezinde koenzim olarak görev alır (Şekil 2.11). Bu reaksiyonda metiltetrahidrofolattan bir metil grubu homosisteine aktarılarak metyonin sentezlenir (2).

Deoksikobalamin ise tek karbonlu yağ asitlerinin oksidasyonunda açığa çıkan propiyonik asitin metabolizması sırasında ara ürün olarak oluşan

L-Metilmalonil-KoA'nın süksinil-KoA'ya dönüşümünde koenzim olarak görev yapan vit B12'nin aktif formudur (Şekil 2.11).



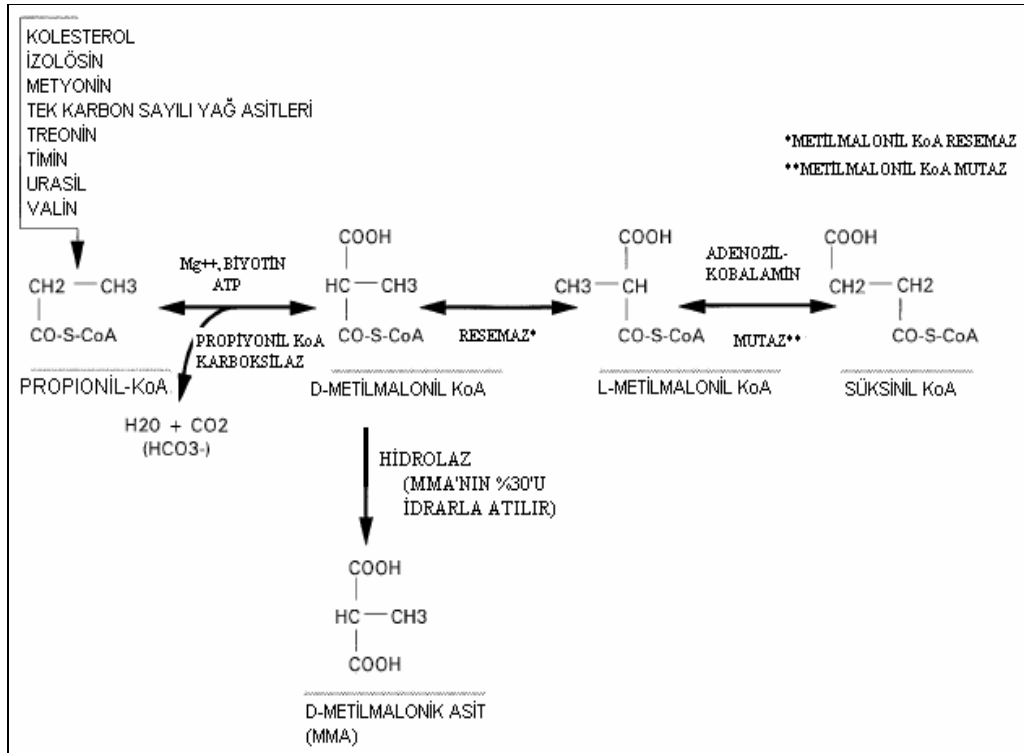
**Şekil 2. 11:** Vitamin B12'nin kofaktör olarak kullanıldığı iki önemli tepkime. Dikmen ve ark.(2)'dan alınmıştır.

### 2.2.1. Metil Malonik Asit (MMA) Metabolizması

Tek karbonlu yağ asitlerinin oksidasyonu yanında valin, izolosin, treonin, metiyonin, timin amino asitleri ve kolesterolün yıkımı sonucu da propiyonil KoA oluşur. Propiyonil-KoA kofaktörü biyotin olan "propiyonil-KoA karboksilaz" enzimi tarafından D-Metilmalonil-KoA'ya karboksillenir. D-metilmalonil-KoA, "metilmalonil-KoA resemeraz" ile L-izomerine dönüştürülür. Daha sonra bu ara ürün, koenzimi B12 vitamini olan "metilmalonil-KoA mutaz" enzimi ile süksinil-KoA'ya çevrilerek krebs döngüsüne sokulur. Metilmalonil KoA'nın süksinil-KoA'ya dönüştüğü bu işlem glukoneogenez açısından da önem taşır (Şekil 2.12) (2).

Vit B12 eksikliğinde, L-metil malonil-KoA'nın süksinil-KoA'ya dönüşümü azalır. L-metil malonil-KoA'nın birikmesi D-metil malonil-KoA'nın konsantrasyonunun artmasına neden olur. D-metil malonil-KoA bir hidrolaz aracılığıyla D-metil malonik asite (MMA) dönüştürülür. Böylece MMA'nın

serum ve idrardaki konsantrasyonları artar. Sağlıklı kişilerde MMA'nın %30'u idrarla atılırken, %70'i bilinmeyen ürünlere metabolize olmaktadır (Şekil 2.12) (25). Aynı zamanda tek karbon sayılı yağ asitlerinin metabolizmasındaki bu bozukluğa bağlı olarak organizmada anormal lipitler birikir. Anormal lipitlerin sinir sistemi hücrelerinde birikmesi sonucu vit B12 eksikliğinin nörolojik etkileri görülür (4).



**Şekil 2. 15:** Propiyonil KoA'nın metabolizması ve MMA oluşumu. Elin ve ark (25)'dan alınmıştır.

Artmış serum ve idrar MMA seviyelerinin tHcy ile birlikte günümüzde vit B12 eksikliği tanısının konmasında, özellikle fonksiyonel vit B12'yi göstermek açısından, serum vit B12 düzeylerinden daha önemli göstergeler olduğu kabul edilmektedir (25-32). Vit B12 eksikliğinde serum ve idrar MMA düzeylerinde artış görülür. Artmış serum MMA seviyelerinin vit B12 ile belirgin bir şekilde ilişkili olarak intraselüler metabolik bir değişikliği yansıttığı ve vit B12 metabolizması bozukluklarına tHcy'nden daha spesifik olduğu da gösterilmiştir (17,26,30). Ancak serum MMA ölçümünün rutin

olarak kullanılamaması ve idrarda seruma göre 40 kat daha konsantre olması idrar MMA ölçümünü daha önemli hale getirmiştir (30).

### 2.3. Folat Metabolizması

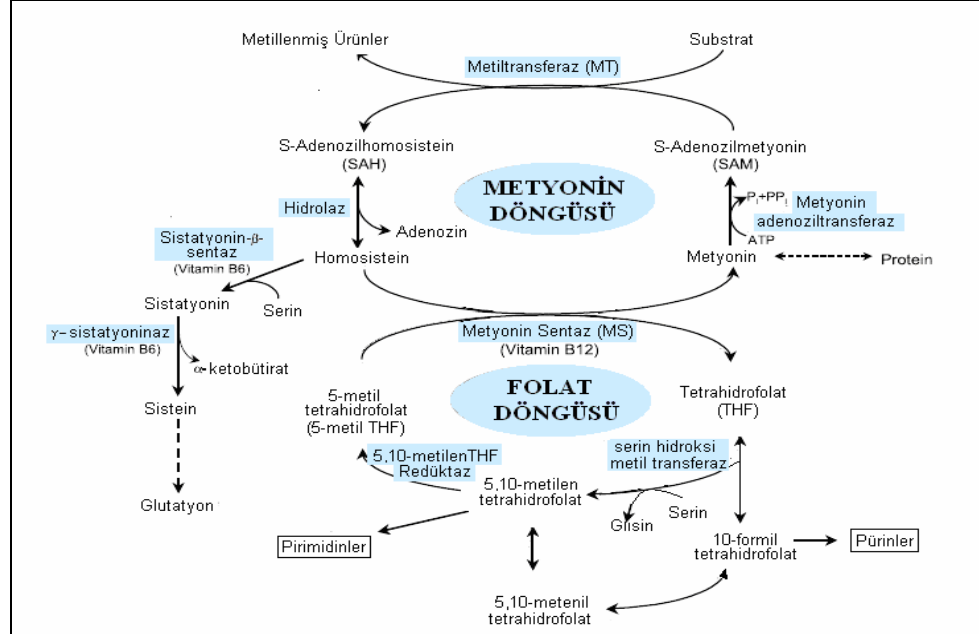
Folik asit, bir pteridin halkasına, bir molekül p-aminobenzoik asit (PABA) ile bir veya daha fazla sayıda glutamik asit molekülünün konjesyonu ile oluşan bir moleküldür. Organizmada nükleik asit ve aminoasit metabolizmasında merkezi bir rolü olan tek karbon metabolizmasında, tek karbonlu birimlerin taşınmasından sorumludur. Vücutta birçok metilasyon reaksiyonu için metil vericisi olan metyonine metil grubunun aktarılması yanında, DNA sentez ve replikasyonu için pürin ve pirimidin bazlarının “*de novo*” sentezinin de yapıldığı bu yolda folat, substrat ve koenzim olarak görev yapar (33).

İnsanlar PABA sentezleyemedikleri ve glutamati pterik asite bağlayamadıkları için diyetlerinde folik asit bulunması zorunludur. Diyetle alınan folik asit, bağırsak enzimleri tarafından monoglutamil folata dönüştürülür. Monoglutamil folat bağırsak hücreleri tarafından emildikten sonra koenzimi NADPH olan “folat redüktaz” enzimi ile tetrahidrofolata (THF) indirgenir. THF dokularda nükleik asit ve aminoasit metabolizmasında tek karbonlu birimlerin taşınmasında görev alan aktif koenzim formudur (2). Bağırsak hücrelerinde THF, esas olarak 5-metil THF’a (5MTHF) dönüştürülerek portal dolaşımla karaciğere gelir. Folat karaciğer tarafından kullanılmadan önce poliglutamata haline konjuge edilir. Folatın kandaki ana biçimi olan 5-metil THF plazma proteinlerine özellikle albümine bağlı halde taşınır.

THF hücre içinde, “serin hidroksi metil transferaz” enzimi ile tek karbonlu birimlerin ana kaynağı olan serinden bir metil grubu alarak 5-10 metilen THF’a indirgenir. 5-10 metilen THF tek karbon metabolizmasında merkezi rol alan bir ara üründür. 5-10 Metilen THF, flavin bağımlı “5-10 Metilen THF Redüktaz” enzimi ile 5- MTHF’a geri dönüşümsüz olarak dönüştürülür. Metilkobalamin varlığında 5- MTHF’dan bir metil grubu “metyonin sentetaz (5-metil THF transferaz)” enzimi ile homosisteine aktarılarak birçok

reaksiyonda metil vericisi olan metyonin sentezlenir. Bu esnada 5- MTHF, THF'a dönüşerek döngü tamamlanmış olur. Bu reaksiyonda metilkobalamin ise tek karbonlu birimlerin 5- MTHF'dan homosisteine aktarılmasından sorumludur. Alternatif olarak 5-10 Metilen THF koenzim olarak B12 vitamini kullanan bir reaksiyon ile timidilat sentezine katılır veya 5-10 metenil THF'a oksitlenebilir. 5-10 metenil THF pürin bazlarının sentezlenmesi için metil grupları sağlar (Şekil 2.13).

Folat eksikliğinde veya kullanılmadığı durumlarda pürin ve pirimidinlerin sentezinde aksama yanında homosistein-metiyonin dönüşümü de aksar. Homosistein birikimi sonucu plazma total homosistein konsantrasyonları artar. Metilkobalamin eksikliğinde 5-MTHF'ın THF'a dönüştüğü tek reaksiyon olan metyonin sentezi gerçekleşemediğinden folat, 5-MTHF halinde hapsolür. Bunun sonucu olarak var olan folat da reaksiyonlarda kullanılmaz ve megaloblastik anemi ve hiperhomosistienemi gibi folat eksikliği belirtileri ortaya çıkar.



**Şekil 2.16:** Metyonin ve folat döngüleri. Bu iki döngü metil gruplarının bir çok moleküle aktarılmasında sıkı bir ilişki içindedirler. Moreiras ve ark (33)'dan alınmıştır

### 2.3.1. Homosistein Metabolizması:

Beyinde monoaminler, nörotransmitterler (katekolamin ve indolaminler), proteinler, nükleoproteinler, membran fosfolipitleri ve myelin sentezini de içeren 35 den fazla metilasyon reaksiyonunda metil donörü olarak S-adenozilmetyonin (SAM) kullanılır. SAM “metyonin adenozil transferaz (MAT)” enziminin katalizlediği ATP kullanılan bir reaksiyon ile metyoninden sentezlenmektedir (Şekil 2.13) (33-37). SAM metilasyon reaksiyonlarında metil grubunu aktardıktan sonra S-Adenozilhomosistein (SAH) oluşur. SAH, fizyolojik koşullarda hidrolize olarak adenozil grubunu kaybeder ve homosisteine dönüşür. Geri dönüşümlü olan bu reaksiyonda SAH sentezine eğilim daha fazladır (33,35,37). Bu nedenle bu döngünün devam edebilmesi için homosisteinin ortamdaki uzaklaştırılması gereklidir. Metyonin sentetaz enzimi aracılığıyla Homosisteine 5- MTHF’den bir metil grubu aktararak metyonin sentezlenir. Böylece metyonin-homosistein döngüsü tamamlanarak SAM sentezi için yeniden metyonin elde edilmiş olur. Metyonin sentezinin, beyin dokusunun sağlığı için bu yolağın en önemli kısmı olduğu kabul edilmektedir (37).

Homosistein diğer yandan metyonine dönüşmenin dışında serin ile kondanse olarak sistatyonine dönüştürülebilir. Bu reaksiyon, pridoksal pirofosfat kullanan (PPP) “sistatyonin-b-sentaz (CBS)” enzimi tarafından katalizlenir. Oluşan sistatyonin daha sonra sistein’e dönüştürülerek idrarla atılır. Sistein, CBS enziminin en önemli inhibitörlerinden biridir (34).

Folat veya vit B12 metabolizmasında bir bozukluk sonucu 5-MTHF’den homosisteine metil grubu aktarılmasında meydana gelebilecek bir yetmezlik homosistein konsantrasyonlarının artmasına neden olur. Bu durumda homosistein hızla SAH’a metabolize olur. SAH metil transferaz enziminin aktif bölgesi için SAM ile yarışan, tüm metilasyon reaksiyonlarının güçlü bir inhibitörüdür. Ayrıca metilasyon reaksiyonları için büyük miktarlarda SAM oluşması gerektiğinden bu yolaktaki bozukluklar SAM sentezinde de yetersizliğe yol açacaktır. Metilasyon reaksiyonlarındaki bozuklukların nörokognitif fonksiyonların kaybı ile sonuçlandığına ilişkin hipotezlerde, vitamin eksiklikleri ile kognitif fonksiyonlardaki azalma arasındaki ilişki

yetersiz SAM üretimi yolu ile açıklanmaktadır (37).

Dolaşımdaki homosisteinin %70'inin temizlenmesinden böbrekler sorumludur. Geri kalan kısım ise hepatositler ve homosisteini metabolize etme kapasitesine sahip diğer hücreler tarafından temizlenir. Böbrek fonksiyon bozukluklarında yüksek serum homosisteini önemli bulgulardan biridir (38).

Artmış homosistein seviyelerinin kardiyovasküler ve nörolojik hastalıklarla ilişkisi vardır (34). Hiperhomosisteineminin endotelial disfonksiyonu ve hasarı, düz kas hücrelerinin proliferasyonunu, platelet aktivasyonunu ve trombüs oluşumunu indüklediği gösterilmiştir. Endotelial disfonksiyona neden olan mekanizmalar tam olarak açıklanamamakla birlikte, homosistein endotelial hücrelerde oksidatif hasarı indükleyen süperoksit ve hidrojen peroksit gibi farklı reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini arttırmaktadır (39). Antioksidan savunma sistemlerinde ve lipit peroksidasyonunda da bozukluklara neden olmaktadır (40). Ayrıca homosisteinin muhtemelen endojen bir nitrik oksit (NO) sentez inhibitörü olan ADMA birikimine yol açarak NO'in endotelial üretimini azalttığı da bildirilmiştir (39).

Plazma total homosistein seviyeleri birçok faktörden etkilenmektedir. Cinsiyet, yaş (yaşla artar), sigara kullanımı ve serum kreatinini ile çok sıkı bir şekilde ilişkilidir. Erkeklerde düzeyleri daha yüksektir. Kadınlarda erkeklere göre yaklaşık %10-15 daha düşüktür. Ayrıca diet ve alkol kullanımı (etkisi açık değil) tHcy seviyelerini etkilemektedir. Renal yetmezlik, hipotiroidizm, pernisyöz anemi, şiddetli psöriasis, akut lenfositik lösemi gibi hastalıklarda tHcy seviyeleri artmaktadır. Metotreksat, fenitoin gibi ilaçlar ile birlikte CBS mutasyonu ve MTHFR geninde genetik defektler de tHcy seviyelerini değiştirmektedir. Folat, vit B12 ve B6'nın diyetteki eksiklikleri hiperhomosisteinemi indükleyebilir (39).

#### **2.4. Prolidaz Enzimi**

Prolidaz enzimi (EC.3.4.13.9) imidodipeptitlerin yıkımından sorumlu sitozolik bir ekzopeptidazdır. İmidodipeptitler kollajenin yıkımı sonucu açığa

çıkan ve C-terminalinde prolin ya da hidroksprolin bulunan dipeptitlerdir. Bu iki aminoasit içerdikleri heterosiklik nitrojen atomu sayesinde diğer amino asitler ile imido bağı yaparak imidodipeptitleri oluştururlar. İmido bağları hidrojen atomu yerine nitrojen atomu kullanılarak oluşturulan bağlardır. Vücuttaki kollajen ve jelatindeki tüm peptit bağlarının %25inden fazlasını imido bağları oluşturur (41).

Organizmadaki tüm proteinin yaklaşık %30unu oluşturan kollajenin %25i prolin veya hidroksprolinden oluşur. Kollajenin spesifik proteinazlar tarafından parçalanmasıyla açığa çıkan dipeptitler, prolidaz gibi dipeptidazlar ile yıkılırlar. İmidodipeptitlerin prolidaz ile yıkımı sonucu açığa çıkan prolinin %90-95i yeniden kullanıma kazandırılırken, hidroksprolin idrarla atılır (41).

İmidodipeptidaz, prolin dipeptidaz, aminaçil-L-hidrolaz adlarıyla anılan prolidaz enzimi, 11 bin dalton ağırlığında homodimer bir enzimdir ve aktivitesi için spesifik olarak mangana ihtiyaç duyar (41). 493 aminoasit uzunluğunda bir polipeptit olan enzim, 19p13.2 kromozomu üzerinde yer alan 15 ekzonluk bir gen tarafından kodlanır (41).

Prolidaz enzimi vucutta yaygın olarak bulunur. Karaciğer, bağırsak mukozası, böbrek, beyin, kalp, uterus, timus, eritrosit, lökosit, fibroblast ve plazmada bulunduğu bildirilmiştir. Böbrek, bağırsak mukozası ve eritrositlerde yüksek prolidaz enzim aktivitesi görülürken plazma ve hipotalamus düşük prolidaz enzim aktivitesine sahiptir (41).

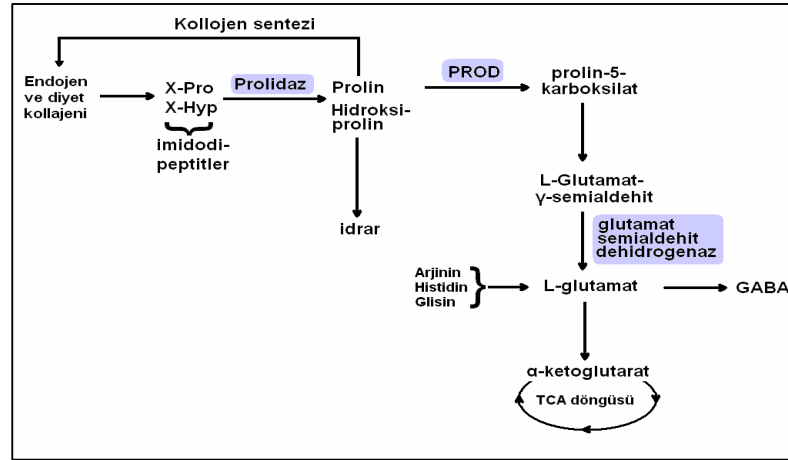
#### **2.4.1. Prolin Metabolizması**

Memelilerde olgun kollajen primer yapısında Gly-X-Pro/Hyp şeklinde %25 oranında prolin veya hidroksprolin içerir. Yapısında 5'li bir pirol halkasına sahip olan prolin amino asiti, bu yapısı nedeniyle yer aldığı polipeptid zincirinin esnekliğini azaltmaktadır. Endojen veya ekzojen kollajenin spesifik proteinazlar ve prolidaz aracılığıyla yıkımı sonucunda serbestleşen prolin yeniden kollajenin yapısına katılmanın yanı sıra glutamata dönüştürülerek de katabolize edilir. Bu işlem nonesansiyel bir amino asit olan prolinin glutamattan sentez edilme yolunun tersine işlemesi şeklinde gerçekleşir. Prolin, mitokondride lokalize olan prolin dehidrojenaz

(prolin oksidaz) (PROD) enzimi ile prolin-5-karboksilata dönüştürülür. Daha sonra non enzimatik olarak oluşan L-Glutamat- $\gamma$ -semialdehit, glutamat semialdehit dehidrogenaz ile L-glutamata dönüştürülür. Glutamat transaminazlarla  $\alpha$ -ketoglutarata dönüştürülerek TCA döngüsüne girebilir. Prolinle birlikte arginin, histidin ve glisin de glutamat üzerinden TCA döngüsüne girdikleri bu yol, glukoz metabolizmasıyla aminoasit metabolizmasının kesişme noktalarından birisidir.

Prolinin glutamata dönüşmesi esnasında PRODH ve glutamat semialdehit dehidrogenaz enzimlerinde meydana gelebilecek bloklar sırasıyla tip I ve tip II hiperprolinemi olarak tanımlanan otozomal resesif geçişli hastalıklara neden olmaktadır (2).

Diğer yandan glutamat, SSS'de önemli bir eksitatuvar nörotransmitter olarak da görev yapmaktadır. Beyindeki nöronal iletimin %75'inden sorumlu olduğu ileri sürülmektedir. Ayrıca inhibitör bir nörotransmitter olan gama amino bütirikasit (GABA) de glutamatın dekarboksillenmesi ile oluşur. Glutamat metabolizmasında meydana gelebilecek bir değişikliğin nörolojik hastalıkların etyolojisinde rolü olabileceği bildirilmiştir (2).



**Şekil 2.17:** Prolidaz enzimi ve prolin metabolizması. Prolin yeniden kollajen sentezine katılabileceği gibi glutamata da metabolize olabilir. Pro: Prolin, Hyp: Hidroksiprolin

## GEREÇ VE YÖNTEM

### 3.1. Gereçler

#### 3.1.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Seçimi

Çalışmaya GATA Etik Kurulunun 20 Haziran 2006 tarih ve 1491-246-06 protokol nolu kararı ile başlandı. Ekim 2005- Mart 2007 tarihleri arasında GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Psikiyatri Servisi'ne başvuran ve çalışmaya katılmayı kabul eden hastalardan DSM IV kriterlerine göre anksiyete tanısı alan 30; depresyon tanısı alan 36 ve ilk atak psikoz tanısı alan 25 hasta çalışmaya dahil edildi. Herhangi bir sağlık şikayeti olmayan, yapılan fizik muayenesi ve biyokimyasal testler sonucu herhangi bir ruhsal veya organik patoloji saptanmayan 43 gönüllü kontrol grubu olarak seçildi. Tüm hasta ve sağlıklı kişilere çalışmayla ilgili bilgilendirici açıklamalar yapılarak "aydınlatılmış onam formu" imzalatıldı.

#### 3.1.2. Çalışmadan Dışlama Kriterleri

Herhangi bir metabolik hastalığı olanlar, gebeler ve çalışmaya katılmak istemeyen hastalar çalışma dışı bırakıldı. Kontrol grubu olarak çalışmaya katılmaya gönüllü olanlardan patolojik fizik muayene bulgusu ve anormal laboratuvar sonuçlarına sahip olan kişiler ve tüm gruplarda ilaç ve alkol kötü kullanımı olan bireyler çalışmaya alınmadı. Ayrıca Homosistein değerleri 13,9  $\mu\text{mol/L}$  ve iMMA değerleri 4,5 mmol/mmol kreatinin'den yüksek olan sağlıklı gönüllüler çalışma dışı bırakıldı.

#### 3.1.3. Örneklerin Toplanması

Tüm gruplardaki hasta ve sağlıklı gönüllülerden 12 saatlik açlığı takiben saat 08:00-11:00 arasında 10 ml'lik düz tüp ve 2ml'lik  $\text{K}_2\text{EDTA}$  içeren vakumlu tüplere açlık kan örnekleri ve aynı gün sabah açlık ilk idrar örnekleri alındı. Kanlar alındıktan hemen sonra santrifüj edildi. Rutin biyokimyasal testler, tam kan sayımı, serum B12 ve serum folik asit ölçümleri aynı gün içinde çalışıldı. Plazma total homosistein ölçümü için buz

içine K<sub>2</sub>EDTA'lı tüpe alınan kan örnekleri hemen santrifüj edilerek çalışılıncaya kadar -20°C'de saklandı. Serum ve plazma örnekleri ise çalışılıncaya kadar -84 °C'de saklandı. İdrar örneklerinin bir kısmından aynı gün tam idrar tetkiki (TIT) çalışılırken kalan kısım İMMA ölçümü için +4°C'de saklandı.

### **3.1.3.1. Eritrosit Paketleri ve Trombosit Palletlerin Elde Edilmesi**

K<sub>2</sub>EDTA'lı tüplere alınan örneklerden bir tanesi platelet pallet ve eritrosit paketi olarak saklanmak üzere kullanıldı. Kanlar alındıktan hemen sonra Hettich Universal 320R santrifüj cihazında +4 °C'de 150g'de 15 dakika santrifüj edildi. Plateletten zengin plazma ve hücreler ayrıştırıldı. Alt kısımda kalan eritrosit sedimenti salin solüsyonuyla (9 g/L NaCl) üç defa daha yıkanarak elde edilen eritrosit paketleri çalışılıncaya kadar -84 °C'de saklandı. Plateletten zengin plazma ve hücrelerin yıkandığı salin solüsyonları başka bir tüpte toplanarak en son aşamada +4 °C'de 500g'de santrifüj edilerek üst kısım atıldı (42). Sediment halinde geriye kalan trombosit kümeleri 140 mmol/L NaCl; 0,1 mmol/L EDTA ve 5 mmol/L glukoz içeren 5mmol/L sodyum HEPES tampon (pH 7,4) ile süspanse edilerek platelet pallet olarak çalışılıncaya kadar -84 °C'de saklandı.

### **3.1.4. Kullanılan Cihazlar**

Otoanalizör: Beckman Coulter Synchron CX5, Beckman Coulter Synchron LX 20 (Beckman Coulter, Inc, Fullerton, USA), Architect İ2000 (Abbott Lab. Abbott Park IL, USA).

Tam kan sayımı cihazı: Beckman Coulter Gen-S (Beckman Coulter, Inc, Fullerton, USA),

Gaz kromatografi (GC) cihazı: Thermo Finnegan Focus GC

Spektrofotometre: Beckman Coulter DU 530 UV/Visible spectrophotometer

Su banyosu: Heto HMT 200 ve Memmert,

Manyetik karıştırıcı: Yellow line,

Derin dondurucu: Sanyo Ultra Low,

HPLC Cihazı : HP Agilent 1100,  
pH-metre: WTW mikroprozessor,  
Hassas terazi: Precisa 205ASCS,  
Girdap karıştırıcı: IKA MS minishaker,  
Soğutmalı santrifüj: Hettich Universal 320R  
Ultrasonikatör: Elma Transsonic T460,  
Bidistile su cihazı: GFL 2102,  
Distile su sistemi: Millipore, Milli-RO, Milli-Q,

### **3.2. Biyokimyasal Yöntemler**

#### **3.2.1. Rutin Biyokimyasal Testler**

Glukoz, ALT, AST, ALP, GGT, üre, kreatinin, ürik asit, trigliserid, total kolesterol, HDL-C, LDL-C, VLDL-C, albumin, total protein, total bilirubin, direk bilirubin, LDH, kreatin kinaz, demir ve total demir bağlama kapasitesi ölçümleri laboratuvarımızda üretilen reaktifler ile Beckman Coulter Synchron LX-20 otoanalizöründe yapıldı.

#### **3.2.2. Serum Folik Asit ve Vitamin B12 Düzeyleri**

Kemilüminesan mikropartikül tekniği ile Architect folat ve B12 kiti kullanılarak Architect Ci 8200 cihazında ölçüldü.

#### **3.2.3. Plazma Total Homosistein Düzeyi (tHcy)**

Chromsystems Homosistein ölçüm kiti kullanılarak HP Agilent 1100 HPLC cihazında ölçüldü. Cihazda, injeksiyon hacmi 20 µl, kromatografik akış hızı 1.7 ml/dk. ve floresan dedektörün eksitasyon dalga boyu 385 nm, emisyon dalga boyu 515 nm olacak şekilde ayarlandı. Örneklerin hazırlanması ve kalibrasyon işlemleri kit üreticisi firmanın önerdiği şekilde yapıldı.

### 3.2.4. İdrar MMA Düzeyleri

İdrar metil malonik asit ölçümü Gültepe ve ark (30) tanımladığı metoda göre diazotize p-nitroanilin metil malonik asitle verdiği reaksiyonun fotometrik olarak ölçümü ile yapılmıştır.

#### Çözeltilerin Hazırlanması

1. Asetat Tampon (1 M; pH=4,3): 27,2 g sodyum asetat trihidrat 150 ml bidistile su içerisinde çözündürülüp hacmi 200 ml'ye tamamlandı. 1 M asetik asit çözeltisinden 462 ml alındı ve çözeltinin içerisine ilave edilerek pH=4,3±0.02'ye getirildi. Tampon çözeltisi 4°C'de 2–3 ay dayanıklıdır.

2. Asetat Tampon (0.2M): 10 ml 1M asetat tampon distile su ile 50 ml'ye tamamlanarak 0,2 M'lık çalışma tampon çözeltisi hazırlandı.

3. p-Nitroanilin çözeltisi (5,4 mM): 80 ml 0.2 M HCl içerisinde 75 mg p-nitroanilin ısıtılarak çözündürüldükten sonra 0.2 M HCl ile 100 ml'ye tamamlandı. +4°C'de karanlık ortamda saklandığında 6 ay dayanıklıdır.

4. Sodyum nitrit çözeltisi (72,5 mM): 80 ml distile su içinde 500mg sodyum nitrit eritildi ve hacmi 100 ml'ye tamamlandı. +4-8°C'de bir hafta dayanıklıdır.

5. Diazo Çözeltisi: 8 ml sodyum nitrit çözeltisi 30 ml p-nitroanilin çözeltisi ile karıştırılıp 15 dakika süreyle oda ısısında bekletildi. Daha sonra karışım buz ile 0–4 °C'ye soğutuldu. Çalışmada kullanmadan önce 0.2 M asetat tampondan 8 ml ekleyip aynı gün içerisinde kullanıldı.

6. HCl (0,1 M): Konsantre HCl'den 8,33 ml, içinde 800 ml bidistile su bulunan balon jøjeye konuldu. Daha sonra hacim bidistile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Oda ısısında karanlık şişede saklanırsa 12 ay dayanıklıdır.

7. Stok Metil malonik asit standardı (10mM): 11.81mg MMA 10 ml hacimli balon jøjede 0.1 M HCl içerisinde eritildi. 4°C'de 6 ay dayanıklıdır.

8. MMA çalışma standartları: 10 mM'lık stok standarttan 0,04 mM ve 0,02 mM'lık çalışma standartları 0,1 M HCl kullanarak yapılan dilüsyonlarla hazırlandı.

9. HCl (6M): Konsantre HCl'den 995,9 ml alınarak içinde yaklaşık 400ml distile su bulunan 1000 ml hacimli balon jöjeye konuldu. Hacim distile suyla 1000 ml'ye tamamlandı.

10. NaOH (3M): 12 g NaOH 80 ml distile su içerisinde eritildikten ve oda ısısına geldikten sonra hacim 100 ml'ye distile su ile tamamlandı.

### **Anyon Değiştirici Kolonun Hazırlanışı**

Anyon değiştirici reğine, kolonda kullanılacak kadar miktar alınarak bir beher içine kondu. Daha sonra 3 kez distile suyla yıkandı. Hacminin yaklaşık olarak 2 katı kadar su eklenerek hafifęe karıştırılıp 10 dakika bekletildi. Daha sonra içinde bir miktar distile su bulunan kromatografik kolonlara dőşendi.

### **Yöntemin Yapılışı**

Hastalardan alınan sabah açlık ilk idrarlarının pH'ları, 3M NaOH ve 6M HCl kullanılarak 6,5 'e ayarlandı. Daha sonra santrifüj edildi. İdrarın bir kısmı ayrılıp Jaffe reaksiyonu esasına dayalı kreatinin ölçüm yöntemi ile Beckman Coulter Synchron CX5 cihazında idrar kreatinin düzeyi ölçüldü.

Diğer yandan 1 ml idrar örneği daha önceden 1x2 cm kuvvetli bazik anyon değiştirici reğine dőşenmiř, 1x10 cm ebatlarındaki kromatografik kolona uygulandı. Daha sonra kolon 30 ml distile su ile yıkandı. Elüsyon çözeltilisi olarak kullandığımız 0.1 M HCl'den 10 ml kolona uygulandı ve elüat temiz bir tüpte toplandı. Bu elüattan 1 ml alınıp test tüplerine konuldu. Reaktif körü olarak kullanılmak üzere 0.1 M HCl çözeltilisinden 1 ml alındı. 0.02 ve 0.04 mM'lık standartlardan da 1'er ml alınıp tüplere konuldu. Daha sonra herbir tüpe 1,5 ml asetat tampon (0,2 M) eklenip girdap karıştırıcıda karıştırıldı. Üzerine 1,5 ml soğuk diazo reaktif eklenip girdap karıştırıcı da karıştırılan tüpler kapakları sıkıca kapatılarak daha önceden ısısı 37°C'de 30 dakika süreyle inkübe edildi. Su banyosundan çıkarılan tüpler musluk suyu ile 5 dakika içerisinde oda ısısına getirildi. Oda ısısına gelen tüplerin her birine 1ml 3M NaOH çözeltilisi eklenerek girdap karıştırıcıda karıştırıldı. Daha sonra tekrar su banyosuna konularak 30 dakika süreyle inkübasyona devam edildi. İnkübasyon sonunda tüpler su banyosundan alınarak 1 dakika içinde

oda ısısına getirildi. Örnekler ve standartlar spektrofotometrede reaktif körüne karşı 500-700 nm dalga boyları arasında tarandı. 620nm'deki pik absorbans ile 570 ve 670 nm'deki absorbans değerleri kullanılarak Allen düzeltmesi yapıldı ve düzeltilmiş absorbanslar elde edildi.

$$A = A_{620} - \frac{A_{570} + A_{670}}{2} \quad (3.1)$$

Bu şekilde elde edilen absorbans değerleri "Formül 3.2" de yerine konularak iMMA konsantrasyonları hesaplandı.

$$\text{iMMA (mmol/L)} = \frac{A_{\text{örnek}}}{A_{\text{standart}}} \times 0,004 \times 10 \quad (3.2)$$

Formüldeki 10 rakamı hacim düzeltme faktörüdür. 0.04 kullanılan standardın konsantrasyonudur. Bu formülle mmol/L olarak bulunan iMMA değerleri idrar örneklerinin kreatinin değerlerine oranlanarak normalize edildi. Sonuç değer mmol MMA/ mol kreatinin olarak ifade edildi.

### 3.2.5. Serum Prolidaz Enzim Aktivitesi

Modifiye Chinard yöntemine göre, laboratuvarımızda üretilen reaktifler kullanılarak, pH 7,8 ortamda glisin-L-prolin substratının enzim ile yıkılması sonucu oluşan L-prolinin, 90 °C'de ninhidrin ile yaptığı kompleksin absorbansının Beckman Coulter DU-530 spektrofotometre cihazında 515 nm dalga boyunda ölçülmesi ile hesaplandı (43).

### Çözeltilerin Hazırlanması

1. 50 mM Tris-HCL tampon (pH 7,8); 6,057 g Tris, , manyetik karıştırıcıda yaklaşık 600 ml distile su içinde tamamen çözündürüldükten sonra, 1 N HCl ile pH: 7,8'e ayarlanarak son hacim distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.

2. 5 mM MnCl<sub>2</sub> - 4 H<sub>2</sub>O, %0,1 Triton X-100, 1 mM GSH; koyu renkli bir şişe içerisinde, yaklaşık 60 ml 50 mM pH 7,8 Tris-HCl tamponunda, her

madde ilave edildikten sonra tamamen eriyene kadar manyetik karıştırıcıda karıştırılacak şekilde sırasıyla 100 mg  $MnCl_2 \cdot 4 H_2O$ , 100  $\mu l$  Triton X-100 ve 30,7 mg GSH çözüldürüldü. Son hacim 50 mM pH 7,8 Tris-HCl tampon ile 100 ml'ye tamamlandı.

3. 144 mM glisin-L-prolin (substrat); koyu renkli bir şişe içerisinde, sırasıyla 5 mg  $MnCl_2 \cdot 4 H_2O$  ve 124 mg glisin-L-prolin, yaklaşık 3 ml 50 mM pH 7,8 Tris-HCl tampon içinde tamamen çözüldürüldü. Son hacim 50 mM pH 7,8 Tris-HCl tampon ile 5 ml'ye tamamlandı.

4. 0,45 M TCA; 73,52 g Triklorasetik asit (TCA), yaklaşık 600 ml distile su içinde manyetik karıştırıcıda tamamen eritildikten sonra son hacim distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.

5. L-prolin standardı; 7,5 mg L-prolin, yaklaşık 60 ml 0,45 M'lık TCA içinde manyetik karıştırıcıda tamamen eritildikten sonra son hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

6. Modifiye Chinard Ayırıcı; 550 ml glasial asetik asit (GAA), 450 ml 6 M ortofosforik asit (OFA) girdap karıştırıcıda tamamen homojen hale gelene kadar karıştırıldı. Bu karışımın yaklaşık 60 ml'si koyu renkli bir şişe içerisine aktararak 30g ninhidrin ilave edildi. 70 °C'de manyetik karıştırıcıda tamamen çözüldürüldükten sonra son hacim GAA-OFA karışımı ile 100 ml'ye tamamlandı.

### **Yöntemin Yapılışı**

Derin dondurucudan çıkarılan serum örneklerin oda ısısına gelmeleri sağlandı. Bu örnekler daha sonra 1/6 oranında 5 mM  $MnCl_2 \cdot 4 H_2O$ , %0,1 Triton X-100 ve 1 mM GSH içeren pH 7,8 Tris-HCL tampon ile dilüe edilerek 37 °C'de üç saat ön inkübasyonun bırakıldı. Ardından her örnekten, örnek ve örnek körü olarak işaretlenmiş tüplere 100'er  $\mu l$  koyuldu. Örnek tüpüne 100  $\mu l$  substrat (Glisin-L-Prolin) eklenerek, örnek ve örnek körü 37 °C'de otuz dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun sonunda her iki tüpe 1 ml 0,45 M TCA ilave edilip, girdap karıştırıcıda karıştırılarak prolidaz enzimi inhibe edildi. Daha sonra örnek körü tüpüne 100 $\mu l$  substrat ilave edilip karıştırıldıktan sonra, 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj

işleminde sonra örnek ve örnek körlerinden 0,5 ml süpernatant yeni tüplere aktarıldı. Farklı tüplere 0,5 ml standart (%7,5 mg L-prolin) ve 0,5 ml TCA koyularak sırasıyla standart ve ayıraç körü olarak işaretlendi. Tüm tüplere 1ml GAA eklenip girdap karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra, 1ml Modifiye Chinard Ayıracı eklenip karıştırıldı. Tüm tüpler 90 °C'de yirmi dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda tüm tüpler oda ısısına getirilip, Beckman Coulter DU 530 spektrofotometre cihazında 515 nm dalga boyunda verdikleri absorbanlar ölçüldü. Elde edilen veriler "Formül 3.3" de yerine koyularak serum prolidaz enzim aktiviteleri U/L olarak hesaplandı.

$$\frac{A_{\text{ö}} - A_{\text{ök}} - A_{\text{ak}}}{A_{\text{s}} - A_{\text{ak}}} \times 1560 \quad (3.3)$$

$A_{\text{ö}}$  = Örneğin Absorbansı.

$A_{\text{ök}}$  = Örnek Körünün Absorbansı.

$A_{\text{ak}}$  = Ayıraç Körünün Absorbansı.

$A_{\text{s}}$  = Standardın Absorbansı.

### 3.2.6. Trombosit İçi MDH (t-MDH) Enzim Aktivitesi

Triton X-100 ile trombosit membranları parçalanarak trombosit içeriği açığa çıkarıldıktan sonra trombosit içi MDH, laboratuvarımızda üretilen reaktifler kullanılarak, Beckman Coulter LX-20 otoanalizöründe 340 nm dalga boyunda NADH'nın harcanma hızı ölçülerek hesaplandı (44).

#### Çözeltilerin Hazırlanması

1. Triton X-100 (% 4): 4 ml triton X-100; 80 ml distile su içinde çözüldürüldükten sonra son hacim 100 ml'ye tamamlandı.

2. Glisinglisin tampon (0,25 M; pH 7,4): 330,3 mg glisinglisin yaklaşık 6ml distile su içerisinde tamamen eritildikten sonra 0,1 N NaOH ile pH'sı 7,4'e ayarlanarak son hacim 10 ml'ye tamamlandı.

3. NADH (6mM): 42,6 mg NADH, yaklaşık 6ml distile su içerisinde tamamen eritildikten sonra son hacim 10 ml'ye tamamlandı.

4. Okzaloasetikasit (7,6mM): 10 mg okzaloasetikasit, yaklaşık 6ml distile su içerisinde tamamen eritildikten sonra son hacim 10 ml'ye tamamlandı.

Reaktif 1: 2,4 ml 0,25 M glisinglisin tampon (pH 7,4) ve 0,8 ml 6mM NADH karıştırılarak manyetik karıştırıcıda tamamen homojen hale getirildikten sonra son hacim 20 ml olacak şekilde distile su ilave edildi. Bu çözelti Beckman Coulter Synchron LX 20 cihazı reaktif kabının R1 bölümüne konuldu.

Reaktif 2: 0,8 ml 7,6mM okzaloasetikasit; 2,8 ml distile su ile homojen olarak karıştırıldıktan sonra Beckman Coulter Synchron LX 20 cihazı reaktif kabının R2 bölümüne konuldu.

### **Yöntemin Yapılışı**

Örnekler derin dondurucudan çıkarıldıktan sonra oda ısısına getirildi. 130 ml trombosit süspansiyonu üzerine 130 ml %4'lük triton X-100 ilave edilerek girdap karıştırıcıda en az 10 saniye süre ile karıştırılarak trombositlerin tamamen parçalanması sağlandı. Bu örneklerin bir kısmı protein ölçümü için kullanılırken, kalan kısmından Beckman Coulter Synchron LX 20 otoanalizöründe MDH enzim aktivitesi çalışılarak U/L olarak sonuçlar elde edildi. Elde edilen sonuçlar daha sonra trombosit süspansiyonundan ölçülen protein sonuçları ile düzeltilerek trombosit içi MDH enzim aktivitesi U/gr protein olarak hesaplandı.

### **3.2.7. Trombosit Süspansiyonunda Protein Ölçümü**

Triton X-100 ile trombosit membranları parçalanarak oluşan trombosit süspansiyonu protein içeriği Lowry protein ölçüm metodu <sup>(45)</sup> kullanılarak ölçüldü.

### **Çözeltilerin Hazırlanması**

A Reaktifi: 0,1 N sodyum hidroksit içerisinde %2'lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> hazırlandı.

B Reaktifi: %1'lik sodyum tartarat içerisinde %0,5'lik bakır sülfat hazırlandı.

C Reaktifi: 50 ml A reaktifi ile 1 ml B reaktifi karıştırılarak hazırlandı. Bu reaktif aynı gün kullanılmalıdır.

D Reaktifi: Folin-Ciocalteu reaktifi 2 kez dilüe edilerek hazırlandı.

Standart solüsyonu: Bovin albumin serum fizyolojik içersinde 10, 20, 50 ve 100 µg/ml olacak şekilde hazırlandı.

### **Yöntemin Yapılışı**

Daha önce % 4 lük Triton X-100 ile 1/2 oranında dilue edilmiş trombosit süspansiyonu serum fizyolojik ile 1/40 oranında dilue edildi. Örnek, kör ve standart tüplerine sırasıyla 200 µl sulandırılmış trombosit süspansiyonu, serum fizyolojik ve standart solusyonu konuldu. Her üç tüpe de 1 ml C reaktifi eklendi ve karıştırılıp 10 dakika oda ısısında bekletildi. Daha sonra karışıma D reaktifinden 100 µl eklenip girdap karıştırıcıda karıştırılarak 30 dakika oda ısısında inkübe edildi. İnkübasyon sonunda spektrofotometrede 500 nm dalga boyunda köre karşı standart ve örneklerin absorbansı okutuldu. Standartlarla elde edilen kalibrasyon eğrisine göre örneklerin konsantrasyonu hesaplandı.

### **3.2.8. Eritrosit İçi G6PD Enzim Aktivitesi**

Kornberg ve Horecke'in tanımladığı spektrofotometrik metoddan modifiye edilerek üretilmiş Trinity Biotech ölçüm kiti kullanılarak Beckman Coulter Synchron LX 20 cihazında ölçüldü.

### **Çözeltilerin Hazırlanması**

1. Saponin çözeltisi (%2'lik): 2 gr saponin 80ml distile su içinde eritildikten sonra son hacim 100ml'ye tamamlandı.

### **Yöntemin Yapılışı**

Derin dondurucudan çıkarılan eritrosit paketleri oda ısısına getirildikten sonra bir tüpe 100µl konuldu. Üzerine 900µl saponin çözeltisi ilave edilerek girdap karıştırıcıda karıştırılarak eritrositlerin tamamen parçalanması sağlandı. Daha sonra Beckman Coulter Synchron LX 20

otoanalizöründe G6PD enzim aktivitesi çalışılarak U/L olarak sonuçlar elde edildi. Elde edilen sonuçlar Beckman Coulter Gen-S tam kan sayım cihazında ölçülen eritrosit paketi hemoglobin (Hb) değeri ile düzeltilerek eritrosit G6PD enzim aktivitesi U/gr Hb olarak hesaplandı.

### **3.2.9. Eritrosit Membranı Yağ Asit Seviyeleri**

Eritrosit membran lipidleri Folch ve ark. (46)'nın bildirdiği yöntemle göre ekstrakte edildikten sonra, membran yağ asit seviyeleri ZIVAK®FA yağ asitleri analiz kiti kullanılarak Thermo Finnigan Focus GC Gaz Kromatografi cihazında ölçüldü.

### **Çözeltilerin Hazırlanması**

1. Tris-HCl tampon (10 mM; pH: 7,4): 800 ml bidistile su içerisinde 1,211 g tris eritildi ve 1 N HCl ile ayarlandı. Son hacim 1000ml 'ye tamamlandı.

### **Yöntemin Yapılışı**

Derin dondurucudan çıkarılan eritrosit paketleri çözündürüldükten sonra bir tüpe 0,2ml konuldu. Üzerine 8 ml tris-HCl tampon eklenip girdap karıştırıcıda karıştırılarak eritrositlerin parçalanması sağlandı. Karışım Hettich Universal 320R santrifüj cihazında +4 °C'de 2000 rpm'de 25 dk. santrifüj edildikten sonra üst faz atıldı. Bu işlem 4 kez daha tekrarlanarak eritrosit membranları yıkandı (47). Dipte kalan membran sedimentinden lipidler Folch ve ark.'nın tarif ettikleri yöntemle göre ekstrakte edildi. Membran sedimentinin üzerine 4 ml metanol konulup ultrasonik banyoda homojenize edildi. Daha sonra üzerine 8 ml kloroform eklenerek oda ısısında bir saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda 2,4 ml su ilave edilerek vorteks karıştırıcıda karıştırılıp, +4 °C'de 2000 g'de 5 dakika santrifüj edildi. Altta kalan kloroform tabakası başka bir tüpe aktarıldıktan sonra, kloroform azot gazı ile uçuruldu. Tüpün dibinde kalan tabaka, üretici firmanın önerilerine göre ZIVAK®FA yağ asitleri analiz kiti ile işleme tabii tutularak elde edilen süpernatant Thermo Focus GC Gaz Kromatografi cihazına

enjekte edildi. Cihazda GS yağ asitleri kolonu kullanılarak kromatografik sisitem kit üretici firmanın önerileri doğrultusunda Tablo 3.1'de gösterildiği gibi ayarlandı.

**Tablo 3.2.** Thermo Finnegan Focus GC Gaz Kromatografi Cihazının Kromatografik Sistemi

<b>Kolon:</b>	GS yağ asitleri kolonu
<b>Enjeksiyon:</b>	Hacim: 2µl Split: 1/10 Isı: 260 °C
<b>Taşıyıcı Gaz:</b>	Helyum 1ml/dak. Sabit akım
<b>Hidrojen akışı:</b>	35 ml/dak.
<b>Hava akışı:</b>	350 ml/dak.
<b>Fırın programı:</b>	Isı 1: 100 °C Zaman 1: 1 dak. Hız: 10 °C /dak. Isı 2: 250 °C Zaman 2: 10 dak.
<b>Dedektör (FID):</b>	290 °C

Elde edilen sonuçlar eritrosit sayısına göre düzeltilerek membran yağ asit seviyeleri hesaplandı. Sonuçlar pmol/10<sup>6</sup> eritrosit olarak kantite edildi.

### 3.3. İstatistiksel Yöntemler

Tüm istatistiki işlemler *SPSS for Windows (Version 11.0)* programı ile yapıldı.  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Hasta ve kontrol gruplarının demografik özelliklerinin karşılaştırılmasında ki-kare veya *Fisher*'in kesin ki-kare testi kullanıldı. Tüm gruplardan elde edilen biyokimyasal verilerin normal dağılıma uyup uymadıkları *Kolmogorov-Smirnov* testi ile incelendi. Normal dağılıma uyan veriler ortalama  $\pm$  standart sapma ( $\text{ort} \pm \text{SS}$ ); normal dağılıma uymayanlar ise ortanca, en küçük, en büyük değer şeklinde gösterildi. Gruplar ve alt gruplar arasında karşılaştırmalar yapılırken parametrik özellikleri karşılayan veriler için *Student-t* testi, parametrik özellikleri karşılamayan veriler için ise *Mann-*

*Whitney U* testi kullandı. Benzer olarak veriler arasındaki korelasyonların değerlendirilmesinde ise parametrik özellikleri karşılayan veriler için *Pearson* korelasyon katsayısı, karşılamayan veriler için ise *Spearman* korelasyon katsayısı kullanıldı.

## BULGULAR

Anksiyete, depresyon, psikoz ve kontrol gruplarının demografik özellikleri Tablo 4.1 de gösterilmiştir. Anksiyete, depresyon ve kontrol gruplarının yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yokken ( $p>0,05$ ) psikoz grubunun yaş düzeyleri anlamlı düzeyde düşüktü ( $p<0,05$ ). Psikoz grubunu oluşturan tüm hastaların erkek olması nedeniyle psikoz grubu ile kontrol grubu arasında cinsiyet dağılımı bakımından anlamlı düzeyde bir farklılık vardı ( $p<0,05$ ). Ayrıca sigara içme oranları da anksiyete ve psikoz grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksekti ( $p<0,05$ ).

**Tablo 4. 5:** Hasta Ve Kontrol Gruplarının Demografik Özellikleri.

	<b>PSİKOZ</b> (n=25)	<b>DEPRESYON</b> (n=36)	<b>ANKSİYETE</b> (n=30)	<b>KONTROL</b> (n=43)
<b>YAŞ</b> (Ortanca-Aralık)	<b>21 (20-25)*</b>	24,5 (20-67)	25 (20-53)	27 (20-51)
<b>CİNSİYET (E/K)</b> (%)	<b>0/25</b> <b>(0/100)*</b>	30/6 (83,3/16,7)	23/7 (76,7/23,3)	34/9 (81,0/19,0)
<b>SİGARA</b> (içen/içmeyen) (%)	<b>17/8</b> <b>(68/32)*</b>	20/16 (55,6/44,4)	<b>18/12</b> <b>(60/40)*</b>	14/29 (32,5/67,5)
<b>VKİ (kg/m<sup>2</sup>)</b> (Ortalama-ss)	<b>22,46±2,68*</b>	24,08±3,86	24,53±2,61	24,27±3,80
* P<0,05, Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. n: kişi sayısı. VKİ: vücut kitle indeksi.				

Anksiyete, depresyon, psikoz ve kontrol gruplarının biyokimyasal parametreleri ve karşılaştırmaları tablo 4.2'de gösterilmiştir.

İlk atak psikoz grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum vit B12 ve folat düzeyleri ile serum prolidaz enzim aktiviteleri istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü (Tablo 4.2; sırasıyla  $p=0,022$ ;  $p<0,001$ ;  $p=0,004$ ). tHcy düzeylerinde ise anlamlı derecede bir artış vardı ( $p<0,001$ ). Psikotik hastaların iMMA, t-MDH ve G6PD düzeylerinde ise kontrol grubuna göre anlamlı bir fark yoktu ( $p>0,05$ ).

İlk atak psikozlu 25 hastanın 9'unun (%36,0) serum vit B12 düzeyleri ve 8'inin (%32) serum folat düzeyleri referans aralığın altında iken, 16 hastanın (%64) tHcy düzeyleri ve iMMA düzeyleri ölçülen 20 hastadan 6'sının (%30) iMMA düzeyleri referans aralığın üstünde idi (Tablo 4.3).

**Tablo 4. 6:** Biyokimyasal Parametreler ve Karşılaştırmaları.

	PSİKOZ		DEPRESYON		ANKSİYETE		KONTROL	
	n	Ortanca (E.K-E.B)	n	Ortanca (E.K-E.B)	n	Ortanca (E.K-E.B)	n	Ortanca (E.K-E.B)
<b>Serum vitB12</b> (pg/ml)	25	<b>224 (110-484)</b> P=0,022	36	277 (127-852) P=0,266	30	239 (114-1500) P=0,658	43	248 (152-582)
<b>Serum Folat</b> (ng/ml)	25	<b>3,3 (0,8-7,6)</b> P=0,000	36	3,9 (1,5-14,3) P=0,058	30	<b>3,0 (1,0-12,8)</b> P=0,000	43	5,7 (1,6-17,0)
<b>Plazma tHcy</b> (µmol/L)	25	<b>13,9 (4,1-108,6)</b> P=0,000	34	<b>15,0 (4,1-63,0)</b> P=0,000	30	<b>14,2 (5,6-89,0)</b> P=0,000	43	9,7 (6,0-13,9)
<b>iMMA</b> (mmol/mol kreatinin)	20	3,27 (1,11-40,70) 0,194	35	3,58 (0,37-200,30) P=0,062	30	2,78 (0,29-6,96) P=0,933	43	2,87 (0,42-4,50)
<b>t-MDH aktivitesi</b> (U/g protein)	19	253 (54-454) P=0,767	19	<b>107 (39-440)</b> P=0,028	18	239 (76-779) P=0,961	43	241 (32-500)
<b>G6PD aktivitesi</b> (U/grHb)	25	6,08 (0,98-16,17) P=0,597	36	<b>4,31 (0,96-10,3)</b> P=0,004	28	<b>4,54 (0,52-7,55)</b> P=0,017	43	6,09 (2,13-8,69)
<b>Serum Prolidaz aktivitesi*</b> (U/L)	22	<b>1197±301</b> P=0,004	35	1262±226 P=0,094	30	1333±229 P=0,661	43	1360±273

P, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel önemlilik değeri; p<0,05 olanlar koyu olarak gösterilmiştir.  
\* ortalama±standart sapma şeklinde gösterilmiştir.  
n: parametrenin ölçüldüğü kişi sayısı; E.K: En küçük, E.B: En büyük.

Depresyon grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tHcy düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede bir artış varken (p<0,001) serum folat, vit B12, iMMA düzeyleri ve serum prolidaz enzim aktivitelerinde ise kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktu (p>0,05). Depresif hastaların t-MDH, G6PD aktiviteleri ise istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü (Tablo 4.2; sırasıyla p=0,028; p=0,004).

**Tablo 4. 7.** Biyokimyasal parametreleri referans aralıkların dışında olan hastaların oranları

	İLK ATAK PSİKOZ (%)	DEPRESYON (%)	ANKSİYETE (%)
<b>Serum vit B12 (&lt;189 pg/ml)</b>	36,0	8,3	23,3
<b>Serum Folat (&lt;2,7 ng/ml)</b>	32,0	8,3	36,7
<b>Plazma tHcy (&gt;12 µmol/L)</b>	64,0	64,7	73,3
<b>iMMA (&gt;4,5 mmol/mol kreatinin)</b>	30,0	37,1	16,7

Depresyonlu hastaların % 64,7'sinin (34 hastanın 22'si) tHcy ve %37,1'inin (35 hastanın 13ü) iMMA düzeyleri referans aralığın üstündeydi (Tablo 4.3).

Anksiyete grubunda ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hastaların serum folat ve G6PD düzeyleri anlamlı olarak düşüktü (Tablo 4.2; sırasıyla  $p<0,001$ ;  $p=0,017$ ). tHcy düzeylerinde ise anlamlı derecede bir artış vardı ( $p<0,001$ ).

Tablo 4.3'de görüldüğü gibi anksiyeteli 30 hastanın 7'si (%23) düşük serum vit B12 ve 11'i (%36,7) ise düşük serum folat değerlerine sahipti. Bu hastaların 22'sinin (%73,3) tHcy ve 5'inin (16,7) iMMA değerleri referans aralığının üstünde idi.

Anksiyete, depresyon, psikoz ve kontrol gruplarına ait eritrosit membranı yağ asit düzeyleri ve karşılaştırmaları ise Tablo 4.4 gösterilmiştir.

İlk atak psikoz grubunun eritrosit membran yağ asit düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tridekanoik asit (13:0) ( $p=0,037$ ), palmitik asit (16:0) ( $p=0,022$ ), stearik asit (18:0) ( $p=0,005$ ), toplam sature yağ asitleri (SYA) ( $p=0,036$ ) toplam yağ asitleri ( $p= 0,045$ ) ile toplam 16,18 karbonlu monosature ve sature yağ asitleri (16,18m+sya) (16:0+18:0+16:1+18:1) ( $p=0,022$ ) düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede bir azalma saptanırken diğer yağ asitleri ve ilgilenilen yağ asitleri oranlarında anlamlı bir farklılık yoktu (Tablo 4.4).

Depresyon grubunun eritrosit membranı yağ asit düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise palmitik asit (16:0), stearik asit (18:0) ile 16,18m+sya düzeylerinde anlamlı derecede bir azalma varken (sırasıyla  $p=0,049$ ;  $p=0,019$ ;  $p=0,040$ ) diğer yağ asitleri ve ilgilenilen yağ asitleri oranlarında anlamlı bir farklılık saptanmadı (Tablo 4.4).

Anksiyete grubu yağ asit düzeylerinde ve ilgilenilen yağ asitleri oranlarında ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (Tablo 4.4).

Çalışmada kullandığımız kontrol grubu ile ilk atak psikoz grubu arasındaki cinsiyet dağılım farklılığının laboratuvar parametreleri üzerine etkisi olup olmadığını anlamak için kontrol grubundaki bireyler bayan ve erkek olarak ayrılıp karşılaştırıldı. Cinsler arasında herhangi bir laboratuvar parametresinde farklılık bulunmadı. Bu nedenle kontrol grubunun cinsiyet

dağılım farklılığının ölçülen parametreler açısından önemli olmadığı düşünüldü.

**Tablo 4. 8.** Eritrosit Membranı Yağ Asit Düzeyleri (pmol/10<sup>6</sup>eritrosit)

	PSİKOZ (n=25)	DEPRESYON (n=30)	ANKSİYETE (n=28)	KONTROL (n=31)
	Ortanca (E.K.-E.B)	Ortanca (E.K.-E.B)	Ortanca (E.K.-E.B)	Ortanca (E.K.-E.B)
<b>SFA</b>				
10:0	0,36 (0,00-0,96)	0,36 (0,19-0,94)	0,36 (0,00-0,80)	0,41 (0,00-0,84)
11:0	0,81 (0,40-2,00)	0,88 (0,32-2,70)	0,76 (0,18-2,55)	1,02 (0,40-2,45)
12:0	3,36 (0,59-11,87)	2,76 (54-7,11)	3,73 (0,53-18,61)	3,58 (0,52-18,18)
13:0	<b>2,05 (1,25-2,88)*</b>	2,21 (1,36-6,22)	2,21 (0,92-4,93)	2,34 (1,48-4,01)
14:0	3,57 (0,77-14,23)	3,33 (0,80-10,19)	3,28 (0,85-14,65)	3,97 (0,77-17,26)
15:0	0,66 (0,20-2,73)	0,63 (0,09-4,54)	0,73 (0,30-3,45)	0,76 (0,11-3,94)
16:0	<b>8,82 (4,89-18,03)*</b>	<b>8,78 (4,69-20,74)*</b>	9,10 (4,84-20,34)	9,93 (4,90-20,21)
18:0	<b>8,05 (5,05-16,37)*</b>	<b>8,11 (4,63-20,44)*</b>	9,23 (4,74-17,48)	10,14 (5,01-18,12)
20:0	0,48 (0,16-6,55)	0,48 (0,24-5,59)	0,61 (0,30-4,89)	0,58 (0,28-6,57)
21:0	0,60 (0,13-1,09)	0,58 (0,27-0,96)	0,57 (0,22-1,09)	0,56 (0,27-2,04)
24:0	0,15 (0,00-1,12)	0,17 (0,00-1,87)	0,19 (0,00-1,59)	0,17 (0,00-1,45)
<b>Toplam SFA</b>	<b>27,58 (17,74-68,82)*</b>	30,50 (15,35-72,33)	30,91 (15,68-64,40)	34,65 (15,23-80,42)
<b>MUFA</b>				
16:1n7	0,79 (0,46-1,38)	0,73 (0,29-1,40)	0,68 (0,36-1,64)	0,67 (0,46-1,56)
18:1n9	2,25 (1,12-3,48)	2,34 (1,15-3,14)	2,04 (1,12-17,31)	2,18 (1,34-8,53)
20:1n9	1,63 (0,71-2,43)	1,46 (0,71-2,41)	1,58 (0,54-2,60)	1,60 (0,76-2,98)
22:1n9	0,37 (0,03-0,68)	0,39 (0,06-1,19)	0,48 (0,04-1,16)	0,47 (0,06-1,12)
<b>Toplam MUFA</b>	4,96 (3,60-7,19)	4,76 (3,45-7,21)	4,50 (3,22-21,70)	5,17 (3,74-13,51)
<b>PUFA</b>				
<b>n3 PUFA</b>				
20:5n3 (EPA)	0,65 (0,12-1,23)	0,60 (0,02-1,50)	0,68 (0,13-1,15)	0,64 (0,08-1,38)
22:6n3 (DHA)	4,49 (2,05-7,48)	4,27 (3,04-9,15)	4,22 (2,90-9,56)	4,45 (3,06-12,05)
<b>Toplam n3 PUFA</b>	5,13 (2,17-8,55)	4,85 (3,49-9,26)	4,97 (3,41-10,44)	5,16 (3,35-12,71)
<b>n6 PUFA</b>				
18:2n6	0,91 (0,48-6,60)	0,92 (0,66-4,81)	1,11 (0,48-3,57)	1,24 (0,38-4,16)
20:4n6 (AA)	1,85 (0,50-3,02)	1,70 (1,03-2,52)	1,70 (0,72-5,43)	1,69 (0,99-2,88)
<b>Toplam n6 PUFA</b>	2,84 (1,76-8,05)	2,71 (2,01-7,28)	2,80 (1,67-7,96)	3,03 (1,91-6,02)
<b>Toplam PUFA</b>	8,11 (4,64-13,93)	8,04 (5,60-14,62)	7,84 (5,30-18,40)	8,07 (5,55-17,89)
<b>Toplam USFA</b>	12,78 (8,24-19,22)	12,72 (9,15-21,74)	13,35 (9,03-40,10)	12,97 (9,29-29,32)
<b>Toplam Yağ Asitleri</b>	<b>41,98 (28,60-81,07)*</b>	44,85 (26,05-94,07)	43,60 (24,78-97,57)	47,90 (26,07-97,83)
<b>Oranlar</b>				
TS/TU	2,16 (1,37-5,62)	2,30 (1,43-3,69)	2,49 (1,43-3,55)	2,55 (1,18-4,62)
n3/n6	1,89 (0,73-2,80)	1,83 (0,96-2,80)	1,87 (0,78-2,86)	1,90 (1,00-2,86)
AA/EPA	2,69 (0,85-5,37)	2,87 (1,05-89,00)	2,51 (1,31-15,23)	2,41 (1,41-23,63)
AA/DHA	0,40 (0,20-0,48)	0,40 (0,20-0,48)	0,40 (0,21-0,57)	0,37 (0,17-0,45)
EPA/DHA	0,16 (0,05-0,32)	0,14 (0,00-0,40)	0,15 (0,03-0,22)	0,15 (0,02-0,27)
16, 18 m+s y.a.	<b>20,07 (11,89-37,46)*</b>	<b>19,95 (10,97-45,29)*</b>	21,19 (11,21-56,77)	22,85 (11,71-41,50)
*p<0,05, Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. n:Kişi sayısı, E.K: En küçük, E.B: En büyük, SFA: Doymuş yağ asitleri, MUFA: Monounsature yağ asitleri, PUFA: Poliunsature yağ asitleri, EPA: Eikozapentaenoik asit, DHA: Dokozaheksaenoik asit, AA: Araşidonik asit. 16, 18 m+s y.a.: Toplam 16 ve 18 karbonlu monosature ve sature yağ asitleri (16:0+18:0+16:1+18:1)				

Benzer olarak ilk atak psikoz grubu ile kontrol grubunun yaş dağılım farklılığının laboratuvar parametreleri üzerine etkisinin olup olmadığını anlamak için, kontrol grubu 25 yaş altı ve üstü olarak ayrılarak karşılaştırıldı. Herhangi bir laboratuvar parametresinde iki grup arasında farklılık yoktu. Bundan dolayı yaş dağılımlarındaki farklılığın ölçülen parametreler açısından önemli olmadığı düşünüldü.

Anksiyete ve ilk atak psikoz grubu ile kontrol grubunun sigara içme oranları arasındaki farklılığın laboratuvar parametreleri üzerine etkisinin olup olmadığını anlamak için ise kontrol grubu sigara içenler ve içmeyenler şeklinde iki gruba ayrılarak karşılaştırıldı. Sigara içen ve içmeyenler arasında herhangi bir parametre açısından farklılık olmaması nedeniyle sigara içme oranlarındaki farklılığın ölçülen parametreler üzerine önemli bir etkisinin olmadığı düşünüldü.

Aynı şekilde ilk atak psikoz grubu ile kontrol grubunun VKİ ortalamaları arasındaki farklılığın ölçülen parametreler üzerine etkisinin olup olmadığını araştırmak için kontrol grubu psikoz grubunun ortalama değerinin ( $22,46 \text{ kg/m}^2$ ) altında ve üstünde olmak üzere iki gruba ayrıldı. Bu iki grup karşılaştırıldığında herhangi bir parametre açısından farklılık olmaması nedeniyle VKİ değerleri arasındaki farklılığın ölçülen parametreler üzerine etkisinin önemli düzeyde olmadığı düşünüldü.

Tüm hasta gruplarında değişim gösteren parametrelerin birbirleriyle ilişkileri incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı.

## TARTIŞMA

Bu çalışmada ilk olarak ilk atak psikoz, depresyon ve anksiyeteli hasta gruplarında folat, vit B12 metabolizmaları, prolidaz enzim aktivitesi ve hücre membranı yağ asit seviyeleri arasındaki ilişkiler incelenmiştir. B12 ve folat metabolizması SSS de birçok psikiyatrik hastalığın etyolojisinde bozulduğu bildirilen metilasyon reaksiyonlarının kavşak noktasında olan tek karbon metabolizmasında önemli bir yer tutmaktadır. Bu metilasyon reaksiyonları SSS'de özellikle monoaminlerin metabolizmalarında önemli roller üstlenmektedirler.

Çalışmamızda ilk atak psikoz hastalarının serum folat seviyeleri kontrol grubuna göre belirgin olarak düşüktü (Bkz. Tablo 4.2;  $p < 0,001$ ). Bazı çalışmalarda hasta ve kontrol grupları arasında farklılık görülmemesine (48) rağmen şizofrenik hastalarda serum folat konsantrasyonlarında düşüklük olduğu daha önceki pek çok çalışmada bildirilmiştir (49-51). Bu düşüklük sigara içme, yaş ve beslenme farklılıkları gibi serum folat düzeylerini etkileyen faktörlere bağlı olabilir. Bizim çalışmamızda da psikotik hastaların yaşları ve sigara içme alışkanlıkları kontrol grubundan belirgin olarak farklıydı (Bkz. Tablo 4.1;  $p < 0,05$ ). Çalışmamızdaki grupların yaş düzeyleri arasındaki farklılık, grupların yaş dağılımlarının farklılığından kaynaklanıyor gibi görünmektedir. İlk atak psikoz grubunu oluşturan hastaların yaş aralığı 21-25 yaş ve ortanca yaşları 21 iken, kontrol grubunun yaş aralığı oldukça genişti (ortanca 27 min 20 -max 51) (Tablo 4.1). Ayrıca kontrol grubundaki katılımcıların çoğunluğu orta yaş altı bireylerden oluşmaktaydı ve katılımcılardan sadece 4'ü 40 yaşında veya daha büyüktü. Çalışmamızda kontrol grubunda 25 yaş ve altı bireylerin serum folat düzeyleri ile 25 yaşından büyük olanların folat düzeyleri arasında anlamlı bir fark yoktu. Aynı zamanda psikoz grubunun serum folat düzeylerinin 25 yaş ve altı kontrol grubunun serum folat değerlerine göre de anlamlı derecede düşük olması bizim grubumuzda yaşın serum folat düzeylerini önemli ölçüde etkileyen bir faktör olmadığını düşündürmektedir. Ayrıca rutin labaratuvarlarda kullanılan

referans aralıkların yetişkin bireyler için farklı olmaması çalışmamızdaki yaşla ilgili farklılıkların önemini azaltabilir.

Çalışmamızda psikotik hastaların %68i sigara içmekteyken kontrol grubundaki katılımcıların %33,3'ü sigara içmekteydi (Bkz. Tablo 4.1). Bu farklılıktan dolayı çalışmamızda kontrol grubu sigara içen ve içmeyen olarak iki alt gruba ayrılarak karşılaştırıldı. İki grubun serum folat düzeyleri arasında fark olmaması sigaranın folat düzeyleri üzerine etkisinin önemli olmadığını düşündürdü.

Psikotik hastaların tamamı ve kontrol grubunu oluşturan bireylerin büyük çoğunluğu aynı populasyonun üyeleri olması nedeniyle beslenme özelliklerinin birbirine oldukça benzer olduğu düşünülebilir. Ancak düşük folat seviyeleri hastanede yatan şizofrenik hastalarda daha önce bildirildiği gibi (49) kişisel olarak diyetle folat alımında azalmaya da bağlanabilir.

Diğer yandan folat seviyelerindeki bu düşüklük, şizofrenik hastalarda olabileceği ileri sürülen N-Metil-D-Aspartat (NMDA) reseptör hipoaktivitesi ve Glutamat Karboksipeptidaz II (GCPII) enzimi konsantrasyonlarında azalma ile de ilişkili olabilir (49,52). GCPII, beyinde NMDA reseptör antagonisti olan N-asetil aspartil glutamati, N-asetil aspartat ve glutamata dönüştüren bir enzimdir (49). Aynı zamanda intestinal epitelyal fırçamsı hücrelerde de bulunduğu gösterilen bu enzim membranlara sıkı bir şekilde bağlanmıştır (53). Enzimin bağırsaklarda diyetdeki folil-poliglutamatlardan glutamat kalıntılarını kopararak folatın emilimini kolaylaştırdığı gösterilmiştir (53). GCPII enziminin iki bölgedeki bu aktivitesi şizofrenide serum folat seviyelerindeki azalmayı açıklayabilir. GCPII aktivitesindeki azalmaların bu enzimin genindeki polimorfizmlerden kaynaklanabileceğini bildiren yayınlar bulunmakla (53) birlikte enzimin membranlara sıkı bir şekilde yapışık olması membranlarda meydana gelebilecek yapısal değişikliklerden de etkilenebileceğini düşündürmektedir. Bunun yanında bu sonuçlar kan folat seviyelerindeki düşüklüğü açıklamakla birlikte, bu düşüklüğün şizofreninin etyopatolojisinde rolü olduğundan daha çok hastalığa eşlik eden bir bulgu olduğunu akla getirmektedir.

Serum folat seviyesi ölçümünün tek başına hücre içi folat durumunu yansıtmakta yeterli olmadığı bilinmektedir (36). Bu durum serum folatının hücre içi depolara göre diyetle daha hızlı yanıt vermesi nedeniyle olabilir (36). Bu nedenle hücre içi folat depolarının bir göstergesi olan eritrosit folatı veya fonksiyonel folat ve vit B12 eksikliğinin oldukça hassas bir göstergesi olan tHcy'yi değerlendirmek çok daha yararlı olacaktır (36).

Çalışmamızda ilk atak psikoz grubunda serum folat düzeylerindeki azalma yanında serum vit B12 seviyeleri de kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü (Bkz. Tablo 4.2;  $p=0,022$ ). Ancak vit B12 eksikliğinin metabolik bir belirtici olan iMMA düzeyleri kontrol grubuna göre farklı değildi ( $p>0,05$ ). Bu durum ilk atak psikotik hastalarda fonksiyonel bir vit B12 eksikliği durumunun olmadığını gösterebilir. Serum vit B12 düzeylerinin vit B12'nin doku düzeyini yansıtmada düşük hassasiyet ve duyarlılığa sahip olduğu bildirilmiştir (54). Bu nedenle hastalarımızda düşük serum vit B12 değerleri olmasına rağmen iMMA düzeylerinin yüksek olmaması hücre içi vit B12 metabolizmasında önemli bir değişiklik olmadığını düşündürebilir. vit B12'nin serum seviyelerinde azalma, bu azalmaya karşı oluşan bir yanıt mekanizması ile vit B12'nin hücre içine girişinde ve kullanımında bir artışa neden olabilir. Bu durum düşük serum vit B12 ve normal iMMA düzeylerini açıklayabilir. Özcan ve ark. (55) bizim çalışmamızdan farklı olarak şizofrenik hastalarda serum vit B12 seviyelerinde azalma olmamakla birlikte iMMA düzeylerinde artış ile gösterilen fonksiyonel bir vit B12 eksikliği olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmalarında kullandıkları hastalar kronik şizofren hastaları olduğu için onların çalışmalarındaki iMMA yüksekliği, psikozun ileri safhalarında vit B12'nin hücre içine girişi ve kullanımındaki artış mekanizmasında oluşabilecek bir yetersizliğe bağlı olabilir. ilk atak psikoz ve kronik şizofreni hastalarının metabolizmaları arasında buna benzer olarak bir çok farklılıklar olabilir. Bu nedenle ilk atak psikoz ile kronik şizofrenili hastaların metabolizmalarını farklı değerlendirmek daha uygun olabilir. Diğer yandan çalışmamızda iMMA düzeyleri ölçülen 20 ilk atak psikozlu hastanın 6 tanesinin (%30) iMMA düzeyleri referans değerleri üzerindedir (Bkz. Tablo 4.3). Bu durum bizim hasta grubumuzda da fonksiyonel vit B12 eksikliği

insidansının az olmayabileceğini de düşündürmektedir. Hastaların %30unda karşımıza çıkan bu durum, folatla birlikte vitB12'nin eksikliğinin de hassas bir göstergesi olan tHcy seviyelerinde de yüksekliklere neden olabilir.

Çalışmamızdaki ilk atak psikozlu hasta grubunda tHcy seviyeleri kontrol grubundan belirgin olarak yüksekti (Bkz. Tablo 4.2;  $p < 0,001$ ). Bu durum kontrol grubunu oluştururken homosisteini yüksek olan kişileri çalışma dışı bırakmamızla ilişkili olabilir. Ancak kontrol grubundan bağımsız olarak bu grupta hastaların %64 ünün (25 hastanın 16 sı) yüksek tHcy değerlerine sahip olması (Bkz. Tablo 4.3), bu hasta grubunda fonksiyonel bir folat veya vit B12 eksikliği olduğunu düşündürebilir. Daha önceki pek çok çalışmada da bu bulguyla uyumlu olarak şizofrenik hastaların sağlıklı kişilere göre yüksek tHcy seviyelerine sahip olduğu ve plazma tHcy yüksekliği insidansının yüksek olduğu bildirilmiştir (48,56,57).

Çalışmamızda kontrol grubunun yaş ortalamasının ilk atak psikozlu hasta grubundan yüksek olması tHcy seviyelerindeki farklılığın nedeni olarak gösterilemez, çünkü homosistein seviyelerinin yaşla birlikte arttığı bilinmektedir (39,58). Psikotik hastaların yaşlarının kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen tHcy seviyelerinin daha yüksek olması bu farklılığı daha da önemli hale getirebilir. Levine ve ark.(57) hasta ve kontrol gruplarını yaşlarına göre gruplandırarak karşılaştırdıkları çalışmalarında genç ve orta yaşlı şizofrenili hastalarda homosistein konsantrasyonlarında sağlıklı kişilere göre belirgin bir artış olduğunu ancak bu farklılığın 50 yaş üstü hastalarda ortadan kalktığını bildirmişlerdi. Bununla uyumlu olarak 40 yaş üzeri şizofrenik hastalarda sağlıklı kişilere göre folat seviyelerinde azalma olduğunu ancak Hcy seviyelerinde bir yükselme olmadığını bildiren çalışmalar vardır (48,49,57).

Diğer yandan tHcy seviyelerinde artışa yol açan sigara içme ve erkek cinsiyete sahip olma (39) oranları psikoz grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti (Bkz. Tablo 4.1). Bu durumun homosistein seviyelerinde yükselmeye neden olabileceği de dikkate alındı. Sigaranın tHcy seviyelerine olan etkisi anlamak için kontrol grubu sigara içen ve içmeyenler olarak incelendiğinde anlamlı bir farklılık saptanmadı. Aynı şekilde psikoz

grubu da bu şekilde sigara içenler ve içmeyenler olarak incelendiğinde anlamlı bir farklılık yoktu. Hasta ve kontrol gruplarının tHcy seviyelerindeki farklılığın sigaradan bağımsız olması hastaların tHcy seviyelerindeki artışın sadece sigara içimine bağlı olmadığını düşündürdü.

Psikoz ve kontrol grupları arasındaki cinsiyet dağılım farklılığının tHcy seviyelerine etkisini araştırmak amacıyla kontrol grubu erkek ve bayan olarak ikiye ayrıldı. Bu iki grubun tHcy seviyelerinin farklı olmaması cinsiyet dağılımının sonuçlara etkisinin önemsiz olduğunu düşündürdü.

Çalışmamızda da tespit ettiğimiz homosistein yüksekliğinin, psikiyatrik hastalıkların mekanizmasındaki rolü tam olarak bilinmemektedir. Homosistein yüksekliği homosisteinden metiyonin sentezi için metil folattan metil gruplarının sağlanmasında veya bu reaksiyon için kofaktör olan vit B12'nin eksikliğinden dolayı olabilir (36). Homosisteinin metabolitleri olan homosisteik asit ve sistein sülfonik asitin SSS'de NMDA reseptörleri üzerine ekzitotoksik etkisinin olabileceği ileri sürülmüştür. Aynı zamanda bu metabolitler SAM bağımlı metilasyon reaksiyonlarını inhibe ederek biyolojik aminlerin ve fosfolipitlerin metilasyon reaksiyonlarında azalmaya neden olabilirler (35,59). Homosistein bu yolla psikiyatrik hastalıkların etyolojisinde rol alabileceği gibi yükselmiş bir tHcy seviyesi sadece bozulmuş homosistein-metyonin döngüsünün bir belirteci de olabilir. Diğer yandan homosistein yüksekliğinin fosfolipitlerin metilasyonundaki bozukluk sonucu membranlardaki bir takım yapısal değişikliklerle ilişkisi de olabilir.

Çalışmamızda ilk atak psikoz grubunda eritrosit membranı TYA seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü (Bkz. Tablo 4.4;  $p=0,045$ ). Assies ve ark (60) ise yeni başlayan psikozlu hastalarda eritrosit membranı toplam yağ asit seviyelerinde kontrol grubuna göre farklılık bulamamışlardı. Bizim hastalarımız tedavi almayan hastalardan oluşurken onların tedavi alan hastaları kullanmış olmaları bu uyumsuzluğun nedeni olarak düşünülebilir. Çalışmamızda psikoz grubunda toplam yağ asit seviyelerindeki azalmanın, psikotik hastaların diyetle yağ alımlarının azalmasına bağlı olabileceği düşünülebilir. Bununla birlikte PUFA ve MUFA seviyelerinde farklılık olmaması bu düşünceye tezat oluşturmaktadır.

Çalışmamızda psikoz grubunda TYA seviyelerindeki azalma tridekanoik asit (13:0) ( $p=0,037$ ), palmitik asit (16:0) ( $p=0,022$ ) ve stearik asit (18:0) ( $p=0,005$ ) seviyelerindeki azalmaya bağlı olarak toplam SFA seviyelerindeki azalmanın sonucuydu (Bkz. Tablo 4.4;  $p=0,036$ ). Bu durum günümüzde özellikle önerilen PUFA'lardan zengin bir diyet alımı veya emilim basamaklarındaki bozukluklardan kaynaklanıyor olabilir. Kemperman ve ark.(61) bizim sonuçlarımızdan farklı olarak eritrosit membranlarında yüksek SFA seviyeleri bildirmişlerdir. Membran PUFA seviyelerinde de azalma olduğu bildirilen bu çalışmada yağ asit seviyeleri membrandaki toplam yağ asitlerinin yüzdesi olarak gösterilmiştir. Bu nedenle yüksek SFA seviyeleri PUFA seviyelerindeki düşüklük sonucu beklenebilecek göreceli bir artış da olabilir. Eritrosit membranı yağ asit seviyelerini bizim çalışmamızdakine benzer olarak  $10^6$  eritrosit başına düşen miktar şeklinde ( $\text{pmol}/10^6$  eritrosit) kantite eden Assies ve ark.(60) ise sature yağ asit seviyelerinde farklılık tespit edememişlerdi.

Çalışmamızda psikotik hastaların membran 16,18m+sya seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olması N-asetil etonolaminlerin (NAE) metabolizmasıyla ilişkili bir bozukluk olabileceğini de düşündürmektedir. 16,18m+sya'ların, lipid sinyal taşıyıcılar olarak bilinen NAE'lerin sentezinde AA'le birlikte prekürsör olarak kullanıldıkları bildirilmiştir (62). 16,18m+sya'ların şizofrenik hastalarda stres ve AA seviyeleri ile ilişkili oldukları ve aynı zamanda davranışların düzenlenmesinde de rolleri olabileceği bildirilmiştir (63).

Özellikle lipogenezin ana ürünleri olan palmitik asit (16:0) ve stearik asit (18:0) seviyelerinin düşük olması endojen lipogenezde bir yetmezliğe bağlı olabileceği gibi, bu yağ asitlerinin hücre membranına yerleştirilmesinde de bir bozukluk olabileceği düşünülebilir. Çalışmamızda hücre içi lipogenezi ortaya koyan lipojenik enzimlerden tMDH ve G6PD enzim aktivitelerinde farklılık olmaması bizi endojen lipogenezde bir yetmezlik olabileceği düşüncesinden uzaklaştırmaktadır.

Çalışmamızdaki en önemli sonuçlardan bir diğeri, özellikle AA, EPA ve DHA seviyelerinde olmak üzere psikotik hastaların eritrosit membranı n3

veya n6 PUFA seviyelerinde bir farklılık olmamasıydı. Daha önce birçok çalışmada şizofrenik hastaların eritrosit membralarında n6 ailesinden AA ile n3 ailesinden EPA ve DHA seviyelerinde bir azalmayla birlikte toplam n3 ve n6 PUFA'larda bir azalma olduğu gösterilmiştir (60,61,64-67). 20. yy sonlarında ileri sürülen membran fosfolipit hipotezi membran yağ asit seviyelerindeki değişikliğin, membran fosfolipit kompozisyonunda değişikliğe neden olarak psikiyatrik hastalıkların etyolojisinde yer aldıklarını ortaya koymuştur (68). Azalma yönündeki bu değişikliklerin hastalığın şiddetiyle ters olarak ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar (66) ve n3 PUFA'lar ile destek tedavisinin semptomlarda iyileşme sağladığını bildiren çalışmalar bu hipotezi desteklemiştir (64,69,70). Bunun yanında bazı çelişkili sonuçlarda vardır. Örneğin, bizim sonuçlarımızla uyumlu olarak DHA seviyelerinde kontrol grubuna göre farklılık olmayan ve hatta kontrol grubundan daha yüksek DHA seviyeleri bulunan çalışmalar bildirilmiştir (66). Aynı şekilde hasta ve kontrol grupları arasında AA seviyelerinde farklılık olmadığını bildiren çalışmalar da vardır (60,69). Fenton ve ark. (71) da geniş bir çalışma grubunda EPA ile destek tedavisinin hastaların mental durumlarında iyileşme sağladığı şeklindeki sonuçları elde edemediklerini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda ilk atak psikoz grubundaki eritrosit membranı yağ asit düzeylerindeki değişikliklerin, literatürdeki birçok çalışmadan farklı sonuçlar ortaya koymasının yaş, cinsiyet, sigara içimi ve beslenme farklılıkları gibi faktörlerle ilgisi olabilir. Esansiyel PUFA olarak kabul edilen AA, DHA ve Linoleik asit (LA) seviyelerinin genel popülasyonda 10-70 yaşlar arasında stabil olduğu ve bu yaş aralığı dışında küçük farklılıkların diyetdeki ve yaşam tarzındaki farklılıklara bağlı olduğu bildirilmiştir (65). Bizim çalışmamızda da hasta ve kontrol gruplarında yaş ile AA, DHA, LA, ve EPA arasında herhangi bir ilişki yoktu. Bununla uyumlu olarak şizofrenik hastalarda AA, DHA, LA farklılıklarının yaşla ilişkili olmadığını bildiren çalışmalar vardır (65,66). Çalışmamızda kontrol grubu 25 yaş altı ve üstü olarak karşılaştırıldığında herhangi bir membran yağ asit seviyesinde anlamlı farklılık yoktu. Buna ilaveten hasta ve kontrol gruplarımızın yaş ortalamalarının anlamlı farklılık

olmakla birlikte yakın olması, yaşın sonuçlar üzerine etkisinin önemli olmadığını düşündürdü.

Psikotik hastaların ve kontrol grubunu oluşturan bireylerin aynı populasyonun üyeleri olması nedeniyle beslenme özellikleri birbirine oldukça benzerdi. Bu nedenle beslenmenin membran yağ asit seviyeleriyle ilgili sonuçlar üzerine önemli bir etkisi olmadığı düşünüldü.

Psikoz grubunda sigara içme oranının fazla olması sonuçlar üzerine etkili olabilecek bir faktör olarak karşımıza çıkmakla birlikte, Hibbeln ve ark (66) sigara içen ve içmeyen şizofrenli hastaların eritrosit AA, DHA ve LA seviyelerinde farklılık bulamadıklarını bildirmişlerdir. Çalışmamızda da, kontrol grubu sigara içenler ve içmeyenler olarak ayrıldığında membran yağ asit düzeyleri arasında herhangi bir farklılık yoktu. Bu nedenle sigara içme durumunun gruplar arasında farklı olmasına rağmen çalışmamızda membran yağ asit seviyeleri üzerine etkisinin az olduğu düşünüldü.

Çalışmamızda elde ettiğimiz önemli sonuçlardan bir diğeri de ilk atak psikozlu hastaların serum prolidaz enzim aktivitelerinin kontrol grubuna göre düşük olmasıydı (Bkz. Tablo 4.2; p=0,004). Bu bulgu bazı enzimlerin gen ekspresyonunda meydana gelen bozuklukların psikiyatrik hastalıkların etyolojisinden sorumlu olabileceği görüşü ile ilişkili olabilir. İmidodipeptidlerin yıkımında yer alan bir prolidaz enziminin prolin ile inhibe olduğu bildirilmiştir (72,73). Çalışmamızda da prolidaz enzimi aktivitesindeki azalma yüksek prolin konsantrasyonlarına bağlı olabilir. SSS'de prolin metabolizmasında yer alan PRODH enziminin aktivitesinde meydana gelebilecek bir azalma prolin seviyelerinde artışa neden olabilir (2,74). Bazı çalışmalarda PRODH genindeki mutasyonların şizofreninin etyolojisi ile ilişkili olduğunun gösterilmesi (75,76), bu görüşümüzü desteklemektedir. Li ve ark.(77)'da PRODH eksikliğinin özellikle yetişkinlerde ilk atak psikoz ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir. Williams ve ark. (78) ise PRODH geninin lokalize olduğu kromozom bölgesinde delesyon olanlarda şizofreni riskinde 20-30 kat artış olabileceğini bildirmişlerdir. Buna karşın bazı çalışmalarda PRODH genindeki defektin şizoafektif bozuklukta risk faktörü iken şizofreni ve bipolar bozukluklarda risk faktörü olmadığı bildirilmiştir (74).

Prolinin glutamata dönüşümünde rol alan PROD enzimidaki defekt prolin seviyelerinde bir artış yanında SSS'de glutamat ve GABA seviyelerinde veya metabolizmalarında da değişikliklere neden olabilir. Çalışmamızda psikozlu hastaların prolidaz enzim aktivitelerindeki azalma bu yol aracılığıyla da psikiyatrik hastalıkların etyopatogenezi ile ilişkili olabilir. Prolinin, glutamatın prekürsörü olmanın yanında kendisinin de glutaminerjik transmisyonun nöromodulatörü olduğunu ve endojen hücre dışı prolinin belirli glutamat sinapslarında uyarıcı geçişi potansiyelize edebildiği bildirilmiştir (79,80).

Prolinin ayrıca hem *invivo* hem de *invitro* ortamda oksidatif stresi arttırdığı ve bu yolla beyin disfonksiyonuna neden olabileceği de bildirilmiştir (81). Prolin oksidatif stres yoluyla SSS'de nöron membranlarında yapısal değişiklikler de meydana getirebilir. Bu durum, Özcan ve ark. (55) tarafından bildirilen şizofrenik hastaların eritrosit membran malondialdehit (MDA) düzeylerindeki artışla ilişkili olabilir. Sonuç olarak ilk atak psikozda hiperprolinemi ve buna yol açan durumlar hastalığın gelişim süreci ile ilişkili önemli roller oynayabilir.

Depresyon grubunda ise serum folat seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeye oldukça yakın bir azalma vardı (Bkz. Tablo 4.2;  $p=0,058$ ). Daha önceki pek çok çalışmada depresif hastaların serum folat seviyelerinde sağlıklı kişiler göre azalma olduğu bildirilmiştir (82-85). Bununla uyumlu olarak depresyonlu hastalarda folat eksikliği insidansının yüksek olduğu, hatta ciddi depresyonlu hastaların yaklaşık 1/3'ünde folat eksikliği olabileceği bildirilmiştir (36,84). Çalışmamızda serum folat değerlerindeki anlamlılık düzeyine yakın azalmayla birlikte depresif hastaların sadece % 8,3'ü referans değerler altında serum folat değerlerine sahipti (Bkz. Tablo 4.3). Bu durum, tek başına serum folat seviyelerinin fonksiyonel folat eksikliğini ortaya koymakta yetersiz kalması ile açıklanabilir (36). Bazı populasyon çalışmalarının serum veya plazma folatı ile ilgili sonuçlarında bildirilen benzer uyumsuzluklar da bu nedene bağlı olabilir (54,86,87). Bottiglieri ve ark.(36)'da folat eksikliği ve bozulmuş monoamin metabolizması olan depresyon subgruplarının tespit

edilmesinde total plazma homosistein konsantrasyonu ölçümünün, serum folatı ölçümüne göre daha yararlı olduğunu bildirmişlerdir. Bu nedenle çalışmamızda da serum folat seviyeleri yanında hastaların tHcy seviyelerini de değerlendirmek uygun olacaktır.

Depresyon grubunda tHcy seviyeleri daha önceki yayınlarla uyumlu olarak (36,88) kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti (Bkz. Tablo 4.2;  $p < 0,001$ ). Aynı zamanda hastaların %64'ü yüksek tHcy değerlerine sahipti (Bkz. Tablo 4.3). Bu durum tHcy seviyelerindeki yüksekliğin kontrol grubunu oluştururken homosisteini yüksek olan hastaları çalışma dışı bırakmamızdan daha çok tek karbon metabolizmasındaki bir bozukluğa bağlı olabileceğini düşündürmektedir. Daha önceki pek çok yayında bizim bulgumuza paralel olarak deprese hastalarda homosistein yüksekliği insidansının arttığı bildirilmiştir (36,88). Bottiglieri ve ark.(36) kendi çalışmalarında üst referans değeri 11,9  $\mu\text{mol/L}$  kabul ederek depresyonlu hastalarda tHcy yüksekliği insidansını %52 olarak bulduklarını, Fava ve ark.'nın ise üst referans değeri 13,1  $\mu\text{mol/L}$  kabul ederek tHcy yüksekliği insidansını %20 olarak bulduklarını bildirmişlerdi (36). Birçok populasyon çalışmasında da yüksek plazma Hcy konsantrasyonları ile depresyon arasında ilişki olduğu ve yüksek tHcy seviyelerine sahip olanların normal tHcy seviyelerine sahip olanlara göre depresyon riskinin iki kat arttığı bildirilmiştir(86-89). Çalışmamızda da hastaların tHcy yüksekliği insidansının fazla oluşu, homosisteinin depresif hastalarda önemli bir gösterge olduğunu ve hastalığın etyolojisiyle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda depresif hastaların yaş, cinsiyet dağılımları, VKİ değerleri, sigara içme oranları ve beslenme özelliklerinin kontrol grubundan farklı olmaması nedeniyle serum folat düzeylerindeki azalmaya ve tHcy yüksekliğine etkilerinin önemli olmadığını düşündürmektedir (Bkz.Tablo 4.1).

Çalışmamızda depresif hastalarda tespit ettiğimiz homosistein yüksekliği, folat veya vitamin B12 metabolizmalarında bozukluk sonucu oluşabilir (36). Yüksek homosistein konsantrasyonları NMDA reseptörlerini veya SAM bağımlı metilasyon reaksiyonlarını inhibe ederek depresyon gelişimi ile ilişkili olabilir (88). Yüksek tHcy değerlerine sahip deprese

hastaların SSS'de SAM seviyelerinde ve SAM bağımlı reaksiyonların ürünü olan monoaminlerin metabolize olmasıyla oluşan ürünlerin (5-Hidroksi indol asetik asit ve homovalinilik asit) seviyelerinde azalma olduğu gösterilmiştir (36). Bizim çalışmamızda depresif hastalarda yüksek tHcy ve düşük serum folat değerleri bu mekanizmalarla ilgili olabilir.

Diğer yandan folat metabolizması bozuklukları yanında tHcy yüksekliğine neden olabilecek diğer bir durum olan vit B12 metabolizması bozukluğu olup olmadığını ortaya koymak amacıyla çalışmamızda depresif hastaların serum vit B12 ve iMMA düzeylerini incelediğimizde; depresyon grubunda serum vit B12 ve iMMA seviyelerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktu (Bkz. Tablo 4.2;  $p>0,05$ ). Daha önceki bazı çalışmalarda da bizim sonucumuzla uyumlu olarak depresyonlu hastalarda serum vit B12 seviyelerinde sağlıklı gönüllülere göre bir farklılık olmadığı bildirilmiştir (36,90). Buna karşın bazı çalışmalarda depresyonlu hastalarda vit B12 eksikliğinin fazla olduğu ve folat eksikliğinden daha ziyade, vit B12 eksikliğinin depresyon ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (87,90). Vit B12 eksikliğinin SSS'de hasar oluşturarak noropsikiyatrik hastalıkların patogenezinde rol alabileceği bildirilmiştir (86). Çalışmamızda depresif hastaların serum vit B12 seviyelerinde kontrol grubuna göre bir azalma olmamasına ve hastaların sadece %8,3'ünün serum vit B12 seviyelerinin düşük olmasına rağmen, bu gruptaki hastaların %37,1'nin iMMA düzeyleri yüksekti (Bkz. Tablo 4.3). Bunun yanında depresyon grubunun iMMA seviyelerinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeye oldukça yakın bir azalmanın olması bizim çalışmamızda da depresif hastalarda fonksiyonel bir B12 eksikliğinin de göz ardı edilemeyeceğini düşündürmektedir. Hücre içi vit B12 eksikliği vit B12'nin serum düzeylerinin normal seviyelerde olmasına rağmen hücre içine giriş ve kullanımında yetersizlikler olabileceğini düşündürmektedir. Hücre içine girişteki bu yetersizlik hücre membranındaki bir takım yapısal değişikliklere bağlı olabilir. Membran kolesterol fosfolipit yağ asit kompozisyonundaki değişiklikler, membran fonksiyonlarını ve geçirgenliğini etkileyebilmektedir (55).

Çalışmamızda depresyon grubunda eritrosit membranı yağ asit seviyelerinde kontrol grubuna göre en önemli fark palmitik asit (16:0), stearik asit (18:0) ve 16,18m+sya seviyelerinin anlamlı olarak düşük olmasıydı (Bkz. Tablo 4. 4; sırasıyla  $p=0,049$ ;  $p=0,019$ ;  $p=0,040$ ). Membran toplam yağ asit seviyeleri ise Assies ve ark.(6) çalışmalarına uyumlu olarak kontrol grubuna göre farklı değildi. Membran yağ asit seviyelerini bizim çalışmamızdakine benzer şekilde  $10^6$  eritrosit başına düşen miktar şeklinde gösterilen bu çalışmada aynı zamanda bizim sonuçlarımızdan farklı olarak depresif hastaların eritrosit membranı palmitik asit (16:0) ve stearik asit (18:0) seviyelerinin sağlıklı kişilerinkinden farklı olmadığı bildirilmiştir.

PUFA'lara göre daha az ilgilenilen palmitik asit (16:0) ve stearik asit (18:0) seviyelerindeki düşüklüğe rağmen çalışmamızdaki depresif hastaların membran toplam SFA seviyeleri ve MUFA seviyeleri kontrol grubuna göre farklı değildi (Bkz. Tablo 4.4). Peet ve ark.(91) ise palmitik asit (16:0) ve stearik asit (18:0) dahil membran SFA ve MUFA seviyelerinde artma bildirmişlerdir. Ancak bu çalışmada, bizim çalışmamızdan farklı olarak membran yağ asit seviyeleri, toplam yağ asitlerinin yüzdesi olarak gösterilmiş ve PUFA seviyelerinde de azalma olduğu bildirilmiştir. PUFA seviyelerindeki azalma SFA ve MUFA seviyelerinde göreceli bir artışa neden olabilir.

Çalışmamızda depresyon grubunda 16,18m+sya seviyelerindeki azalma NAE metabolizmasında da bir değişikliğe işaret edebilir. Bu şekilde psikoz gibi depresyonun etyolojisinde de lipit sinyal taşıyıcı sistemde bir bozukluk rol oynayabilir. Ancak pek fazla ilgi gösterilmeyen bu konuyla ilgili literatürdeki çalışmaların sayısı oldukça yetersizdir. Davranışların regülasyonunda da rolü olabilecek 16,18m+sya ve lipit sinyal taşıyıcıların noropsikiyatrik hastalıkların etyolojisini ortaya koymak için yapılacak araştırmalar oldukça yararlı bilgiler sağlayabilir.

Depresyon grubunda elde ettiğimiz önemli sonuçlardan bir diğeri de eritrosit membranı n3 ve n6 PUFA seviyelerinde kontrol grubuna göre farklılık olmamasıydı (Bkz. Tablo 4.4  $p>0,05$ ). Daha önceki birçok çalışmada klinik olarak depresyonlu hastaların eritrosit membranı total n3 PUFA seviyelerinde, özellikle EPA ve/veya DHA seviyelerinde sağlıklı kontrollere

göre belirgin bir azalma olduğu bildirilmiştir (6,91-93). n3/n6 PUFA dengesinde bozulmaya neden olan bu azalma, depresif hastaların plazma kolesteril ester ve fosfolipitleri ile adipoz doku n3 PUFA düzeylerinde de sağlıklı bireylere göre azalma olduğunun gösterilmesi ile desteklenmiştir (92-95). Ayrıca birçok çalışmada bununla uyumlu olarak n3 PUFA seviyeleri ile hastalığın şiddeti arasında ters bir ilişki olduğu ileri sürülmüştür (92,93). Çalışmamızda n-3 PUFA seviyelerinde farklılık olmaması bu çalışmalarla uyumsuz bir sonuç olarak karşımıza çıkmaktadır. Bizim bulgularımız ve bu çalışmaların bulgularından tamamen farklı olarak deprese hastalarda sağlıklı bireylere göre artmış plazma ve eritrosit membranı DHA ve EPA seviyeleri bulan iki çalışmanın olduğu da bildirilmiştir (91). Bu çalışmalardaki farklılığın hasta seçimindeki bir takım eksikliklerden kaynaklandığı ileri sürülmüştür.

Çalışmamızda depresif hastaların membranlarında özellikle AA seviyeleri olmak üzere n6 PUFA seviyelerinde de kontrol grubuna göre farklılık yoktu. Literatürdeki çalışmaların membran n6 PUFA seviyeleri ile ilgili sonuçları birbirleriyle n3 PUFA'lara göre daha az uyumludur. Bazı çalışmalarda deprese hastalarda membran n6 PUFA seviyelerinde azalma bildirilmişken bazılarında ise bizim sonuçlarımıza benzer şekilde kontrol grubundan farklı olmadığı bildirilmiştir (91,92).

Depresyon ve kontrol grupları arasında yaş, cinsiyet, sigara içimi ve VKI arasında önemli bir farklılık yoktu (Bkz. Tablo 4.1;  $p>0,05$ ). Bu nedenle çalışmamızda membran palmitik asit (16:0) ve stearik asit (18:0) seviyelerinde azalma ile n3 ve n6PUFA seviyelerinde farklılık olmamasının nedeni olarak bu faktörler düşünülemez. Hasta ve kontrol grupları arasında beslenme özellikleri bakımından da büyük farklılıklar olmamakla birlikte depresif hastalardaki azalmış iştah ve kötü beslenmenin etkisi akılda tutulmalıdır. Membran yağ asit kompozisyonu plazma seviyelerine göre daha uzun dönemli diyetle ilişkili olmakla birlikte, diyetteki PUFA seviyelerinden etkilenmesi bu sonuçlara neden olabilir. Hastalar da en az kontrol grubunu oluşturan bireyler kadar diyetlerinde PUFA dengesine dikkat ediyor olabilirler.

Diğer yandan depresif hastalarda düşük eritrosit membranı palmitik asit (16:0) ve stearik asit (18:0) seviyeleri ile birlikte t-MDH ve eritrosit G6PD

enzim aktivitelerinin de azalmış olması hücre içi lipogenezde bir azalmaya işaret edebilir (Bkz. Tablo 4.2; sırasıyla  $p=0,028$  ve  $p=0,004$ ). Azalmış bir lipogenez özellikle palmitik asit (16:0) ve stearik asitin (18:0) membran yapısına katılmalarında azalmaya neden olabilir. Ratlarda diyetdeki yağlarda hafif bir yükselmenin lipojenik enzim aktivitelerini önemli derecede azalttığı bildirilmiştir (96). Benzer olarak diyetdeki poliansature yağların FAS ekspresyonunu suprese ettiği de gösterilmiştir (97). Bizim depresyon grubumuzda t-MDH ve G6PD enzim aktivitelerindeki azalma diyetle fazla yağ alımına bağlı olabilir. Ancak bu, diyetle n3 ve n6 PUFA dengesinde bir bozukluk olduğunu göstermez. Diyetle yağlar membran yağ asit kompozisyonunu etkilediği için çalışmamızda membran PUFA larında sağlıklı kişilere göre farklılık olmaması hastaların diyetlerinde PUFA dengesinde bozukluk olmadığını işaret edebilir. Çoğunluğu PUFA'lardan oluşan yağlardan zengin bir diyet lipogenezi azaltarak palmitik asit (16:0) ve stearik asit (18:0) seviyelerinde bir azalmaya yol açabilir. Öte yandan farklı nedenlere bağlı meydana gelebilecek membran yağ asit kompozisyonundaki değişiklikler lipogenezde azalma meydana getiriyor da olabilir. Ancak bizim çalışmamızda membran yağ asit kompozisyonunda benzer değişiklikler psikoz grubunda olmasına rağmen enzim aktivitelerinde bir azalma yoktu. Literatürde psikiyatrik hastalıklarda bu enzim aktivitelerinde ne gibi değişiklikler olduğuna dair bir çalışmaya rastlanmadı. Psikiyatrik hastalıklarda lipojenik enzim aktivitelerindeki değişikliklerin nedenlerinin ve psikiyatrik hastalıkların etyolojilerinde rollerinin olup olmadığının ortaya çıkarılması için hücresel düzeyde daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Depresyon grubunda serum prolidaz enzim aktivitesini incelediğimizde ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (Tablo 4.2;  $p=0,094$ ). Ancak istatistiksel düzeye yakın bir azalma olması depresif hastalarda da prolin seviyelerinde artış olabileceği şüphesini uyandırmaktadır. İlk atak psikozlu hastaların prolin seviyelerindeki artış kadar olmasa da depresif hastalarda da meydana gelebilecek daha az seviyelerdeki prolin konsantrasyonu artışı, prolidaz enzimini ilk atak psikozlu hastalarinkine oranla daha az düzeyde inhibe ediyor olabilir. Bu durumun

psikiyatrik hastalarda prolin seviyelerindeki değişimlerin araştırıldığı ve daha geniş kapsamlı çalışmalarla ortaya konmasının, bu hastalıkların etyolojileri açıklamak bakımından önemi olabilir.

Çalışmamızda anksiyete grubunda ise folat seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşükken tHcy seviyeleri yüksekti (Bkz. Tablo 4.2; her iki parametre için de  $p < 0,001$ ). Hastaların serum vit B12 ve iMMA düzeylerinin kontrol grubundan farklı olmaması tHcy düzeylerindeki artışın fonksiyonel bir folat eksikliğini yansıttığını söyleyebiliriz. İlginç olarak çalışmamızdaki üç hasta grubu içinde serum folat seviyesi düşüklüğü ve artmış tHcy seviyeleri insidanslarının en yüksek olduğu grup anksiyete grubuydu (Bkz. Tablo 4.3).

Çalışmamızda anksiyeteli hastalar düşük serum folatı ve artmış tHcy değerlerine sahipken Bjelland ve ark.(86) bizim çalışmamızdan farklı olarak anksiyete bozukluğu ile tHcy ve serum folat seviyeleri arasında ilişki saptamamışlardı. Ayrıca bu çalışmada anksiyeteli hastaların serum vit B12 seviyeleri bizim çalışmamızla uyumlu olarak sağlıklı kişilerden farklı değildi.

Çalışmamızda anksiyete grubunda serum folat seviyelerindeki düşüklük psikoz ve depresyondaki mekanizmalara benzer olarak, SSS'de ve intestinal fırçamsı epitelde yer alan GCPII enzim aktivitesinde bir azalmayla ilişkili olabilir. Ancak literatürde anksiyeteli hastalarda bu enzim aktivitesi ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Anksiyeteli hastalardaki tHcy yüksekliği psikoz ve depresyona benzer şekilde hücre içi folat metabolizmasındaki bozukluğa bağlı olarak homosisteinin metyonine metillenmesinde eksiklik sonucu gelişebilir. Homosistein konsantrasyonlarındaki bu artış SAM üzerinden monoamin metabolizmalarında bir bozukluk meydana getirebilir. Çalışmamızda anksiyeteli hastaların homosistein seviyelerindeki artış, metilasyon reaksiyonlarında azalmaya bağlı olarak katekolaminlerin yıkımında bir bozukluğa ve anksiyetenin gelişiminden sorumlu tutulan (98) katekolamin seviyelerinde değişikliğe neden olabilir. Buna karşın daha önceki bir kaç populasyon çalışmasında anksiyete ile tHcy arasında ilişki bulunamamıştır (86,89).

Çalışmamızda anksiyete grubu eritrosit membranı yağ asit düzeylerinde kontrol grubuna göre herhangi farklılık yoktu (Bkz. Tablo 4.4). Depresyon ve psikozda olduğu gibi anksiyete ile ilişkili hücresel mekanizmalar üzerine de nöronal membranların yağ asit kompozisyonunun etkili olabileceği bildirilmiştir (99). Green ve ark.(99) sosyal anksiyete bozukluğu olan hastalarda EPA, DHA ve toplam n3 PUFA seviyelerini sağlıklı kişilere göre düşük, n6 PUFA ve SFA seviyelerini ise yüksek bulmuşlardı.

Çalışmamızda anksiyeteli hastalarda membran yağ asit seviyelerinin sağlıklı kişilere göre farklı olmaması, serum folik asit düzeylerinin düşük ve tHcy seviyelerinin ise yüksek olması anksiyete ile membran yağ asit düzeylerinin değil özellikle folat olmak üzere vitamin metabolizmalarındaki bozuklukların ilişkili olduğunu düşündürebilir. Ancak fonksiyonel folat ve vit B12 eksikliğinin nedeni olarak da suçlanan membran yapısındaki değişimleri tek başına membran yağ asit düzeyleri de yansıtmayabilir. Bu nedenle membran yapısındaki değişikliklerin tam olarak ortaya konması için ileri çalışmalara ihtiyaç olabilir.

Psikoz ve depresyondan farklı olarak anksiyete grubunda eritrosit membran yağ asit seviyelerinde ve enzimatik aktivitelerde sağlıklı kişilere göre farklılık olmaması anksiyete gelişimindeki mekanizmaların en azından bazı noktalarda bu iki hastalıktan farklı olabileceğini düşündürmektedir.

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada psikiyatrik hastalıkların görülme insidansı yüksek grubunu oluşturan psikoz, depresyon ve anksiyete hastalarında bazı ortak özellikler olduğunu saptadık. Bu üç grupta da tHcy seviyelerinin yüksek olması bize homosistein-metyonin döngüsünde bir bozukluk olduğunu göstermiştir. Ancak bu bozukluğun sebep mi yoksa sadece bir sonuç mu olduğu ve bu bozukluğun organik bir bozuklukla ilişkili olup olmadığı daha ileri çalışmalarla ortaya konabilecek bir durumdur. Ayrıca endotel hücrelerinde vaskülopatiye (39) sebep olan tHcy'nin yüksek olması sonuçta psikiyatrik hastalıklarda serebral vasküler yapının da etkilenebileceğini düşündürmektedir.

Diğer yandan özellikle ilk atak psikoz ve depresyon gruplarında eritrosit membran palmitik asit (16:0) ve stearik asit (18:0) seviyelerinde görülen anlamlı azalma bu iki hastalığın daha çok organik temelli olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda ortak bir bulgu olarak saptadığımız bu membran değişiklikleri psikoz ve depresyonun kronikleşmeye meyilli olması ile de ilişkili olabilir. Ayrıca eritrosit membranı dolayısı ile nöronal membranların kompozisyonundaki bu değişikliklerin derecesi özellikle psikoz ve depresyon gibi hastalıklardaki tedaviye yanıtındaki farklılığı ve bazı hastalardaki tedaviye direnci de belirliyor olabilir.

İlk atak psikozlu hastalarda prolidaz enzim aktivitesinin de düşük olması prolidaz enzim aktivitesi ile membran değişiklikleri arasında bir ilişki olabileceğini düşündürmektedir. Diğer yandan prolidaz enzim aktivitesindeki azalma glutamat ve GABA metabolizmalarında değişikliklere neden olan prolin seviyelerindeki bir artışın sonucu da olabilir.

Çalışmamızda bazı ipuçlarına ulaştığımız psikiyatrik hasta gruplarındaki nöronal membran yapısındaki değişikliklerin hastalıkların organik temellerini açıklamaya katkısı olabilir. Ancak bu konunun ve bunun yanında prolin metabolizması ile prolidaz enzim aktivitesindeki değişikliklerin de daha ileri çalışmalarla ortaya konması, bu hastalıkların özellikle etyolojilerinin aydınlatılması açısından oldukça yararlı olabilir.

## KAYNAKLAR

1. Grdl, F., Ademoğlu E. Biyokimya, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul 2005.
2. Dikmen, N., zgnen, T., Harper Biyokimya, 25. Baskıdan eviri, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2004.
3. Altan, N., Biyokimya Olgu sunumlu Yaklaşım 6. Baskıdan eviri, Palme Yayıncılık, Ankara, 2000.
4. Burtis, C.A., Ashwood, E.R., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Edition, W.B. Saunders Company, Pennsylvania, 1994.
5. Kılıç, N., Lehninger Biyokimyanın İlkeleri, 3. Baskıdan eviri, Palme Yayıncılık, Ankara 2005.
6. Assies, J., Lok, A., Bockting, C.L., Weverling, G.J., Lieveise, R., Visser, I., Abeling N., Duran M., Schene A. Fatty Acids and Homocysteine Levels in Patients with Recurrent Depression: an Explorative Pilot Study, Prostaglandins Leukot. Essent. Fat. Acids, 70: 349–356, 2004.
7. Shaikh, S.R., Edidin, M., Polyunsaturated Fatty Acids, Membrane Organization, T Cells, and Antigen Presentation, Am J Clin Nutr, 84:1277– 1289, 2006.
8. Costa, T.C., Armand, M., Lebacq, J., Lebecque, P., Wallemacq, P., Leal, T., An Overview of Monitoring and Supplementation of Omega 3 Fatty Acids in Cystic Fibrosis, Clinical Biochemistry 40: 511-520, 2007.
9. Haag, M., Essential Fatty Acids and The Brain, Can J Psychiatry 48:195– 203, 2003.
10. Haag, M., Dippenaar NG, Dietary Fats, Fatty Acids and Insulin Resistance: Short Review of a Multifaceted Connection, Med Sci Monit, 11(12): RA359-367, 2005.
11. Decsi, T., Szabo, E., Burus, I., Marosvolgyi, T., Kozari, A., Erhardt, E., Soltesz, G., Low Contribution Of N-3 Polyunsaturated Fatty Acids to Plasma and Erythrocyte Membrane Lipids in Diabetic Young Adults, Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, 76:159–164, 2007.

12. Horrobin, D.F., Fatty Acid Metabolism in Health and Disease: The Role of  $\Delta$ -6-Desaturase, *Am J Clin Nutr* 57(suppl): 732S-737S, 1993.
13. Veech, R.L., A Humble Hexose Monophosphate Pathway Metabolite Regulates Short- and Long-Term Control of Lipogenesis, *PNAS*, 100:5578-5580, 2003.
14. Tokullugil, A., Dirican, M., Ulukaya, E., Lippincott's Biyokimya 2. Baskıdan Çeviri Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1997
15. Kelley, D.S., Kletzien, R.F., Ethanol Modulation of The Hormonal and Nutritional Regulation of Glucose 6-Phosphate Dehydrogenase Activity in Primary Cultures of Rat Hepatocytes, *Biochem. J.* 217: 543-549, 1984.
16. Salati, L.M., Ahmady, B.A., Dietary Regulation of Expression of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase, *Annual Review of Nutrition*, 21:121-140, 2001.
17. Goward, C.R., Nicholls, D.J., Malate Dehydrogenase: A Model for Structure, Evolution and Catalysis, *Protein Science*, 3(10):1883-1888, 1994.
18. Zimmerle, C.T., Tung, P.P., Alter, G.M., Ligand-Induced Asymmetry Between Active Sites Of Cytoplasmic Malate Dehydrogenase: A Chemical Modification Study, *Biochemistry*, 26: 8535-8441, 1987.
19. Hsieh, J-Y., Liu, G-Y., Chang, G-G., Hung, H-C., Determinants of The Dual Cofactor Specificity and Substrate Cooperativity of The Human Mitochondrial NAD(P)-Dependent Malic Enzyme Functional Roles of Glutamine 362, *JBC* 281 (32): 23237–23245, 2006.
20. Tomita, T., Fushinobu, S., Kuzuyama, T., Nishiyama, M., Crystal Structure of NAD-Dependent Malate Dehydrogenase Complexed with NADP(H), *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 334: 613–618, 2005.
21. Yang, Z., Zhang, H., Hung, H-C., Kuo, C-C., Tsai, L-C., Yuan, H S., Chou, W-Y., Chang, G-G., Tong, L., Structural Studies Of The Pigeon Cytosolic NADP-Dependent Malic Enzyme, *Protein Science*, 11:332–341, 2002.

22. Martin, B.R., Denton, R.M., The Intracellular Localization of Enzymes in White-Adipose-Tissue Fat-Cells and Permeability Properties of Fat-Cell Mitochondria Transfer of Acetyl Units and Reducing Power Between Mitochondria and Cytoplasm, *Biochem. J.* 117: 861-877, 1970.
23. Frieden, C., Fernandez-Sousa J., Kinetic Studies on Pig Heart Cytoplasmic Malate Dehydrogenase, *JBC* 250 (6): 2106-2113, 1975.
24. Nakamura, M.T., Nara, T.Y., Structure, Function, and Dietary Regulation of  $\Delta 6$ ,  $\Delta 5$ , and  $\Delta 9$  Desaturases, [Annual Review of Nutrition](#), 24: 345-376, 2004.
25. Elin, R.J., Winter, W.E., Methylmalonic Acid: A Test Whose Time Has Come? *Arch. Pathol. Lab. Med*, 125: 824–827, 2001.
26. Morris, M.S., Jacques, P.F., Rosenberg I.H., Selhub, J., Elevated Serum Methylmalonic Acid Concentrations Are Common Among Elderly Americans, *J. Nutr.* 132: 2799–2803, 2002
27. Lindenbaum, J., Rosenberg, I.H., Wilson, P.W., Stabler, S.P., Allen, R.H., Prevalence of Cobalamin Deficiency in The Framingham Elderly Population, *Am. J. Clin. Nutr.* 60: 2–11, 1994.
28. Bjorkegren, K., Svardsudd, K., Serum Cobalamin, Folate, Methylmalonic Acid and Total Homocysteine As Vitamin B-12 and Folate Tissue Deficiency Markers Amongst Elderly Swedes -a Population- Based Study, *J. Intern. Med.* 249 (5): 423–432, 2001.
29. Joosten, E., van den Berg A., Riezler R., Naurath H.J., Lindenbaum, J., Stabler, S.P., Allen, R. H., Metabolic Evidence That Deficiencies of Vitamin B-12 (Cobalamin), Folate, and Vitamin B-6 Occur Commonly in Elderly People, *Am. J. Clin. Nutr.* 58: 468–476, 1993.
30. Gültepe M., Özcan Ö., Avşar K., Çetin M., Özdemir A. S., Gök M. Urine Methylmalonic Acid Measurements For The Assessment Of Cobalamin Deficiency Related to Neuropsychiatric Disorders, *Clinical Biochemistry* 36: 275–282, 2003.
31. Holleland, G., Schneede, J., Ueland, P.M., Lund, P.K., Refsum, H., Sanderberg, S., Cobalamin Deficiency in General Practice. Assessment of The Diagnostic Utility and Cost-Benefit Analysis of Methylmalonic Acid

- Determination in Relation to Current Diagnostic Strategies, *Clin Chem* 45:189–98, 1999.
32. Norman, E.J., Urinary Methylmalonic Acid/Creatinine Ratio Defines True Tissue Cobalamin Deficiency, *Br J Haematol* 100:614–15, 1998.
  33. Moreiras, G.V., Gonzalez, M.P., Alonso-Aperte E., Impaired methionine and folat metabolism in colorectal carcinogenesis *Trends in Food, Science and Tecnology* 16: 282-288, 2005.
  34. İnal M.E., Atik U., Aksoy N., Haşimi A.; Marks' Temel Tıbbi Biyokimyası Klinik Yaklaşım 2. Baskıdan Çeviri, Ankara, 2007.
  35. Moretti, R., Torre, P., Antonello, R.M., Cattaruzza, T., Cazzato, G., Bava, A., Vitamin B12 and Folat Depletion in Cognition: A Review, *Neurology India*, 52 (3): 310-318, 2004.
  36. Bottiglieri, T., Laundry, M., Crellin, R., Toone, B.K., Carney, M.W.P., Reynolds E.H., Homocysteine, Folate, Metylation and Monoamine Metabolism in Depression, *J. Neurol. Neurosurg.Psychiatry* 69:228-232, 2000.
  37. Selhub, J., Bagley, L.C., Miller, J., Rosenberg, I.H., B Vitamins, Homocysteine and Neurocognitive function in The Elderly, *Am J Clin Nutr.*, 71:614S-620S, 2000.
  38. Westphal, A.B., Petersen, S., Hinrichsen, H., Czech, N., Müller, M.J., Increased Plasma Homocysteine in Liver Cirrhosis, *Hepatology Research*, 20:28-38, 2001.
  39. Cesari, M., Rossi, G.P., Sticchi, D., Pessina, A.C., Is Homocysteine İmportant Risk Factor For Coronary Heart Disease? *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 15:140-147, 2005.
  40. Huang, R.F.S., Hsu, Y.C., Lin, H.L., Yang, F.L., Folate Depletion and Elevated Plasma Homocysteine Promote Oxidative Stress in Rat Livers, *J. Nutr.* 131: 33–38, 2001.
  41. Kurien, B., Patel, N.C., Porter, A.C., D'Souza, A., Miller, D., Matsumoto, H., Wang, H., Scoweld, R.H., Prolidase Deficiency and The Biochemical Assays Used in Its Diagnosis, *Analytical Biochemistry* 349:165–175, 2006.

42. Michno, A., Raszeja-specht, A., Jankowska-Kulawy, A., Pawelczyk, T., Szutowicz, A., Effect of L-Carnitine on Acetyl-CoA and Activity of Blood Platelets in Healthy and Diabetic Persons, *Clinical Chemistry* 51(9): 1673-1682, 2005.
43. Caymaz, O., Prolidaz ve Alkol Dehidrogenaz Ölçüm Yöntemlerinin Optimize Edilmesi, Hepatik Fibrozisin Tanı ve Tedavisi ile Olan İlişkilerin Araştırılması, Uzmanlık Tezi, GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Servisi, İstanbul, 1997.
44. Yurtman, Y., Gultepe, M., Ozcan, O., Coskuntuna, L., Onenc, S., Avsar, K., Lipogenic Enzymes in Adipose Tissue Are Subjected to Caloric Restriction and Protein Intake, *The FEBS Journal*, PP:470, 273:75, 2006.
45. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., Protein Measurement with The Folin Phenol Reagent, *J.Biol.Chem*, 193:265-275,1951.
46. Folch,J., Lees, M., Sloane-Stanley, G. H., A Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipides From Animal Tissues, *J.Biol.Chem.*, 226:497-509,1957.
47. Özcan, Ö., Psikotik Hastalıklardaki Eritrosit Membranı Değişimleri ve Serum Fosfolipaz A2 Aktivitesi ile Fonksiyonel Vitamin B12 Eksikliği Arasındaki İlişkilerin İncelenmesi, Uzmanlık Tezi, GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Servisi, İstanbul, 2003.
48. Muntjewerff, J. W., Van der Put, N., Eskes, T., Ellenbroek, B., Steegers, E., Blom, H., Zitman, F., Homocysteine Metabolism and B-Vitamins in Schizophrenic Patients: Low Plasma Folate As a Possible Independent Risk Factor For Schizophrenia, *Psychiatry Res.* 121: 1-9, 2003.
49. Goff, D.C., Bottiglieri, T., Arning, E., Shih, V., Freudenreich, O., Evins, A.E., Henderson, D.C., Baer, L., Coyle, J., Folate, Homocysteine, and Negative Symptoms in Schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* 161:1705–1708, 2004.
50. Mattson, M.P., Shea, T.B., Folate and Homocysteine Metabolism in Neural Plasticity and Neurodegenerative Disorders, *Trends Neurosci* 26:137–146, 2003.

51. Muntjewerff, J.W., Blom, H., Aberrant Folate Status in Schizophrenic Patients: What is The Evidence? *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 29: 1133-1139, 2005.
52. Goff, D.C., Coyle, J.T., The Emerging Role of Glutamate in The Pathophysiology and Treatment of Schizophrenia, *Am J Psychiatry*, 158:1367–1377, 2001.
53. Devlin, A.M., Ling, E.H., Peerson, J.M., Clarke, R., Smith, A.D., Halsted, C.H., Glutamate Carboxypeptidase II: A Polymorphism Associated with Lower Levels of Serum Folate and Hyperhomocysteinemia, *Hum Mol Genet*, 9: 2837–2844, 2000.
54. Penninx, B.W.J.H., Guralnik, J.M., Ferruci, L., Fried, L.P., Allen, R.H., Stabler, S.P., Vitamin B12 Deficiency and Depression in Physically Disabled Older Women: Epidemiologic Evidence From The Women's Health and Aging Study, *Am J Psychiatry* 157:5, 2000.
55. Özcan, Ö., İpçioğlu, O.M., Gültepe, M., Başoğlu, C., Altered Red Cell Membrane Compositions Related to Functional Vitamin B12 Deficiency Manifested By Elevated Urine Methylmalonic Acid Levels In Patients with Schizophrenia *Annals of Clinical Biochemistry*, yayında.
56. Susser, E., Brown, A.S., Klonowski, E., Allen, R.H., Lindenbaum, J., Schizophrenia and Impaired Homocysteine Metabolism: A Possible Association *Biol Psychiatry*, 44:141–143, 1998.
57. Levine, J., Stahl, Z., Sela, B.A., Gavendo, S., Ruderman, V., Belmaker, R.H., Elevated Homocysteine Levels in Young Male Patients with Schizophrenia, *Am J Psychiatry*, 159: 1790-1792, 2002.
58. Jacques, P.F., Bostom, A.G., Wilson, P.W.F., Rich, S., Rosenberg, I.H., Selhub, J., Determinants of Plasma Total Homocysteine Concentration in The Framingham Offspring Cohort, *Am J Clin Nutr*, 73:613-621, 2001.
59. Stabler, S.P., Allen, R.H., Savage, D.G., Lindenbaum, J., Clinical Spectrum and Diagnosis of Cobalamin Deficiency, *Blood*, 76:871–881, 1990.
60. Assies, J., Lieverse, R., Vreken, P., Wanders, R.J.A., Dingemans, P.M.J.A., Linszen, D.H., Significantly Reduced Docosahexaenoic and

- Docosapentaenoic Acid Concentrations in Erythrocyte Membranes from Schizophrenic Patients Compared with a Carefully Matched Control Group, *Biol Psychiatry*, 49:510–522, 2001.
61. Kemperman, R.F., Veurink, M., van der Wal, T., Knegtering, H., Bruggeman, R., Fokkema, M.R., Kema, I.P., Korf, J., Muskiet, F.A., Low Essential Fatty Acid and B-Vitamin Status in a Subgroup of Patients with Schizophrenia and Its Response to Dietary Supplementation, *Prostaglandins Leukot. Essent. Fat. Acids* 74: 75–85, 2006.
62. Schmid, H.H., Berdyshev, E.V., Cannabinoid Receptor-Inactive N-Acylethanolamines and Other Fatty Acid Amides: Metabolism and Function, *Prostaglandins Leukot. Essent. Fat. Acids* 66: 363–376, 2002.
63. Monterrubio, S., Solowij, N., Meyer, B.J., Turner, N., Fatty Acid Relationships in Former Cannabis Users with Schizophrenia, *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 30: 280-285, 2006.
64. Ohara, K., The n-3 Polyunsaturated Fatty Acid/Dopamine Hypothesis of Schizophrenia, *Neuro-Psycopharmacology and Biological Psychiatry*, 31:469-474, 2007.
65. Khan, M.M., Evans, D.R., Gunna, V., Scheffer, R.E., Parikh, V.V., Mahadik, S.P., Reduced Erythrocyte Membrane Essential Fatty Acids and Increased Lipid Peroxides in Schizophrenia at The Never-Medicated First-Episode of Psychosis and After Years of Treatment with Antipsychotics, *Schizophr. Res.* 58:1–10, 2002.
66. Hibbeln, J.R., Makino, K.K., Martin, C.E., Dickerson, F., Boronow, J., Fenton, W.S., Smoking, Gender, and Dietary Influences on Erythrocyte Essential Fatty Acid Composition Among Patients with Schizophrenia or Schizoaffective Disorder, *Biol Psychiatry* 53: 431-441, 2003.
67. Bois, T.M., Deng, C., Huang, X.F., Membrane Phospholipid Composition, Alterations in Neurotransmitter Systems and Schizophrenia, *Neuro-Psycopharmacology and Biological Psychiatry* 29: 878-888, 2005.
68. Horrobin, D.F., The Membrane Phospholipid Hypothesis As a Biochemical Basis for The Neurodevelopmental Concept of Schizophrenia, *Schizophr. Res* 30: 193–208, 1998.

69. Arvindakshan, M., Ghate, M., Ranjekar, P.K., Evans, D.R., Mahadik, S.P., Supplementation with a Combination of Omega-3 Fatty Acids and Antioxidants (Vitamins E And C) Improves The Outcome of Schizophrenia. *Schizophrenia Research* 62: 195–204, 2003.
70. Peet, M., Brind, J., Ramchand, C.N., Shah, S., Vankar, G.K., Two Double-Blind Placebo-Controlled Pilot Studies of Eicosapentaenoic Acid in The Treatment of Schizophrenia, *Schizophrenia Research*, 49:243-251, 2001.
71. Fenton, W.S., Dickerson, F., Boronow, J., Hibbeln, J.R., Knable, M., A Placebo-Controlled Trial of Omega-3 Fatty Acid (Ethyl Eicosapentanoic Acid) Supplementation for Residual Symptoms and Cognitive Impairment in Schizophrenia, *Am J Psychiatry*, 158:2071–2074, 2001.
72. Özcan, Ö., Gültepe, M., İpçioğlu, O.M., Bolat, B., Kayadibi, H., Prolidazın Mutlak Aktivitesini Değerlendirmede Fotometrik Enzim Aktivitesi Ölçüm Metodunun Optimizasyonu, *Türk Biyokimya Dergisi*, 32(1); 12–16, 2007.
73. Mock, W.L., Gren, P.C., Mechanism and Inhibition of Prolidase, *J Biol Chem*, 265 (32): 19606-19610, 1990.
74. Jacquet, H., Demily, C., Houy, E., Hecketsweiler, B., Bou, J., Raux, G., Lerond, J., Allio, G., Haouzir, S., Tillaux, A., Bellegou, C., Fouldrin, G., Delamillieure, P., Me´Nard, J.F., Dollfus, S., D’amato, T., Petit, M., Thibaut, F., Fre´Bourg, T., Campion, D., Hyperprolinemia Is a Risk Factor for Schizoaffective Disorder. *Mol Psychiatry* 10:479–485, 2005.
75. Jacquet, H., Raux, G., Thibaut, F., Hecketsweiler, B., Houy, E., Demilly, C., Haouzir, S., Allio, G., Fouldrin, G., Drouin, V., Bou, J., Petit, M., Campion, D., Frebourg, T., PRODH Mutations and Hyperprolinemia in a Subset of Schizophrenic Patients, *Human Molecular Genetics*, 11(19): 2243–2249, 2002.
76. Craddock, N., O’donovan, M.C., Owen, M.J., The Genetics of Schizophrenia and Bipolar Disorder: Dissecting Psychosis *J. Med. Genet*, 42:193-204, 2005.
77. Li, T., Ma, X., Sham, P.C., Sun, X., Hu, X., Wang, Q., Meng, H., Deng, W., Liu, X., Murray, R.M., Collier, D.A., Evidence for Association

- Between Novel Polymorphisms in The PRODH Gene and Schizophrenia in a Chinese Population, *Am J Med Genet Part B*, 129:13–15, 2004.
78. Williams, H.J., Williams, N., Spurlock, G., Norton, N., Zammit, S., Kirov, G., Owen, M.J., O'donovan, M.C., Detailed Analysis of PRODH and PsPRODH Reveals No Association with Schizophrenia, *Am J Med Genet Part B*, 120: 42-46, 2003.
79. Sawa, A., Snyder, S.H., Schizophrenia: Neural Mechanisms for Novel Therapies, *Molecular Medicine* 9(1-2): 3-9, 2003.
80. Cohen, S.M., Nadler, J.V., Proline-Induced Inhibition of Glutamate Release in Hippocampal Area CA1, *Brain Research* 769: 333–339, 1997.
81. Delwing, D., Bavaresco, C.S., Chiarani, F., Wannmacher, C.M.D., Wajner, M., Dutra-Filho, C.S., Wyse, A.T.S., In Vivo and in Vitro Effects of Proline on Some Parameters of Oxidative Stress in Rat Brain, *Brain Research* 991: 180–186, 2003.
82. Ghadrian, A., Ananth, J., Engelsmann, F., Folic Acid Deficiency and Depression, *Psychosomatics* 21:926-929, 1980.
83. Hickie, I., Naismith, S., Ward, P.B., Scott, E., Mitchell, P., Wilhelm, K., Parker, G., Vascular Risk and Low Serum B12 Predict White Matter Lesions in Patients with Major Depression, *J Affect Disord*, 85(3): 327-332, 2005.
84. Reynolds, E.H., Folic Acid, Ageing, Depression and Dementia *BMJ* 324;1512-1515, 2002.
85. Analan, E., Doğan, O., Akyüz, G., Majör Depresif Bozukluğun Tedavisinde Folik Asitin Rolü, *Anadolu Psikiyatri Dergisi*, 1(1):5-12, 2000.
86. Bjelland, I., Tell, G.S., Vollset, S.E., Refsum, H., Ueland, P.M., Folate, Vitamin B12, Homocysteine, and The MTRR 677C->T Polymorphism in Anxiety and Depression: The Hordaland Homocysteine Study, *Arch Gen Psychiatry*, 60(6):618-626, 2003.
87. Tiemeier, H., Van Tuijl, H.R., Hofman, A., Meijer, J., Kiliaan, A.J., Breteler, M.M., Vitamin B12, Folate, and Homocysteine in Depression: The Rotterdam Study, *Am J Psychiatry*,;159(12):2099-101, 2002.

88. Tolmunen, T., Hintikka, J., Voutilainen, S., Ruusunen, A., Alfthan, G., Nyssönen, K., Viinamäki, H., Kaplan, G.A., Salonen, J.T. Association Between Depressive Symptoms and Serum Concentrations of Homocysteine in Men: A Population Study, *Am J Clin Nutr*, 80(6):1574-1578, 2004.
89. Refsum, H., Nurk, E., Smith, A.D., Ueland, P.M., Gjesdal, C.G., Bjelland, I., Tverdal, A., Tell, G.S., Nygard, O., Vollset, S.E., The Hordaland Homocysteine Study: A Community-Based Study of Homocysteine, Its Determinants, and Associations with Disease, *J Nutr*, 136(6suppl): 1731s-1740s, 2006.
90. Hintikka, J., Tolmunen, T., Tanskanen, A., Viinamäki, H., High Vitamin B12 Level and Good Treatment Outcome May Be Associated in Major Depressive Disorder. *BMC Psychiatry*, 3(1):17-23, 2003.
91. Peet, M., Murphy, B., Horrobin, D., Depletion of Omega-3 Fatty Acid Levels in Red Blood Cell Membranes of Depressive Patients, *Biol. Psychiatry*, 43:315–319, 1998.
92. Edwards, R., Peet, M., Shay, J., Horrobin, D., Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid Levels in The Diet and in Red Blood Cell Membranes of Depressed Patients, *J. Affect Disord*. 48:149–155, 1998.
93. Sontrop, J., Campbell, M.K.,  $\omega$ -3 Polyunsaturated Fatty Acids and Depression: A Review of The Evidence and A Methodological Critique, *Preventive Medicine* 42: 4–13, 2006.
94. Mamalakis, G., Tornaritis, M., Kafatos, A., Depression and Adipose Essential Polyunsaturated Fatty Acids, Prostaglandins Leukot. Essent. Fat. Acids 67:311–318, 2002.
95. Maes, M., Christophe, A., Delanghe, J., Altamura, C., Neels, H., Meltzer, H.Y., Lowered Omega3 Polyunsaturated Fatty Acids in Serum Phospholipids and Cholesteryl Esters of Depressed Patients, *Psychiatry Res.*, 85:275–291, 1999.
96. Regost, C., Arzel, J., Cardinal, M., Robin, J., Laroche, M., Kaushik, S.J. Dietary Lipid Level, Hepatic Lipogenesis and Flesh Quality in Turbot (Psetta Maxima). *Aquaculture* 193:291-309, 2001.

97. Moon, Y. S., Latasa M. J., Griffin M. J., Sul H. S., Suppression of Fatty Acid Synthase Promoter By Polyunsaturated Fatty Acids. *J. Lipid Res.* 43:691-698, 2002.
98. Freeman, M.P., Freeman, S.A., Mcelroy, S.L., The Comorbidity of Bipolar and Anxiety Disorders: Prevalence, Psychobiology, and Treatment Issues *Journal Of Affective Disorders* 68:1–23, 2002.
99. Gren, P., Hermesh, H., Monselise, A., Marom, S., Presburger, G., Weizman, A., Red Cell Membrane Omega-3 Fatty Acids Are Decreased in Nondepressed Patient with Social Anxiety Disorder, *European Neuropsychopharmacology* 16:107-113, 2006.