

**T.C.
GENELKURMAY BAŞKANLIĞI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
ASKERİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI**

**SERUM VE ERİTROSİT MEMBRAN YAĞ ASİTLERİNİN
GAZ KROMATOĞRAFİSİ-ALEV İYONİZASYON DEDEKTÖRÜ
İLE ÖLÇÜMÜ VE KLİNİK KULLANIMI**

J. Tbp. Yzb. Erdim SERTOĞLU

**TIBBİ BİYOKİMYA
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ANKARA
2012**

**T.C.
GENELKURMAY BAŞKANLIĞI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
ASKERİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI**

**SERUM VE ERİTROSİT MEMBRAN YAĞ ASİTLERİNİN
GAZ KROMATOĞRAFİSİ-ALEV İYONİZASYON DEDEKTÖRÜ
İLE ÖLÇÜMÜ VE KLİNİK KULLANIMI**

**Erdim SERTOĞLU
J. Tbp. Yzb.**

Gülhane Askeri Tıp Akademisi
Askeri Tıp Fakültesi'nin
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanlığı
İçin Öngördüğü
TIPTA UZMANLIK TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

**TEZ DANIŞMANI
İsmail KURT
Prof. Ecz. Alb.**

**ANKARA
2012**

Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakültesi Dekanlığına:

"SERUM VE ERİTROSİT MEMBRAN YAĞ ASİTLERİNİN GAZ KROMATOĞRAFİSİ-ALEV İYONİZASYON DEDEKTÖRÜ İLE ÖLÇÜMÜ VE KLİNİK KULLANIMI" konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Bu tez konusu, Gülhane Askeri Tıp Akademisi ve Askeri Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 30.01.2012 gün ve 8030-223-12/1648-2894 sayılı yazısı ile verilmiştir.

Tez Danışmanı : Prof. Ecz. Alb. İsmail KURT
Üye : Prof. Dr. Ecz. Alb. Cumhur BİLGİ
Üye : Doç. Tbp. Yb. Osman Metin İPÇİOĞLU
Yedek Üye : Doç. Dz. Tbp. Alb. Muhittin A. SERDAR

J. Tbp. Yzb. Erdim SERTOĞLU'nun 25 Haziran 2012 tarihinde savunduğu bu tez Akademi Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Sadettin ÇETİNER
Profesör Hava Tabip Tümgeneral
GATA Komutan Bilimsel Yardımcısı,
Askeri Tıp Fakültesi Dekanı ve
Eğitim Hastanesi Baştabibi

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimi süresince her konuda benden yardımını esirgemeyen, desteğini her zaman hissettiğim, kendisinden çok şey öğrendiğim Tıbbi Biyokimya AD Başkanı, değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Ecz. Alb. İsmail KURT'a saygılarımı sunarım.

Uzmanlık eğitimim süresince ve tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, hiçbir konuda yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Doç. Dz. Tbp. Alb. Muhittin A. SERDAR ve Yrd. Doç. J. Tbp. Yb. Serkan TAPAN'a şükran ve saygılarımı sunarım.

Uzmanlık eğitimime katkılarından dolayı diğer hocalarım Prof. Dr. Ecz. Alb. Cumhur BİLGİ'ye, Doç. Tbp. Alb. Taner ÖZGÜRTAŞ'a, Uzm. Tbp. Alb. Enver TURAN'a, Doç. Dz. Tbp. Alb. Erdiñ ÇAKIR'a, Doç. Dz. Tbp. Alb. Halil YAMAN'a, Doç. Dz. Tbp. Bnb. Emin Özgür AKGÜL'e, Yrd. Doç. Tbp. Bnb. Tuncer ÇAYCI'ya, Yrd. Doç. Tbp. Yzb. Yasemin GÜLCAN KURT'a yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Birlikte çalışmaktan zevk ve gurur duyduğum dönem arkadaşlarım J. Tbp. Yzb. Fevzi Nuri AYDIN, Tbp. Yzb. Mehmet AĞILLI ve Tbp. Yzb. Emre İSPİR ile diğer asistan arkadaşlarım Tbp. Bnb. Tefik HONCA, Hv. Tbp. Yzb. Metin UYANIK, Tbp. Yzb. İrfan ŞENER ve Tbp. Ütğm. Fatih YEŞİLDAL ile Tıbbi Lab. Alb. Saad AL-FAWAEIR'e çok teşekkür ederim.

Laboratuvarlarda ve klinikte çalışan tüm personele ilgilerinden ve yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Özellikle beni bugünlere getiren aileme ve hayat arkadaşım eşime en içten sevgilerimi sunarım.

ÖZET

Serum ve Eritrosit Membran Yağ Asitlerinin Gaz Kromatografisi-Alev İyonizasyon Dedektörü ile Ölçümü ve Klinik Kullanımı

Son yıllarda yağ asitleri ve özellikle omega-3 (ω -3) yağ asitlerinin böbrek ve kardiyovasküler hastalıklar başta olmak üzere hiperlipidemi, enflamatuvar ve otoimmün hastalıklar, solunum hastalıkları, onkolojik, nörolojik hastalıklar ve endokrinolojik bozuklukların etyopatogenezindeki rolü ve bunların diyetle alımının bu hastalıkların tedavisindeki etkileri üzerine çok fazla çalışma yapılmıştır ve halen bu konudaki çalışmalar yoğun olarak sürmektedir. Yine ω -3 yağ asitlerinin nefroloji alanında IgA nefropatisi, lupus nefriti, siklosporin A toksisitesi, diyabetik nefropati ve hemodiyaliz ile olan etkileşimi üzerine birçok yayın bulunmakla birlikte bu konudaki araştırmalar halen devam etmektedir.

Bu çalışmada GATA Tıbbi Biyokimya AD Metabolizma Laboratuvarına plazma ve membran yağ asidi konsantrasyonlarının Gaz kromatografisi-Alev İyonizasyon Dedektörü (GC-FID) ile ölçüm metodu kurularak ve optimize edilmiş hemodiyaliz tedavisi gören son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) hastalarında yağ asidi konsantrasyonlarının ölçülmesi amaçlanmıştır.

Plazma ve eritrosit membran yağ asitlerinin GC-FID ile ölçüm metodunda SPTM-2560 kapiller kolon (100m X 0.25mm X 0.2 μ m) kullanılmış olup ve 3M metanolik HCl ile 90°C'de 4 saat türevlendirme işlemi uygulanmasını takiben 45 dk toplam analiz süresinde 34 yağ asidine ait pikler elde edilmiştir. Bu metodun, tüm bu yağ asitleri için 300 μ g/ml konsantrasyona kadar doğrusal olduğu, LOD 0.3-4.2 μ g/ml konsantrasyonlar arasında, geri kazanımın % 87-107 aralığında ve tekrarlanabilirliğin % 4.2-10.4 aralığında olduğu tespit edildi. Bu sonuçlar kaynaklarla karşılaştırıldığında, kullandığımız metodun plazma ve membran yağ asidi konsantrasyonlarını belirlemede yeterli performansa sahip olduğu görüldü.

GATA Nefroloji Kliniği Hemodiyaliz Ünitesinde hemodiyaliz tedavisi gören 38 SDBY hastası (18 tanesinde beraberinde Tip II DM mevcut) ve 28 kontrol hastası (14'ü Tip II DM, 14'ü kronik hastalık sahibi değil) çalışmaya dahil edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen tüm hasta gruplarında serum lipid içeriği incelendiğinde SDBY+Tip II DM hastalarında serum trigliserit ve VLDL-Kol düzeyleri Tip II DM hastalarına göre istatistiksel anlamlı yüksek bulunurken ($p<0.001$) HDL-Kol düzeyleri düşük bulunmuştur ($p<0.001$). Serum trigliserit düzeyleri SDBY+Tip II DM hastalarında SDBY hastalarına kıyasla da yüksek bulunmuştur ($p<0.01$). Ayrıca membran Eikosapentaenoik asit/Araşidonik asit (EPA/AA) oranı Tip II DM hastalarında sağlıklı kontrollere göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0.01$). SDBY+Tip II DM hastalarında plazma EPA düzeyleri ile EPA/AA oranı Tip II DM hastalarında göre istatistiksel azalmış ($p<0.01$) bulunurken DHA ile EPA+DHA düzeyleri açısından anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Membran yağ asidi konsantrasyonları açısından değerlendirildiğinde ise SDBY+Tip II DM hastalarında DHA ve EPA düzeyleri Tip II DM hastalarına göre istatistiksel anlamlı düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Plazma ve membran EPA+DHA düzeyleri açısından hasta grupları arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Bununla birlikte SDBY+Tip II DM ve Tip II DM hasta gruplarının plazma ve membran EPA, EPA+DHA, EPA/AA ve DHA konsantrasyonları arasında anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur.

Omega grubu yağ asitlerinin (özellikle EPA ve DHA) immünomodülatör etkileri düşünüldüğünde Tip II DM ve SDBY hasta gruplarında plazma ve membran konsantrasyonlarının düşük düzeylerde gözlenmesi, bu hastalıklara bağlı komplikasyonların gelişim ve ilerleme mekanizmalarında bu yağ asitlerinin rolü olabileceğine işaret etmektedir.

Laboratuvarımıza kazandırılan bu plazma ve membran yağ asit ölçüm metodunun, bazı yağ asit oksidasyon bozukluklarının tanısında yararlı bir test olarak kullanılabilmesi, yağ asitlerinin hem çeşitli hastalıkların etyopatogenezindeki rollerinin araştırılması hem de diyetle alınan yağ asitlerinin biyoyararlanımı ile ilgili yapılacak çalışmalara temel oluşturacağına inanıyoruz.

Anahtar Kelimeler : Membran Yağ Asitleri, GC-FID, Hemodiyaliz

Yazar Adı : J. Tbp. Yzb. Erdim SERTOĞLU

Danışman : Prof. Ecz. Alb. İsmail KURT

ABSTRACT

Measurement of Serum and Erythrocyte Membrane Fatty Acids with Gas Chromatography-Flame Ionization Detector and Its Clinical Usage

Recently, etiopathogenetic role of fatty acids, particularly omega-3 fatty acids, especially on renal and cardiovascular diseases and hyperlipidemia, autoimmune and inflammatory diseases, respiratory diseases, oncological, neurological diseases and endocrinological disorders and effects of dietary intake to the treatment of these diseases were studied in many researches. And researches on this subject are still ongoing intensively. While there are many publications in the field of nephrology about the interaction of ω -3 fatty acids with the IgA nephropathy, lupus nephritis, cyclosporin A toxicity, diabetic nephropathy and hemodialysis, number of studies on this subject are still increasing.

In this study, it's aimed to develop and optimize the method to determine fatty acid concentrations in end-stage renal disease (ESRD) patients undergoing hemodialysis by Gas Chromatography-Flame Ionisation Detector (GC-FID) in GATA Department of Medical Biochemistry Metabolism Laboratory.

SPTM-2560 capillary column (100m X 0.25 X 0.2 m) was used to determine plasma and membrane fatty acids with GC-FID. Following derivatization process with 3N methanolic HCl for 4 hours at 90°C, 34 fatty acid peaks were obtained in 45 min of total analysis time. In this method, fatty acid concentrations were linear up to 300 μ g/ml, LOD was between 0.3-4.2 μ g/ml concentrations, recovery have been found to be in the range of 87-107 % and reproducibility have been found to be in the range of 4.2-10.4 %. When these results are compared to the literatures, it is considered that the method we used have adequate analytical performance to determine plasma and membrane fatty acids concentration.

38 ESRD patients undergoing hemodialysis treatment in the Hemodialysis Unit of GATA Nephrology Department (18 with Type II DM) and 28 control patients (14 with Type II DM, 14 with no chronic disease) have been included in the study.

When the serum lipid content is analyzed in all patient groups included in the study, serum HDL-Chol levels were statistically significantly lower in ESRD+Type II DM patients compared to Type II DM patients ($p<0.001$), while triglyceride and VLDL-Chol levels were significantly higher ($p<0.001$). Serum triglyceride levels were higher in ESRD+Type II DM patients compared to patients with ESRD ($p<0.01$) indeed. Also membrane Eicosapentaenoic acid/Arachidonic acid (EPA/AA) ratio in Type II DM patients was statistically significantly higher than in healthy controls($p<0.01$). While plasma EPA levels and EPA/AA ratio were statistically significantly higher in ESRD+Type II DM patients than Type II DM patients ($p<0.01$), no significant difference was observed with DHA and EPA+DHA levels. When membrane fatty acid concentrations were assessed, DHA and EPA levels in ESRD+Type II DM patients were significantly lower than in Type II DM patients ($p<0.05$) and there were no statistically significant difference in EPA+DHA levels between the patient groups. However, there were significant positive correlation in plasma and membrane EPA, EPA+DHA, EPA/AA and DHA concentrations between ESRD+Type II DM and Type II DM patients.

While considering immunomodulatory effects of omega fatty acids (particularly EPA and DHA) and determination of low plasma and membrane concentrations in Type II DM and ESRD patient groups, it can be suggested that these fatty acids may play a role in the mechanisms of development and progress of complications associated with these diseases.

We believe that the method we developed to determine plasma and fatty acid concentrations can be used as a screening test for the diagnosis of some fatty acid oxidation disorders, and provide a basis for future studies about bioavailability of dietary fatty acids as well as to evaluate the role of fatty acids in the etiopathogenesis of various diseases.

Keywords : Membrane Fatty Acids, GC-FID, Hemodialysis

Author : MD. Capt. Erdim SERTOGLU

Counselor : Prof. Pharm. Col. Ismail KURT

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. LİPİDLER.....	3
2.1.1. Tanım, Lipidlerin Yapısı ve Fonksiyonları.....	3
2.1.2. Lipidlerin Sınıflandırılması	4
2.2. YAĞ ASİTLERİ.....	5
2.2.1. Yağ Asitlerinin Yapısı	5
2.2.2. Yağ Asitlerinin Sınıflandırması	6
2.2.3. Membran Yağ Asitleri	14
2.2.3.1. Hücre Membranının Yapısı ve Bileşenleri.....	14
2.2.3.2. Eritrosit Membranlarında Lipid Dağılımı	16
2.2.4. Yağ Asitlerinin Önemi ve İlişkili Patolojiler	17
2.2.5. Omega Grubu Yağ Asitlerinin Fiziopatolojik Rolü-Klinik Önemi	20
2.2.6. Diyabetik Nefropati ve Hemodiyaliz ile Omega Grubu Yağ Asitleri	25
2.2.6.1. Diabetes Mellitus ve Son Dönem Böbrek Yetmezliği	25
2.2.6.1.1. Diabetes Mellitus Tanımı, Önemi, Sınıflandırması.....	25
2.2.6.1.2. Diyabetik Nefropati	27

2.2.6.2. Son Dönem Böbrek Yetmezliği ve Tedavisi.....	27
2.2.6.3. Hemodiyaliz Tedavisi Alan Son Dönem Böbrek Yetmezliği Hastalarında Plazma Eritrosit Membran Yağ Asidi Düzeylerinin Önemi	29
2.2.7. Biyolojik Materyallerde Yağ Asidi Ölçümü.....	30
2.3. GAZ KROMATOĞRAFİSİ.....	32
2.3.1. Kromatografi-Genel Bilgiler.....	32
2.3.2. Gaz Kromatografisi-Genel Bilgiler	33
3.1. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER	36
3.2. KULLANILAN ALET VE CİHAZLAR	36
3.3. TEST İÇİN GEREKLİ KİMYASAL VE REAKTİFLERİN HAZIRLANMASI.....	37
3.4. ÇALIŞMA GRUPLARININ SEÇİMİ.....	38
3.5.ÇALIŞMA ÖRNEKLERİNİN HAZIRLAMASI.....	38
3.5.1. Çalışma Örneklerinin Alınması ve Saklanması	38
3.5.2. Eritrosit Membran ve Plazma Lipidlerinin Ekstraksiyonu	39
3.5.3. Metilasyon Reaksiyonu.....	39
3.6. KOLONUN ŞARTLANMASI	41
4. BULGULAR.....	42
4.1. YAĞ ASİDİ ANALİZİNDE KULLANILAN METODLARIN KARŞILAŞTIRILMASI VE UYGUN METODUN SEÇİLMESİ	42
4.2. SEÇİLEN YAĞ ASİDİ ANALİZ METODUNUN GELİŞTİRİLMESİ VE OPTİMİZASYONU	51
4.3. SONUÇLARIN İSTATİSTİKSEL ANALİZİ.....	56
5. TARTIŞMA	75
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	83
7. KAYNAKLAR	84

SİMGELER VE KISALTMALAR

AA	: Araşidonik Asit
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AHA	: Amerikan Kalp Cemiyeti
ALA	: α -linolenik Asit
DHA	: Dokosaheksaenoik Asit
DM	: Diyabetes Mellitus
DPA	: Dokosapentaenoik Asit
EA	: Erusik Asit
EPA	: Eikosapentoenoik Asit
ESICM	: European Society of Intensive Care Medicine
EYA	: Esansiyel Yağ Asitleri
FAME	: Yağ Asidi Metil Esteri
GC	: Gaz Kromatografisi
GFH	: Glomerüler Filtrasyon Hızı
GİS	: Gastrointestinal Sistem
HD	: Hemodiyaliz
HDL-Kol	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein-Kolesterol
IUPAC	: International Union of Pure and Applied Chemistry (Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği)
KBH	: Kronik Böbrek Hastalığı
KVH	: Kardiyo Vasküler Hastalık
KVS	: Kardiyo Vasküler Sistem
LA	: Linoleik Asit
LCFA	: Uzun Zincirli Yağ Asitleri
LDL-Kol	: Düşük Dansiteli Lipoprotein-Kolesterol
LT	: Lökotrien

n-3 (ω -6)	: Omega-3
n-6 (ω -6)	: Omega-6
NKF/DOQI	: National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative
OA	: Oleik Asit
PA	: Palmitik Asit
PC	: Fosfatidil kolin
PE	: Fosfatidil etanolamin
PG	: Prostaglandin
PPAR	: Peroksizom Proliferatör-Aktive Reseptör
PS	: Fosfatidil serin
PSSS	: Post-travmatik stres sendromu
PUFA	: Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
RRT	: Renal Replasman Tedavileri
SA	: Stearik Asit
SDBY	: Son Dönem Böbrek Yetmezliği
SFA	: Doymuş Yağ Asitleri
SM	: Sifingomiyelin
SREBP	: Sterol Düzenleyici Element Bağlayıcı Protein
SYA	: Serbest Yağ Asitleri
TND	: Türk Nefroloji Derneği
TX	: Tromboksan
USFA	: Doymamış Yağ Asitleri
USRDS	: United States Renal Data System
VLCFA	: Çok Uzun Zincirli Yağ Asitleri
VLDL-Kol	: Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein-Kolesterol
WHO	: World Health Organization
YA	: Yağ Asitleri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Bir yağ asidinin genel formülü	5
Şekil 2.	Yağ asitlerinin isimlendirilmesi (Örneğin: ALA)	6
Şekil 3.	Yağ Asitlerinin Sınıflandırması.....	7
Şekil 4.	Oleik asit <i>cis</i> ve <i>trans</i> konfigürasyonları.....	9
Şekil 5.	Stearik asit, oleik asit ve linoleik asite ait ergime ısıları	9
Şekil 6.	<i>cis</i> ve <i>trans</i> konfigürasyonlarının karşılaştırılması.....	10
Şekil 7.	Esansiyel yağ asitlerinden eikosanoidlerin sentezi.....	12
Şekil 8.	Diyetle alınan yağlardan esansiyel yağ asitlerinin sentezi (16).....	13
Şekil 9.	Esansiyel yağ asitlerinden pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar eikosanoidlerin sentezi.	13
Şekil 10.	Hücre Zarı.....	15
Şekil 11.	Eritrosit fosfolipidlerinin iç ve dış tabakalar arasındaki dağılımları.	16
Şekil 12.	GC cihazı	33
Şekil 13.	FID Dedektör	34
Şekil 14.	2,6-Di- <i>tert</i> -butyl-4-methylphenol.....	37
Şekil 16.	Metod 2 (1) ve modifiye metod 2 (2)'ye ait çoklu standart kromatogramı.....	47
Şekil 17.	Metod 3'e ait çoklu standart kromatogramı	48
Şekil 18.	Metod 5'e ait çoklu standart kromatogramı	48
Şekil 19.	Metod 6'ya ait çoklu standart kromatogramı	49
Şekil 20.	Seçilen metoda ait çoklu standart kromatogramı.....	50
Şekil 21.	Seçilen metodla her bir yağ asidine ait kalibrasyon kromatogramı.....	52
Şekil 22.	Her bir yağ asidine ait kalibrasyon grafiği	54
Şekil 23.	Bazı yağ asitlerine ait gruplar-arası karşılaştırma grafikleri	66

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1.	Bazı doymuş yağ asitleri	8
Tablo 2.	Bazı doymamış yağ asitleri	10
Tablo 3.	Omega-3 Yağ Asitleri	17
Tablo 4.	Omega-6 Yağ Asitleri	18
Tablo 5.	Omega-9 Yağ Asitleri	18
Tablo 6.	Yağ asidi analizi için test edilen GC-FID parametreleri	46
Tablo 7.	Seçilen metoda ait optimizasyon verileri	53
Tablo 8.	Kontrol, Tip II DM, Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY), Tip II DM+ Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY) hastalarına ait rutin laboratuvar parametreleri ve sonuçların karşılaştırılması	57
Tablo 9.	Kontrol, Tip II DM, Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY), Tip II DM+ Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY) hastalarına ait plazma yağ asidi konsantrasyonları ve sonuçların karşılaştırılması.....	59
Tablo 10.	Kontrol, Tip II DM, Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY), Tip II DM+ Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY) hastalarına ait membran yağ asidi konsantrasyonları ve sonuçların karşılaştırılması	61
Tablo 11.	Kontrol, Tip II DM, Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY), Tip II DM+ Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY) hastalarına ait plazma yağ asidi yüzde oranları ve sonuçların karşılaştırılması.....	63
Tablo 12.	Kontrol, Tip II DM, Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY), Tip II DM+ Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY) hastalarına ait membran yağ asidi yüzde oranları ve sonuçların karşılaştırılması	65
Tablo 13.	Grup içi membran ve plazma yağ asidi konsantrasyonlarının korelasyon analizi sonuçları (***) $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$).....	68
Tablo 14.	Grup içi membran ve plazma yağ asidi yüzde oranlarının korelasyon analizi sonuçları (***) $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$).....	70

Tablo 15. Total kolesterol, trigliserit, HDL-Kol, LDL-Kol ve HbA1c düzeyleri ile membran ve plazma yağ asidi konsantrasyonlarının korelasyon sonuçları.....	73
Tablo 16. Total kolesterol, trigliserit, HDL-Kol, LDL-Kol ve HbA1c düzeyleri ile membran ve plazma yağ asidi yüzde oranlarının korelasyon sonuçları.....	74

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnsan organizması için gerekli olan bileşenlerden birisi olan yağlar, yüksek enerji kaynağı olmaları yanında yağda çözünen vitaminleri bulundurmaları, proteinlerle kompleks yaparak lipoproteinleri oluşturmaları ve kan lipid düzeylerinde rol oynamaları nedeniyle oldukça önemlidirler (1). Yağ asitlerinin esterleri ya da esterleşebilen bileşikler olan lipidlerin temel yapı taşları yağ asitleridir (YA), onun için lipid denince akla yağ asidi gelir.

Kanda dolaşan yağlar ya diyetle dışarıdan alınır ya da karaciğerde sentezlenir. Diyetteki yağların %90'ından fazlasını trigliseridler (3 yağ asidi + 1 gliserol) geri kalanını ise kolesterol, kolesterol esterleri, esterleşmemiş YA (serbest YA), fosfolipidler ve sfingolipidler oluştururlar.

Beslenmenin insan sağlığı üzerine olan etkilerinin önemli olduğunun farkına varılması sonucu YA analizi ilgi duyulan bir çalışma konusu haline gelmiştir. Çeşitli biyolojik örneklerdeki yağ asidi konsantrasyonlarının farklı zaman dilimlerinde diyetle alınan yağ asidi miktarını (yağ dokusu; son aylardaki alımı, hücre membranları; son bir kaç haftalık, plazma veya serum ise birkaç günlük alımı) yansıttığı ileri sürülmüştür (2-4). Kandaki yağ asitlerinin oranı insanlardaki besinsel yağ bileşimini yansıtmaktadır. Bu nedenle, yağ asitlerini hızlı ve güvenilir bir şekilde analiz etmek büyük bir değer taşımaktadır. Son zamanlarda biyolojik sıvılarda yapılan serbest yağ asit analizleri beslenme bozuklukları ve metabolik hastalıkların teşhisinde kullanılmaktadır (5-10).

Diyetteki doymuş, tekli doymamış veya çoklu doymamış yağ asidi (Polyunsature Fatty Acid-PUFA) içeriği, Düşük Dansiteli Lipoprotein-Kolesterol (LDL-Kol) ve Yüksek Dansiteli Lipoprotein-Kolesterol (HDL-Kol) konsantrasyonunu ve dolayısıyla ateroskleroz gelişimini etkilemektedir (5). Omega-3 (ω -3) PUFA'nin düzenli tüketimi veya takviyesinin, anti-inflamatuar ve muhtemelen anti-aritmik etkilerinden dolayı, kardiyovasküler prognoz üzerine olumlu etkilerinin olduğu gösterilmiştir (6). Kuopio İskemik Kalp Hastalığı Risk Faktörü Çalışmasında 10 yıl süreyle ileriye dönük olarak 1871 erkek hasta takip edilmiş, bu bireylerin serum Dokosaheksaenoik Asit (DHA) ve Dokosapentaenoik Asit (DPA) için üst dilimdekilerde alt dilimdekilere göre akut koroner olay riskinde % 44 azalma tespit

edilmiştir. Buna ek olarak, şizofreni, depresyon ve post-travmatik stres sendromu gibi birçok farklı psikiyatrik durum ile eritrositlerde veya plazmada kolayca ölçülebilen esansiyel yağ asitleri (EYA) düzeylerindeki değişiklikler arasında ilişki bulunmuştur (7,8).

Şimdiye kadar plazma ve eritrosit membranında yağ asidi düzeylerini belirlemede kullanılan, hem örnek hazırlama, hem de hazırlanan örneklerin analizi sürecindeki cihaz analiz parametreleri bakımından farklılıklar gösteren çok sayıda yöntem tanımlanmıştır (9-15). Çeşitli kaynaklardan elde edilmiş mevcut yöntemler ile gerçekleştirilen serbest yağ asitlerinin analizi, bazı durumlarda üç saati aşan uzun numune türevlendirme ve ön hazırlık aşamaları nedeniyle zor olmaktadır. Bununla birlikte bazı firmaların ürettiği örnek hazırlama kiti ve bunlara uygun geliştirilmiş yöntemler (ZinMass®) ile numune indirgeme ön hazırlık işlemi çok kısa sürede gerçekleştirilebilmektedir. Tüm bu gelişmelere rağmen değişik yaş grupları veya hasta gruplarını içeren metod karşılaştırma ve sağlıklı bireylere ait normal değer çalışmaları halen bulunmamaktadır.

Şu ana kadar yapılan çalışmalar plazma yağ asidi düzeylerinin yakın geçmişteki diyetten etkilendiğini göstermektedir. Bu da uzun süreli beslenme ve metabolizmanın değerlendirilmesinde son birkaç haftalık besinsel yağ asidi alımını gösteren membran yağ asidi düzeylerini daha değerli kılmaktadır (16). Bu çalışmada gaz kromatografisi (GC) ile çeşitli metodlar karşılaştırılarak plazma ve eritrosit membran yağ asidi konsantrasyonları ve yüzde oranları arasındaki korelasyon değerlendirilmiştir.

Biz bu çalışma ile; a) çeşitli örnek hazırlama yöntemleri kullanılarak uzun süreli beslenme ve metabolizmanın değerlendirilmesinde eritrosit membran yağ asidi ölçümünü ve bu ölçüm için kullanılacak örnek hazırlama yöntemini standardize etmeyi, b) plazma serbest yağ asidi ile eritrosit membranına bağlı yağ asidi oranlarını karşılaştırmayı, c) sağlıklı bireylerde plazma ve eritrositlerdeki yağ asidi düzeylerinin tespit ederek sağlıklı birey değerlerini belirlemeyi, d) Hemodiyaliz (HD) tedavisi alan Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY) hastalarında plazma ve eritrosit membran yağ asidi düzeylerini kontrol grubu ile karşılaştırarak YA kompozisyonu üzerine hemodiyalizin etkisini değerlendirmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. LİPİDLER

2.1.1. Tanım, Lipidlerin Yapısı ve Fonksiyonları

Lipidler, doğada ve organizmada bulunan karbonhidratlar ve proteinler gibi büyük öneme sahip heterojen yapıda bir grup organik bileşiklerdir.

Yapılarında C, H, O (karbon, hidrojen, oksijen) bulunur; ayrıca N, P, S (azot, fosfat, kükürt) gibi elementler de bazı lipidlerin yapısına girerler. O miktarı, C ve H atomlarına oranla daha azdır. Lipidler, suda çözünmeyen, eter, kloroform ve benzen gibi polar olmayan çözeltilerde çözünebilir apolar veya hidrofob bileşiklerdir. Ancak yapılarında hidroksil (-OH) ve karboksil (-COOH) grupları gibi polaritesi fazla olan hidrofilik grupları fazla miktarda içeren lipidler suda kısmen çözünebilirler. Kimyasal olarak lipidler, hidrolizlerinde yağ asidi açığa çıkaran veya YA ile birleşerek esterler oluşturan kompleks alkoller olarak tanımlanabilirler (17).

Lipidler, sadece yüksek enerji kaynağı olmayıp aynı zamanda yağda çözünen vitaminleri taşımaları, proteinlerle birleşerek lipoproteinleri oluşturmaları ve kan lipid düzeylerinde rol oynamaları bakımından oldukça önemlidirler. Ayrıca organizmada hücre membranlarında yapı taşı olarak bulunurlar.

Lipidlerin Fonksiyonları (17,18):

- a. Karbonhidratlardan sonra gelen en önemli enerji kaynağıdır. Karbonhidratların yetersiz kaldığı durumda yağlar enerji sağlamaktadır.
- b. Yağda eriyen A, D, E, K vitaminlerinin taşıyıcısıdır.
- c. Doyma duyunun oluşmasına yardımcı olurlar.
- d. Organların çevresini sararak destek sağlar ve dış etkenlere karşı korurlar.
- e. Vücuttan ısı kaybını önlerler.
- f. Hücrenin yapı maddelerindedir. Hücre zarına akıcılık ve esneklik kazandırır. Hidrofobik ve anyonik karakterleri sayesinde bazı iyon ve polar maddelerin de geçişine engel olurlar.
- g. Gebelik, laktasyon, ve protein metabolizması üzerine etkileri vardır.
- h. Cildin esnekliğinin korumasında etkilidirler.

i. Sinir sistemine olumlu etki yaparlar. Polar olmayan yağlar, depolarizasyon dalgalarının miyelinli sinirler boyunca hızla ilerlemesine olanak vermek üzere elektriksel yalıtkan olarak davranır. Sinir dokusunun yağ içeriği özellikle yüksektir.

j. Vücut direncinin kuvvetli tutulmasını sağlarlar.

k. Glikolipid, lipoprotein ve steroid yapısında vitamin ve hormon olarak görev yaparlar. Lipoproteinler, hem hücre zarı hem de sitoplazmada görülen önemli hücresel yapıtaşları olup kanda lipidlerin taşınmasında da görev alırlar.

l. Fosfolipid olarak hücre zarının önemli bir bileşenidirler.

Çeşitli dokularda lipidlerin yayılımı büyük farklılıklar gösterir. Depo görevi görmeyen dokularda lipid oranı düşüktür (embriyonal dokuda %1-2, sperm, yumurta ve beyin dokusunda %7-30). Cilt altı dokusu, mezenterik doku, böbrek gibi depo görevi gören dokular ile organların etrafını çeviren yağ dokusu ve kemik iliğinde lipid oranı %90 gibi büyük oranlara ulaşır. Depo dokulardaki lipidlerin tamamına yakını trigliserit, buna karşılık diğer dokulardaki lipidler fosfolipid, sterol, glikolipid yapısındadır (18).

2.1.2. Lipidlerin Sınıflandırılması

Bloor lipidleri dört gruba ayırmıştır. (19).

1) Basit lipidler: Yağ asitlerinin çeşitli alkollerle oluşturdukları esterlerdir.

-*Nötral yağlar:* Yağ asitlerinin gliserol (gliserin) ile oluşturdukları esterlerdir; *trigliseridler* veya *triaçilgliseroller* diye de adlandırılırlar.

-*Mumlar:* Yağ asitlerinin gliserolden daha büyük molekülü alkollerle oluşturdukları esterlerdir.

-*Kolesterol esterleri:* Yağ asitlerinin kolesterol ile oluşturdukları esterlerdir.

-*Vitamin A esterleri:* Yağ asitlerinin vitamin A ile oluşturdukları esterlerdir.

-*Vitamin D esterleri:* Yağ asitlerinin vitamin D ile oluşturdukları esterlerdir.

2) Bileşik lipidler: Yağ asitleri ve alkole ek olarak başka gruplar içeren lipidlerdir. Bunlar alkol, yağ asidi, fosforik asit grubu şeklinde meydana gelen fosfolipidler ve yağ asidinin azot taşıyan bir karbonhidratla birleşmiş olduğu serebrozidlerdir. Bileşik lipid grubunda sulfolipid, aminolipid ve lipoproteinler de bulunur.

3) Lipid türevleri: Basit veya bileşik lipidlerin hidrolizi sonucu oluşan ve lipid özelliği gösteren maddelerdir.

-*Yağ asitleri*: Hidrokarbon zincirli monokarboksilik organik asitlerdir.

-*Monoaçıl gliseroller ve diaçıl gliseroller*: Trigliseridlerin hidrolizi sonucu oluşurlar.

-*Alkoller*: Gliserol ve sfingozin, lipidlerin yapısında en sık bulunan alkollerdir.

-*Yağ aldehytleri*: Yağ asitlerinin indirgenmesiyle oluşan bileşiklerdir.

-*Keton cisimleri*: Asetoasetik asit, β-hidroksibutirik asit ve asetondur.

4) Lipidlerle ilgili diğer maddeler:

-*İzoprenoidler*: İzopren türevi bileşiklerdir. Karotenoidler ve steroidler, önemli izoprenoid lipidlerdir.

-*Vitamin E*: Tokoferoller

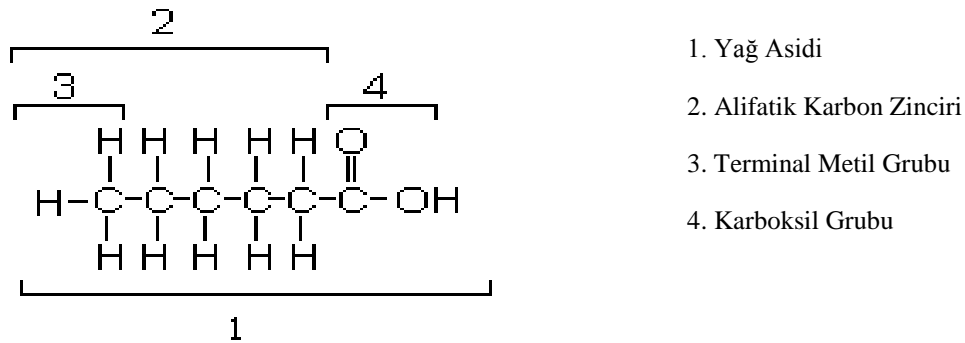
-*Vitamin K*: Naftokinonlar

2.2. YAĞ ASİTLERİ

Lipidler, yağ asidi esterleri ya da esterleşebilen bileşikleridir. Temel yapı taşları yağ asitleridir ve bu nedenle lipid denince akla yağ asitleri gelir.

2.2.1. Yağ Asitlerinin Yapısı

Yağ asitleri, uzun alifatik kuyruklu bir karboksilik asit olarak tanımlanır. 4-36 karbonlu hidrokarbon zincirinin ucunda karboksil grubu bulunur (Şekil 1).



Şekil 1. Bir yağ asidinin genel formülü

Yağ asitlerinin zincir uzunlukları farklıdır ve içerdikleri karbon atomlarının sayısına göre sınıflandırılmaktadırlar. Buna göre;

2-4 karbon atomu içeren YA: kısa zincirli,

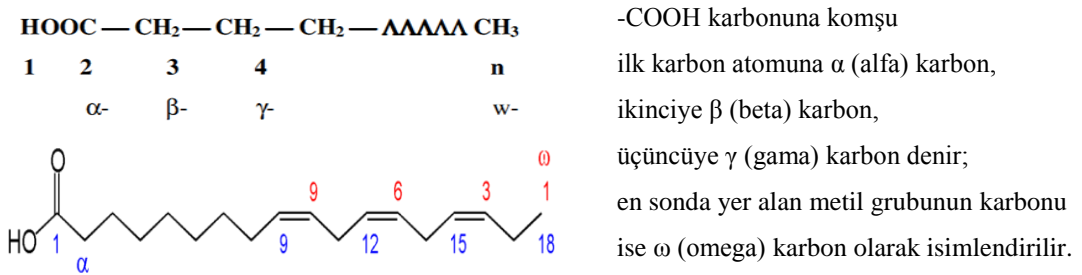
6-10 karbon atomu içeren YA: orta zincirli ve

12-26 karbon atomu içeren YA: uzun zincirli olarak gruplandırılmıştır.

Doğal yağlardaki trigliseritleri oluşturan yağ asitlerinden söz ederken bunların çoğunlukla 8 ve üzeri karbon atomu (kaprilik asit gibi) taşıdığı bilinmektedir. Çoğu doğal yağ asidinin çift sayılı karbon atomu vardır, çünkü bunların biyolojik sentezlerinde iki karbon atomlu asetat kullanılır.

İnsan beslenmesi ve metabolizmasında önemli yeri olan yağ asitleri, çift sayıda karbon atomu içeren uzun zincirli yağ asitleridir.

Yağ asitlerinin yapısında yer alan hidrokarbon zinciri karbonları, -COOH karbonundan itibaren isimlendirilir (Şekil 2).



Şekil 2. Yağ asitlerinin isimlendirilmesi (Örneğin: ALA)

Yağ asitleri dolaşımında, esterleşmiş veya serbest halde bulunabilir. Plazmadaki yağ asitlerinin çoğu kolesterol veya gliserolle esterleşmiş bir şekilde veya YA-albumin kompleksi halinde taşınır. Bir molekül albumin, 20 molekül yağ asidi bağlayabilmektedir. Serbest yağ asidi karboksil grubunun pKa'sı 4.8 civarındadır; bundan dolayı plazma ve hücre içi sıvısında (pH 7.4) yağ asitleri iyonize formda bulunurlar.

Plazmada taşınan serbest yağ asidi miktarı çok fazladır. Plazma total serbest yağ asidi düzeyleri 8-25 mg/dl'dir (0.3-0.9 mmol/L). Plazmada SYA konsantrasyonları egzersiz ve fiziksel aktivite ile oluşan fizyolojik enerji gereksinimlerine, kan şekeri düzeyine ve epinefrin salınımına yol açan psikolojik strese oldukça duyarlıdır (20).

2.2.2. Yağ Asitlerinin Sınıflandırması

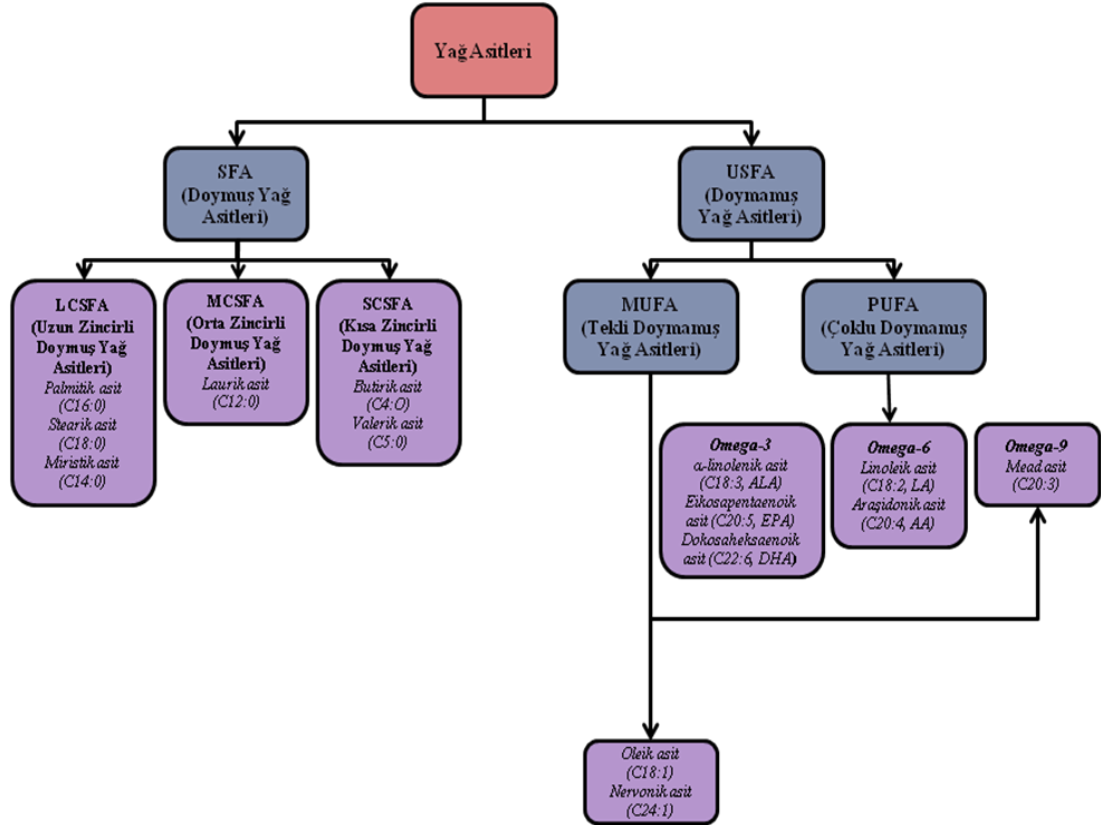
YA'nin zincir yapısındaki farklılıklar, yalnızca düz ya da dallanmış yapıda olmaları ile sınırlı değildir. Bunun yanında doymuş, doymamış veya halkalı yapıda olup olmamalarına göre de, bu farklılıklar ortaya çıkabilmektedir (Şekil 3).

Doymuş Yağ Asitleri

- ❖ Monokarboksilik yağ asitleri
- ❖ Dikarboksilik yağ asitleri

Doymamış Yağ Asitleri

- ❖ Çift bağlı yağ asitleri (alken yapısında olanlar)
 - Monounsature yağ asitleri
 - Poliunsature yağ asitleri
- ❖ Konjuge yağ asitleri
- ❖ Üç bağlı doymamış yağ asitleri



Şekil 3. Yağ Asitlerinin Sınıflandırması

Doymuş Yağ Asitleri (SFA) (17,18): Doymuş yağ asitlerinin zincirlerinde çift bağlar veya başka fonksiyonel gruplar bulunmaz. "Doymuş" terimi hidrojenle ilişkili olarak kullanılır, -COOH (karboksilik asit) grubundaki karbon dışındaki diğer karbonların olabildiğince çok hidrojenle bağ yapmış olduğu anlamını taşır. Diğer deyişle, ω ucundaki karbonun 3 hidrojeni (CH₃), zincirdeki diğer karbonların her birinin ise iki hidrojeni (-CH₂-) bulunmaktadır. Genel formülleri, CH₃(CH₂)_n COOH ya da R-COOH şeklindedir.

SFA düz zincirlere sahip olduklarından sıkışık bir şekilde istiflenebilirler ve canlıların kimyasal enerjiyi yoğun bir şekilde depolamalarını sağlarlar. Hayvanların yağ dokuları çok miktarda uzun zincirli doymuş yağ asidi içerir.

Doğadaki yağların yapısında gliserille esterleşmiş en küçük üye olarak bütirik aside $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2 - \text{COOH}]$ rastlanmıştır. Bu grubun doğadaki yağlarda rastlanan en uzun zincirli üyesi lignoserik (tetrakosanoik) asittir. Doğada bulunan daha uzun zincirli doymuş asitleri, mumların yapısında serbest veya ester formunda bulduklarından, mum asitleri olarak adlandırılırlar.

SYA büyük bir çoğunlukla çift sayıda karbon atomundan oluşmalarına karşın, margarin asidi ($\text{C}_{17}\text{H}_{33}\text{COOH}$) gibi, yapılarında tek sayıda karbon atomu içeren yağ asitlerine de rastlanabilmektedir. Aynı şekilde insan saçından izole edilen yağda, 7, 9, 11 ve 13 adet karbon atomundan oluşmuş SFA'nin varlığı da saptanmıştır. Bazı doymuş yağ asitleri ve yapısal formülleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

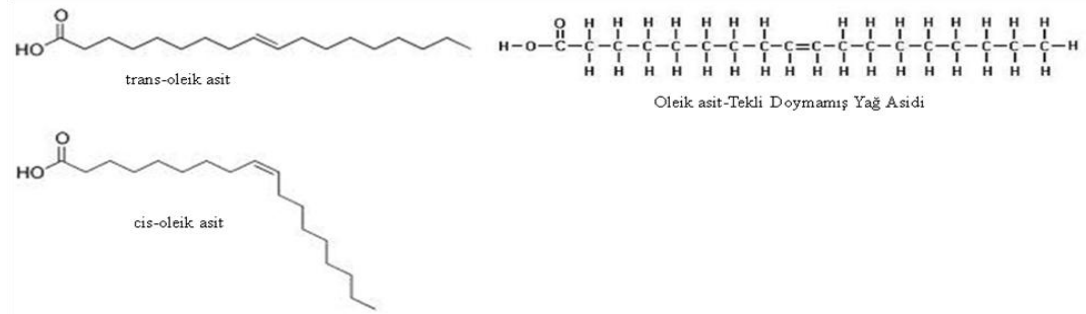
Tablo 1. Bazı doymuş yağ asitleri

Adı	Karbon Atomu Sayısı	Formülü
Bütirik asit	4	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$
Kaproik asit	6	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$
Kaprilik asit	8	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$
Kaprik asit	10	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$
Laurik asit (dodekanoik asit)	12	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$
Miristik asit (tetradekanoik asit)	14	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$
Palmitik asit (heksadekanoik asit)	16	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$
Stearik asit	18	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$
Araşidik asit (eikosanoik asit)	20	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$

(IUPAC adlandırma sisteminde YA'nin isimleri "-oik asit" ekiyle biter. Yaygın adlandırma sisteminde kullanılan ek ise "-ik asit"tir.)

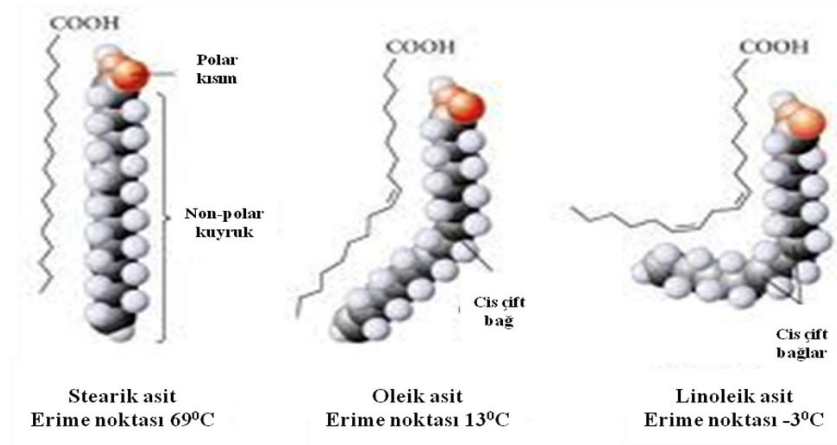
Doymamış Yağ Asitleri (17,18): Doymuş YA benzer ancak zincir üzerinde bir veya daha fazla alken grubu vardır. Bir alken grubunda, bir " $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ " bağ yerine " $-\text{CH}=\text{CH}-$ ", yani birbirine çift bağla bağlanmış iki karbon vardır. Bir alken grubunun iki yanında ona bağlı olan karbon atomları ya *cis* ya da *trans* konumda olabilir.

cis konumunda bu iki komşu karbon, çift bağı aynı tarafındadırlar. Çift bağla birbirine bağlı atomlar bu bağı ekseninde dönmediklerinden, *cis* izomeri durumunda yağ asidinin zinciri bu noktada bükük olur ve zincirin hareket kabiliyeti azalır. Bir zincirde ne kadar çok *cis* konumlu çift bağ olursa zincirin esnekliği o derece azalır. Çok sayıda *cis* bağı olan YA en serbestçe hareket edebildikleri bir ortamda oldukça eğri biçimde gözlenirler. Örneğin, bir tane çift bağı olan oleik asitte (OA) bir "köşe" bulunur; linoleik asit (LA), iki çift bağıyla, belirgin bir eğriliğe sahiptir; α -linolenik asit (ALA) ise üç *cis* bağından dolayı çengel görünümlüdür (Şekil 4).



Şekil 4. Oleik asit *cis* ve *trans* konfigürasyonları

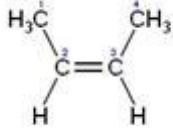
Lipid zarı gibi hareket serbestliği olmayan ortamlarda *cis* bağları YA'nın sıkı istiflenmelerine engel olur, bu da lipid zarının veya yağ damlasının ergime sıcaklığını azaltır (Şekil 5).



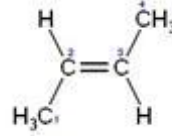
Şekil 5. Stearik asit, oleik asit ve linoleik asite ait ergime ısıları

trans konumunda çift bağı karbonlara komşu iki karbon çift bağı karşı taraflarında yer alırlar. Bu yüzden zincir fazla eğilmez ve bu tür YA'nın şekilleri SFA'e benzerler (Şekil 6).

cis-2-Bütülen



trans-2-Bütülen



Şekil 6. cis ve trans konfigürasyonlarının karşılaştırılması

Doğada bulunan USFA'in çoğunda her bir çift bağın ardından 3n sayıda karbon atomu vardır ve bu çift bağlar cis konumdadır. Trans konumlu yağ asitlerinin hemen hepsi yapaydır.

USFA'nin şekilleri arasındaki farklar, ayrıca doymuş ve doymamışlar arasındaki şekil farkları, biyolojik süreçler ve biyolojik yapıların (hücre zarları gibi) özelliklerini belirlemede önemli rol oynarlar.

Çift bağın yağ asit yapısındaki yerini belirtmek için kullanılan iki farklı isimlendirme vardır.

1) cis/trans-Delta-x veya cis/trans- Δ^x : Çift bağ x. karbon-karbon bağıdır, *karboksi uçtan sayarak* cis ve trans terimi molekülün cis veya trans şeklinde olduğunu belirtir. Birden fazla çift bağı olan bir molekül durumunda kullanım şöyledir: cis,cis"- Δ^9, Δ^{12} .

2) Omega-x veya ω -x: ω , *metil karbon* ucundan sayarak x. karbon-karbon bağı çift bağıdır.

Bazı doymamış yağ asitleri ve yapısal formülleri Tablo2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Bazı doymamış yağ asitleri

Adı	Karbon Atomu Sayısı	Formülü
Oleik asit	18	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Linoleik asit	18	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Linolenik asit	18	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Araşidonik asit	20	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$
Erusik asit	22	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{11}\text{COOH}$

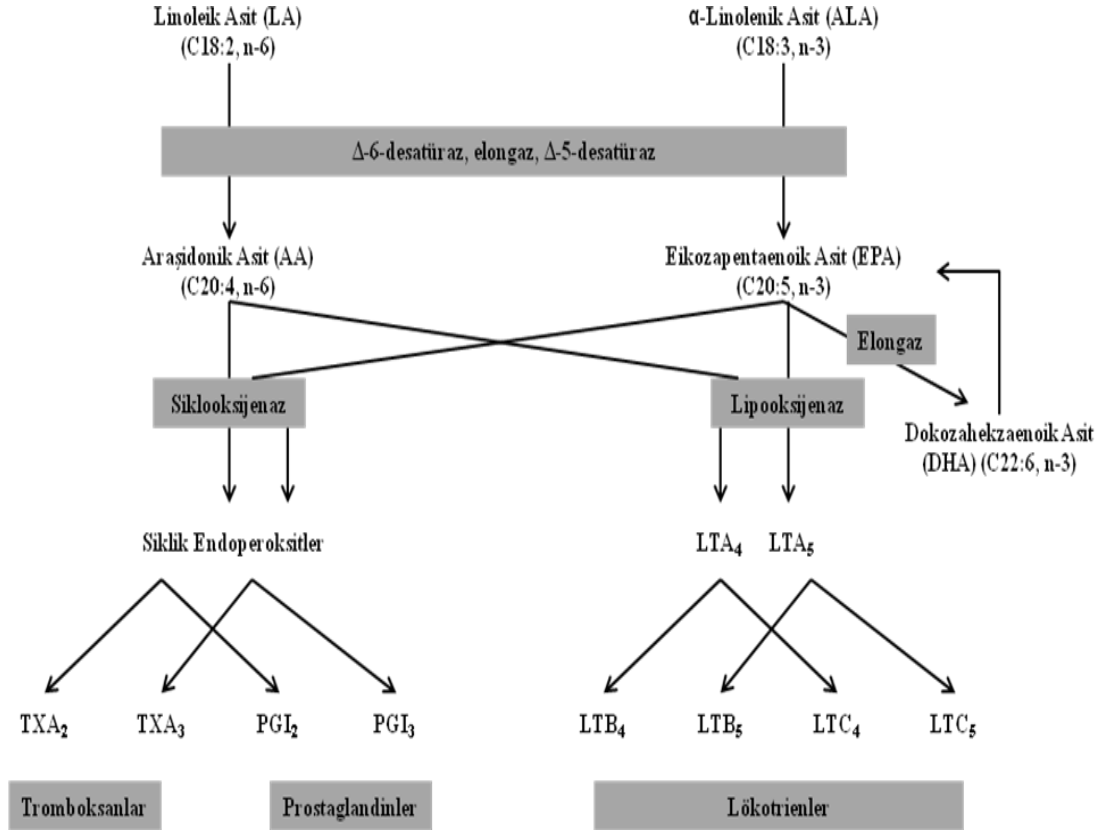
Esansiyel Yağ Asitleri(EYA): İnsan vücudu, ihtiyaç duyduğu bütün yağ asitlerini kendi sentezleyebilir. İnsan vücudunda üretilmeyen LA ve ALA yağ asitleri ise bitki ve balık yağlarında bol miktarda bulunur. Bu yağ asitleri vücutta yapılmadıkları ve besin yoluyla alınmaları gerektiğinden EYA olarak adlandırılırlar. EYA' lar, hücrenin bir uyarıya verdiği yanıtta hücre zarlarından salınan biyoaktif mediyatörler olarak tanımlanan eikosanoidlerin sentezinde görev alırlar (21). Eikosanoidler kan basıncı, kan pıhtılaşması, kan lipid seviyelerinin korunması, bağışıklık ve enfeksiyona karşı inflamasyon yanıtlarının denetlenmesi gibi işlevlere sahiptirler.

AA ve diğer 20 karbonlu çoklu doymamış EYA' den sentezlenen eikozanoidler iki gruba ayrılır. Birincisi, siklooksijenaz yoluyla oluşan prostanoidler, ikincisi ise lipoksijenaz yoluyla oluşan lökotrienlerdir. Hem ω -3 hem de ω -6 yağ asitleri eikozanoid üretimi için substrattırlar (22) (Şekil 7). Çoğu immün hücre membranı, EPA'dan fazla miktarda AA içerdiğinden dolayı, AA birincil eikozanoid öncüsü olarak adlandırılmaktadır (23).

AA'den PGE_2 , PGD_2 , PGI_2 ve TXA_2 oluşmaktadır. EPA'den ise TXA_3 ve PGI_3 sentezlenir (Şekil 7) (24).

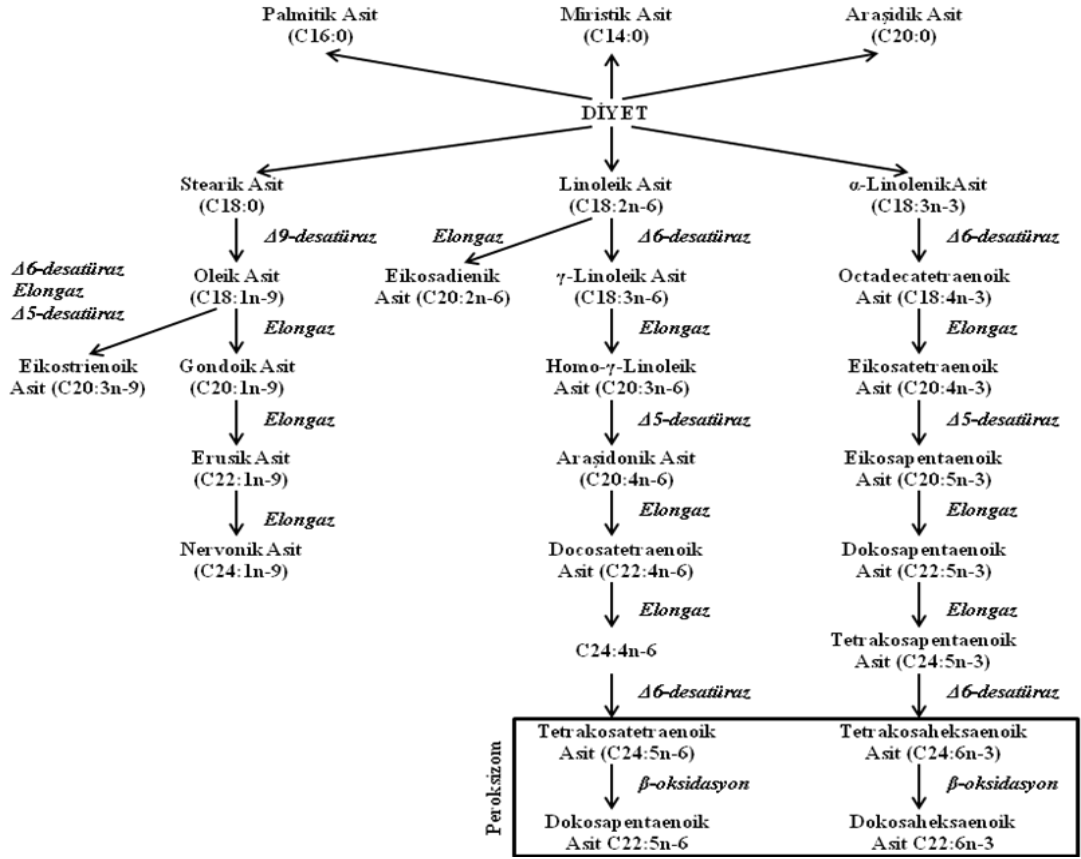
ω -3 serisinin siklooksijenaz ürünü olan, EPA türevi TXA_3 , proagretuar ve vazokonstrüktör özelliklerde dikkate değer bir azalmaya yol açar, buna karşın PGI_3 antiagretuar ve vazodilatör etkinlik açısından PGI_2 ile karşılaştırılabilir düzeydedir. Bu da ω -3 yağ asitlerinin prostanoid metabolizmasına girmesinin proagretuar ve vazodilatör etkinin azalmasıyla sonuçlandığı anlamına gelir (25). TXA_2 güçlü bir agregatör ve vazokonstriktör olduğu halde TXA_3 'ün agregatör ve vazokonstriktör etkisi çok azdır (26). ω -3'ten türeyen eikozanoidler, ω -6'dan türeyenlere göre çok daha az aktif inflamatuvar özelliğe sahiptir (27).

Biyolojik olarak aktif en önemli EYA;, AA (20:4 ω 6), EPA (20:5 ω 3) ve DHA (22:6 ω 3)'dir (28). Bu YA hücre zarı bileşiminde önemli bir rol oynarlar ve böylece hücre yüzeyindeki biyokimyasal sinyalizasyonu etkilerler. Ayrıca gen ekspresyonunu etkileyen nükleer reseptörler için doğal ligandlar olarak işlev görebilirler (29).

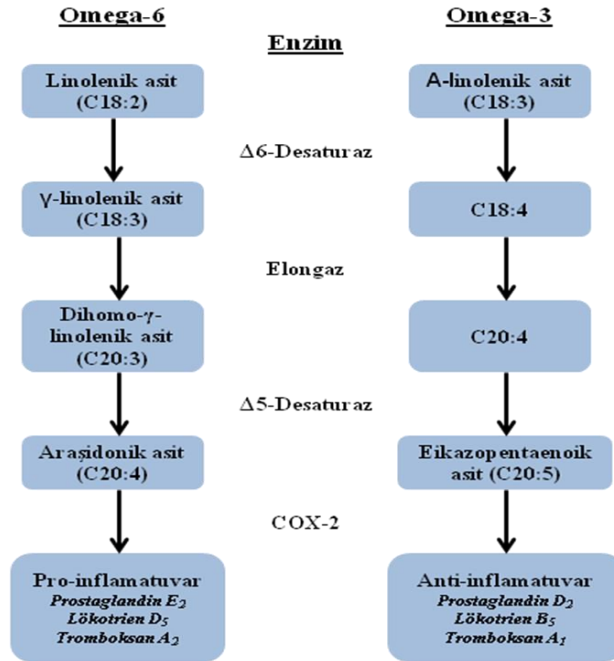


Şekil 7. Esansiyel yağ asitlerinden eikosanoidlerin sentezi.

LA ve AA ω -6 serisi, ALA, EPA ve DHA ω -3 serisi, OA ise ω -9 serisine aittir. Bu üç YA, uzama ve desaturasyon yoluyla diğer tüm EYA'nın sentezinin temelini oluşturur (16,30) (Şekil 8).



Şekil 8. Diyetle alınan yağlardan esansiyel yağ asitlerinin sentezi (16).



Dokosaheksaenoik asit ayrıca özellikle karaciğer hastalığında aktif olan koruyucu metabolitlerin oluşumuna yol açmaktadır. Kısacası, altında yatan mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılamamış olmakla birlikte ω -3 serisi anti-inflamatuvar etki gösterirken ω -6 serisi yağ asitleri pro-inflamatuvar etki göstermektedir (31) (Şekil 9).

Şekil 9. Esansiyel yağ asitlerinden pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar eikosanoidlerin sentezi.

Serbest yağ asitleri: Yağ asitleri trigliserit veya fosfolipid gibi başka moleküller içinde yer alabilirler. Başka moleküllere bağlı olmadıklarında "serbest yağ asidi (SYA)" olarak ifade edilirler. SYA vücuttaki çoğu doku için önemli bir enerji kaynağıdır, çünkü parçalanmaları sonucunda çok sayıda ATP molekülünün üretilmesini sağlarlar. Çoğu hücre tipi enerji elde etmek için hem glukoz hem de yağ asiti kullanabilir. Ancak kalp ve kas hücreleri YA'ni tercih ederler. Beyin ise YA'ni yakıt olarak kullanmaz, onlar yerine glukoz, veya keton cisimcikleri kullanır. Keton cisimcikleri karaciğer tarafından açlık veya karbohidrattan fakir diyetle beslenme sırasında üretilir.

2.2.3. Membran Yağ Asitleri

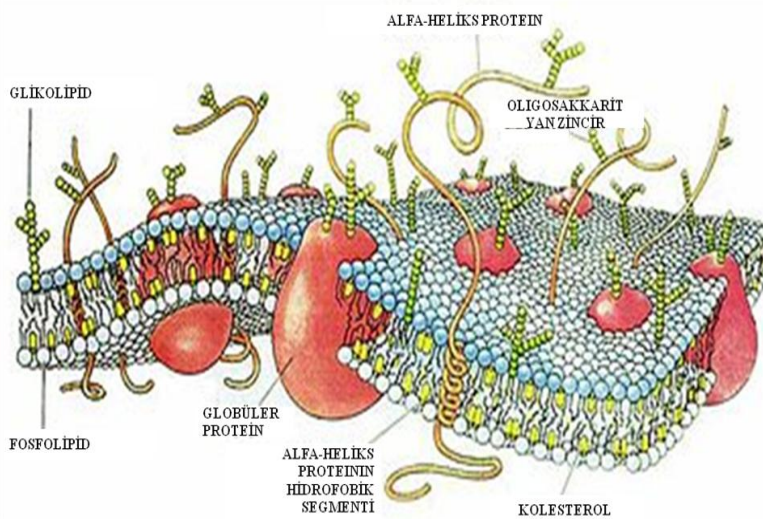
2.2.3.1. Hücre Membranının Yapısı ve Bileşenleri (32) (Şekil 10)

Hücre zarı ya da hücre membranı, hücrenin dış kısmında bulunan, molekülleri özelliklerine göre hücre içine alan veya dışarı bırakan katmandır.

Hücre zarını ayırarak yapılan direk analizlerden önce hücre zarının moleküler yapısı hakkındaki kuramlar, dolaylı kanıtlara dayanırdı. Yağda eriyen maddeler hücre zarından kolayca geçebildiği için, ilk kez Overton (1902) hücre zarının ince bir lipid tabakasından yapıldığını ileri sürmüştür. Gorter ve Grendel (1902), hücre zarının iki lipid molekülü kalınlığında bir tabaka (bilayer) olduğunu ileri sürmüşlerdir. Geçirgenlik, yüzey gerilimi elektrik ve kimyasal özelliklerini göz önünde bulundurarak, Danielli ve Davson 1935'de hücre zarının simetrik zar modelini ortaya koymuşlardır. Bu modele göre, zarın yapısında tek tabakalı iki protein yaprağı arasında lipid molekülleri vardır. Lipid moleküllerinin polar uçları (hidrofilik kısımları) dışa doğrudur ve protein tabakalarıyla örtülüdür. Moleküler yapıyla ilgili ikinci model, Robertson (1959) tarafından öne sürülen asimetrik zar modelidir. Asimetrik zar modelinde, ortada iki molekül kalınlığında lipid tabakası, iki tarafında da tek molekül kalınlığında protein tabakası vardır. İki model de birbirine benzemekle beraber arasındaki fark; birinci simetrik modelde ortadaki lipid molekül sırasının veya tabakasının kalınlığı belli değildir. İki model arasında ikinci önemli fark, lipid tabakasının iki yanındaki protein tabakalarının simetrik modele simetrik, asimetrik modele ise, kendisine eklenen yeni elementlerden dolayı sitoplazma tarafındaki protein tabakasının dıştaki protein tabakasından belli kimyasal

farklar göstermesi, yani asimetrik oluşudur. Daha sonraları ortaya çıkan teori ise, Danielli-Davson'un modelidir. Buna göre, lipid moleküllerinin polar, hidrofilik uçlarının koyu bölgeleri şekillendirdiği, polar olmayan, hidrofobik yağ asidi zincirlerinin açık renk bölgeleri şekillendirdiği düşünülmektedir. Bu modellerde hücre zarı, fosfolipid elementlerin kimyasal özelliğinden dolayı iki tabakalı görülür.

Danielli-Davson ve Robertson modelleri, hücre zarının elektriksel ve pasif geçirgenlik özelliklerini açıklamak için yeterlidir. Ancak, hücre zarının işleyişini tam olarak ortaya koyamamasından dolayı, yeni hücre zarı modelleri geliştirilmiştir. 1972 yılında Singer ve Nicolson tarafından hücre zarının tüm özelliklerin açıklayan bir model ileri sürülmüştür (33). Bu akışkan-mozaik zar modeli 1966 yılında Singer ve Lenard tarafından ortaya atılmasına rağmen, 1972'de yayınlanmıştır. Bu modelde fosfolipid tabakaları daha önceki modellerdekine benzer şekilde hidrofilik başları zarın yüzeyine doğru, hidrofobik kuyrukları ise, içe doğru sıralanır. Asıl farklılık proteinlerin dizilişindedir. Bu modelde proteinler zarın hem iç, hem dış yüzeyinde mozaik şekilde dağılırlar ve devamlı bir tabaka meydana getirmezler. Hücre zarında bulunan zar proteinleri; bu modelde yağ tabakasının her iki yüzünde olan ekstrinsik proteinler, yağ tabakasının içine gömülmüş olanlar ise; intrinsik proteinler olarak kabul edilmiştir. Bu mozaik zar modeli günümüzde de geçerliliğini korumaktadır (34, 35).



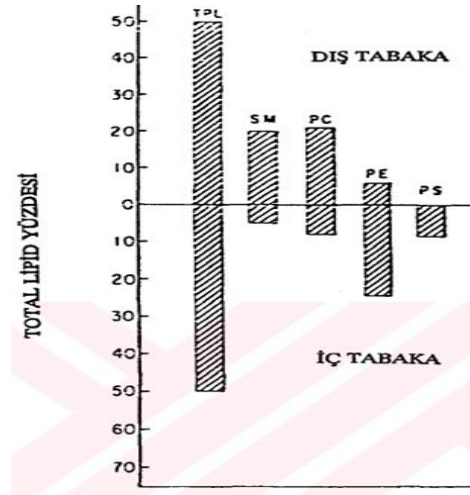
Hücre zarının kimyasal yapısı

- Zar lipitleri
- Fosfolipit
- Glikolipit
- Sterol
- Zar proteinleri
- Zar karbonhidratları bulunur.

Şekil 10. Hücre Zarı

2.2.3.2. Eritrosit Membranlarında Lipid Dağılımı (36) (Şekil 11)

Olgun eritrositteki lipidin hemen tamamı membranda bulunur (37). Eritrosit membran lipidleri eşit miktardaki fosfolipidler ve esterleşmemiş kolesterolden oluşur. Membranın yapısında fosfolipidlerden fosfatidil kolin (lesitin), fosfatidil etanolamin, sfingomyelin fosfatidil serin çok miktarda bulunur.



Şekil 11. Eritrosit fosfolipidlerinin iç ve dış tabakalar arasındaki dağılımları.

TPL (total fosfolipid), SM (sfingomyelin), PC (fosfatidil kolin), PE (fosfatidil etanolamin), PS (fosfatidil serin)

Membranın iki lipid tabakası arasında fosfolipidler asimetrik dağılmışlardır (38-40). Aminofosfatidlerin (PE, PS) %80'i membranın sitoplazmik yüzünü döşerken; kolin içeren lipidler (PC, SM) dış tabakanın temel bileşenleridir (41,42). PS'e dışta hemen hiç rastlanmaz.

Membran fosfolipidlerinde bulunan YA'leri iki tabaka arasında eşit dağılmamışlardır (38,43,44). PUFA iç tabaka fosfolipidlerinde çoğunlukta; dışta bulunan PC çoğunlukla kısa zincirli YA'ni bağlar. SM'den zengin membranlar, lesitinli olanlara göre daha az akıcıdır (43).

Nötral eritrosit lipidi hemen tamamen serbest, esterleşmemiş kolesterol içerir (45). Kolesterol fosfolipidlere etkileşerek "ara jel durumu" oluşturur. Bu nedenle membranlar daha az akıcı (viskoz) olurlar (46).

Olgun eritrosit kendiliğinden lipid sentezleyemez. Bu nedenle herhangi bir lipid kaybı plazmayla karşılıklı değiş tokuş yaparak yenilenmek suretiyle kompanse

edilmelidir (44). Bu yolların en önemlisi plazma lipoproteinlerinden eritrositlere kolesterol ve PC transferidir (47).

2.2.4. Yağ Asitlerinin Önemi ve İlişkili Patolojiler

YA'nin transportu ve mitokondriyal oksidasyonu; açlık, hastalık veya stres durumlarında enerji üretiminde önemli rol oynayan, yüksek enerji tüketimi gerektiren kompleks bir yolaktır (48). YA eksikliği belirti ve bulguları (hipoketotik hipoglisemi, geçici veya fulminan KC hastalığı, miyopati, kardiyomiyopati ve ani ölüm gibi) büyük değişiklikler gösterebilir (49). Semptomlar doğumdan itibaren erişkinliğe kadar her yaşta ve çeşitli kombinasyonlarda görülebilir. Hastaların asemptomatik ve diyet tedavisi altında iken bile anomalilere sahip olabileceği bilinmesine ve YA'nin kantitatif değerlendirilmesi mümkün olmasına rağmen plazmada YA'nin analizi genellikle göz ardı edilir (50, 51).

Uzun zincirli yağ asitleri (LCFA-long chain fatty acid); trigliserid, kolesterol esterleri ve fosfolipidler gibi lipidlerin başlıca kimyasal içeriğini oluşturmaktadır. Bu maddeler, temel olarak çift katlı lipid katmanından oluşan hücre zarının en önemli bileşenleridir. İnsan organizması, asetil-CoA'dan SFA'ni sentezleme yeteneğine sahiptir, fakat EYA olarak da adlandırılan PUFA diyet ile alınır. Bu bağlamda üç seri (ω -3, ω -6 ve ω -9) YA ön plana çıkar (52) (Tablo3, Tablo 4, Tablo 5).

Tablo 3. Omega-3 Yağ Asitleri

Genel Adı	Lipid Adı	Kimyasal Adı
Hekzadekatrienoik asit (HTA)	16:3 (n-3)	<i>all-cis</i> 7,10,13-heksadekatrienoik asit
α -linolenik asit (ALA)	18:3 (n-3)	<i>all-cis</i> -9,12,15-oktadekatrienoik asit
Stearidonik asit (SDA)	18:4 (n-3)	<i>all-cis</i> -6,9,12,15,-oktadekatetraenoik asit
Eikosatrienoik asit (ETE)	20:3 (n-3)	<i>all-cis</i> -11,14,17-eikosatrienoik asit
Eikosatetraenoik asit (ETA)	20:4 (n-3)	<i>all-cis</i> -8,11,14,17-eikosatetraenoik asit
Eikosapentaenoik asit (EPA, Timnodonik asit)	20:5 (n-3)	<i>all-cis</i> -5,8,11,14,17-eikosapentaenoik asit
Heneikosapentaenoik asit (HPA)	21:5 (n-3)	<i>all-cis</i> -6,9,12,15,18-heneikosapentaenoik asit
Dokosapentaenoik asit (DPA, Clupanodonik asit)	22:5 (n-3)	<i>all-cis</i> -7,10,13,16,19-dokosapentaenoik asit
Dokosaheksaenoik asit (DHA)	22:6 (n-3)	<i>all-cis</i> -4,7,10,13,16,19-dokosaheksaenoik asit
Tetrakosapentaenoik asit	24:5 (n-3)	<i>all-cis</i> -9,12,15,18,21-tetrakosapentaenoik asit
Tetrakosaheksaenoik asit (Nisinik asit)	24:6 (n-3)	<i>all-cis</i> -6,9,12,15,18,21-tetrakosaheksaenoik asit

Tablo 4. Omega-6 Yağ Asitleri

Genel Adı	Lipid Adı	Kimyasal Adı
Linoleik asit	18:2 (n-6)	<i>all-cis</i> -9,12-oktadekadienoik asit
Gamma-linolenik asit (GLA)	18:3 (n-6)	<i>all-cis</i> -6,9,12-oktadekatrienoik asit
Eikosadienoik asit	20:2 (n-6)	<i>all-cis</i> -11,14-eikosadienoik asit
Dihomo-gamma-linolenik asit	20:3 (n-6)	<i>all-cis</i> -8,11,14-eikosatrienoik asit
Araşidonik asit (AA)	20:4 (n-6)	<i>all-cis</i> -5,8,11,14-eikosatetraenoik asit
Dokosadienoik asit	22:2 (n-6)	<i>all-cis</i> -13,16-dokosadienoik asit
Adrenik asit	22:4 (n-6)	<i>all-cis</i> -7,10,13,16-dokosatetraenoik asit
Dokosapentaenoik asit	22:5 (n-6)	<i>all-cis</i> -4,7,10,13,16-dokosapentaenoik asit
Tetrakosatetraenoik asit	24:4 (n-6)	<i>all-cis</i> -9,12,15,18-tetrakosatetraenoik asit
Tetrakosapentaenoik asit	24:5 (n-6)	<i>all-cis</i> -6,9,12,15,18-tetrakosapentaenoik asit

Tablo 5. Omega-9 Yağ Asitleri

Genel Adı	Lipid Adı	Kimyasal Adı
Oleik asit	18:1 (n-9)	<i>cis</i> -9-oktadekaenoik asit
Eikosenoik asit	20:1 (n-9)	<i>cis</i> -11-eikosenoik asit
Mead asit	20:3 (n-9)	<i>all-cis</i> -5,8,11-eikosatrienoik asit
Erusik asit	22:1 (n-9)	<i>cis</i> -13-dokosenoik asit
Nervonik asit	24:1 (n-9)	<i>cis</i> -15-tetrakosenoik asit

LA ve ALA eksikliği sıklıkla lipidlerin diyetle yetersiz alımı veya intestinal malabsorbsiyon sonucu ortaya çıkar. PUFA eksikliği ayrıca LA ve ALA'in sırasıyla AA ve DHA'e uzamasındaki bozukluk sonucu da oluşabilir (53). Plazma LA ve ALA seviyelerinde azalma klinik belirtiler başlamadan önce tespit edilip uygun nütrisyonel takviye ile tedavi edilebilir (54).

Bugüne kadar, EYA metabolizması ile doğrudan ilişkili doğumsal bir bozukluk saptanamamıştır. Ancak, biliyoruz ki DHA oluşumunun son adımı homolog C24 yağ asidinin peroksizomal β -oksidasyonudur (55) (Şekil 8). Sonuç olarak, Zellweger sendromu gibi yaygın peroksizomal fonksiyon defekti olan hastalar DHA içeren EYA'nin eksikliklerini geliştirmeye yatkındırlar (56).

Peroksizomal bozukluklar iki ana gruptan oluşur, organel oluşturulamayan peroksizomal biyogenez bozuklukları ve tek peroksizomal enzim defektleri (57). Tek enzim eksikliklerinde [özellikle X'e bağlı adrenolökodistrofi (X-ALD) (13)], çok uzun zincirli yağ asitlerinin (VLCFA) peroksizomal β -oksidasyonu bozulmaktadır, bu da VLCFA'nin plazmada yüksek konsantrasyonlarda bulunması ile sonuçlanır.

a- Diyetle alınan YA-KVH ilişkisi (58); Diyetteki satüre, monoansatüre veya poliansatüre yağ asidi içeriği LDL-Kol ve HDL-Kol konsantrasyonunu ve dolayısıyla ateroskleroz gelişimini etkilemektedir (5). ω -3 PUFA'nin düzenli tüketimi veya takviyesinin, anti-inflamatuar ve muhtemelen anti-aritmik etkilerinden dolayı, kardiyovasküler prognoz üzerine olumlu etkileri mevcuttur (6). 10 yıl süreyle ileriye dönük olarak 1871 erkek hastanın takip edildiği, Kuopio İskemik Kalp Hastalığı Risk Faktörü Çalışmasına göre, serum DHA ve DPA için üst dilimdekilerde alt dilimdekilere göre akut koroner olay riskinde % 44 azalma tespit edilmiştir.

b- YA-Kanser İlişkisi;Kanser hastalarında kanser olmayanlara kıyasla eritrosit membran SA/OA oranının daha düşük olduğunu gösteren (59, 60) ve SA/OA oranının tümör belirteci olarak kullanılabileceğini (61-63) ifade eden yayınlar mevcuttur. Oranın 1'den düşük olması kanseri düşündürürken 0.72den düşük olması kanser için bir belirteç olabilir denilmektedir. Bu durum hücre kültürü çalışmaları ile de desteklenmiştir (64). Buna neden olan durumlarla ilgili pek çok teori öne sürülmüştür. Bunlardan en geçerli olanı membran akışkanlığının değiştiği (doymuş yağ asidi, stearik-doymamış yağ asidi, oleik) yönünde olmaktadır (65).

c- YA-Hemodiyaliz İlişkisi; HD tedavisi gören SDBY olan hastalarda, hiperlipidemi gibi biyokimyasal anormallikler gözlenmektedir. KBH olanlarda ve HD hastalarında KVH'nin önemli bir ölüm nedeni olması bu hastalıklarla ilgili risk faktörlerini ön plana çıkarmaktadır. Hiperlipidemi HD hastalarında aterosklerotik damar hastalığının risk faktörü olarak kabul edilmektedir (66, 67).

Plazma trigliseridi (kolesterolü değil) ileri böbrek yetmezliği olan hastaların çoğunda artar. Castelli ve ark. yüksek trigliserid konsantrasyonunun bilinen diğer risk faktörlerinden bağımsız olarak koroner kalp hastalığını öngörmeye daha değerli olduğunu öne sürmüştür (68). Ayrıca Hahn ve ark. KVH olan diyaliz hastalarının trigliserit düzeylerinde diğer diyaliz hastalarına kıyasla % 50 artış bulmuştur (69).

d- YA-Psikiyatrik Patolojilerle İlişkisi; Eritrosit membran fosfolipit bileşiminin nöronal membranlarınkine yakın ve benzer olduğunu gösteren yayınlar mevcuttur (70, 71). Şizofreni, depresyon ve PTSS gibi birçok farklı psikiyatrik durum eritrositlerde veya plazmada kolayca ölçülebilen EYA düzeylerindeki değişiklikler ile ilişkili bulunmuştur (7, 8).

2.2.5. Omega Grubu Yağ Asitlerinin Fizyopatolojik Rolü-Klinik Önemi

EYA hücre fonksiyonunun düzenlenmesinde iki önemli rol oynarlar.

1- Membranların yapısında olan fosfolipidler sırasıyla membranın yapısını, hareketliliğini ve zarın iç ve dış tabakasına bağlı çeşitli proteinlerin işlevini etkileyerek onun fiziko-kimyasal özelliklerini düzenlerler (72).

2- ω -6 ve ω -3 yağ asitleri, membran fosfolipid depolarından salındıktan sonra, otakoid, endokrin ve diğer sinyallerin iletiminde ikincil haberciler olarak önemli rol oynayan eikozanoidler haline gelirler (73).

EYA eksikliği koroner damar hastalığının etiyolojisi de dahil olmak üzere pek çok biyokimyasal bozukluk ile sonuçlanır (74). Kronik böbrek hastalığı olan bireyler, EYA eksikliği ile uyumlu plazma yağ asidi paterni gösterirler. Böylece, plazma PUFA azalırken SFA artar. Aynı değişiklikler kırmızı kan hücre zarlarının çift katlı lipid tabakasında da oluşarak akışkanlığı değiştirirler (75).

ω grubu YA vücutta pek çok amaca hizmet ederler (76):

- İnflamasyon ve hücre fonksiyonları etkileyen eikosanoidlerin üretimi,
- İnflamasyonu etkileyen lipoksin ve resolvinlerin üretimi,
- Duygu durumu ve davranışı etkileyen endojen kannabinoidlerin üretimi,
- Hücre sinyalizasyonu,
- Kan basıncı, pıhtılaşma, lipid düzeyleri, immün yanıt ve gen ekspresyonunun düzenlenmesi.

ω -3 PUFA'nin düşük seviyelerde alınması ve ω -3/ ω -6 oranındaki değişiklikler bir çok hastalıkta önemli bir rol oynayabilir. ω -3 PUFA özellikle, miyokard, retina, beyin ve spermatozoada bol miktarda bulunurlar ve bu dokuların gelişmesi, doğru ve tam çalışması ve düzenleyicisi oldukları birçok fizyolojik sürecin işlenmesi için elzemdir. Genel olarak ω -3 YA bu işlevlerine bağlı olarak, inflamatuvar ve otoimmün hastalıklar, kalp ve damar hastalıkları, romatoid artrit, kanser, astım,

alzheimer gibi birçok hastalığın önlenmesi ve tedavisinde; ayrıca bebeklerde retina ve beyin gelişiminde etkin rol oynamaktadırlar (76-79).

ω-3 YA ile önlenebilen, geciktirilebilen veya hafifletilebilen hastalıklar (80)

- | | |
|---|----------------------------------|
| -Koroner kalp hastalıkları ve inme | -Meme, kolon, prostat kanserleri |
| -Yenidoğanlarda EYA yetersizlikleri (retina ve beyin gelişiminde) | -Hipertansiyon |
| -Otoimmün hastalıklar (nefropati, lupus) | -Romatoid artrit |
| -Crohn hastalığı | -Alzheimer |
| | -Astım |

Son yıllarda ω-3 YA'nin ve bunlardan oluşan eikosonoidlerin fizyolojisi, etki biçimi ve anti-inflamatuar potansiyeli giderek daha fazla anlaşılmıştır.

İnflamatuar hastalıklarda doymuş ve trans yağ asitlerinin tüketiminin artması ile hastalık gelişimi arasında pozitif ilişkili bulunmuştur (23,24). Doymuş yağ asitleri, PG'lerin ve proinflamatuar lökotrienlerin (LT) öncüsü olan AA üretimini tetikler (81). Yapılan bir çalışmada trans yağ asitleri ile sistemik inflamasyon belirteçleri arasında pozitif ilişki saptanmıştır (82).

ω-3 ve ω-6 serileri her ne kadar aynı enzimlerle (elongazlar ve desatürazlar) metabolize olsalar da aralarında rekabete dayalı bir etkileşim vardır. ω-3 PUFA serisi ω-6 PUFA serisinin metabolizmasını baskımlarken, ω-6 PUFA serisi de ω-3 PUFA serisinin metabolizmasını baskılar (83,84). İkinci durum daha az baskındır (Şekil 3).

LA, ALA ve bunlardan türeyen uzun zincirli yağ asidi türevleri hayvan ve bitki hücre membranlarının önemli bileşenlerindedir. Son 100-150 yılda artan mısır yağı, ayçiçeği yağı, pamuk yağı, soya yağı gibi bitkisel yağların tüketiminin artması ile ω-6 YA tüketiminde ciddi bir artış olmuştur ve 7/1 olması gereken oran batı tipi diyetlerde 20-30/1 arasında değişmektedir. Bunun nedeni serum kolesterol konsantrasyonlarını düşürmek amacıyla doymuş yağ asitlerinin tüketiminin azaltılması için ω-6 YA'nden zengin bitkisel yağların tüketiminin artmasıdır.

Yüksek ω-6 YA tüketimi kan vizkozitesinde artış, vazokonstriksiyon, vazospazm ile ilişkili protrombotik ve proagregatör etkiye sahiptir. Buna karşın, ω-3 YA, anti-inflamatuar, anti-trombotik, anti-aritmik, hipolipidemik ve vazodilatör etkiye sahiptir (85). Bu yüzden AHA, KVH riski olan yetişkinler için 1 gram/gün ω-3 önermiştir (86).

ω -6 YA'nin ω -3 YA'ne antagonist etkisi olmadığı, fakat ω -3 tüketimi düşük olduğunda ω -6 YA'nin proinflamatuvar sitokin seviyesini arttırabileceği, uygun ω -3/ ω -6 oranı ile proinflamatuvar sürecin yavaşlatılabileceği bildirilmektedir (87).

PG'ler, LT'ler gibi inflamasyon ve immun sistemin düzenlenmesinde önemli rolü olan bileşiklerin öncüsü olan AA yerine EPA'nın alımının diyetle artması hücre membranlarında AA yerine kısmen EPA'nın geçmesini sağlar. Bu da AA kaynaklı mediyatörlerin üretimini azaltır (27) (Şekil 7).

Alınan EPA ve DHA'nın, plateletler, eritrositler, nötrofiller, monositler ve karaciğer hücre membranlarında ω -6 YA'nin özellikle de AA'in yerine geçmesi sonucunda;

1-PGE₂ metabolitlerinin üretiminde azalma,

2-Güçlü bir platelet agregatörü ve vazokonstriktör olan TXA₂ konsantrasyonlarında azalma,

3-İnflamasyon ve güçlü bir lökosit kemotaksisi ve adheransı başlatıcı olan LTB₄ oluşumunda azalma,

4-Zayıf bir platelet agregatörü ve zayıf bir vazokonstriktör olan TXA₃ üretiminde artma,

5-Aktif vazodilatör ve anti-agregan olan toplam prostosiklinlerin artmasını sağlayan prostosiklin PGI₃ konsantrasyonunda artma ve bunu PGI₂ konsantrasyonunu azaltmadan yapma,

6.Zayıf bir inflamasyon tetikleyici ve kemotaksik ajan olan LTB₅ konsantrasyonunda artma sağlanmaktadır.

ω -3'ün yeterli düzeyde yüksek alımı ile inflamatuvar eikozanoidler, proinflamatuvar sitokinler, reaktif oksijen türlerinin üretiminde azalma ve adhezyon moleküllerinde baskılanma gerçekleşir. Uzun zincirli ω -3 YA hem direkt olarak (eikozanoid substratı olarak AA ile yer değiştirerek AA'in metabolizmasını engeller) hem de indirekt olarak (transkripsiyon faktör aktivasyonuna olan etkisi ile inflamatuvar genlerin ekspresyonunu değiştirir) inflamasyonu etkiler (23).

EPA ve DHA, membran yapısının değişmesi ve eikozanoid üretiminde ALA'ya göre çok daha etkindir. İnsanlarda plazma ALA'nın sadece %0.2'si EPA'ya dönüşür. Aynı zamanda LA'in AA'e dönüşüm oranı da çok düşüktür. Fakat LA, ALA'e göre çok daha fazla alındığından, plazma AA konsantrasyonlarını

arttırmaktadır. ω -3 PUFA'nin öncüsü olan ALA'in hem düşük alımı hem de düşük dönüşüm oranından dolayı EPA düzeyine ve bu yüzden inflamasyona etkisi önemli düzeyde değildir (87).

a - Omega Grubu Yağ Asitlerinin İmmünomodülatör Etkileri; Çalışmalar, diyetin balık yağı ile desteklenmesinin inflamasyonu başlatan sitokinlerin üretimini baskılayarak inflamasyon ilintili hastalıkların semptomlarını ve mortalitesini azalttığını belirtmektedir (83). Hayvan çalışmalarında, balık yağının lenfosit fonksiyonlarını değiştirdiği ve makrofajlardan proinflamatuvar sitokinlerin salınımını baskıladığı saptanmıştır. Sağlıklı yetişkinlerin diyetlerinde EPA ve DHA supplementasyonu yapılması sonucu, monosit ve nötrofil uyarımında azalma ve proinflamatuvar sitokinlerin üretiminde azalma saptanmıştır (22,23,88,89). Bu etkilerin 6 hafta boyunca günlük 1-1.2 gram EPA ve DHA sağlayan balık yağı supplementasyonu sonucunda elde edildiğini belirten çalışmalar mevcuttur (87,90).

Furukawa ve ark. (91) özofagus rezeksiyonu yapılmış hastalara; soya yağı ve EPA'nın enteral veya parenteral yolla verilmesinden sonra serum IL-6 düzeyinin düştüğünü, lenfosit proliferasyonu ve doğal öldürücü hücre aktivitesinin iyileştiğini rapor etmişlerdir.

Tashiro ve ark. (92) yanıklı ratlarda ω -3 ve ω -6 YA'nin immün fonksiyonlara etkisine bakmışlardır. ω -3 infüzyonunun serum TNF- α , IL-10 düzeyini düşürdüğünü ve nitrojen tutulumunun arttığını gözlemlemişlerdir. Ayrıca, ω -3 infüzyonu sonucunda deri hipersensitivitesinin de iyileştiğini rapor etmişlerdir.

Morlion ve ark. (93) postoperatif hastalarda 5 gün süreyle verilen parenteral balıkyağının, granüositlerdeki LTB₅/LTB₄ oranının birkaç kat arttığını ve lökositler üzerinde immünomodülatör etki yaptığını belirtmişlerdir. Postoperatif dönemde verilen balıkyağı emülsiyonlarının tromboz riskini azalttığı da rapor edilmiştir. Bunun nedeni artan EPA/AA oranının trombositlerin de eşlik ettiği platelet agregasyonunu azaltması olarak yorumlanmıştır (94).

Yapılan bir başka prospektif randomize araştırmada, ω -3 YA'nin cerrahi hastaların immün sistemi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Balıkyağı ile desteklenen grupta periferik lenfositlerde, lenfosit fonksiyonlarda anlamlı bir artma saptanmıştır. Çalışma grubunda ayrıca postoperatif enfeksiyon insidansında bir azalma ve hastanede kalma süresinde bir kısalma da saptanmıştır (95).

Çeşitli sepsis modellerinde yapılan diğer deneysel hayvan araştırmalarında, balıkyağı uygulamasından sonra yaşam süresi oranında ve nitrojen düzeyinde artış gözlenmiştir. Kronik sepsisi olan sıçanlarda 5 gün süreyle parenteral yolla verilen ω -3 YA'nin uygulanması sonucunda Kuppfer hücrelerinde PGE₂ oluşumunda bir azalma gösterilmiştir; bu da mortalitede azalmayla korelasyon göstermiştir (96).

Gastrointestinal cerrahi geçiren hastalara 5 gün süreyle verilen parenteral balıkyağının, lökositlerdeki yağ asidi kompozisyonunu değiştirdiği, EPA içerisini ise 2.5 kat arttırdığı gözlenmiştir (97). AA ve EPA'dan türeyen eikosanoid profilinin bu değişimde etkili olabileceği beklense de, diğer yandan, birçok çalışmada görülmüştür ki, postoperatif hastalarda balıkyağı infüzyonu, AA'dan türeyen LT'leri ve TX'ları azaltmış, EPA'dan türeyen LT üretimini arttırmıştır (98-101). Ayrıca, 5 gün süresince ω -3 ile zenginleştirilmiş TPN alan cerrahi hastalarda, almayanlara oranla IL-6 ve TNF- α anlamlı olarak düştüğü gösterilmiştir (100). Başka bir çalışmada da, ω -3 alımı ile inflamasyon göstergesi olan plazma çözünür TNF- α reseptör düzeyi arasında ters ilişki saptanmıştır. Fakat bu ilişki sadece EPA ve DHA için geçerlidir, ALA'i kapsamamaktadır (21).

b - Omega Grubu Yağ Asitlerinin Antilipemik Etkileri; ω -3 ve ω -6 YA (LA ve ALA)'nden zengin diyetin hiperlipidemiye tedavi ettiğini gösteren yayınlar olduğu gibi, PUFA'nin periferel dokuda insülin aktivasyonunu arttırdığı ve pankreastan insülin salınımını azalttığını bildiren çalışmalar da mevcuttur (102, 103).

c - Omega Grubu Yağ Asitlerinin Enerji Metabolizması Üzerine Etkileri; Diyetle balık yağı kullanımı, glukoz kullanımı ve endojen glukoz üretiminde herhangi bir değişikliğe neden olmamakla beraber, tüm vücut karbonhidrat oksidasyonunda %35 azalmaya, yağ oksidasyonunda %35 ve glikojen depolanmasında %100 artmaya neden olmaktadır. Diyetle alınan ω -3 PUFA, bazı karaciğer enzimlerinin de yardımıyla lipogenezi engellemektedir (104).

Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada, toplam diyet yağının %6'sının ω -6 ve ω -3 PUFA'den oluşmasının insülin direncini azalttığı, ω -6'dan zengin olan diyetin, ω -3'den zengin olan diyete göre insülin direncini daha fazla arttırdığı belirtilmiştir (105). Ancak yapılan başka bir çalışmada ise, balık tüketiminin, insülin direnci üzerine birçok koruyucu etkisinin olmasına rağmen, ω -3 desteklerinin insülin aktivasyonu üzerine olumlu etkilerinin olmadığı gösterilmiştir (106).

2.2.6. Diyabetik Nefropati ve Hemodiyaliz ile Omega Grubu Yağ Asitleri

2.2.6.1. Diabetes Mellitus ve Son Dönem Böbrek Yetmezliği

Diabetes Mellitus, özellikle son yıllarda dünyada ve ülkemizde sıklığı hızla artan ve ciddi komplikasyonları nedeniyle yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen kronik bir hastalıktır. Diyabetik nefropati ise diyabetin en önemli mikrovasküler komplikasyonlarından biridir ve SDBY'nin en sık nedenidir (107-111).

2.2.6.1.1. Diabetes Mellitus Tanımı, Önemi, Sınıflandırması

Diyabet insülin salınımında, aktivitesinde, veya her ikisinde birden bozulmaya bağlı olarak hiperglisemi gelişmesi ile karakterize edilen metabolik hastalıklara verilen isimdir (108).

Tip I diyabet tam veya tama yakın insülin yetmezliği sunucu gelişirken, tip II diyabet insülin direnci, bozulmuş insülin sekresyonu ve artmış glukoz yapımı sonucu ortaya çıkar.

WHO öngörülerine göre 2000 yılında tüm dünyada 171 milyon olan diyabetli sayısı 2030 yılında 366 milyona ulaşacaktır. Yine WHO'ya göre 2004 yılında hiperglisemiye bağlı gelişen komplikasyonlar sonunu 3.4 milyon kişinin hayatını kaybettiği bilinirken, bu sayı 2030 yılında ikiye katlanacaktır (112).

Amerikan Diyabet Birliği (ADA)'ne göre DM Etiyolojik Sınıflandırması 2007 (112)

- | | |
|------------------------------|---|
| I. Tip I Diabetes Mellitus | IV. Diğer özel tipler |
| A. İmmün aracılı | -Beta hücrelerinin genetik hastalıkları |
| B. İdiyopatik | - İnsülin etkisinin genetik defektleri |
| II. Tip II Diabetes Mellitus | - Pankreas hastalıkları |
| III. Gestasyonel Diabet | - Endokrinopatiler |
| | - İlaçlar ve kimyasal madde etkileri |
| | - Enfeksiyonlar |
| | - İmmün mekanizmalar |
| | - Diğer genetik sendromlar |

DM Tanı Kriterleri (ADA 2011) (113)

1. HbA_{1c} <%6.5

HbA_{1c} testi Ulusal Glikohemoglobin Standardizasyon Programı (National Glycohemoglobin Standardization Program, NGSP) ile sertifikalandırılmış Diyabet Kontrol ve Komplikasyonları Çalışmasına (Diabetes Control and Complications Trial, DCTT) göre standardize edilmiş bir yöntemle çalışılmalıdır.

2. En az 8 saatlik açlıktan sonra venöz plazma glukoz seviyesinin, 126 mg/dl'ye eşit veya yüksek saptanması.

3. WHO'nün belirlediği standartlara göre yapılan 75 gr oral glukoz tolerans testi (OGTT) 2. saat plazma glukoz düzeyinin 200 mg/dl'ye eşit veya yüksek olması.

4. Hiperglisemiye özgü semptomların (poliüri, polidipsi ve açıklanamayan kilo kaybı) varlığına ek olarak, günün herhangi bir zamanında rastgele ölçülen venöz plazma glukoz değerinin 200 mg/dl'ye eşit veya yüksek olması.

Yukarıdaki kriterlerden birinin bulunması durumunda diyabet tanısı konur. İlk 3 kriterden biri ile birlikte belirgin hiperglisemi semptomlarının bulunmaması durumunda bu kriterlerden biri farklı bir günde tekrarlanmalıdır.

Glukoz hemostazı açlık kan sekerine göre üç kategoriye ayrılır;

1. AKŞ'nin 100 mg/dl den düşük olduğu seviyeler "normal"

2. AKŞ'nin 100-125 mg/dl arasında olduğu seviyeler "bozulmuş açlık glukozu"

3. AKŞ'nin 126 mg/dl ve üzerinde olduğu seviyeler "diyabet"

OGTT de 2. saat kan sekeri seviyelerinde ise değerlendirme;

1. 140 mg/dl den düşük olduğu seviyeler "normal"

2. 140-199 mg/dl arasında olduğu "bozulmuş glukoz toleransı"

3. 200 mg/dl ve üzeri olduğu seviyeler "diyabet" şeklinde yapılır.

Tip II DM diyabetin en sık görülen formudur. Bozulmuş insülin sekresyonu, insülin direnci, artmış hepatik glukoz yapımı ve anormal yağ metabolizması ile karakterizedir. Yağ hücrelerindeki insülin direncine ve obeziteye bağlı olarak adipositlerde lipoliz uyarılır, SYA salınır ve hepatositlerde lipid (VLDL, trigliserid) sentezi artar. Dislipidemi gelişir. HDL azalır, VLDL, trigliserid yükselir (12).

DM'un akut ve kronik komplikasyonları;

A) Akut (metabolik) komplikasyonlar:

- Diyabetik ketoasidoz
- Hiperosmolar non-ketotik koma
- Laktik asidoz koması
- Hipoglisemi koması

B) Kronik (dejeneratif) komplikasyonlar:

1) Makrovasküler komplikasyonlar:

- Kardiyovasküler hastalıklar
- Serebrovasküler hastalıklar
- Periferik damar hastalığı

2) Mikrovasküler komplikasyonlar:

- Diyabetik nefropati
- Diyabetik retinopati
- Diyabetik nöropati

2.2.6.1.2. Diyabetik Nefropati

Diyabetik nefropati mikroanjiopati sonucu böbrekte oluşan hasarlanmaya verilen genel isimdir (109) ve diyabete bağlı gelişen morbidite ve mortalitenin başlıca nedenidir (114). Diyabetin artmış sıklığı ve diyabetlilerin KVH kaynaklı ölüm oranının azalmasına (110, 111) bağlı olarak tüm dünyada SDBY'nin en sık sebebi haline gelmiştir. RRT'e ihtiyaç duyan hastaların % 40'ını diyabetliler oluşturur (110, 112-118). Tip II (%90)'nin tip I (%10)'e göre prevalansının yüksek olması sebebiyle diyabetik nefropati hastaların çoğunluğu tip II DM hastasıdır (112).

Diyabetik nefropati gelişimi için risk faktörleri; hiperglisemi, hipertansiyon, dislipidemi, sigara, aile öyküsü, ve renin-anjiyotensin-aldosteron aksını etkileyen gen polimorfizmi gibi genetik faktörlerdir (112). Örneğin diyabet ve hipertansiyonu olan hastalarda SDBY gelişme riski sadece hipertansiyonu olan hastalara göre 5-6 kat daha fazladır (119).

2.2.6.2. Son Dönem Böbrek Yetmezliği ve Tedavisi

NKF/DOQI'e göre Kronik Böbrek Hastalığı (KBH);

a- Glomeruler filtrasyon hızında (GFR) azalma olsun veya olmasın, patolojik anormalliklerin veya kan-idrar kompozisyonundaki anormalliklerin ya da görüntüleme anormalliklerini kapsayan böbrek hasarı belirteçlerinin 3 ay veya daha fazla devam etmesi,

b- Böbrek hasarı olsun veya olmasın 3 ay veya daha uzun süre GFH'nın 60 ml/dak/1.73m²'nin altında olması (120, 121) şeklinde tanımlanmaktadır.

Böbreğin kronik hastalıklarının %90'ından fazlası son dönem böbrek yetmezliği ile sonuçlanır (122).

SDBY ise, böbreklerin vücudun gereksinimlerini yeteri kadar karşılayamadığı ve NKF/DOQI evrelemesine göre GFH'nın 15 ml/dk1.73m² altına indiği duruma denir. SDBY böbrek fonksiyonlarının geriye dönüşsüz kaybı ile karakterize ve hayatı tehdit eden üremiden korunmak için hastaya devamlı olarak diyaliz (HD ya da periton diyalizi) veya transplantasyon gibi RRT uygulandığı klinik bir tablodur.

KBH insidansı ve prevalansı kötü klinik sonuçlarıyla birlikte dünya genelinde ve ülkemizde artmaktadır.USRDS 2009 verilerine göre SDBY'nin prevalansı, ABD'de milyonda 1600 hasta, İngiltere'de 750 hasta ve ülkemizde 650 hasta iken; insidansı ABD'de milyonda 360 hasta, İngiltere'de 130 hasta ve ülkemizde 220 hasta olarak tespit edilmiştir.

SDBY gelişenlerde tüm dünyada en yaygın olarak kullanılan renal replasman tedavi şekli, diyalizdir.USRDS 2000 yılı verilerine göre yaklaşık 400.000, Türkiye'de ise TND Kayıt Sistemi 2004 verilerine göre yaklaşık 35.000 hastaya diyaliz tedavisi uygulanmakta iken (123) TND Kayıt Sistemi 2009 sonu verilerine göre toplam 59443 hastanın RRT aldığı tespit edilmiştir. RRT alan hastaların sayısında artış eğilimi devam etmekte olup en sık uygulanan RRT tipi HD'dir (%78.5). Bunu transplantasyon (%12.4) ve periton diyalizi (%9.1) takip etmektedir. Yine aynı kaynağa göre Türkiye'de toplam HD hasta sayısı 46650 olup yıllık artış trendi devam etmektedir. HD tedavisi gören tüm hastaların %55.4'ü erkek %44.6'sı kadındır. HD hastalarının neredeyse %80'nin orta yaşlı ve yaşlı hastalardan oluştuğu dikkat çekmektedir (%20'si 20-44, %32.4'ü 45-64, 23.8'i 65-74 yaş aralığındadır). HD'e 2009 yılında yeni başlayan toplam hasta sayısı 12907'dir. Yeni hastalarda en önde gelen etyolojik faktör DM'dur (%35), bunu sırasıyla hipertansiyon (%27), glomerülonefrit (%7), polikistik böbrek hastalığı (%3), piyelonefrit (%3), amiloidoz (%2) ve diğer nedenler izlemektedir. Hastaların yaklaşık %40'ı 5 yıldan uzun süredir hemodiyalize girmektedir. 4563 hastanın öldüğü bildirilmiştir. HD hastalarında KVH (%52) önde gelen ölüm nedenidir, bunu serebrovasküler nedenler (%12) ve malignite

(%11) takip etmektedir. Kardiovasküler ölümler kalp yetersizliği (%38), iskemik kalp hastalığı (%36) ve ani ölüm şeklinde (%23) gerçekleşmiştir (124).

2.2.6.3. Hemodiyaliz Tedavisi Alan Son Dönem Böbrek Yetmezliği Hastalarında Plazma Eritrosit Membran Yağ Asidi Düzeylerinin Önemi

RRT almayan ve düzenli HD tedavisi gören KBH olan hastalarda eritrosit ömrü kısalmıştır. Bu hastalarda görülen aneminin sebeplerinde biri de budur. SDBY olan hastaların eritrosit membranlarında kantitatif ve kalitatif fosfolipid değişiklikleri oluşur. Bu değişiklikler eritrositlerin fizyolojik fonksiyonlarını etkileyen membran lipid yapısını değiştirebilir (125,126). Bununla birlikte HD hastalarında hipertrigliseridemi ve düşük HDL-Kol sıklıkla gözlenmektedir (127).

HD hastalarında ω -3'ün özellikle de EPA ve DHA'nın doku ve kandaki durumunun yetersiz olduğundan şüphelenmek için bir dizi neden vardır. Öncelikle HD hastaları tat alma duyusunda üremi ile ilişkili değişiklikler nedeniyle EPA ve DHA'nın en önemli kaynağı olan gıda maddelerini (balık) daha az lezzetli bulabilirler (128). İkinci olarak balık tüketimi mevcut toplumsal beslenme alışkanlıkları ve mali kısıtlılıklar nedeniyle bu popülasyonda düşük olabilir. Üçüncü olarak balık tüketimini teşvik edecek resmi böbrek diyet önerileri yoktur. Dördüncü olarak, HD'in artmış ω -3 peroksidasyonuna yol açabilecek oksidatif mekanizmaları hızlandırdığına inanılmaktadır (129). Peroksidasyon sonuçta yağ açıl yapısının bozulmasına ve biyolojik fonksiyonunun kaybına yol açar. Nihayet, ALA (ω -3) tüketimi böbrek hastalığı ile ilişkili potasyum kısıtlamasının bir sonucu olarak azalabilir. Bununla birlikte HD'in plazma ω -3 PUFA düzeylerini arttırdığını gösteren yayınlar da mevcuttur (130) ancak HD'in plazma ω -3 PUFA düzeylerini hangi mekanizma ile arttırdığı bilinmemektedir. Aslında, HD tedavisinin, lipoprotein lipaz ve fosfolipaz A₂ aktivitesi upregüle ettiği gösterilmiştir (131). ω -3 PUFA daha doymuş YA kıyasla daha fazla serbestlenir. YA akışı bakımından, eritrosit ile karşılaştırıldığında plazmada daha fazla değişiklik gözlenir.

HD hastalarında YA düzeylerini tanımlayan çalışmalar incelendiğinde; 3 çalışma ω -3 ve/veya ω -6 (132,133), AA (132–134) ve EPA (134,135) düzeylerinin

sağlıklı kontrollere kıyasla daha düşük olduğunu göstermiştir. Bir diğer çalışma ise eritrosit membranında EPA düzeylerinin düşük olduğunu göstermiştir (135).

Balık yağı takviyesinin diyaliz hastalarının lipid durumuna etkilerini inceleyen 20'den fazla çalışma yayınlanmış (136–157) olmasına rağmen bunların sadece 4'ü randomize kontrollü çalışmadır.

Donnelly ve ark (154) yaptığı bir çalışmada, 3.6 g/gün balık yağının karma bir diyaliz popülasyonunda plasebo ile karşılaştırıldığında trigliserid düzeylerini düşürdüğünü gösterilmiştir.

Bununla birlikte daha büyük popülasyonda yapılan 3 çalışmada daha düşük doz (1.5-3.2 g/gün) balık yağının plasebo ile karşılaştırıldığında trigliserid düzeylerini düşürmede yeterli olduğu ortaya konmuştur (155-157).

2.2.7. Biyolojik Materyallerde Yağ Asidi Ölçümü

Bir hastanın yağ alımı ya da kan lipid düzeyleri konusunda bir sorun olduğunda klinisyenler tarafından genellikle kolesterol, trigliserid, HDL-Kol ve LDL-Kol testleri bazen de lipoprotein elektroforezi istenir. Ancak bazı merkezlerde çeşitli işlemlerle eritrosit membran YA ölçümü de yapılmaktadır (66). Ancak membran YA tayini, lipid ekstraksiyonu, metilasyonu, ayırma basamakları ve sonunda GC ile ölçüm basamaklarından oluşan karmaşık ve zor bir süreçtir.

YA çeşitli kan fraksiyonlarında ve dokularda (plazma veya serum, eritrositler ve adipoz doku) ölçülebilmektedir (158-161). Bununla birlikte plazma ve eritrosit membran YA düzeylerini karşılaştıran yayınlar da mevcuttur (161). Adipoz dokuda LA'in yarı-ömürünün 680 gün olduğu düşünülmektedir, ki bu da bu dokudaki YA'nin uzun süreli yağ alımını değerlendirmede kullanılabileceğini göstermiştir (162). Ancak, yağ dokusunun epidemiyolojik çalışmalarda kullanımını sınırlıdır. Bunun yerine, kan örnekleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Yakın zamanda diyetinde balık yağı takviyesi alanlarda, serum ω -3 YA konsantrasyonlarının eritrosit ω -3 YA konsantrasyonlarına göre daha hızlı yanıt verdiği gösterilmiştir (163). Eritrosit membran ve plazma YA düzeylerini ayrı ayrı ve birlikte ölçen pek çok çalışma yapılmış olmakla birlikte (164-167) eritrosit membran YA dokulardaki uzun vadeli YA dengesini ortaya koyup son dönem diyetle alınan yağ düzeylerinden etkilenmediğinden tercih edilmektedir (66).

Biyolojik Materyallerde Yağ Asidi Ölçüm Metodları (168):

1- Kimyasal titrasyon yöntemi:

Titrimetri klasik olarak bitkisel yağların asit değerini (SYA) belirlemek için kullanılır. Bu asit değeri, 1 g yağ içinde bulunan yağ asidini nötralize etmek için gerekli KOH mg sayısı olarak tanımlanır.

2- Termometrik titrasyon yöntemi:

Bu yöntem benzersiz bir kesinlik ve doğruluk ile yağların serbest yağ asidi içeriğini doğru, hızlı, otomatik olarak analiz etmeye olanak tanır. Katalizli Endpoint Termometrik Titrimetri (CETT-Catalyzed Endpoint Thermometric Titrimetry) yöntemi kullanılır.

3- Metal-yağ asidi komplekslerinin ölçümü:

Bazı metaller (Cu, Co) ile kompleksler oluşturma yeteneğine ve bu kompleksin spektrofotometri ile tespit edilebilir olmasına dayanır. Bu yöntem uzun analiz süresi gerektirip sensitivitesi düşüktür.

4- Enzimatik yöntemler:

Biyolojik sıvılarda yağ asitlerinin miktarını belirlemek için açıl-CoA sentetaz girişi ile üç enzimatik reaksiyonun gerçekleşmesi ve aktive yağ asitlerinin oluşmasının dolaylı yoldan NADH tüketiminin fluorimetrik algılanması üzerine kuruludur. Bu yöntem, çok basit ve ucuz ve de otomasyon için uygundur. Örnek tüpünde 10 nmol ve üzeri yağ asidi varlığında ölçüm yapılabilir.

5- Yağ asidi bağlayıcı protein kullanılarak:

Bu yöntem, biyolojik sıvılar içerisindeki serbest yağ asitlerin çok düşük konsantrasyonda olması halinde yararlıdır.

6- Spektroskopik yöntemler:

İnsan mukozasında doymuş ve doymamış yağ asidi kompozisyonlarının non-invaziv ölçümü için Fourier dönüşüm infrared spektroskopisi tekniği geliştirilmiştir.

7-HPLC (Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi)

8- GC (Gaz kromatografisi)

9- GC-MS (Gaz kromatografisi-Kütle spektrometresi)

Yağ asidi analizi genellikle GC ile gerçekleştirilir, HPLC ise kısa zincirli yağ asitlerinin değerlendirilmesinde daha faydalıdır.

2.3. GAZ KROMATOĞRAFİSİ

2.3.1. Kromatografi-Genel Bilgiler

Kromatografi genel anlamda bir karışımı oluşturan bileşiklerin veya maddelerin iki ayrı faz arasında ve bu fazlardaki hareket hızlarının farklılıklarına dayanarak hem nitelik hem de nicelik olarak ayrıştırılması işlemidir. Yöntem karışımın gözenekli bir ortamda, hareketli bir çözücü etkisiyle, karışım bileşenlerinin farklı hareketleri sonucu birbirinden ayrılması olgusuna dayanır (169, 170).

Kromatografi'nin Sınıflandırılması

1) Ayrılma Mekanizmalarına Göre

- ❖ Adsorpsiyon kromatografisi
- ❖ Partisyon kromatografisi
- ❖ İyon değistirme kromatografisi
- ❖ Jel filtrasyon (Moleküler eleme) kromatografisi
- ❖ İyon çifti kromatografisi
- ❖ Afinite kromatografisi

2) Uygulama Biçimine Göre

- Düzlemsel kromatografi*
- ❖ Kağıt kromatografisi
- ❖ İnce tabaka kromatografisi (TLC)
- Kolon kromatografisi*
- ❖ GC
- ❖ HPLC

3) Faz Tiplerine Göre

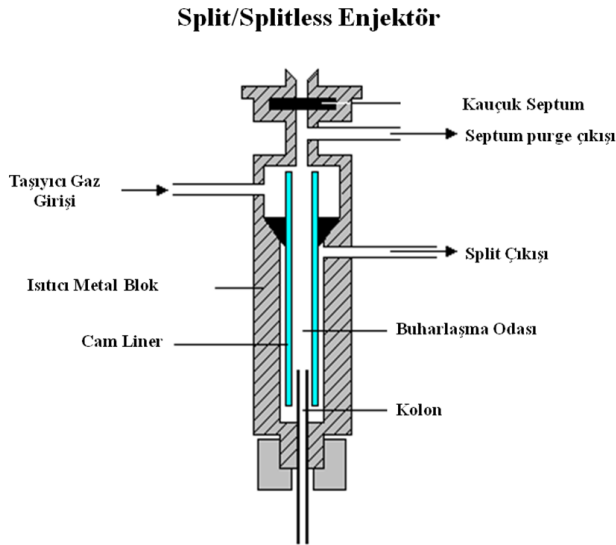
- Sıvı kromatografisi*
- ❖ Sıvı-Katı kromatografisi
- ❖ Sıvı-Sıvı kromatografisi
- Gaz kromatografisi*
- ❖ Gaz-Katı kromatografisi
- ❖ Gaz-Sıvı kromatografisi

Kromatografide karışımın ayrıştırılmasında iki farklı faz kullanılır, bunlar sabit faz ve hareketli fazlardır. Sabit faz sıvı da olabilir katı faz da olabilir. Hareketli veya taşıyıcı denilen faz ise hem sıvı hem de gaz fazında olabilir. Hareketli fazın gaz olması durumunda sistem GC diye tanımlanmaktadır. Sıvı olması durumunda ise sıvı kromatografisi (LC) olarak adlandırılır.

2) *Çapları 1-8 mm iç çapına sahip olan kolonlar:* Çoğunlukla camdan yapılmıştır. Uzunlukları 2 - 20 m arasındadır.

Kolon boyunun uzun olması özellikle fiziksel karakteristikleri birbirine benzeyen parametrelerin birbirinden ayrıştırılmasında daha iyi sonuç vermektedir.

Kromatografide iki önemli özellik vardır bunlardan birisi maddenin tespiti ve diğeri ise karışımda ne kadar olduğudur. Bu amaçla her bir kirletici için farklı hassasiyetlerde ölçüm yapan çok sayıda *detektör* algılayıcısı bu cihazlarda kullanılmaktadır. Örneğin; anaerobik gazların analizinde *Termal İletkenlik Detektörleri (TCD)*, yüksek hassasiyetteki inorganik ve organik bileşiklerin tespitinde *Alev İyonizasyon Detektörleri (FID)*, çift bağlı küçük organik moleküllerin tespitinde *Foto İyonizasyon Detektörleri (PID)*, pestisit, trihalometan ve μg mertebesinde bulunan klorlü solventlerin tespitinde *Elektron Yakalama Detektörleri (ECD)* veya *Elektrik İletkenlik Detektörleri (ECD)* gibi detektörler kullanılmaktadır. Detektörler, üzerine gelen pikleri 1 sn ve daha kısa sürede yakalayabilmesi için kararlı, doğrusal ve üniform tepki vermelidir (173) (Şekil 13).



Şekil 13. FID Dedektör

Numuneler genelde kolona bozunmaya neden olmayacak kadar kısa sürede ve küçük hacimlerde (μL) enjekte edilirler. Ve aniden numune buharlaştırılarak gaz fazına dönüştürülür. Taşıyıcı gaz ile birlikte kolon içinde sürüklenir. Sıvı fazda püskürtülen karışımın uygun sıcaklıktaki hücre içerisinde tamamen gaz fazına

geçmesi gerekmektedir. Bu amaçla hücredeki sıcaklığın, bileşiğin içinde bulunan bütün organik maddelerin buharlaşma derecesinden daha yüksek ısıda bir sıcaklığa sahip olması gerekmektedir. Kolon boyunca kolon içinde ilk olarak adsorbe edilen madde sonradan gelen gaz ile tekrar desorbe edilir ve böylece kolonun değişik noktalarında ve değişik zamanlarda kolon içinde ortaya çıkan gazdaki kirletici parametresi bir detektör yardımı ile kaydedilir. Ve çıkışlar kaydedicide pik şeklinde grafiğe dökülür. Her bir pik bir analiti ifade etmektedir. Her bir pikin alanı analit konsantrasyonu değerini ifade etmektedir.

2.3.3. Gaz Kromatografisi-Kullanım Alanları

Kromatografi; laboratuvarlarda pek çok organik ve anorganik maddenin tayininde (karbonhidrat, lipid, YA, aminoasitler, proteinler ve türevleri, vitaminler) doping kontrollerinde, kanda, alkol ve zehirli gazların tespitinde, sentezlenen veya ayrıştırılan maddelerin saflıklarının kontrolünde başarıyla kullanılan bir metottur.

Özellikle çevre mühendisliği alanında kromatografi teknolojisi oldukça yaygın bir şekilde kirletici parametrelerin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Gelişen endüstrileşme ile birlikte meydana gelen kirletici tür ve miktarlarını kromatografi yöntemleri ile kompleks bileşiklerde ppb veya µg/L mertebesinde belirlemek mümkündür.

GC biyolojik uygulamaları çoğunlukla anestezipler ve adli toksikoloji ile ilgilidir. Barbitüratların, dekonjestanların, benzodiazepinlerin, kan alkol düzeyinin (174, 175) analizinde önemli rol oynar.

Tıbbi biyokimya alanında GC kullanımı ile gerçekleştirilen spesifik ayrımlar ve ölçümler; düşük konsantrasyonda doymuş ve doymamış YA'nin analizi, doymamış yağ asitlerinin pozisyonel ve konfigürasyonel izomerlerinin belirlenmesi, düz zincirli ve dallı zincirli YA'nin, sterol ve steroidlerin, alkaloidlerin, amino asitlerin, idrardaki aromatik asitlerin, safra asitlerinin, vitaminlerin, kan gazlarının tayini ile hava, su ve yiyeceklerdeki toksik iz bileşenlerin tespitidir (176).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

- ❖ Supelco™ 37 Component FAME Mix, (Katalog No.47885-U)
- ❖ C 17 (Heptadekanoik asit %98) (C₁₇H₃₄O₂) (Sigma-Aldrich)
- ❖ C22 (Dokozanoik asit %99) (Dr Ehrenstorfer GmbH)
- ❖ C24 (Tetrakozanoik asit %99) (Dr Ehrenstorfer GmbH)
- ❖ Drooc Omega 3 Norway Fish Oil (EPA: 190125mg/ml, DHA:125mg/ml)
- ❖ Kloroform HPLC grade (CHCl₃) (Sigma-Aldrich)
- ❖ Hekzan HPLC grade (C₆H₁₄) (Sigma-Aldrich)
- ❖ Etanol HPLC grade (C₂H₆O) (Sigma-Aldrich)
- ❖ Metanol HPLC grade (CH₃OH) (Sigma-Aldrich)
- ❖ Asetik asit %100 (C₂H₄O₂) (Sigma-Aldrich)
- ❖ 2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol (Fluka)
- ❖ HCl %37 (Merck)
- ❖ Helyum, Kuru Hava, Hidrojen gazları, Azot (HABAŞ)
- ❖ Serum fizyolojik

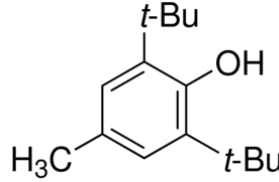
3.2. KULLANILAN ALET VE CİHAZLAR

- ❖ Otomatik-cam pipetler, cam tüpler, eppendorf tüpleri vb.
- ❖ 10 µl Şırınga (Thermo Scientific)
- ❖ Etüv (Heraeus)
- ❖ Hassas terazi (OHAUS-Adventurer Pro-USA)
- ❖ pH metre (METTLER TOLEDO-MP220)
- ❖ Vorteks (Thermolyne)
- ❖ Santrifüj(Eppendorf-Centrifuge 5403)
- ❖ Buzdolapları (Arçelik), Derin dondurucu (Sanyo)
- ❖ Çeker ocak (Şimşek Labor teknik)
- ❖ Otoanalizör (Olympus AU2700- Beckman Coulter-USA)
- ❖ Gaz Kromatografisi (Thermo-Finnigan TraceGC ultra)
- ❖ Otosampler (Thermo Autoinjector-AI3000)
- ❖ Tam Otomatik Kan Sayım Cihazı (HORIBA Medical's ABX Pentra XL 80)

- ❖ Distile Su Cihazı (Millipore)
- ❖ SPTM-2560 Kapiller Kolon, 100m X 0.25mm X 0.2 µm, (Kat No.23362-U)

3.3. TEST İÇİN GEREKLİ KİMYASAL VE REAKTİFLERİN HAZIRLANMASI

- ❖ *3M Metanolik HCl*: 9ml Metanol'e 3 ml HCl çeker ocak altında damla damla eklenerek hazırlanmıştır.
- ❖ *BHT Çözeltisi*: 1 gr BHT 100 ml etanol'de çözülmüş, +4°C'de karanlıkta saklanmıştır.



Şekil 14. 2,6-Di-*tert*-butyl-4-methylphenol

- ❖ *BHT İçeren Eppendorf Tüplerinin Hazırlanması*: 100 µl BHT çözeltisi Eppendorf tüpüne konarak 40°C'de nitrojen altında kurutulmuştur. Elde edilen plazma ve serum fizyolojik ile yıkanan eritrosit örnekleri bu BHT ile muamele edilmiş tüplerde -80°C'de analizin yapılacağı tarihe kadar saklanmıştır.
- ❖ *Internal Standart Stok Çözeltisinin Hazırlanması*: Literatürlerde IS olarak C:19 (nonadekanoik asit) ve C:17 (heptadekanoik asit) kullanımı önerilmektedir. Çalışmamızda C 17 (heptadekanoik asit) kullanılmıştır (16). Bu amaçla heptadekanoik asit (%98)'den 300 mg hassas terazide tartılarak 10ml kloroform'da çözülmüştür (~3000 mg/dl, +4°C'de saklandı). Sonrasında hazırlanan bu stok çözeltiden 300, 200, 100, 50 mg/dl konsantrasyonda çalışma çözeltiler hazırlanarak denenmiş, en uygun pik 50 g/dl (500 µg/ml) konsantrasyonda elde edilmiştir.
- ❖ *SupelcoTM 37Component FAME Mix*: Diklorometan'da çözülmüş değişik yüzdelerdeki 37 yağ asidi metil esterinden oluşan "SupelcoTM 37 Component

FAME Mix" kullanılmıştır. Her ampul 10mg/ml hacminde olup değişik konsantrasyonda (200-600 µg/ml arasında) 37 FAME içermektedir.

3.4. ÇALIşMA GRUPLARININ SEÇİMİ

GATA Nefroloji Kliniği Hemodiyaliz Ünitesinde tedavi gören 38 HD hastası (18 tanesinde beraberinde tip II DM de mevcut) ve 28 kontrol hastası (14'ü tip II DM, 14'ü kronik hastalık sahibi değil) çalışmaya dahil edilmiştir.

3.5.ÇALIşMA ÖRNEKLERİNİN HAZIRLAMASI

3.5.1. Çalışma Örneklerinin Alınması ve Saklanması

Hastaların herbirinden K₂-EDTA içeren tüplere 4 ml venöz kan örnekleri alınmıştır. Alınan bu örneklerde ABX Pentra XL 80 (Horibo Medical-ABD) tam kan sayım cihazı ile eritrosit sayıları ve hematokrit düzeyleri belirlenmiştir. Aynı tam kan örneklerinde HbA1c ölçümü ise Prominence HPLC (Shimadzu Scientific Instruments-Japonya) ile gerçekteştirilmiştir.

Sonrasında tam kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek plazmaları ayrılmıştır. Ayrılan plazmadan 1ml kadar örnek alınarak daha önce hazırlanmış BHT ile muamele edilmiş Eppendorf viallerde -80°C'de analizin yapılacağı tarihe kadar saklanmıştır. Plazmanın ayrılmasıyla tüpte kalan pelletin üzerine ayrılan plazma ile eşit miktarda serum fizyolojik eklenmiş 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek eritrositler yıkanmış ve bu işlem iki kez tekrarlanmıştır. Sonrasında pellet hematokrit % 45 olacak şekilde saline ile resuspense edilerek daha önce hazırlanmış BHT ile muamele edilmiş Eppendorf viallerde -80°C'de analizin yapılacağı tarihe kadar saklanmıştır (16).

Ayrıca düz tüpe alınan kan örneklerinden elde edilen serumda glukoz (Heksokinaz metodu ile), total kolesterol, HDL-Kol, VLDL-Kol, LDL-Kol (Hesaplanan-Fridewald formülü), LDL-Kol (Direkt ölçüm), BUN, kreatinin, total protein ve albumin düzeylerinin ölçümü AU 2700 (Beckman Coulter-USA) otoanalizör cihazında Olympus orijinal kitleri kullanılarak yapılmıştır.

L. Di Marino ve ark (177), K₃-EDTA ve sitrat içeren tüplere alınan venöz kanlardan elde ettikleri RBC'ler üzerinde yaptıkları membran YA analizinde, 0. zamandaki analiz düzeyleri ile antioksidan (BHT) içeren koşullarda -80°C'de 1 ve 2

yıl saklandıktan sonra yapılan analiz düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmazken, antioksidan içermeyen koşullarda K₃-EDTA içeren tüpe alınan venöz kanın -20°C'de 6 ay süre ile saklanması müteakip yapılan analiz sonuçlarında C20:4ω6, C22:4ω6, C22:5ω3, C22:6ω3 düzeyleri anlamlı derecede düşüş (p<0.001) ve C:16 ile C18:1ω9 düzeylerinde anlamlı derecede yükselme bulmuşlardır (p<0.001). Bununla birlikte sitrat içeren tüpe alınan venöz kanların antioksidan içermeyen koşullarda -20°C'de 6 ay süre ile saklanması müteakip yapılan analiz sonuçlarında C20:4ω6, C22:5ω3, C22:6ω3 düzeyleri anlamlı derecede düşerken (p<0.001), C18:1ω9 düzeylerinin anlamlı derecede arttığı bulunmuştur (p<0.001). Buna göre K₃-EDTA ve sitrat içeren venöz kandan elde edilen eritrosit membran örnekleri antioksidan içeren koşullarda-80°C'de 2 yıl süre ile saklanabilir.

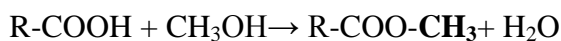
3.5.2 Eritrosit Membran ve Plazma Lipidlerinin Ekstraksiyonu

Test Prensipleri: Yağ asitleri gliserol esterleri ve plazmalojenler metanolik HCl ilave edilerek ve 90°C'de 4 saat ısıtılarak transmetile edilirler. Örnek soğutulduktan sonra yağ asidi metil esterleri hekzan ile ekstrakte edilirler.

Örneklerin Hazırlanması (16): 50 µl internal standart çalışma solüsyonu 4ml hacimli cam tüpe konur. Üzerine, tercih edilen örnek tipine göre, 50 µl plazma veya eritrosit süspansiyonu eklenir. Sonrasında 1ml 3N methanolik HCl eklenir ve etüvde 90°C'de 4 saat transmetilasyona bırakılır. 4 saatin sonunda vialler etüvden çıkarılır ve oda ısısına soğuması beklenir. Oda ısısına soğuyan viallere 2 ml hekzan eklenir ve 10 sn vortekslenir. Üstteki (hekzan) tabaka yeni bir cam tüpe aktarılır ve oda ısısında çeker ocakta nitrojen altında uçurulur. Sonuçta cam tüpün çeperinde beyaz-gri bir tabaka oluşur. Bu tabaka üzerine plazma için 100 µl, eritrosit için 80 µl hekzan eklenerek çözülür. Elde edilen son hacim GC-FID cihazında analiz edilmek üzere viallere aktarılır.

3.5.3 Metilasyon Reaksiyonu (178)

Esterifikasyon reaksiyonu:



Esterifikasyon reaksiyonu bir asidin karboksil grubu ile bir alkolün hidroksil grubunun yoğuşmasını içermektedir. Esterleşme en iyi bir katalizör varlığında

gerçekleştirilir (örneğin boron triklorür). Katalizör, karboksil grubunun bir oksijen atomunu protonlar ve asidi daha reaktif hale getirir. Sonrasında bir alkol bir ester elde etmek için (su çıkışı ile) protonlanmış asit ile birleşir. Katalizör su ile ortamdan uzaklaşır. Alkol ise sonuçta elde edilen esterlerin alkil zinciri uzunluğunu belirlemek için kullanılır (metanol kullanılması metil esterlerinin oluşumu, etanol kullanılması ise etil esterlerinin oluşumu ile sonlanır).

Numuneler saf olarak veya çözücüde çözüldükten sonra türevlendirilebilir. Eğer uygunsa, numune polar olmayan çözücü içinde çözülür (örneğin; heksan, heptan, veya toluen gibi). Numunenin sulu bir çözücü içinde olması halinde, önce kuruyana kadar buharlaştırılır sonra saf olarak veya organik, polar olmayan çözücü içinde çözüldükten sonra kullanılır (Suyu uzaklaştırmak için genellikle 2,2-Dimetoksiopropan % 98 kullanılır).

-Yağ asitlerini yağ asidi metil esterleri olarak analiz etmenin ana nedenleri:

1) Yağ asitlerini serbest, türevlendirilmemiş formunda analiz etmek zordur çünkü bu oldukça polar bileşikler adsorpsiyon sorunlarına neden olan hidrojen bağları oluşturma eğilimindedirler. Polaritelerinin azaltılması analiz için onları daha uygun hale getirebilir.

2) USFA tarafından sergilenen çok küçük farklılıkları ayırt etmek için, öncelikle polar karboksil fonksiyonel gruplar nötralize edilmelidir. Böylece kolon, kaynama noktası elüsyonu ile doymamışlığın derecesini, doymamış bağın konumu ve hatta doymamış formun cis veya trans konfigürasyonda olduğunu ayırt edebilir.

Yağ asitlerinin yağ asidi metil esterlerine esterifiye edilmesi bir alkilasyon türevlendirme reaktifi kullanılarak yapılır. Metil esterleri mükemmel stabilite ve GC analizi için hızlı ve kantitatif örnekler sunar.

Piyasadan Temin Edilebilecek Hazır Türevlendirme Reaktifleri

-BCl ₃ -Metanol, % 12 w/w	-Metanolik Baz, 0.5 N
-BF ₃ -Metanol, % 10 w/w	-Metanolik HCl, 0.5 N
-BF ₃ -Butanol, % 10 w/w	-Metanolik HCl, 3 N
-BF ₃ -Butanol, % 10 w/w	-Metanolik H ₂ SO ₄ , % 10 v/v

3.6. KOLONUN ŞARTLANMASI (179)

Analiz için SPTM-2560 Kapiller Kolon (100m X 0.25mm X 0.2 µm) temin edilmiştir. Kapiler kolonun cihaza bağlanmasını müteakip kolon şartlama işlemi gerçekleştirilmiştir (18cm/sn akış ile 30 dk süre ile oda ısısında Helyum akışı verilmiş, sonrasında fırın 15°C/dk hızda 220°C'ye ısıtılmış ve baseline stabil hale gelene kadar bu ısıda tutulmuştur (~30 dk)).

4. BULGULAR

4.1. YAĞ ASİDİ ANALİZİNDE KULLANILAN METODLARIN KARŞILAŞTIRILMASI VE UYGUN METODUN SEÇİLMESİ

Çalışma süresince iki farklı örnek hazırlama yöntemi ile Tablo 6'da belirtilen değişik parametreler içeren metodlar denenmiş ve karşılaştırılmıştır.

Öncelikle analiz için hazırlanan FAME Mix standardı kullanılarak ve Tablo 6'da tanımlanan metodlar sırasıyla uygulanarak en uygun metod seçilmiş ve standardın içerisinde yer alan 37 yağ asidine ait pikler tanımlanmıştır.

Test Parametrelerinin Seçimi;

Metod 1; İlk olarak kolon ile birlikte önerilen ve kolon kataloğunda (179) yer alan bu metod denenmiştir. Fırın parametresi olarak izotermal 175°C önerilmiş ve test süresi olarak 70 dk öngörülmüştür. Bu parametreler doğrultusunda çoklu standart çalışması sonucu elde edilen kromatogram şekil 15'de gösterilmiştir. Buna göre ilk yağ asidi yaklaşık 11.dk'da elde edilmiştir. 24 adet pik gözlenmiştir. Yağ asitlerinin ayrımı düzgün gibi gözükmeyle birlikte analiz süresinin uzunluğu ve pik yüksekliği ile alanlarının gittikçe azalarak ilerlediği gözlenmiş bu sebepten bu metod uygun bulunmamıştır.

Benzer durum *Metod 4* için de geçerlidir. Bu metodun Metod 1'den farkı analiz süresinin 52 dk olması ve split oranının 100:1 olarak belirlenmesidir. Farklı olarak bu çalışmada 21 yağ asidine ait pik elde edilmiş (kısa analiz süresi) split oranına bağlı olarak piklerin yükseklik ve alanları daha düşük bulunmuştur.

Metod 2; Bu metod Supelco™ 37Component FAME Mix ile birlikte önerilen katalog metodudur. Bu metod kullanılarak elde edilen kromatogramlar Şekil 3'de gösterilmiştir. Metodda sabit akım hızı olarak 20cm/sn (240°C'de ~1 ml/dk) önerilmiştir. Ancak cihazımızın bazı kısıtlılıklarından dolayı en fazla 250 kPa basınca çıkabilmektedir. Bu da 240°C'de ~0.7 ml/dk'ya tekabül etmektedir. İstenen akım hızına ulaşamadığımız için metodun akım hızını bir de sabit 250 kPa olarak

programlayarak kromatogramı elde etmeye çalıştık (Şekil 16). Şekide de görüldüğü üzere her iki kromatogram arasında belirgin bir fark gözlemlenmemiştir. Yaklaşık 34 YA ait piklerin olduğu bir kromatogram elde edilmiştir. YA ayrımı kötü durmasa da 40. dk'dan sonra baseline'ın bozulmaya başladığı gözlenmiştir. Ayrıca metotta toplam test süresi 60 dk olarak öngörülmekle birlikte 48-50 dk'nın yeterli olduğu düşünülmektedir.

Metod 3; Bu metod sık kullanılan hazır ticari kite (180) ait bir metod olup, elimizdeki hazır çoklu standart ve tercih ettiğimiz örnek hazırlama metodu ile hazırladığımız membran ve plazma örnekleri denenmiştir. Metodun parametreleri modifiye edilmeden kullanıldığında ilk pikin yaklaşık 12.dk'da geldiği gözlenmiştir (Şekil 17). Ancak örnek hacminin 2 µl olarak önerilmesi gerek standart gerek örnekler için uygun olmayan kromatogram görüntüleri vermiştir. Bunun üzerine split modu 10:1 ayarlanarak ve örnek hacmi 0.5 µl olarak ayrı ayrı denenmiş ancak yine de uygun bir kromatogram görüntüsü elde edilememiştir. Ayrıca analizin toplam süresinin 17 dk olması da yetersiz bulunmuştur. 25 dk denenmiş 20 pik gözlenmiş ancak baseline stabilitesi uygun bulunmamıştır.

Metod 5 (181); aynı kolon ile daha önce uygulanmış bir metod olup enjeksiyon miktarı ve inlet parametresi modifiye edilmiştir. Tablo 6'da belirtilen parametreler uygulandığında FAME Mix içerisindeki yağ asidi konsantrasyonlarına ait piklerin düzensiz ayrıldığı gözlenmiş enjeksiyon hacmi 0.5 µl'ye indirilmiş ve 50:1 split oranı uygulanmıştır. Elde edilen kromatogram şekil 18'de gösterilmiştir. Buna göre pikler düzgün ayrılmakla birlikte (yaklaşık 34-36 adet) baseline'da 50.dk'dan sonra düzensizlik olduğu gözlenmiştir.

Metod 6 (182); yaklaşık 30 yağ asidinin ayrımının salandığı bu metotta metod 5'dekine benzer ancak 60.dk'dan sonra gözlenen baseline düzensizliği saptanmıştır(Şekil 19).

Diğer yandan metod 5 ve 6'nın elenmesinde öne çıkan faktörlerden biri de uzun test süresidir. Bu metodlarda önerilen 70-75 dk'lık analiz süreleri ve sonrasında aynı sürede boş hekzan çalışılması (carry over etkisinin önüne geçmek amacıyla) her

örnek için sadece analiz süresini iki buçuk saate çıkarmakta bu çalışmanın zaman açısından çok ideal olmadığını düşündürmektedir.

Metod 7 (16); Kaynakta tablo 6'da belirtildiği gibi FID ve giriş parametreleri belirtilmemiştir. Yine metoda sadık kalarak dedektör ve inlet için 240 °C ve 260 °C ısılar denenmiş, elde edilen pikler arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Metoda 240 °C ile devam edilmiştir. Ancak örnek hacmi 1 µl ve giriş parametresi splitless olarak uygulandığında özellikle plazma konsantrasyonları yüksek olan C 16, C18:2ω6 (LA) ve C18:1ω9 yağ asitlerine ait pikler düzensizlik göstermiştir. Bunun üzerine sırasıyla 1 µl örnek hacminde 50:1 ve 100:1 split ile 0.5 µl örnek hacminde 50:1 ve 100:1 split oranları denenmiştir. Nihayetinde en uygun ayırımın 1 µl örnek hacminde 50:1 split oranı ile sağlandığı gözlenmiştir. Analiz süresi tepe ısısında 10 dk daha uzatılarak 55 dk'ya çıkarılmış ancak ilave pikler tespit edilemediğinden 45 dk test süresi olarak seçilmiştir. Metod bu şekliyle kullanılmıştır (Şekil 20).

Ayrıca örnekler arası örnekle aynı hacimde ve aynı metod parametreleri ile hexan enjeksiyonu yapılarak kolonda olabilecek önceki çalışmadan kaynaklanan kirliliklerin (carry over etkisinin önüne geçmek ve bazı örneklerde görülebilen geç gelen piklerin sonraki çalışmayı interfere etmesini önlemek amacıyla) önüne geçilmiştir.

Çalışma Örneklerinin Hazırlanması;

Metod 7 (16)'de önerilen örnek hazırlama prosedürü incelendiğinde inkübasyon periyodunun 90°C'de 4 saat olduğu görülmüş ve öncelikle daha önce GC-MS ile kullanımında başarı sağlanan 2 ml asetonitril-HCl karışımı (95 ml Asetonitril+5 ml HCl) ile 100°C'de 1 saat inkübasyonun önerildiği metod denenmiştir. Ancak örneklerdeki yağ asitlerinin türevlendirilmesinin tam sağlanamadığı gözlenmiş süre uzatılmıştır (sırasıyla 2sa, 3 sa, 4 sa). Buna rağmen her 4 saatte de istenen ayırım sağlanamamış kullanımından vaz geçilmiştir.

Bunu üzerine tekrar Metod 7'ye ait örnek hazırlama prosedürüne dönülmüş (1ml 3 N metanolik HCl eklenmesi ile 90°C'de 4 saat), inkübasyon süresini azaltmak

amacıyla sırasıyla 1sa, 2sa, 3 sa, 4 sa inkübasyonlar denenmiştir. En uygun ayırımın 4 saatlik inkübasyon sonunda elde edildiği bulunmuştur.

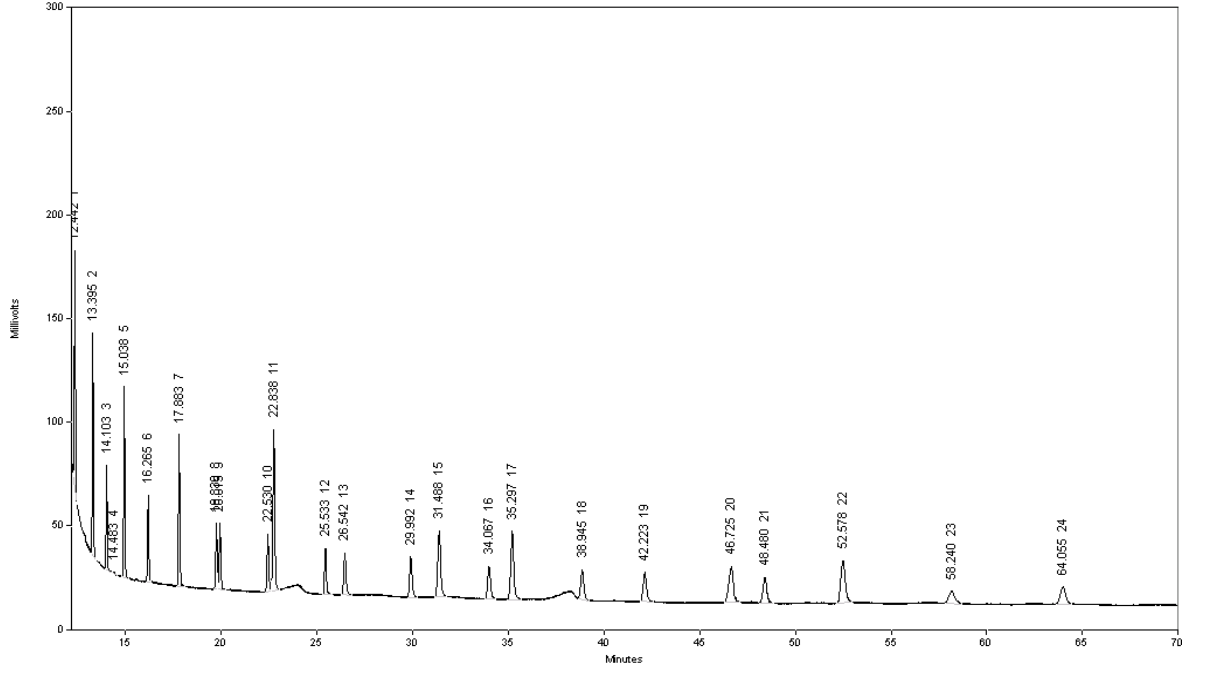
Ayrıca metotta her bir örneğin hazırlanmasında örnek hacmi olarak 50 µl ve internal standart olarak 100 µl kullanılması önerilmiş olup plazma konsantrasyonları yüksek olan C 16, C18:2ω6 (LA) ve C18:1ω9 yağ asitlerine ait pikler ile internal standart piki arasında uyumsuzluk gözlenmiş, örnek hacmi olarak 50 µl ve internal standart hacmi olarak da yine 50 µl kullanılması ile daha başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Örnekler bu şekilde hazırlanmıştır.

Sonuç olarak referans olarak aldığımız metodu kendi cihazımızın teknik kapasitesi ve çeşitli demeler sonucunda modifiye ederek optimize ettik (Tablo 7) Buna göre plazma ve hazırlanan eritrosit süspansiyonlarından alınan 50 µl'ye ilave olarak 50 µl de IS (heptadekanoik asit) alınmış ve buna 3N metanolik HCl ilave edilerek 90°C'de 4 saat transmetilasyona bırakılmışlardır. 4 sa sonunda etüvden çıkarılan örneklerin oda ısısına soğuması beklenmiş ve üzerlerine 2 ml hekzan (polar olmayan çözücü) ilave edilerek 10 sn vortekslenmiştir. Sonra ilave edilen üstteki (hekzan) tabaka yeni bir cam tüpe aktarılarak ve oda ısısında çeker ocakta nitrojen altında uçurulmuştur. Sonuçta cam tüpün çeperinde beyaz-gri bir tabaka oluşur. Bu tabaka üzerine plazma için 100 µl, eritrosit için 80 µl hekzan eklenerek çözülmüştür. Elde edilen son hacim GC-FID cihazında analiz edilmek üzere viallere aktarılmıştır. Fırın parametrelerinde referans metoda sağdık kalınmış, split oranı 50:1, örnek hacmi 1 µl, dedektör ve inlet ise 240 °C olarak tercih edilerek optimize edilmiştir (Tablo 7). Örneklerin çalışılması bu parametreler doğrultusunda gerçekleştirilmiştir.

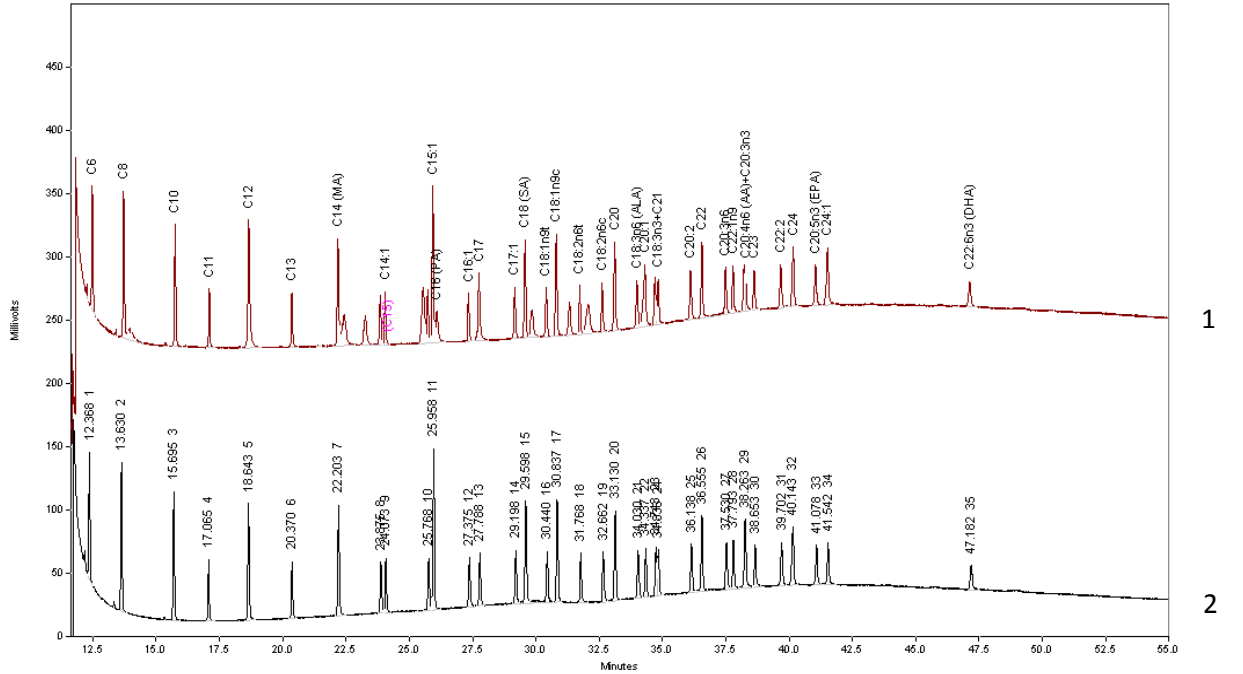
Tablo 6.Yağ asidi analizi için test edilen GC-FID parametreleri

GC-FID Test Parametreleri					
	Enjeksiyon Parametreleri	Fırın Parametreleri	Taşıyıcı Gaz Parametreleri	İnlet(Giriş) Parametreleri	FID Parametreleri
Metod 1 (179)	0.5 µl	175°C'de 70 dk izotermal	Helyum, 18 cm/sn (0.9 ml/dk)	Split modunda 50:1, 220°C	220°C
Metod 2 (183)	1 µl	140°C'de 5 dk başlanır. 240°C'ye 4°C/dk hızla artırılır. Burada yaklaşık 30 dk tutulur (TAS 60 dk).	Helyum, 20 cm/sn (1 ml/dk)	Split modunda 100:1, 260°C	260°C
Metod 3 (180)	2 µl	100°C'den 250°C'ye 10°C/dk hızla artırılır. 250°C'de 2 dk tutulur (TAS 17 dk).	Helyum (1 ml/dk)	Split modunda 10:1, 260°C	290°C
Metod 4 (184)	0.5 µl	175°C'de 52 dk izotermal	Helyum, 17 cm/sn (0.9 ml/dk)	Split modunda 100:1, 220°C	220°C
Metod 5 (181)	1 µl	60°C'de 4 dk beklenir. 175°C'ye 13°C/dk hızla artırılır. 27 dk bu ısıda tutulur. 215°C'ye 4°C/dk hızla çıkılır. Burada 5 dk tutulur. 240°C'ye 4°C/dk hızla çıkılır. Burada 15 dk tutulur. (TAS 76 dk).	Helyum, 17 cm/sn (0.8 ml/dk)	Splitless modunda 220°C	240°C
Metod 6 (182)	1 µl	180°C'de 60 dk beklenir. 220°C'ye 10°C/dk hızla artırılır. 10 dk bu ısıda tutulur. (TAS 74 dk).	Helyum (1 ml/dk)	Split modunda 100:1, 250°C	250°C
Metod 7 (16)	1 µl	50°C'de 1.5 dk başlanır. 190°C'ye 30°C/dk hızla artırılır. 5 dk bu ısıda tutulur. 230°C'ye 8°C/dk hızla çıkılır. Burada 28.5 dk tutulur (TAS 45 dk).	Helyum 2.5 Bar (250 kPa)	Splitless modunda	Belirtilmemiş

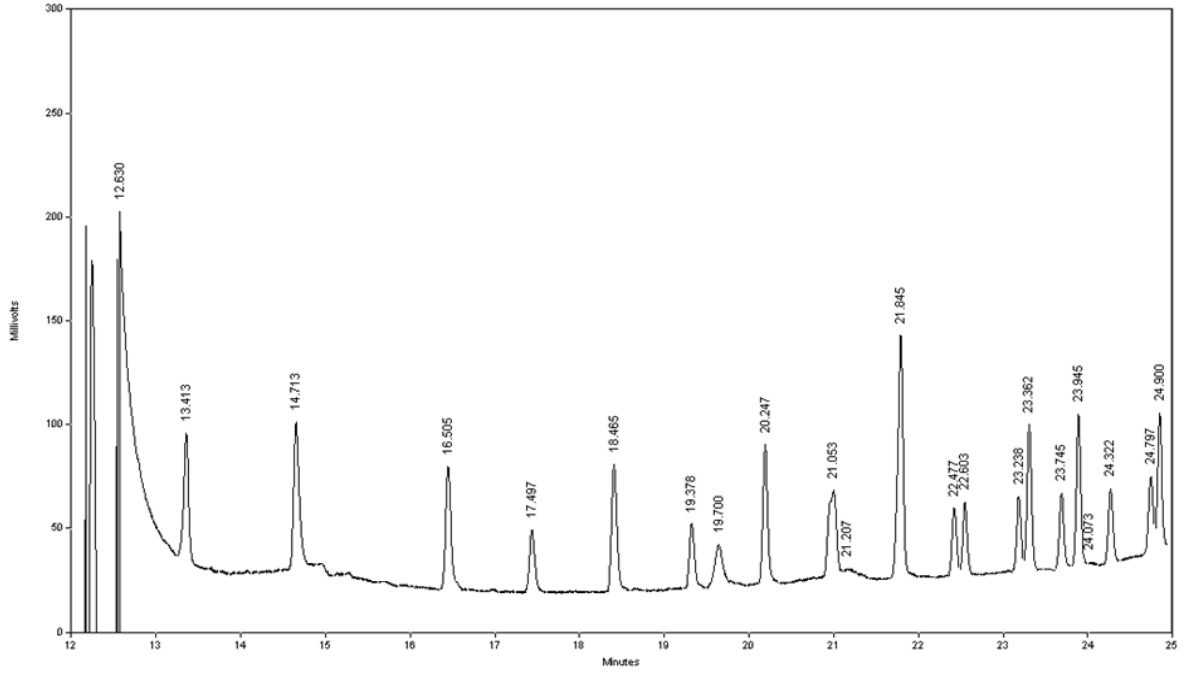
(TAS: Toplam Analiz Süresi, FID gaz parametresi bütün meyodlarda Kuru hava: 350ml/dk, H₂: 35ml/dk olarak seçilmiştir)



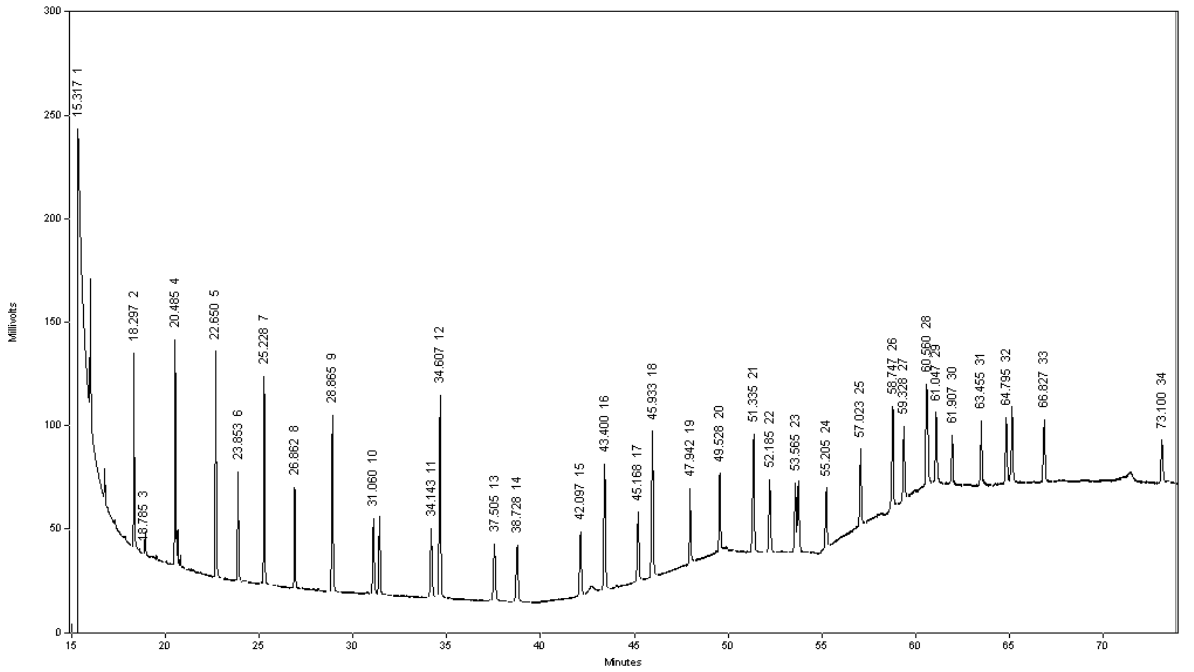
Şekil 15. Metod 1'e ait çoklu standart kromatogramı



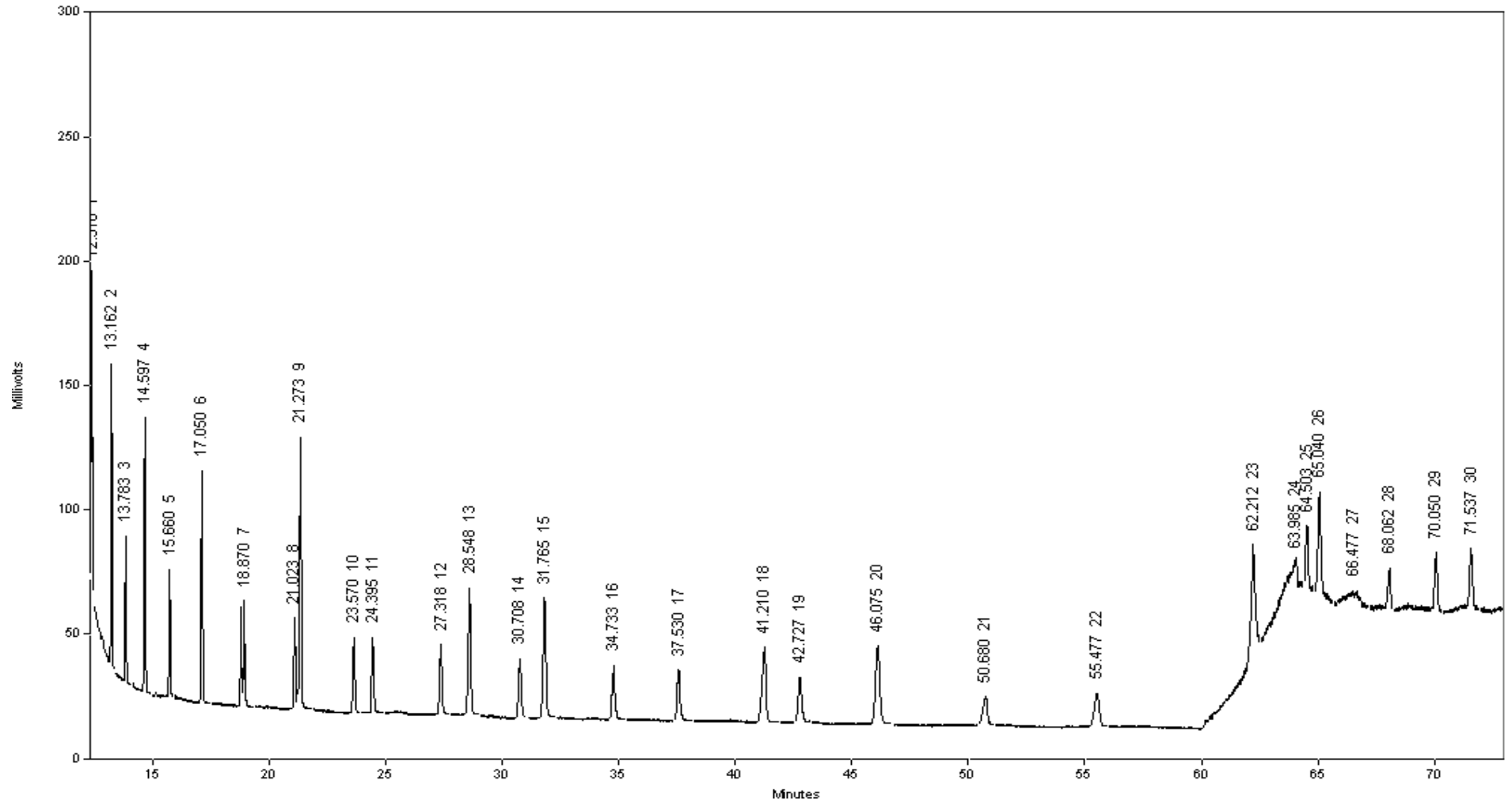
Şekil 16. Metod 2 (1) ve modifiye metod 2 (2)'ye ait çoklu standart kromatogramı



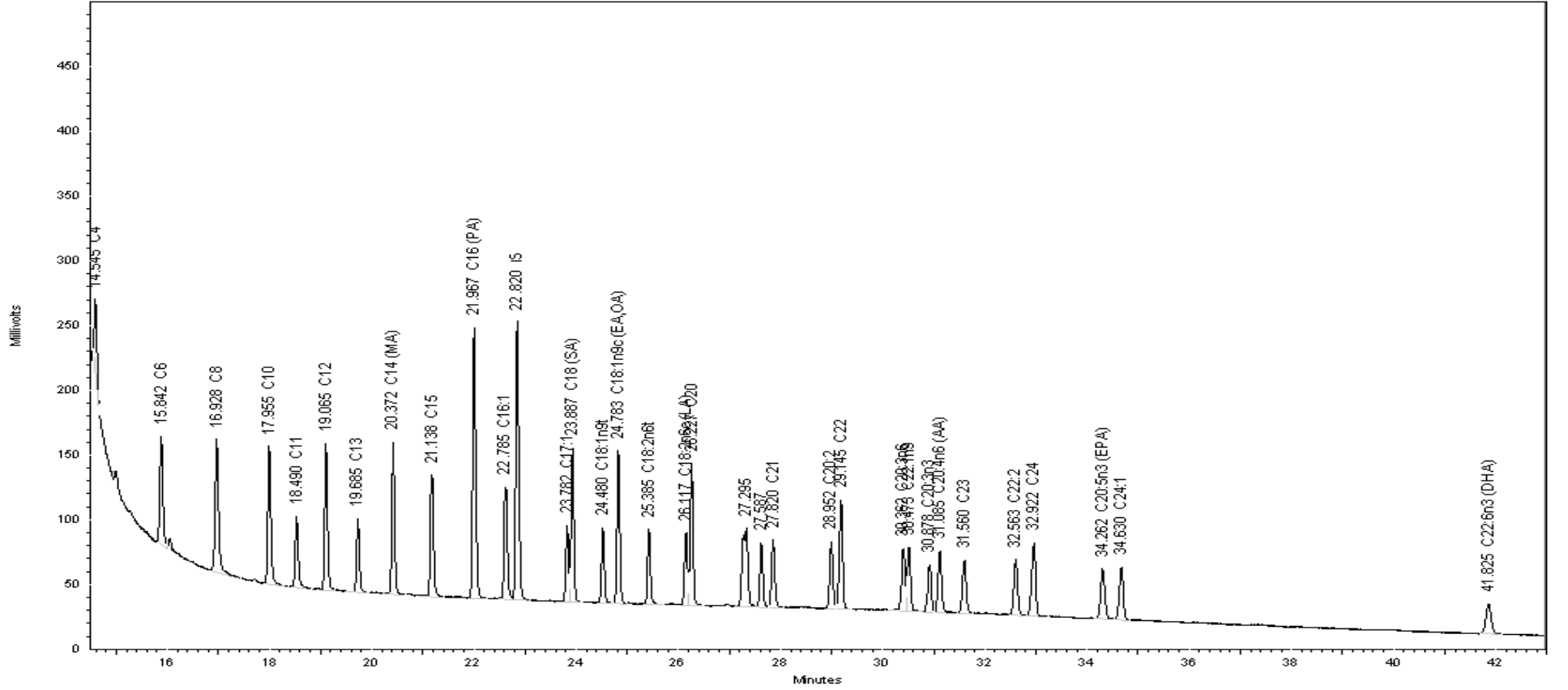
Şekil 17. Metod 3'e ait çoklu standart kromatogramı



Şekil 18. Metod 5'e ait çoklu standart kromatogramı



Şekil 19. Metod 6'ya ait çoklu standart kromatogramı



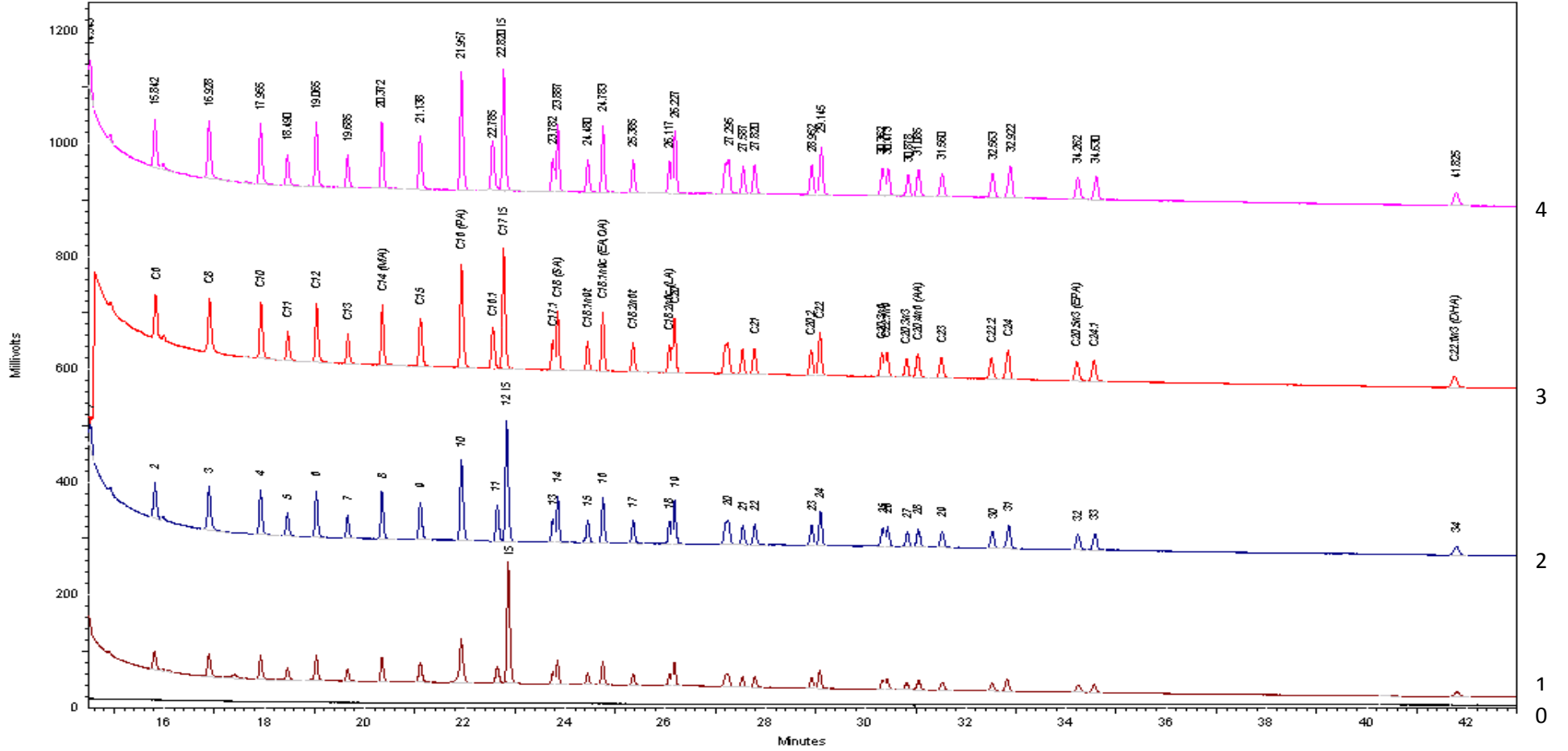
Şekil 20. Seçilen metoda ait çoklu standart kromatogramı.

C 11, C 13 C 15, C 16:1, C 17, C17:1, C18:1n9t, C18:2n6t, C18:2n6c, C 21, C 20:2, C 20:3n6, C 22:1n9, 20:3n3, C 20:4n6, C 23, C22:2, C 24:1, C 20:5n3, C 20:6n3 için 100 µg/mL; C 10, C 12, C 14, C 18, C18:1n9c, C 20, C 22, C 24 için 200 µg/mL; ve C 16 için 300 µg/mL. IS olarak C 17 300 µg/mL konsantrasyonda eklenmiştir.

4.2. SEÇİLEN YAĞ ASİDİ ANALİZ METODUNUN GELİŞTİRİLMESİ VE OPTİMİZASYONU

Çalışmada kullanılan metod ile ilgili optimizasyon verileri Tablo 7'de gösterilmiştir. Buna göre;

- Yağ asitlerine ait pikler 17.955-41.825 dk'lar arasında gözlenmiştir.
- Çalışılan yağ asitlerinin lineeritesi (r^2) 0.9579-0.9973 arasındadır (Şekil 21, Şekil 22).
- Geri kazanımı 50 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda % 87-107, 100 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda % 94-103 aralığında (YA ait kalibrasyon grafikleri çoklu standart ile çalışılırken recovery sadece elimizde mevcut olan non-metile yağ asit standartlarından çalışılmıştır),
- LOD 0.3-4.2 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonlar arasında saptanmıştır.
- Tekrarlanabilirlik; düşük konsantrasyonlar için % 5-10.4, yüksek konsantrasyonlar için % 4.2-10 aralığında tespit edilmiştir.



Şekil 21. Seçilen metotla her bir yağ asidine ait kalibrasyon kromatogramı

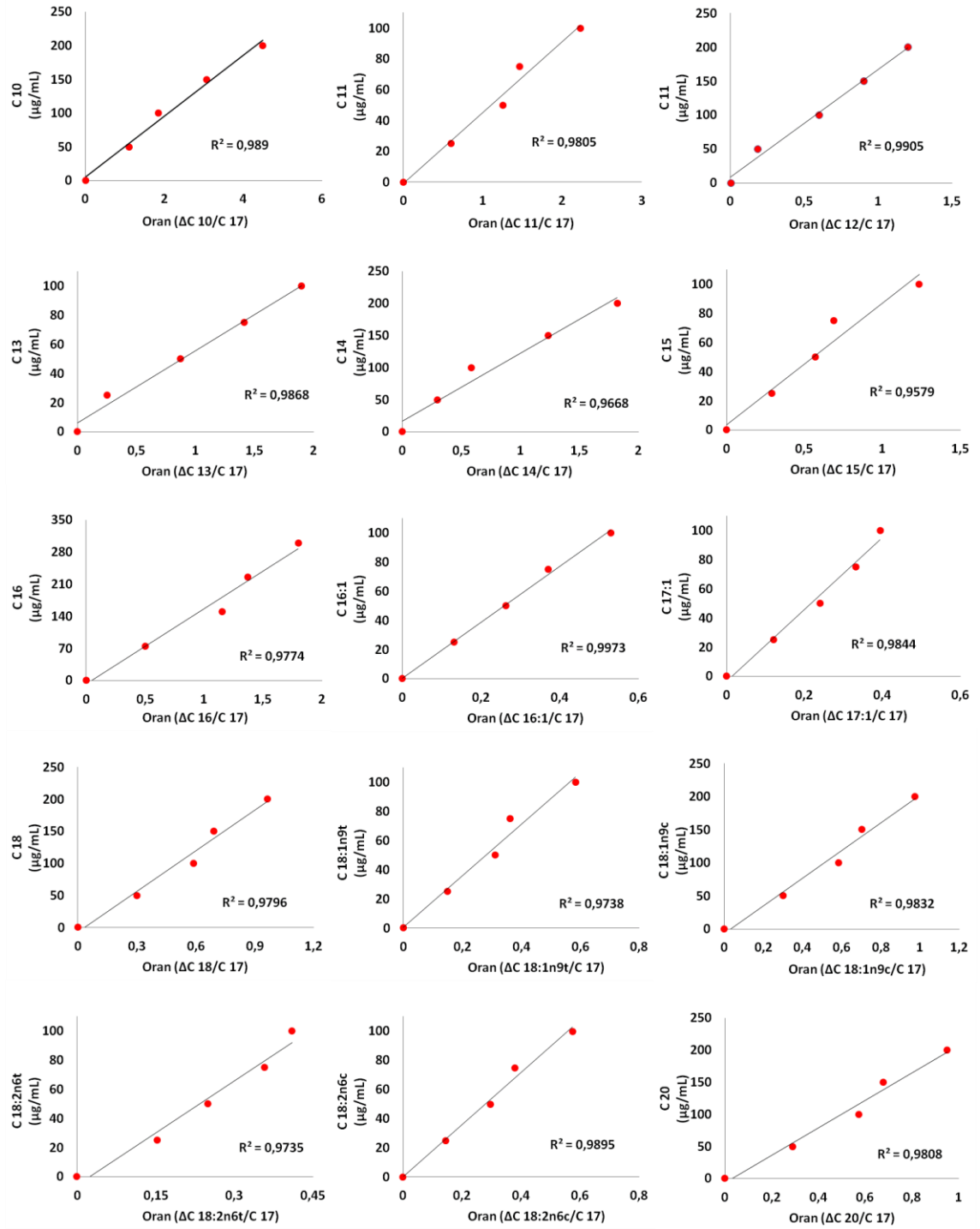
0; Her bir YA 0 µg/mL **1;** C 11, C 13 C 15, C 16:1, C 17, C17:1, C18:1n9t, C18:2n6t, C18:2n6c, C 21, C 20:2, C 20:3n6, C 22:1n9, 20:3n3, C 20:4n6, C 23, C22:2, C 24:1, C 20:5n3, C 20:6n3 için 25 µg/mL; C 10, C 12, C 14, C 18, C18:1n9c, C 20, C 22, C 24 için 50 µg/mL; ve C 16 için 75 µg/mL, **2;** Aynı sırayla 50,100 ve 150 µg/mL, **3;** Aynı sırayla 75,150 ve 225 µg/mL, **4;** Aynı sırayla 100,200 ve 300 µg/mL. IS olarak C 17 her birine 300 µg/mL konsantrasyonda eklenmiştir.

Tablo 7. Seçilen metoda ait optimizasyon verileri

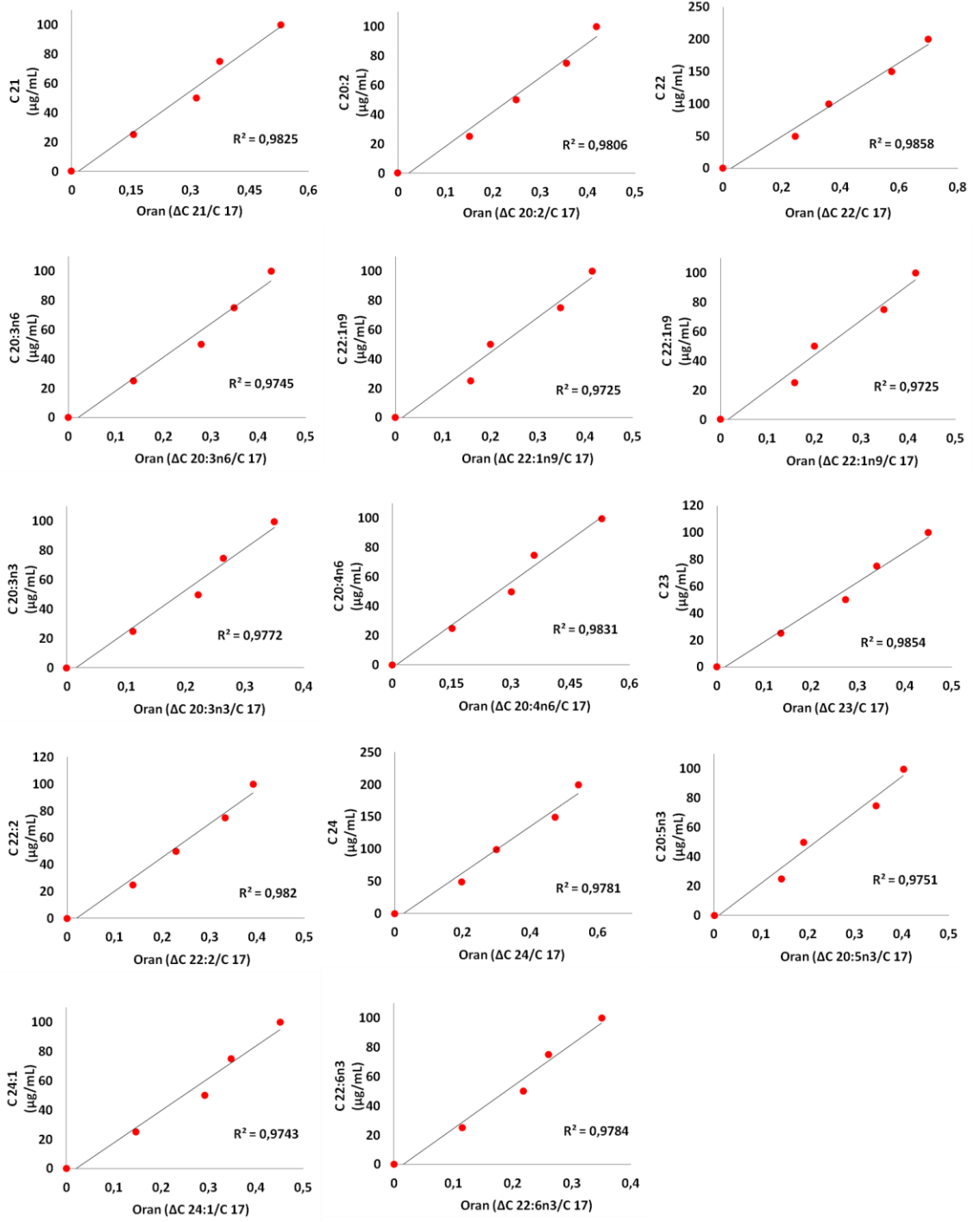
Yağ Asidi (İsim)	Zaman (dk)	Lineerite (r ²)	LOD (µg/mL)	Verim (%)		Tekrarlanabilirlik (% CV)	
				50 µg/mL	100 µg/mL	Düşük kons*	Yüksek kons*
C 10	17.96	0.989	3.6			6.9	5.2
C 11	18.49	0.9805	0.9			7.1	6.0
C 12	19.07	0.9905	4.2			6.6	5.0
C 13	19.69	0.9868	1.2			7.2	5.9
C 14	20.37	0.9668	3.1	92	97	8.5	8.0
C15	21.14	0.9579	1.1			7.2	6.2
C 16	21.97	0.9774	2.2	93	95	5.6	4.2
C 16:1	22.79	0.9973	0.8			7.5	6.6
C 17	22.87	İnternal Standart					
C 17:1	23.78	0.9844				7.4	6.7
SA	23.89	0.9796	3.5	93	94	6.0	4.9
C 18:1n9t	24.48	0.9738	0.4			7.5	6.8
C 18:1n9c	24.78	0.9832	2.6			5.9	4.9
C 18:2n6t	25.39	0.9735	1.1			7.0	6.0
C 18:2n6c	26.12	0.9895	3.3	97	98	7.1	6.2
C 20	26.23	0.9808	0.4	95	97	6.1	5.0
C 21	27.82	0.9825	0.8			10	9.2
C 20:2	28.95	0.9806	0.6			7.3	6.4
C 22	29.15	0.9858	0.8	87	90	5.0	4.4
C 20:3n6	30.36	0.9745	0.4			7.6	7.0
C 22:1n9	30.47	0.9725	0.3			8.0	7.2
C 20:3n3	30.88	0.9772	0.5			6.9	6.0
C 20:4n6	31.09	0.9831	3.4	95	98	6.4	5.8
C 23	31.56	0.9854	0.9			10.4	10
C 22:2	32.56	0.982	0.6			7.0	5.9
C 24	32.92	0.9781	1	107	103	5.5	4.4
C 22:5n3	34.26	0.97	0.4	94	96	8.9	8.0
C 24:1	34.63	0.9743	0.6			9.0	8.5
C 22:6n3	41.83	0.9784	0.7	98	99	7.3	6.4

* *Düşük Kons*; C 11, C 13 C 15, C 16:1, C 17, C17:1, C18:1n9t, C18:2n6t, C18:2n6c, C 21, C 20:2, C 20:3n6, C 22:1n9, 20:3n3, C 20:4n6, C 23, C22:2, C 24:1, C 20:5n3, C 20:6n3 için 25 µg/mL; C 10, C 12, C 14, C 18, C18:1n9c, C 20, C 22, C 24 için 50 µg/mL; ve C 16 için 75 µg/mL'dir.

Yüksek Kons; C 11, C 13 C 15, C 16:1, C 17, C17:1, C18:1n9t, C18:2n6t, C18:2n6c, C 21, C 20:2, C 20:3n6, C 22:1n9, 20:3n3, C 20:4n6, C 23, C22:2, C 24:1, C 20:5n3, C 20:6n3 için 100 µg/mL; C 10, C 12, C 14, C 18, C18:1n9c, C 20, C 22, C 24 için 200 µg/mL; ve C 16 için 300 µg/mL'dir.



Şekil 22. Her bir yağ asidine ait kalibrasyon grafiği



Şekil 22 (devamı). Her bir yağ asidine ait kalibrasyon grafiği

4.3. SONUÇLARIN İSTATİSTİKSEL ANALİZİ

Tercih edilen örnek hazırlama ve GC-FID metodu ile dört hasta grubuna ait plazma ve membran yağ asidi düzeyleri çalışılmıştır. Bununla birlikte total kolesterol, trigliserit, HDL-Kol, VLDL-Kol, LDL-Kol (Hesaplanan-H), LDL-Kol (Ölçülen-D), glukoz, üre, kreatinin, total protein, albumin ve HbA1c düzeyleri de değerlendirilmiştir. Elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS 15.0 kullanılarak yapılmıştır. Hasta grupları independent sample t testi kullanılarak birbirleri ile karşılaştırılmış ve sonuçları Tablo 8, Tablo 9, Tablo 10, Tablo 11 ve Tablo 12'de gösterilmiştir. Grup içi membran ve plazma yağ asidi konsantrasyon ve yüzdelerinin korelasyon analizi ile rutin parametrelerinin membran ve plazma yağ asidi konsantrasyon ve yüzdeleri korelasyon analizleri Spearman korelasyon analizi ile yapılmış ve sonuçları Tablo 13, Tablo 14, Tablo 15 ve Tablo 16'da gösterilmiştir.

Tablo 8'de Kontrol, Tip II DM, Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY), Tip II DM+SDBY hastalarına ait total kolesterol, trigliserit, HDL-Kol, VLDL-Kol, LDL-Kol (H), LDL-Kol (D), glukoz, üre, kreatinin, total protein, albumin ve HbA1c düzeyleri ve gruplar arası karşılaştırma sonuçları gösterilmiştir.

Buna göre serum trigliserit ve VLDL-Kol düzeyleri SDBY+Tip II DM hastalarında Tip II DM hastalarına göre anlamlı yüksek bulunurken (serum trigliserit düzeyleri yaklaşık üç, VLDL-Kol düzeyleri ise yaklaşık iki kat artmış) HDL-Kol düzeyleri anlamlı düşük bulunmuştur (Şekil 19). Ayrıca serum trigliserit düzeyleri SDBY+Tip II DM hastalarında SDBY hastalarına kıyasla da yüksek (yaklaşık bir buçuk kat artmış) bulunmuştur. O kadar yüksek olmasa da benzer bir fark serum total kolesterol düzeylerinde de gözlenmiştir. Tip II DM hastalarında LDL-Kol (H) ile LDL-Kol (D) düzeylerinde ise hasta grupları arasında anlamlı fark gözlenmemiştir.

Bununla birlikte açlık serum glukoz düzeyleri ve HbA1c düzeyleri beklendiği gibi Tip II DM ve Tip II DM+SDBY hastalarında sırasıyla sağlıklı kontroller ve SDBY hastalarına göre anlamlı dercede yüksek (yaklaşık iki katı) bulunmuştur. Yine beklendiği üzere serum üre ve kreatinin düzeyleri SDBY ve Tip II DM+SDBY hastalarında sırasıyla sağlıklı kontroller ve Tip II DM+SDBY hastalarına göre anlamlı dercede yüksek (yaklaşık sekiz katı) bulunmuştur. Benzer tablo serum albumin düzeylerinde de gözlenirken total protein konsantrasyonlarında anlamlı fark tespit edilememiştir.

Tablo 8. Kontrol, Tip II DM, Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY), Tip II DM+ Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY) hastalarına ait rutin laboratuvar parametreleri ve sonuçların karşılaştırılması.

	Kontrol (n=14)	Tip II DM (n=14)	SDBY (n=20)	Tip II DM + SDBY (n=18)	P			
	Ort ± SS	Ort ± SS	Ort ± SS	Ort ± SS	Kontrol - Tip II DM	(SDBY)- (SDBY+ Tip II DM)	Kontrol- (SDBY)	(Tip II DM)- (SDBY+Tip II DM)
T. Kolesterol (mg/dL)	175 ± 35.95	187.29 ± 24.91	166.55 ± 41.86	199.4 ± 44.6	0,402	0,011	0,531	0,379
TrigLiserit (mg/dL)	143.86 ± 62.87	120.57 ± 54.30	201.80 ± 166.73	338 ± 184.92	0.659	0.004	0.236	<0.001
HDL-Kol (mg/dL)	39.79 ± 4.32	41.64 ± 13.43	33.15 ± 6.65	29.06 ± 5.64	0.541	0.120	0.020	<0.001
VLDL-Kol (mg/dL)	29.07 ± 12.75	24.21 ± 10.53	41.55 ± 33.45	67.56 ± 36.99	0.646	0.006	0.203	<0.001
LDL-Kol (H)* (mg/dL)	105.64 ± 37.24	121.07 ± 25.37	91.70 ± 33.20	102.06 ± 43.44	0.258	0.377	0.268	0.141
LDL-Kol (D)* (mg/dL)	106.71 ± 30.83	114.71 ± 20.16	97.50 ± 27.48	115.78 ± 28.85	0.441	0.043	0.336	0.913
GLukoz (mg/dL)	81.64 ± 11.99	160.50 ± 25.97	89.15 ± 10.86	165.72 ± 53.11	<0.001	<0.001	0.494	0.642
Üre (mg/dL)	25.73 ± 7.30	23.73 ± 4.81	59.55 ± 14.16	58.90 ± 13.76	0.643	0.862	<0.001	<0.001
Kreatinin (mg/dL)	0.90 ± 0.11	1.15 ± 0.32	9.18 ± 2.39	8.1 ± 2	0.700	0.054	<0.001	<0.001
T.protein (g/dL)	7.49 ± 0.75	7.47 ± 0.36	6.93 ± 0.30	7.04 ± 0.61	0.897	0.496	0.003	0.026
Albumin (g/dL)	4.57 ± 0.37	4.39 ± 0.31	4.01 ± 0.41	3.79 ± 0.45	0.227	0.090	<0.001	<0.001
HbA1c (%)	4.48 ± 0.29	6.51 ± 0.48	4.70 ± 0.39	7.38 ± 1.88	<0.001	<0.001	0.551	0.022

LDL-Kol (H); Friedewald formülüne göre hesaplanan düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol düzeyleri
LDL-Kol (D); Direk ölçülen düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol düzeyleri

Tablo 9'da kontrol, Tip II DM, Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY), Tip II DM+Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY) hastalarına ait plazma yağ asidi konsantrasyonları ve sonuçların karşılaştırılması gösterilmiştir.

Buna göre; plazma miristik asit (MA) düzeyleri Tip II DM hastalarında kontrol grubuna ve SDBY+Tip II DM hastalarına göre anlamlı yüksek (her ikisi için de yaklaşık iki katı artmış) bulunurken (Şekil 19), plazma C 15 ve EPA (eikosapentaenoik asit) düzeyleri ile EPA/AA (eikosapentaenoik asit/araşidonik asit oranı) değeri Tip II DM hastalarında SDBY+Tip II DM hastalarına göre anlamlı yüksek (her üçü için de yaklaşık iki katı artmış) bulunmuştur (Şekil 19). Ayrıca plazma PA, C 20, AA düzeyleri SDBY+Tip II DM hastalarında Tip II DM hastalarına göre anlamlı yüksek bulunurken plazma 18:1ω9c düzeyleri kontrol grubu ve SDBY+Tip II DM hastalarında Tip II DM hastalarına göre anlamlı yüksek bulunmuştur.

SDBY+Tip II DM hastalarında plazma SA (stearik asit) düzeyleri ayrı ayrı hem Tip II DM hem de SDBY grubuna göre anlamlı yüksek gibi gözükmeyle birlikte SDBY+Tip II DM hasta grubunda gözlenen yüksek standart sapma değerleri göz önünde bulundurularak değerlendirmeye alınmamıştır. Benzer şekilde plazma C24:1 düzeyleri SDBY hastalarında SDBY+Tip II DM hastalarına göre anlamlı yüksek gibi gözükmeyle birlikte SDBY hasta grubunda gözlenen yüksek standart sapma değerleri göz önünde bulundurularak değerlendirmeye alınmamıştır.

Ancak, hasta grupları arasında, plazma C 22, C 24, C 16:1, LA (linoleik asit), C 20:3ω6, C 22:1ω9, DHA (dokosaheksaenoik asit) ve EPA+DHA düzeyleri açısından anlamlı farklılık gözlenmedi.

Tablo 9. Kontrol, Tip II DM, Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY), Tip II DM+ Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY) hastalarına ait plazma yağ asidi konsantrasyonları ve sonuçların karşılaştırılması

Plazma Yağ Asidi (µg/mL)	Kontrol (n=14)	Tip II DM (n=14)	SDBY (n=20)	Tip II DM + SDBY (n=18)	P			
					Kontrol - Tip II DM	(SDBY)- (SDBY+ Tip II DM)	Kontrol- (SDBY)	(Tip II DM)- (SDBY+Tip II DM)
	Ort ± SS	Ort ± SS	Ort ± SS	Ort ± SS				
C 14 (MA)	44.40 ± 3.84	86.70 ± 38.01	45.51 ± 7.71	49.25 ± 14.69	<0.001	0.615	0.889	<0.001
C 15	24.17 ± 19.29	27.85 ± 20.20	16.82 ± 8.08	10.26 ± 3.53	0.478	0.144	0.128	0.001
C 16 (PA)	318.72 ± 259.82	200.17 ± 48.14	266.74 ± 120.16	382.89 ± 203.32	0.077	0.045	0.395	0.005
C 18 (SA)	96.38 ± 23.16	94.82 ± 14.31	95.27 ± 30.76	129.12 ± 49.46	0.902	0.003	0.925	0.005
C 20	13.76 ± 9.08	10.25 ± 6.94	15.53 ± 5.97	19.07 ± 7.31	0.208	0.140	0.488	0.001
C 22	33.33 ± 16.86	32.85 ± 7.92	38.96 ± 11.15	36.63 ± 19.17	0.930	0.624	0.271	0.468
C 24	26.23 ± 3.03	26.33 ± 4.69	33.37 ± 20.71	27.45 ± 10.77	0.984	0.167	0.121	0.810
C 16:1	24.93 ± 16.63	18.99 ± 9.64	32.54 ± 27.52	28.11 ± 21.32	0.454	0.515	0.299	0.224
C 24:1	29.51 ± 7.16	17.44 ± 4.38	36.11 ± 23.24	21.15 ± 9.87	0.030	0.002	0.193	0.472
C 18:2ω6 (LA)	480.61 ± 102.16	428.49 ± 92.08	459.24 ± 171.75	531.46 ± 174.11	0.349	0.133	0.676	0.052
C 20:4ω6 (AA)	92.94 ± 30.31	96.06 ± 18.80	106.87 ± 42.32	135.12 ± 66.34	0.855	0.058	0.377	0.018
C 20:3ω6	20.75 ± 8.84	18.09 ± 5.94	21.93 ± 12.31	27.08 ± 20.34	0.605	0.246	0.804	0.067
C 18:1ω9c (OA)	413.39 ± 352.39	206.51 ± 48.55	342.63 ± 184.07	489.58 ± 241.17	0.020	0.054	0.381	0.001
C 22:1ω9 (EA)	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-1.99)	1,00	0.541	0.117	0.323
C 22:6n3 (DHA)	17.10 ± 6.16	18.40 ± 16.29	14.07 ± 6.95	15.97 ± 9,94	0.738	0.572	0.401	0.508
C 22:5n3 (EPA)	7.45 ± 5.53	10.05 ± 6.13	4.62 ± 3.27	4.36 ± 4.19	0.151	0.869	0.191	0.001
EPA/AA	0.096(0-0.14)	0.065 (0.082-0.11)	0.05 (0.012-0.07)	0.03 (0-0.08)	0.264	0.681	0.134	0.003
EPA+DHA	24.55 ± 10.03	28.45 ± 22.40	18.68 ± 8.44	19.72 ± 10.78	0.445	0.812	0.215	0.073

Tablo 10'da kontrol, Tip II DM, Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY), Tip II DM+Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY) hastalarına ait membran yağ asidi konsantrasyonları ve sonuçların karşılaştırılması gösterilmiştir.

Buna göre; membran miristik asit (MA) düzeyleri plazma düzeylerine benzer şekilde Tip II DM hastalarında kontrol grubuna ve SDBY+Tip II DM hastalarına göre anlamlı yüksek bulunurken (Şekil 19), membran C 15 düzeyleri ise plazma C 15 düzeylerinden ayrılarak kontrol hastalarında Tip II DM ve SDBY hastalarına göre anlamlı yüksek bulunmuştur.

Membran PA düzeyleri SDBY hastalarında SDBY+Tip II DM hastalarına göre anlamlı düşük gibi gözükmeyle birlikte SDBY+Tip II DM hasta grubunda gözlenen yüksek standart sapma değerleri göz önünde bulundurularak değerlendirmeye alınmamıştır. Aynı durum membran SA, C 24, AA, C 20:3ω6, C 22:1ω9 düzeyleri için de geçerlidir.

Membran C 20 düzeyleri Tip II DM hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunurken (yaklaşık iki kat artmış) SDBY+Tip II DM hastalarına kıyasla da benzer ancak daha düşük bir artış gözlenmiştir.

Membran C 24, C 24:1 ve C16:1 düzeyleri kontrol grubunda SDBY hastalarına göre anlamlı düzeyde yüksek (her biri için yaklaşık iki kat) gözlenirken membran C 24 düzeyleri aynı zamanda Tip II DM hastalarına göre de anlamlı yüksek (yaklaşık iki kat) bulunmuştur (Şekil 19).

Membran 18:1ω9c düzeyleri plazmadan farklı olarak sadece SDBY+Tip II DM hastalarında Tip II DM ve SDBY hastalarına göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Membran C 22:1ω9 düzeyleri ise SDBY+Tip II DM hastalarında SDBY hastalarına göre anlamlı yüksek bulunmuştur.

Tip II DM hastalarında membran DHA ve EPA düzeyleri SDBY+Tip II DM hastalarına göre anlamlı yüksek bulunurken sadece membran EPA düzeyleri sağlıklı kontrollere göre anlamlı yüksek bulunmuştur (Şekil 19).

Membran EPA/AA oranı tip II DM hastalarında sağlıklı kontrollere göre anlamlı yüksek bulunmuştur.

Son olarak, hasta grupları arasında, membran C 22, LA ve EPA+DHA düzeyleri açısından anlamlı farklılık gözlenmemiştir.

Tablo 10. Kontrol, Tip II DM, Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY), Tip II DM+ Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY) hastalarına ait membran yağ asidi konsantrasyonları ve sonuçların karşılaştırılması

Eritrosit Membran Yağ Asidi (µg/mL)	Kontrol (n=14)	Tip II DM (n=14)	SDBY (n=20)	Tip II DM + SDBY (n=18)	P			
					Kontrol - Tip II DM	(SDBY)- (SDBY+ Tip II DM)	Kontrol- (SDBY)	(Tip II DM)- (SDBY+Tip II DM)
	Ort ± SS	Ort ± SS	Ort ± SS	Ort ± SS				
m-C 14 (MA)	35.74 ± 7.29	49.11 ± 27	31.15 ± 1.96	33.16 ± 8.16	0.011	0.649	0.334	0.002
m-C 15	14.68 ± 8.08	9.43 ± 2.2	9.02 ± 1.10	8.14 ± 2.21	0.001	0.506	<0.001	0.374
m- C 16 (PA)	23.48 ± 10.00	32.67 ± 35.76	20.81 ± 13.19	46.03 ± 37.16	0.368	0.005	0.776	0.168
m- C 18 (SA)	54.08 ± 8.70	50.63 ± 10.48	47.06 ± 8.13	55.14 ± 13.45	0.385	0.020	0.058	0.230
m-C 20	3.88 ± 2.52	7.24 ± 1.83	5.17 ± 3.42	4.44 ± 2.72	0.002	0.425	0.188	0.006
m-C 22	8.79 ± 1.86	10.84 ± 1.53	10.19 ± 4.01	10.94 ± 7.76	0.257	0.628	0.401	0.954
m-C 24	16.06 ± 2.53	14.46 ± 5.67	8.11 ± 4.88	13.27 ± 8.63	0.481	0.010	<0.001	0.579
m-C 16:1	11.06 ± 1.94	9.73 ± 3.37	7.73 ± 2.07	9.30 ± 2.24	0.151	0.050	<0.001	0.624
m-C 24:1	11.08 ± 3.68	6.58 ± 1.46	5.62 ± 2.99	8.07 ± 6.46	0.006	0.076	<0.001	0.322
m- C 18:2ω6 (LA)	45.26 ± 10.96	33.58 ± 19.69	35.98 ± 17.78	47.41 ± 27.44	0.132	0.087	0.193	0.060
m- C 20:4ω6 (AA)	49.30 ± 10.92	42.87 ± 9.41	38.49 ± 11.80	49.92 ± 14.18	0.157	0.004	0.011	0.101
m-C 20:3ω6	2.25 ± 2.06	1.28 ± 0.84	1.63 ± 1.79	3.75 ± 4.12	0.323	0.014	0.492	0.009
m-C 18:1ω9c (OA)	29.59 ± 5.29	26.07 ± 10.15	28.13 ± 12.94	39.34 ± 26.07	0.569	0.038	0.797	0.026
m-C 22:1ω9 (EA)	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-2.34)	0.097	0.032	1,00	0.835
m- C 22:6n3 (DHA)	7.67 ± 4.36	9.18 ± 2.24	4.64 ± 3.34	5.71 ± 6.47	0.377	0.466	0.057	0.034
m- C 22:5n3 (EPA)	0 (0-0)	0 (0-5.25)	0 (0-1.79)	0 (0-1.60)	0.004	0.970	0.303	0.034
m-EPA/AA	0 (0-0)	0 (0-0.10)	0 (0-0.03)	0 (0-0.03)	0.005	0.954	0.207	0.060
m-EPA+DHA	7.93 ± 4.47	11.34 ± 4.37	7.85 ± 11.81	6.56 ± 6.39	0.257	0.616	0.978	0.094

Tablo 11'de kontrol, Tip II DM, Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY), Tip II DM+ Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY) hastalarına ait plazma yağ asidi yüzde oranları ve sonuçların karşılaştırılması gösterilmiştir.

Buna göre; Tip II DM hastalarında plazma miristik asit (MA) yüzde oranı plazma düzeyi ile korele olarak kontrol grubuna ve SDBY+Tip II DM hastalarına göre anlamlı yüksek (her ikisi için de yaklaşık iki katı artmış) bulunurken, C 15, EPA ve DHA yüzde oranları sadece SDBY+Tip II DM hastalarına göre anlamlı yüksek (C 15 yaklaşık üç kat, EPA ve DHA yaklaşık iki kat yüksek) bulunmuştur. Ayrıca plazma C 15 yüzde oranları Tip II DM hastalarında kontrol grubuna oranla ve SDBY hastalarında SDBY+Tip II DM hastalarına göre anlamlı yüksek bulunmuştur.

Plazma palmitik asit yüzde oranları SDBY+Tip II DM hastalarında Tip II DM hastalarına göre anlamlı yüksek bulunurken tersine plazma LA yüzde oranları Tip II DM hastalarında SDBY+Tip II DM hastalarına göre anlamlı yüksek gözlenmiştir.

SDBY hastalarında plazma C 22 ve C 24 yüzde oranları SDBY+Tip II DM hastalarına göre anlamlı yüksek gibi gözükmeyle birlikte her iki grupta gözlenen yüksek standart sapma değerleri göz önünde bulundurularak değerlendirmeye alınmamıştır. Plazma konsantrasyonları ile uyumlu olarak benzer şekilde plazma C24:1 yüzde oranları da değerlendirmeye alınmamıştır.

Plazma 18:1ω9c düzeyleri; kontrol grubunda Tip II DM hastalarına göre, SDBY+Tip II DM hastalarında SDBY hastalarına göre ve yine SDBY+Tip II DM hastalarında Tip II DM hastalarına göre anlamlı yüksek bulunmuştur.

Ancak, hasta grupları arasında, plazma C 20, SA, C 16:1, AA, C 20:3ω6 ve C 22:1ω9 yüzde oranları açısından anlamlı farklılık gözlenmemiştir.

Tablo 11. Kontrol, Tip II DM, Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY), Tip II DM+ Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY) hastalarına ait plazma yağ asidi yüzde oranları ve sonuçların karşılaştırılması

Yağ Asidi (Plazma %)	Kontrol (n=14)	Tip II DM (n=14)	SDBY (n=20)	Tip II DM + SDBY (n=18)	P			
	Ort ± SS	Ort ± SS	Ort ± SS	Ort ± SS	Kontrol - Tip II DM	(SDBY)- (SDBY+ Tip II DM)	Kontrol- (SDBY)	(Tip II DM)- (SDBY+Tip II DM)
C14 (MA)	3.05 ± 0.94	7.40 ± 2.76	3.17 ± 0.92	2.76 ± 0.89	<0.001	0.408	0.817	<0.001
C 15	1.45 ± 0.71	2.15 ± 1.45	1.21 ± 0.68	0.61 ± 0.26	0.031	0.031	0.412	<0.001
C 16 (PA)	17.48 ± 4.74	15.33 ± 2.96	16.99 ± 3.10	19.51 ± 6.04	0.201	0.084	0.751	0.010
C 18 (SA)	6.47 ± 1.75	7.30 ± 0.87	6.28 ± 1.13	6.80 ± 1.01	0.077	0.193	0.657	0.257
C 20	0.98 ± 0.77	0.82 ± 0.63	1.09 ± 0.52	1.05 ± 0.36	0.458	0.828	0.591	0.266
C 22	1.02 ± 1.32	2.52 ± 0.54	2.74 ± 1.14	2.02 ± 1.16	0.353	0.048	0.120	0.203
C 24	1.86 ± 0.83	2.04 ± 0.39	2.34 ± 1.57	1.53 ± 0.64	0.649	0.017	0.182	0.166
C 16:1	1.45 ± 0.52	1.42 ± 0.62	2.21 ± 1.95	1.44 ± 0.96	0.956	0.063	0.083	0.959
C 24:1	1.98 ± 0.58	1.33 ± 0.26	2.58 ± 1.83	1.24 ± 0.81	0.134	0.001	0.135	0.836
C 18:2ω6 (LA)	31.44 ± 5.96	32.76 ± 5.11	29.91 ± 5.33	28.27 ± 4.88	0.511	0.346	0.412	0.021
C 20:4ω6 (AA)	6.17 ± 2.08	7.42 ± 1.53	7.04 ± 2.30	7.03 ± 2.66	0.143	0.989	0.268	0.623
C 20:3ω6	1.30 ± 0.55	1.40 ± 0.48	1.38 ± 0.67	1.37 ± 0.75	0.655	0.950	0.692	0.886
C 18:1ω9c (OA)	22.64 ± 6.54	15.81 ± 2.82	21.53 ± 4.74	25.18 ± 4.94	<0.001	0.026	0.520	<0.001
C 22:1ω9 (EA)	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0.07)	1,00	0.442	0.101	0.360
C 22:6n3 (DHA)	1.12 ± 0.40	1.49 ± 1.47	1 ± 0.59	0.82 ± 0.31	0.213	0.481	0.652	0.018
C 22:5n3 (EPA)	0.31 ± 0.38	0.61 ± 0.68	0.31 ± 0.26	0.25 ± 0.23	0.055	0.633	0.980	0.016

Tablo 12'de kontrol, Tip II DM, Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY), Tip II DM+ Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY) hastalarına ait membran yağ asidi yüzde oranları ve sonuçların karşılaştırılması gösterilmiştir.

Buna göre; Tip II DM hastalarında membran miristik asit (MA) yüzde oranı plazmada olduğu gibi ancak plazmaya kıyasla daha az oranda kontrol grubuna ve SDBY+Tip II DM hastalarına göre anlamlı yüksek (her ikisi için de yaklaşık bir buçuk kat artmış) bulunmuştur.

Membran C 15 yüzde oranı kontrol grubunda ayrı ayrı Tip II DM ve SDBY hastalarına göre anlamlı yüksek bulunmuştur.

Membran PA yüzde oranı SDBY+Tip II DM hastalarında Tip II DM hastalarına göre anlamlı yüksek gözlenirken tersine Tip II DM hastalarında membran SA ve C 20 yüzde oranları SDBY+Tip II DM hastalarına göre anlamlı yüksek bulunmuştur.

Ayrıca membran C 20 yüzde oranı Tip II DM hastalarında SDBY+Tip II DM hastalarına göre anlamlı yüksek bulunurken kontrollerde SDBY hastalarına göre anlamlı düşük bulunmuştur. Benzer düşüklük membran C 22 yüzde oranında da gözlenirken, membran C 24 yüzde oranı kontrollerde SDBY hastalarına göre anlamlı yüksek bulunmuştur.

Kontrollerdeki C 24:1 yüzde oranı hem Tip II DM hem de SDBY+Tip II DM hastalarına göre anlamlı yüksek bulunmuştur.

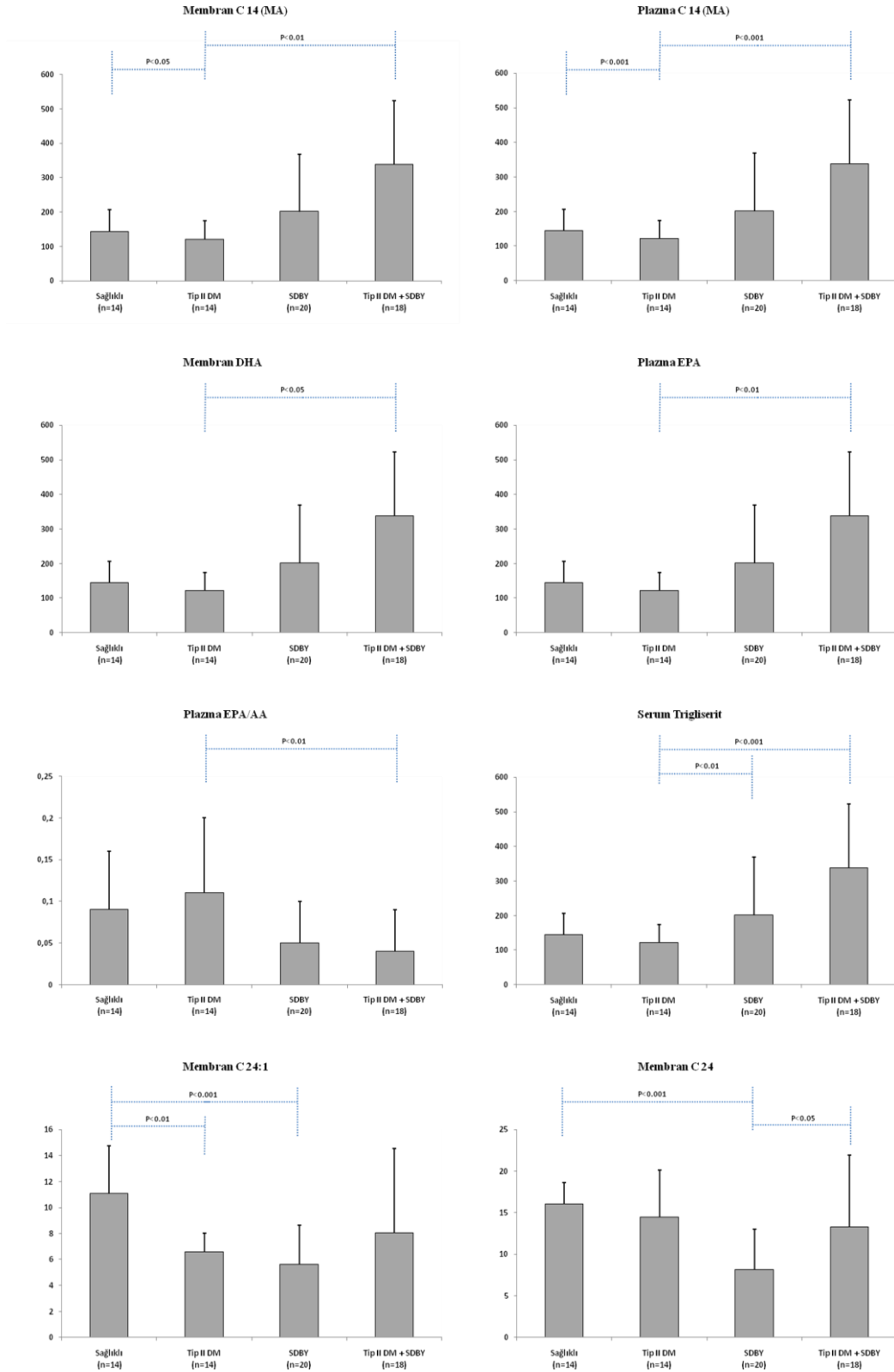
SDBY+Tip II DM hastalarında gözlenen membran C 20:3ω6 ve 18:1ω9c yüzde oranları Tip II DM hastalarına göre anlamlı yüksek bulunurken membran DHA yüzde oranı anlamlı düşük bulunmuştur.

Kontrollerdeki membran LA yüzde oranı Tip II DM hastalarına göre anlamlı yüksek bulunurken membran EPA yüzde oranı anlamlı düşük bulunmuştur. Ayrıca Tip II DM hastalarındaki membran LA yüzde oranı SDBY+Tip II DM hastalarına göre anlamlı düşük bulunmuştur.

Ancak, hasta grupları arasında, membran C 16:1, C 22:1ω9 ve AA membran yüzde oranları açısından anlamlı farklılık gözlenmemiştir.

Tablo 12. Kontrol, Tip II DM, Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY), Tip II DM+ Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY) hastalarına ait membran yağ asidi yüzde oranları ve sonuçların karşılaştırılması

Yağ Asidi (Membran %)	Kontrol (n=14)	Tip II DM (n=14)	SDBY (n=20)	Tip II DM + SDBY (n=18)	p			
					Kontrol -Tip II DM	(SDBY)- (SDBY+ Tip II DM)	Kontrol- (SDBY)	(Tip II DM)- (SDBY+Tip II DM)
	Ort ± SS	Ort ± SS	Ort ± SS	Ort ± SS				
m-C 14 (MA)	11.62 ± 2.89	15.76 ± 5.93	12.72 ± 2.68	10.94 ± 4.27	0.009	0.180	0.439	0.001
m-C 15	4.83 ± 2.90	3.27 ± 0.88	3.68 ± 0.87	2.82 ± 1.39	0.014	0.109	0.049	0.443
m-C 16 (PA)	7.26 ± 2.41	9.29 ± 6.92	7.77 ± 3.77	11.93 ± 5.96	0.291	0.013	0.774	0.145
m-C 18 (SA)	17.02 ± 1.09	17.03 ± 2.25	18.84 ± 2.92	16.99 ± 2.50	0.834	0.019	0.054	0.964
m-C 20	1.17 ± 0.73	2.49 ± 0.81	2.13 ± 1.54	1.34 ± 0.88	0.002	0.029	0.015	0.004
m-C 22	2.87 ± 0.78	3.91 ± 1.37	4.12 ± 1.99	3.15 ± 1.92	0.102	0.076	0.035	0.200
m-C 24	5.17 ± 0.81	4.78 ± 1.20	3.12 ± 1.68	3.94 ± 1.88	0.494	0.099	<0.001	0.126
m-C 16:1	3.53 ± 0.43	3.42 ± 1.26	3.08 ± 0.69	2.94 ± 0.78	0.719	0.610	0.122	0.111
m-C 24:1	3.50 ± 1.03	2.23 ± 0.51	2.16 ± 0.93	2.32 ± 1.27	0.001	0.622	<0.001	0.819
m- C 18:2ω6 (LA)	14.49 ± 3.25	10.27 ± 3.57	13.83 ± 3.84	14.05 ± 4.28	0.005	0.861	0.623	0.007
m- C 20:4ω6 (AA)	15.69 ± 2.34	14.47 ± 2.47	15.17 ± 3.87	15.30 ± 2.8	0.291	0.899	0.624	0.447
m-C 20:3ω6	0.67 ± 0.57	0.41 ± 0.25	0.64 ± 0.66	0.97 ± 0.86	0.300	0.112	0.888	0.018
m-C 18:1ω9c (OA)	9.46 ± 1.27	8.45 ± 1.27	10.66 ± 2.64	11.20 ± 3.23	0.267	0.483	0.156	0.002
m-C 22:1ω9 (EA)	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0.61)	0.072	0.063	1,00	0.829
m- C 22:6n3 (DHA)	2.44 ± 1.27	3.28 ± 1.42	1.74 ± 1.2	1.52 ± 1.42	0.099	0.615	0.135	<0.001
m- C 22:5n3 (EPA)	0.04 ± 0.13	0.56 ± 0.87	0.35 ± 0.64	0.32 ± 0.47	0.021	0.874	0.135	0.246



Şekil 23. Bazı yağ asitlerine ait gruplar-arası karşılaştırma grafikleri

Tablo 13'de kontrol, Tip II DM, SDBY, Tip II DM+SDBY hasta gruplarına ait plazma ve membran yağ asidi konsantrasyonları ile total 66 vakaya ait plazma ve membran yağ asidi konsantrasyonlarının Sperman korelasyon analizi ile değerlendirme sonuçları sunulurken tablo 14'de aynı gruplara ait plazma ve membran yağ asidi yüzde oranları ile total 66 vakaya ait plazma ve membran yağ asidi yüzde oranlarının Sperman korelasyon analizi ile değerlendirilme sonuçları gösterilmiştir. Buna göre;

Kontrollerde C 15 ve C 20 plazma ve membran YA konsantrasyonları arasında anlamlı pozitif korelasyon gözlenirken C 18 konsantrasyonları arasında anlamlı negatif korelasyon tespit edilmiştir. Bunun yanında aynı grubun C 15 ve C 20:4ω6 (AA) plazma ve membran YA yüzde oranları arasında da anlamlı pozitif korelasyon mevcuttur.

Tip II DM hastalarında ise C 15, C 18:2ω6c (LA), C 20:3ω6, C 20:5ω3 (EPA), C 22:6ω3 (DHA), EPA+DHA plazma ve membran yağ asidi konsantrasyonları ile EPA/AA plazma ve membran yağ asidi oranı arasında anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur. Benzer şekilde plazma ve membran yağ asidi yüzde oranları arasındaki korelasyon incelendiğinde C 20:3ω6, C 20:5ω3 (EPA), C 22:6ω3 (DHA) arasında anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur.

SDBY hastalarında plazma ve membran yağ asidi konsantrasyonları arasında sadece C 18'de anlamlı pozitif korelasyon gözlenirken şekilde plazma ve membran yağ asidi yüzde oranları arasında C 18:2ω6c (LA)'de anlamlı pozitif korelasyon, C 24:1'de ise anlamlı negatif korelasyon tespit edilmiştir.

Tip II DM+SDBY hastalarında C 15, C 20:3ω6, AA, C 24, C 24:1, EPA, DHA, EPA+DHA plazma ve membran yağ asidi konsantrasyonları ile EPA/AA plazma ve membran yağ asidi oranı arasında anlamlı pozitif korelasyon bulunurken ortak olarak C 20:3ω6, C 24:1, EPA, DHA plazma ve membran yağ asidi yüzde oranları arasında da anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır.

Totalde ise plazma ve membran YA konsantrasyonları karşılaştırıldığında ise C 14, C 15, C 16, C 18, C 22, C 20:4ω6 (AA), C 20:3ω6, C 20:5ω3 (EPA), C 22:6ω3 (DHA), EPA+DHA, EPA/AA oranı; plazma ve membran YA yüzde oranları karşılaştırıldığında C 14, C 15, C 20:4ω6 (AA), C 20:3ω6, C 20:5ω3 (EPA), C 22:6ω3 (DHA) arasında anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur.

Tablo 13. Grup içi membran ve plazma yağ asidi konsantrasyonlarının korelasyon analizi sonuçları (** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$)

YA	Plazma C 14 (MA)					YA	Plazma C 24					YA	Plazma C 20:3ø6					
Membran C 14 (MA)	Hasta Grupları	Kontrol	Tip II DM	SDBY	SDBY+ Tip II DM	Total	Membran C 24	Kontrol	Tip II DM	SDBY	SDBY+ Tip II DM	Total	Membran C 20:3ø6	Kontrol	Tip II DM	SDBY	SDBY+ Tip II DM	Total
	Kontrol	0.108						-0.297						0.299				
	Tip II DM		0.055						-0.011						0.5589*			
	SDBY			-0.135						-0.053						-0.174		
	SDBY+Tip II DM				0.418						0.525*						0.541*	
	Total					0.317**						0.085						0.626***
YA	Plazma C 15					YA	Plazma C 16:1					YA	Plazma C 20:4n6 (AA)					
	Kontrol	0.626*						0.187						0.020				
	Tip II DM		0.662**						0.011						0.437			
	SDBY			0.140						-0.212						0.415		
	SDBY+Tip II DM				0.662**						0.437						0.682**	
	Total					0.586***						-0.094						0.427***
YA	Plazma C 16 (PA)					YA	Plazma C 24:1					YA	Plazma C 18:1ø9c					
	Kontrol	-0.336						0.200						-0.015				
	Tip II DM		0.502						-0.068						0.433			
	SDBY			0.029						-0.353						0.436		
	SDBY+Tip II DM				0.325						0.606**						0.304	
	Total					0.333**						-0.027						0.176

Tablo 13 (devamı): Grup içi membran ve plazma yağ asidi konsantrasyonlarının korelasyon analizi sonuçları (***) $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$)

Y A	Plazma C 18 (SA)					Y A	Plazma C 20:5n3 (EPA)					Y A	Plazma EPA+DHA							
	Hasta Grupları	Kontrol	Tip II DM	SDBY	SDBY+ Tip II DM	Total		Kontro l	Tip II DM	SDB Y	SDBY+ Tip II DM	Total		Kontro l	Tip II DM	SDBY	SDBY+ Tip II DM	Total		
Membran C 18 (SA)	Kontrol	-					Membran C 22:5n3 (EPA)	-0.201					Membran EPA+DHA	0.068						
	Tip II DM	0.793**	-0.473					0.798***							0.952***					
	SDBY			0.682***						0.226								-0.02		
	SDBY+Tip II DM				0.197							0.742** *							0.659**	
	Total					0.262*								0.379**						0.301*
Y A	Hasta Grupları	Plazma C 20				Y A	Plazma C 22:6n3 (DHA)				Y A	Plazma EPA/AA								
Membran C 20	Kontrol	0.625*					Membran C 22:6n3 (DHA)	0.125					Membran EPA/AA	-0.201						
	Tip II DM		0.284					0.929***							0.725**					
	SDBY			-0.258						-0.069								-		
	SDBY+Tip II DM				0.119							0.583*					0.018		0.78** *	
	Total					-0.148								0.509** *						0.430** *
Y A	Hasta Grupları	Plazma C 22				Y A	Plazma C 18:2n6c (LA)				Y A									
Membran C 22	Kontrol	0.315					Membran C 18:2n6c (LA)	-0.371												
	Tip II DM		0.037					0.578*												
	SDBY			-0.187						0.174										
	SDBY+Tip II DM				0.341							0.088								
	Total					0.267*								-0.007						

Tablo 14. Grup içi membran ve plazma yağ asidi yüzde oranlarının korelasyon analizi sonuçları (***) $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$)

A	Plazma C 14 (MA)						YA	Plazma C 24					YA	Plazma C 20:3ω6						
Membran C 14 (MA)	Hasta Grupları	Kontrol	Tip II DM	SDBY	SDBY+ Tip II DM	Total	Membran C 24	Kontrol	Tip II DM	SDBY	SDBY+ Tip II DM	Total	Membran C 20:3ω6	Kontrol	Tip II DM	SDBY	SDBY+ Tip II DM	Total		
	Kontrol	-0.200						0.037							0.510					
	Tip II DM		-0.323						-0.380							0.695**				
	SDBY			0.150						-0.370							-0.101			
	SDBY+Tip II DM				0.226						0.191								0.582*	
Total					0.261 *						-0.163							0.382**		
YA	Plazma C 15						YA	Plazma C 16:1					YA	Plazma C 20:4n6 (AA)						
Membran C 15	Kontrol	0.569*					Membran C 16:1	0.349					Membran C 20:4n6 (AA)	0.666**						
	Tip II DM		0.424						0.33							0.358				
	SDBY			0.206						-0.215							0.233			
	SDBY+Tip II DM				0.364						-0.389							0.247		
	Total					0.243*						-0.238								
YA	Plazma C 16 (PA)						YA	Plazma C 24:1					YA	Plazma C 18:1ω9c						
Membran C 16 (PA)	Kontrol	-0.508					Membran C 24:1	-0.02					Membran C 18:1ω9c	0.275						
	Tip II DM		0.143						-0.270							0.182				
	SDBY			-0.262						-0.456*							0.275			
	SDBY+Tip II DM				0.304						0.478*							0.179		
	Total					0.163						-0.160								

Tablo 14 (devamı). Grup içi membran ve plazma yağ asidi yüzde oranlarının korelasyon analizi sonuçları (** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$)

YA	Plazma C 18 (SA)					YA	Plazma C 20:5n3 (EPA)						
	Hasta Grupları	Kontrol	Tip II DM	SDBY	SDBY+ Tip II DM	Total		Kontrol	Tip II DM	SDBY	SDBY+ Tip II DM	Total	
Membran C 18 (SA)	Kontrol	0.068					Membran C 22:5n3 (EPA)	0.184					
	Tip II DM		0.503						0.754**				
	SDBY			0.223							-0.119		
	SDBY+Tip II DM				-0.321							0.7406**	
	Total					0.154							0.524***
YA	Hasta Grupları	Plazma C 20				YA	Plazma C 22:6n3 (DHA)						
Membran C 20	Kontrol	0.247					Membran C 22:6n3 (DHA)	0.055					
	Tip II DM		0.194						0.697**				
	SDBY			-0.105							-0.089		
	SDBY+Tip II DM				0.013							0.695**	
	Total					-0.039							0.405**
YA	Hasta Grupları	Plazma C 22				YA	Plazma C 18:2n6c (LA)						
Membran C 22	Kontrol	0.154					Membran C 18:2n6c (LA)	0.314					
	Tip II DM		0.121							0.495			
	SDBY			-0.371							0.714***		
	SDBY+Tip II DM				0.337							0.344	
	Total					0.151							0.217

Tablo 15'de total 66 vakaya ait total kolesterol, trigliserit, HDL-Kol, LDL-Kol ve HbA1c düzeyleri ile membran ve plazma yağ asidi konsantrasyonlarının Spearman korelasyon analizine göre değerlendirme sonuçları gösterilirken Tablo 16'da aynı grubun total kolesterol, trigliserit, HDL-Kol, LDL-Kol ve HbA1c düzeyleri ile membran ve plazma yağ asidi yüzde oranlarının korelasyon analizi sonuçları gösterilmiştir. Buna göre;

HbA1c düzeyleri ile plazma C 24:1 konsantrasyonu ve plazma ve membran yüzde oranları arasında anlamlı negatif korelasyon gözlenirken membran miristik asit konsantrasyonu arasında anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur.

Serum LDL-Kol ile membran C 24, linoleik asit, C 18:1ω9c konsantrasyonu ve membran stearik asit yüzde oranları arasında anlamlı pozitif korelasyon gözlenirken membran linoleik asit ve C 18:1ω9c yüzde oranları arasında anlamlı negatif korelasyon bulunmuştur. Ayrıca serum LDL-Kol ile plazma palmitik asit ve C 18:1ω9c yüzde oranları arasında anlamlı negatif, linoleik asit yüzde oranları arasında ise anlamlı pozitif korelasyon tespit edilmiştir.

Serum trigliserit düzeyleri ile karşılaştırıldığında, plazma miristik asit, C 15, C 22, C 24, C24:1 ve linoleik asit yüzde oranları ile membran miristik asit, stearik asit, C 20 yüzde oranları arasında anlamlı negatif, plazma ve membran palmitik asit ve C 18:1ω9c yüzde oranları ile arasında da anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur. Yine serum trigliserit düzeyleri ile karşılaştırıldığında plazma PA, SA, C 16:1, araşidonik asit, C 20:3ω6 ve C 18:1ω9c konsantrasyonları ile arasında anlamlı pozitif ve LA konsantrasyonları ile arasında anlamlı negatif korelasyon gözlenirken membran PA, C 22, C 20:3ω6 ve C 18:1ω9c konsantrasyonları ile arasında anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır.

Son olarak serum total kolesterol düzeyleri ile karşılaştırıldığında ise; plazma PA, SA, AA, C 20:3ω6, C 18:1ω9c, DHA ve membran SA, C 24, C 24:1, AA, DHA konsantrasyonları ile arasında anlamlı pozitif; plazma LA ve membran C 20:3ω6 konsantrasyonları ile arasında ise anlamlı negatif korelasyon gözlenmiştir. Ayrıca yine serum total kolesterol düzeyleri ile karşılaştırıldığında; plazma C 15, C 20, C 24, C 24:1 ve membran LA yüzde oranları ile arasında anlamlı negatif, membran C 24, C 24:1, C 20:3ω6 yüzde oranları ile arasında ise anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur.

Tablo 15. Total kolesterol, trigliserit, HDL-Kol, LDL-Kol ve HbA1c düzeyleri ile membran ve plazma yağ asidi konsantrasyonlarının korelasyon sonuçları

		T.Kol	Trigliserit	HDL-Kol	LDL-Kol	HbA1c
Plazma	C 14 (MA)	0.0700	-0.59	0.097	0.107	0.211
	C 15	-0.136	-0.226	0.035	0.047	-0.033
	C 16 (PA)	0.327**	0.717***	-0.355**	-0.196	-0.045
	C 18 (SA)	0.495***	0.651***	-0.162	0.008	0.144
	C 20	0.071	0.236	-0.168	-0.094	0.054
	C 22	0.112	0.235	-0.167	-0.052	-0.116
	C 24	-0.184	-0.104	-0.138	-0.077	-0.007
	C 16:1	0.096	0.397***	-0.249*	-0.181	-0.166
	C 24:1	-0.187	-0.125	-0.438	-0.080	-0.285*
	C 18:2ω6 (LA)	-0.023***	-0.251***	0.354	0.116	-0.184
	C 20:4ω6 (AA)	0.255**	0.116***	0.154	0.138	-0.019
	C 20:3ω6	0.456***	0.473***	-0.209	0.133	0.096
	C 18:1ω9c (OA)	0.414*	0.538***	-0.199**	0.029	-0.151
	C 22:1ω9 (EA)	0.388	0.492	-0.194	0.035	0.138
	C 22:6n3 (DHA)	0.285*	0.644	-0.374	-0.160	0.114
	C 22:5n3 (EPA)	-0.125	0.027*	-0.151**	-0.117	-0.071
	EPA/AA	0.187	-0.003*	0.256**	0.148	0.054
EPA+DHA	-0.077	-0.287	0.346*	0.089	0.114	
Membran	C 14 (MA)	-0.136	-0.144	-0.139	0.017	0.246*
	C 15	-0.196	-0.153	0.057	-0.094	-0.112
	C 16 (PA)	0.148	0.443***	-0.410***	-0.135	0.100
	C 18 (SA)	0.251*	0.192	-0.172	0.143	-0.005
	C 20	-0.174	-0.180	0.050	-0.028	0.149
	C 22	0.074	0.268*	-0.052	-0.143	-0.060
	C 24	0.342**	0.150	-0.065	0.256*	-0.004
	C 16:1	0.190	0.050	0.029	0.153	0.134
	C 24:1	0.338**	0.225	-0.038	0.181	-0.221
	C 18:2ω6 (LA)	-0.018	-0.056	-0.102**	0.064**	0.227
	C 20:4ω6 (AA)	0.329*	0.119	0.091	0.233	-0.039
	C 20:3ω6	-0.191**	0.228**	-0.337	-0.343	0.037
	C 18:1ω9c (OA)	0.350	0.327***	-0.151**	0.129**	-0.073
	C 22:1ω9 (EA)	0.252	0.229	-0.182	0.119	-0.026
	C 22:6n3 (DHA)	0.097**	0.561	-0.392	-0.316	-0.008
	C 22:5n3 (EPA)	0.117	0.189	0.178	-0.101	0.031
	EPA/AA	0.073	0.009	0.088	0.056	-0.052
EPA+DHA	-0.030	-0.062	-0.053	0.044	0.205	

(*** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05).

Tablo 16. Total kolesterol, trigliserit, HDL-Kol, LDL-Kol ve HbA1c düzeyleri ile membran ve plazma yağ asidi yüzde oranlarının korelasyon sonuçları

		T.Kol	Trigliserit	HDL-Kol	LDL-Kol	HbA1c
Plazma (%)	C 14 (MA)	-0.097	-0.390**	0.335**	0.158	0.123
	C 15	-0.248*	-0.423***	0.134	0.076	-0.038
	C 16 (PA)	0.173	0.580***	-0.315*	-0.262*	-0.095
	C 18 (SA)	0.052	-0.207	0.441***	0.134	0.134
	C 20	-0.273*	-0.222	0.0335	-0.112	-0.020
	C 22	-0.167	-0.254*	0.076	0.019	-0.192
	C 24	-0.418***	-0.405***	0.033	-0.107	-0.076
	C 16:1	-0.120	0.062	-0.115	-0.152	-0.181
	C 24:1	-0.355**	-0.330**	0.040	-0.101	-0.280*
	C 18:2ω6 (LA)	0.037	-0.473***	0.328**	0.377**	-0.039
	C 20:4ω6 (AA)	0.067	-0.122	0.161	0.139	0.059
	C 20:3ω6	0.186	0.114	0.029	0.097	-0.189
	C 18:1ω9c (OA)	0.102	0.551***	-0.449***	-0.255*	0.188
	C 22:1ω9 (EA)	-0.162	-0.008	-0.141	-0.129	-0.073
	C 22:6n3 (DHA)	0.015	-0.238	0.329**	0.145	-0.029
	C 22:5n3 (EPA)	-0.053	-0.258*	-0.286*	0.108	0.166
Membran (%)	C 14 (MA)	-0.185	-0.298*	0.070	0.054	0.178
	C 15	-0.198	-0.199	0.153	-0.074	-0.136
	C 16 (PA)	0.121	0.352**	-0.370**	-0.089	0.121
	C 18 (SA)	0.112	-0.305*	0.335**	0.314*	-0.133
	C 20	-0.213	-0.257*	0.194	-0.039	0.055
	C 22	-0.111	-0.018	0.169	-0.143	-0.075
	C 24	0.327**	-0.008	0.172	0.315*	-0.012
	C 16:1	0.107	-0.190	0.296*	0.217	0.087
	C 24:1	0.298*	0.084	0.133	0.218	-0.292*
	C 18:2ω6 (LA)	-0.356**	-0.036	-0.200	-0.315*	-0.022
	C 20:4ω6 (AA)	0.144	-0.112	0.167	0.222	-0.116
	C 20:3ω6	0.298*	0.201	-0.070	0.164	-0.073
	C 18:1ω9c (OA)	0.053	0.539***	-0.329**	-0.360**	-0.037
	C 22:1ω9 (EA)	0.117	0.065	0.271*	-0.006	-0.031
	C 22:6n3 (DHA)	0.228	-0.047	0.299*	0.217	-0.037
	C 22:5n3 (EPA)	0.016	-0.045	-0.017	0.035	0.179

(*** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05)

5. TARTIŞMA

Son yıllarda hücre zarlarının sadece yapısal değil, sinyal iletimi başta olmak üzere dinamik olarak hücre metabolizmasında rol aldığı anlaşılmıştır, hücre zarlarının değişebilir bileşenleri olan yağ asitlerinin tiplerinin ve nisbi oranlarının ölçümünün önemi artmıştır (72).

Vücutta zarlarda yer alanlar dahil dokulardaki proteinlerin yapısı genetik olarak belirlenirken, lipid içerikleri çok büyük ölçüde diyetdeki lipid içeriğine bağlıdır. Diyetle yağ asitlerinin farklı düzeylerde alımı hücre zarının yapısı ve fonksiyonu üzerinde değişikliklere yol açar (185). Bazı YA, pıhtılaşma yollarını, vasküler direnci, sterol metabolizmasını, sinyal iletimini, enzim aktivitelerini, hücre çoğalması ve farklılaşmasını, ve reseptör ekspresyonunu etkiler (186). Yağ asitlerinin hücre biyolojisi ile insan sağlığı ve hastalıkları üzerine olan pek çok etkisi, birçok genin ekspresyonu ve bunları izleyen süreçleri etkilemelerine bağlıdır. Bu etkilerin çoğundan da belirli bir grup, özellikle ω -3 yağ asitleri sorumludur.

Yağ asidi kompozisyonu çeşitli dokularda (yağ dokusu) ve kan lipid havuzlarında, kolesterol esterlerinde veya trigliserit fraksiyonlarında ölçülmekle birlikte hangi biyolojik örneğin YA alımını en iyi yansıttığı kesinlik kazanmamıştır (16). Yağ dokusu çok uzun süreli YA bileşimini gösterse de insan çalışmalarında örnek temini bazı etik sıkıntılar doğurmaktadır. Günümüzde en sık kullanılan örnek türü plazma olmakla birlikte diyetle dışarıdan alınan PUFA'yı (özellikle ω -3) yansıtması açısından eritrosit membran YA ön plana çıkmaktadır (187). Eritrositlerin ortalama yaşam döngüsüne bağlı olarak (~120 gün) eritrosit membran yağ asidinin plazma YA konsantrasyonlarından daha değerli olduğu düşünülmektedir (188,189).

Mevcut kaynakların sonuçları eritrosit membran ve plazma konsantrasyonları arasında fark olduğuna işaret etmektedir (7,16,39). Bu farklılıklar büyük oranda kullanılan metodların çeşitliliğinden kaynaklanmaktadır. Halihazırda biyolojik örneklerde YA ölçümü için sıklıkla GC-FID, GC-MS, HPLC, LC-MS yöntemleri kullanılmaktadır (12,50,184,217). Cihaz parametreleri dışında türevlendirme ve ekstraksiyon farklılıkları da önem arz etmektedir. Bu çalışmanın amaçlarından biri de çalışılan örneklerdeki YA'ni en iyi şekilde ayırmak ve mümkün olan en fazla sayıda YA konsantrasyonunun ölçümünü sağlamaktır. Mevcut metodlarda

türevlendirme ve ekstraksiyon işlemi 1-4 saat arasında, analiz aşaması 15-75 dakika arasında, kullanılan kapiller kolon uzunluğu da 15-100m arasında değişiklik göstermektedir.

Biz çalışmamızda hasta gruplarımızda hem plazma hem de eritrosit membran yağ asidi konsantrasyonlarını ölçtük. Bu amaçla çalışmamızda SPTM-2560 Kapiller Kolon (100m X 0.25mm X 0.2 µm) tercih ettik. Bu oldukça polar kolon özellikle yağ asidi metil esterlerinin (FAME) geometrik-pozisyonel izomerlerini (cis/trans) ayırmak için tasarlanmıştır (190). Literatürde çeşitli uzunluk ve ebatlarda, polar (10,191,192) ve non-polar (193,194) kolonların kullanıldığı yöntemler mevcuttur. Non-polar GC kolonlar a) sadece karbon ve hidrojen atomları ve b) karbon atomları arasında sadece tek bağ olan polar olmayan bileşiklerin (örneğin alkenler) analizinde ön plana çıkarken, polar kolonlar a) esas olarak karbon ve hidrojen atomları içeren ve b) aynı zamanda bazı bromin, klor, flor, azot, oksijen, fosfor ve/veya kükürt atomu da içerebilen polar bileşikler için (örneğin, alkoller, aminler, karboksilik asitler, dioller, esterler, eterler, ketonlar, ve tiyoller gibi) tercih edilmektedir (192).

Örneklerin hazırlanması basamağında başlangıçta tercih edilen metoda ait örnek hazırlama kriterlerine sadık kalınarak 100 µl internal standardın (IS) üzerine 50 µl örnek (plazma veya eritrosit süspansiyonu) ilave edilerek sonrasında 3M methanolik HCl ilave edilerek etüvde 90°C'de 4 saat transmetilasyona bırakılmıştır. Ancak bu hacimde internal standardın türevlenmesinde sıkıntılar olduğu ve piklerin uygun olmadığı gözlenmiştir. Bunun sonucunda IS hacmi de örnek ile aynı düzeye, 50 µl'ye çekilmiş ve sorun giderilmiştir.

Yağ asitlerini türevlendirilmemiş (serbest) formunda analiz etmek zordur çünkü bu oldukça polar bileşikler adsorpsiyon sorunlarına neden olan hidrojen bağları oluşturma eğilimindedirler. Bu nedenle analiz için polaritelerinin azaltılması önerilmektedir. Örnekler polar olmayan çözücü içinde çözülerek (örneğin; heksan, heptan, veya toluen gibi) cihaza verilir. Biz de çalışmamızda bu işlem için metoda sadık kalarak heksan kullandık.

Kullanılan metodların karşılaştırılması ve uygun metodun seçilmesi aşamasında aynı kolon ile daha önce olumlu sonuçlar elde edilmiş olan literatürler ile Supelco™ 37 Component FAME Mix'e ait kataloglardan faydalanılmıştır. Metodlar Tablo 6'da belirtilen sıra ile denenmiş, bazıları mevcut cihazımızın teknik

yeterliliklerine uygun şekilde modifiye edilerek geliştirilmeye çalışılmıştır. Belirtilen metodların bir kısmında tepe ısısında istenen akım hızına çıkılamamış bu durumlarda teknik olarak mümkün olan en üst sınırdaki (250 kPa-sabit basınç) taşıyıcı gaz akımı sağlanmıştır. Tercih edilmeyen metodların başarısızlıklarında bu teknik yetersizliğin önemli bir payı olduğu düşünülmektedir. Diğer yandan metod 5 ve 6'nın elenmesinde öne çıkan faktörlerden biri de uzun test süresidir.

Tablo 6'da belirtilen metod 1 ve metod 4'de değişik sürelerde olmak üzere fırın ısısı olarak izotermal 175°C önerilmiştir. Ancak detaylı kantitatif ölçümleri istenen kompleks örneklerin tam ayrımının izotermal ısılarda pek başarılı olmadığını belirten çalışmalar mevcuttur (195). Bu nedenle çalışmamızda kademeli ısı artışı önerilen metodlar tercih edilmiştir.

Kaynakta metoda ait FID ve giriş (inlet) parametreleri belirtilmemiştir (16). Çeşitli denemeler sonrası her ikisi için 240°C, 50:1 split oranı ile 0.5 µl örnek hacmi ve test süresi olarak 45 dk seçilerek çalışmada bu şekliyle kullanılmıştır (Şekil 20).

Literatürlerde yağ asitleri ile ilgili çalışmalar genellikle ω-3 YA ve bunların renal ve KVH basta olmak üzere hiperlipidemi, inflammatuar ve otoimmün hastalıklar, respiratuar hastalıklar (astım), onkolojik, nörolojik hastalıklar (serebrovasküler olaylar, Alzheimer hastalığı), psöriazis ve endokrinolojik bozukluklar (DM, tirotoksikoz) üzerinde yoğunlaşmaktadır. Özellikle KVH'da kullanımı hakkında birçok araştırma yapılan ω-3 YA'nin nefroloji alanında IgA nefropatisi, lupus nefriti, siklosporin A toksisitesi, hemodiyaliz vasküler giriş yolu greft trombozu, idiyopatik kalsiyum nefrolithiazisinde kullanımı ile ilgili birçok yayın bulunmakla birlikte bu konudaki araştırmalar halen devam etmektedir (79).

Çalışmaya GATA Nefroloji Kliniği Hemodiyaliz Ünitesinde tedavi gören 36 HD hastası (18 tanesinde beraberinde tip II DM de mevcut) ve 28 kontrol hastası (14'ü tip II DM, 14'ü kronik hastalık sahibi değil) dahil edilmiştir.

Hastalardan serumda glukoz, total kolesterol, HDL-Kol, VLDL-Kol, LDL-Kol, üre, kreatinin, total protein ve albumin düzeylerini belirlemek amacıyla düz tüpe, HbA1c ile membran ve plazma yağ asidi kompozisyonlarını belirlemek için de K₂-EDTA içeren tüplere venöz kan örnekleri alınmıştır.

Çalışmamızda esas olarak HD tedavisi alan Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY) hastalarında, tip II DM hastalarında ve SDBY+Tip II DM hastalarında

plazma ve eritrosit membran yağ asidi düzeylerini kontrol grubu ile karşılaştırarak YA kompozisyonu üzerine DM ve hemodiyalizin etkisini değerlendirmeyi ve plazma ve membranın etkilenme düzeylerini karşılaştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda SDBY+Tip II DM hastalarında serum trigliserit ve VLDL-Kol düzeyleri Tip II DM hastalarına göre anlamlı yüksek bulunurken (serum trigliserit düzeyleri yaklaşık üç, VLDL-Kol düzeyleri ise yaklaşık iki kat artmış) HDL-Kol düzeyleri düşük bulunmuştur. Ayrıca serum trigliserit düzeyleri SDBY+Tip II DM hastalarında SDBY hastalarına kıyasla da yüksek bulunmuştur. O kadar yüksek olmasa da benzer bir fark serum total kolesterol düzeylerinde de gözlenmiştir. Neticede hipertrigliseridemi mevcudiyeti, yağda çözünen antioksidanlardan gelen yetersiz koruma ile peroksidasyon için bol miktarda substrat (doymamış yağlar) sağlayabilir. PUFA'dan zengin diyet serum trigliserid düzeylerinde genel bir azalmaya yol açar. Bu tip bir etki KBH'da da tanımlanmıştır (196,197).

Literatürler incelendiğinde böbrek yetmezliği olan hastalarda en sık karşılaşılan plazma lipit bozukluğu normal sınırlardaki total kolesterol düzeylerinin eşlik ettiği hipertrigliseridemidir ve aterosklerotik KVH'a neden olduğundan büyük önem gerektirir. SDBY olan hastalara genellikle hipertrigliseridemi eşlik eder. Bu lipid bozukluğu artan hepatik VLDL-Kol, trigliserid sentezi ve/veya trigliseridin temizlenmesindeki kusura bağlı olabilir (198,199). Ayrıca insüline dirençli bireylerde lipid bozukluklarının en önemli özelliği yüksek trigliserit düzeyleri (~1.5-3 kat artmış) ve azalmış HDL-Kol (% 10-20) düzeyleridir. Genellikle LDL-Kol düzeyleri, aynı popülasyonda yer alan DM olmayan kişilerden kantitatif olarak farklı değildir (200).

Hemodiyalizin yağ asidi düzeyleri üzerine olan ilişki incelendiğinde ise Ibels ve ark. (201) diyaliz başladıktan sonra hipertrigliseridemide düşüş olduğunu bildirmişlerdir. Bu düşüşün heparinin lipolitik aktivitesindeki artış ve diyaliz başladıktan sonra insüline karşı olan periferik dirençte azalma sonucu trigliseridin ortadan kaldırılmasındaki artışa bağlı gelişmiş olabileceği düşünülmektedir (200).

Ayrıca çalışma grubumuzda açlık serum glukoz düzeyleri ve HbA1c düzeyleri beklendiği gibi Tip II DM ve Tip II DM+SDBY hastalarında sırasıyla sağlıklı kontroller ve SDBY hastalarına göre yaklaşık iki kat artmış bulunmuştur. Yine beklendiği üzere serum üre ve kreatinin düzeyleri SDBY ve Tip II DM+SDBY

hastalarında sırasıyla sağlıklı kontroller ve Tip II DM hastalarına göre yaklaşık sekiz kat yüksek bulunmuştur. Benzer tablo serum albumin düzeylerinde de gözlenirken total protein konsantrasyonlarında anlamlı fark tespit edilememiştir.

Dolaşımdaki baskın SFA olan PA'in insülin direnci ile neden sonuç ilişkisi olduğu düşünülmektedir (202). 24 saat boyunca PA ile tedavi edilen insüline duyarlı hücrelerde ve podositlerde insülin ile uyarılan glukoz alımının ortadan kalktığı bildirilmiştir (243-246). Ayrıca podositlerdeki palmitatın indüklediği insülin direnci ile diyabetik nefropati arasında yeni bir bağlantı olabileceğini öne süren çalışmalar mevcuttur (203). Bu da SFA ile diyabete sekonder gelişen SDBY arasındaki ilişkiyi desteklemektedir. Biz de çalışmamızda SDBY+Tip II DM hastalarında membran PA düzeylerinin diğer SDBY hastalarına göre anlamlı yüksek olduğunu gözlemledik. Ayrıca yine SDBY+Tip II DM hastalarının plazma PA düzeylerinin de izole Tip II DM hastalarına oranla anlamlı yüksek olduğunu bulunmuştur.

Plazma C 15 düzeyleri incelendiğinde ise Tip II DM hastalarında SDBY+Tip II DM hastalarına göre istatistiksel anlamlı artış olduğu gözlenmiştir. Bu da HD'in C 15 düzeyleri üzerine olumlu etkileri olduğunu düşündürmektedir. Literatürler incelendiğinde YA düzeyleri ile Tip II DM arasındaki ilişki tutarsızdır. Bu kısmen YA ölçüm yöntemlerindeki standardizasyon eksikliği ve yetersizliklerden kaynaklanmaktadır. Çeşitli kan lipid havuzlarında (plazma, serum veya eritrosit membran) ölçülen YA bileşimi ve DM riski (207-210) arasındaki ilişkiyi inceleyen bazı prospektif çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar, çift sayıda karbon atomu içeren SFA'nin diyabet riski ile pozitif korelasyon gösterirken tek sayıda karbon atomu içeren SFA'nin ters ilişkili olduğunu düşündürmektedir (207-210).

Çalışmamızda ayrıca SDBY ve SDBY+Tip II DM hastalarında ω -3 PUFA (EPA ve DPA) düzeylerini hem plazma hem de eritrosit membranlarında ölçerek değerlendirdik. SDBY+Tip II DM hastalarında EPA düzeyleri ile EPA/AA oranı Tip II DM hastalarında göre yaklaşık iki kat azalmış bulunurken DHA ve EPA+DHA düzeyleri açısından anlamlı farklılık gözlenmemiştir (Şekil 19). Membran YA konsantrasyonları açısından değerlendirildiğinde ise SDBY+Tip II DM hastalarında DHA ve EPA düzeyleri Tip II DM hastalarına göre düşük bulunmuştur. Ayrıca membran EPA/AA oranı Tip II DM hastalarında sağlıklı kontrollere göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Plazma ve membran EPA+DHA düzeyleri açısından hasta

grupları arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Bununla birlikte SDBY+Tip II DM ve Tip II DM hasta gruplarının plazma ve membran EPA, EPA+DHA, EPA/AA ve DHA konsantrasyonları arasında anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur. Bu durum bize EPA, EPA+DHA, EPA/AA ve DHA düzeyleri arasındaki korelasyonun Tip II DM hastalarında daha fazla anlamlı olduğunu düşündürmektedir.

HD tedavisi gören SDBY hastalarının KVH prevalansında artış olduğunu gösteren yayınlar mevcuttur (211,212). Bu hastalarda sık rastlanan ani kardiyak ölümler genellikle ventriküler aritmiler sonucu gelişmektedir (213) ve bu hastaların total mortalitelerinin % 30'undan sorumludur (214). Bu nedenle bu riski düşürecek tedavi yöntemleri üzerine pek çok çalışma yapılmıştır. Bunlardan biri de kontrollerde (215,216) ve daha önce KVH tanısı alan hastalarda (217,218) ani kardiyak ölüm oranını azalttığı belirtilen ω -3 PUFA alımının artırılmasıdır. Halihazırda HD hastalarının biyolojik sıvılarında EPA ve DHA'nın yetersiz olduğunu gösteren pek çok yayın mevcuttur (69,75,127,128,130,135,136,144,148). HD hastalarının tat alma duyusundaki üremi nedenli değişiklikler EPA ve DHA'nın en önemli kaynağı olan balığı daha az tüketmelerine neden olurken (128) balık tüketimini teşvik edecek resmi böbrek diyet önerileri de yoktur. En önemlisi ise HD'in artmış ω -3 peroksidasyonuna yol açabilecek oksidatif mekanizmaları hızlandırdığına inanılmaktadır (129). Peroksidasyon sonuçta yağ açıl yapısının bozulmasına ve biyolojik fonksiyonunun kaybına yol açar. Bununla birlikte HD'in plazma ω -3 PUFA düzeylerini arttırdığını gösteren yayınlar da mevcuttur (130) ancak HD'in plazma ω -3 PUFA düzeylerini hangi mekanizma ile arttırdığı bilinmemektedir. Aslında, HD tedavisinin, lipoprotein lipaz ve fosfolipaz A₂ (sırasıyla trigliseritler ve fosfolipidlerden YA'i serbestler) aktivitesi upregüle ettiği (131) eritrosit ile karşılaştırıldığında plazmada daha fazla değişikliğe neden olduğu bildirilmiştir. HD tedavisi alan hastalar ile ilgili mevcut literatürler incelendiğinde 3 çalışmada ω -3 ve/veya ω -6 (132,133), AA (132-134) ve EPA (134,135) düzeylerinin sağlıklı kontrollere kıyasla daha düşük olduğunu gösterilmiştir. Bir diğer çalışma ise eritrosit membranında EPA düzeylerinin düşük olduğunu gösterilmiştir (135).

Mevcut yayınlarda artmış glukoz alımı (diyetle alınan+diyalizattan absorbe edilen glukoz) ve hiperinsülinemi ile Δ^9 desaturaz aktivitesinin uyarılması neticesinde SFA'nin endojen sentezinde artış olabileceği öne sürülmüştür (23,24).

HD hastalarında doymamış fraksiyonda azalma ve KVH sıklığında artış ile ilişkili USFA'nin rölatif birikimi karakteristiktir. Dasgupta ve ark. (220) HD hastalarında EYA'nin rölatif azalmasının önemli bir bulgu olduğunu çünkü bunun lipit anomalileri, KVH ve hormonal bozukluklar gibi üremi ile ilişkili bazı yaygın klinik durumların patogenezinde önemli bir rol oynayabileceğini belirtmiştir. Peuchant ve ark. bulgularımıza benzer şekilde HD hastalarının eritrosit membranlarında SFA içeriğinde bir azalma ve USFA içeriğinde artış bulmuşlardır (221).

Hasta gruplarında çalışılan diğer YA incelendiğinde elde edilen sonuçlar;

a) SDBY hastalarında membran C 24:1 konsantrasyonları literatürlerle uyumlu olarak (222) kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulunmuştur. Benzer bir durum plazma konsantrasyonları için geçerli değildir. Aynı hasta grubunda beraberinde başka bir MUFA'de değişiklik gözlenmemesi, benzer hasta gruplarında yapılan çalışmalar ile bu bulgunun desteklenmemesi ve membran C 24:1 YA konsantrasyonlarının klinik öneminin tam ortaya konamaması bu bulgumuzun rastlantısal olduğunu düşündürmektedir.

b) Şekil 8 (16)'de de gösterildiği üzere diyetle alınan C 18'den Δ^9 desatüraz ve elongazlar aracılığıyla sentezlenen C 22:1 ω 9 ve C 18:1 ω 9 YA membran konsantrasyonları, C 18 YA membran konsantrasyonları ile birlikte SDBY+Tip II DM hastalarında SDBY hastalarına göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Plazma düzeyinde ise C 18 ve C 18:1 ω 9 konsantrasyonları SDBY+Tip II DM hastalarında tip II DM hastalarına göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Bu da diyetin YA içeriğinin özellikle membran YA düzeyinde etkilerini ve önemini belirtmesi açısından anlamlı olduğunu göstermektedir. Yine diyetle alınan linoleik asitten Δ^6 desatüraz, elongaz ve Δ^5 desatüraz aracılığıyla sentezlenen AA ve C 20:3 ω 6 YA membran konsantrasyonları, LA membran konsantrasyonları ile birlikte SDBY+Tip II DM hastalarında SDBY hastalarına göre anlamlı yüksek bulunmuştur.

c) Tip II DM+SDBY hastalarında AA plazma konsantrasyonları diğer gruplara göre yüksek iken membran konsantrasyonları sadece SDBY grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte membran ve plazma LA konsantrasyonlarında hastalar arasında istatistiksel anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Bu da AA'den sentezlenen eikosanoidlerin Tip II DM'in eşlik ettiği SDBY

hastalarında olası komplikasyonların sıklığını açıklamada faydalı bilgiler sunmaktadır.

d) Albümin bir lipooksijenaz inhibitörüdür ve hipoalbüminemi lökotrienlerin sentezini arttırırken Sinzinger ve Leitner uzun süreli hemodiyaliz uygulanan böbrek hastalarında AA metabolizmasının siklooksijenaz yolağından lipooksijenaz yolağına kaydığını göstermiştir (223). Ayrıca inflamasyon ve aterosklerozun bir sinyali olarak kabul edilen PUFA/SFA oranının hipoalbüminemi ile yakın bir ilişkisi olduğu düşünülmektedir (224,225). Çalışmamızda SDBY ve SDBY+Tip II DM hastalarında albumin düzeylerinin diğer gruplara göre anlamlı düşük, plazma AA düzeylerinin ise özellikle SDBY+Tip II DM hastalarında olmak üzere anlamlı düzeyde yüksek olduğu, membran düzeyinde ise benzer bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir.

e) Hasta gruplarının tümü ele alındığında plazma ve membran PA konsantrasyonları HDL-Kol ile negatif korelasyon gösterirken trigliserit düzeyleriyle pozitif korelasyon gösterdiği gözlenmiştir.

Çalışmanın geneline bakacak olursak hasta sayısının düşük olması, çalışmanın tek merkezde yapılması, hastaların beslenme alışkanlıklarına ilişkin ayrıntılı bilgilere ulaşamaması çalışmanın kısıtlılıkları arasında sayılabilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Biyolojik sıvı ve dokularda, özellikle ω -3 grubu başta olmak üzere bireysel yağ asidi konsantrasyonlarının ölçülmesi başta kronik enflamatuvar hastalıklar olmak üzere metabolik hastalıkların ve beslenme bozukluklarının incelenmesi ve kontrolünde değerli bir parametre olarak gözükmektedir. Bu alanda daha geniş popülasyonda yapılacak çalışmalar kronik hastalıkların önlenmesi ve yönetiminde önemli yararlar sağlayabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Yücecan S, Baykan S. Food Chemistry, Food control and Analyses (in Turkish), M.E.B. Temel Ders Kitabı, 1981;5:51-53. İstanbul.
2. Hodson L, Skeaff CM, Fielding BA. Fatty acid composition of adipose tissue and blood in humans and its use as a biomarker of dietary intake. *Prog Lipid Res* 2008;47:348–80.
3. Arab L. Biomarkers of fat and fatty acid intake. *J Nutr* 2003;133:925–32.
4. Vessby B. Dietary fat and insulin action in humans. *Br J Nutr* 2000;83: 91–6.
5. O’Keefe JH, Nguyen T, Nelson J, O’Keefe JO, Miles JM. Potential beneficial effects of monounsaturated and polyunsaturated fats in elderly patients with or at risk of coronary artery disease. *Cardiol Elderly* 1995;3:5-10.
6. Kang JX, Leaf A. The cardiac antiarrhythmic effects of polyunsaturated fatty acids. *Lipids* 1996;31:41–44.
7. Assies J, Lieverse R, Vreken P, Wanders RJA, Dingemans PMJA, Linszen DH. Significantly reduced docosahexaenoic and docosapentaenoic acid concentrations in erythrocyte membranes from schizophrenic patients compared with a carefully matched control group. *Biol Psychiatr* 2001;45:510–522.
8. Assies J, Lok A, Bockting CL, Weverling GJ, Lieverse R, Visser I, Abeling NGGM, Duran M, Schene AH. Fatty acids and homocysteine levels in patients with recurrent depression: an explorative pilot study. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2004;70:349–356.
9. Susan A. Lagerstedt, Dallas R. Hinrichs, Susan M. Batt, Mark J. Magera, Piero Rinaldo, and Joseph P. McConnell. Quantitative Determination of Plasma C8 – C26 Total Fatty Acids for the Biochemical Diagnosis of Nutritional and Metabolic Disorders. *Molecular Genetics and Metabolism* 2001;73:38–45.

10. Robert J. Pawlosky, Joseph R. Hibbeln, Norman Salem Jr. Compartmental analyses of plasma n-3 essential fatty acids among male and female smokers and nonsmokers. *Journal of Lipid Research* Volume 48, (2007).
11. Bernhardt TG, Cannistraro PA, Bird DA, Doyle KM, Laposata M. Purification of fatty acid ethyl esters by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B: Biomed Appl* 1996;675:189–96.
12. Zybko WC, Cluette-Brown JE, Laposata M. Improved sensitivity and reduced sample size in serum fatty acid ethyl ester analysis. *Clin Chem* 2001;47:1120–1.
13. Moser AB, Kreiter N, Bezman L, Lu S, Raymond CV, Naidu S, Moser HW. Plasma very long chain fatty acid assay in 3,000 peroxisome disease patients and 29,000 controls. *Ann Neurol* 1999;45:100–110.
14. Moser AB, Jones DS, Raymond GV, Moser HW. Plasma and red blood cell fatty acids in peroxisomal disorders. *Neurochem Res.* 1999 Feb;24(2):187-97.
15. Bigelow NW, Hardin WR, Barker JP, Ryken SA, Macrae AC, Cattolico RA. A Comprehensive GC-MS Sub-Microscale Assay for Fatty Acids and its Applications. *J Am Oil Chem Soc.* 2011 Sep;88(9):1329-1338.
16. Blau N, Duran M, Gibson KM. *Laboratory Guide to the Methods in Biochemical Genetics.* pp 207-219.
17. Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA. *Harper's Illustrated Biochemistry.* Chapter 15. Lipids of Physiologic Significance.
18. Champe PC, Harvey RA. *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry* 4th Edition. Chapter 16:181-200.
19. Bloor WR. Outline of a classification of the lipids. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1920;17:138-140.
20. Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry.*

21. Montgomery R, Conway T, Spector A, Chappell D (2000). *Biyokimya Olgu Sunumlu Yaklaşım*. 6. Baskı, Palme Yayıncılık 6. Baskı, Ankara.
22. Pischon T, Hankinson SE, Hotamisligil GS, Rifai N, Walter C, Willett EB. Habitual Dietary Intake of n-3 and n-6 Fatty Acids in Relation to Inflammatory Markers Among US Men and Women. *Circulation*. 2003;108:155-160.
23. Esposito K, Giugliano D. Diet and inflammation: a link to metabolic and cardiovascular diseases. *Eur Heart J*. 2006;27:15-20.
24. Metin S. Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalarında ω -3 Yağ Asidinden Zengin Diyetin İnflamasyon, Solunum Fonksiyonu Ve Yasam Kalite Düzeyleri Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. 2011.
25. Cooper AL, Gibbons L, et al. Effect of dietary fish oil supplementation on fever and cytokine production in human volunteers. *Clin Nutr* 1993;12:321-328.
26. Schwartz J. Role of polyunsaturated fatty acids in lung disease. *Am J Clin Nutr*. 2000;71:393-396.
27. Calder P. Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and immunity. *Lipids*. 2001;36:1007-1024.
28. Anderson GJ, Connor WE, Corliss JD. Docosahexaenoic acid is the preferred dietary ω -3 fatty acid for the development of the brain and retina. *Pediatr Res* 1990;27:89-97.
29. Price PT, Nelson CM, Clarke SD. Omega-3 polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression. *Curr Opin Lipidol* 2000;11:3-7.
30. Burdge GC, Wootton SA. Conversion of alpha-linolenic acid to eicosapentaenoic, docosapentaenoic and docosahexaenoic acids in young women. *Br J Nutr* 2002;88:411-420.
31. Lee S, Gura KM, Puder M. Omega-3 fatty acids and liver disease. *Hepatology* 2007;45:841-845.

32. http://tr.wikipedia.org/wiki/H%C3%BCcre_zar%C4%B1
33. Singer SJ, Nicolson GL. "The fluid mosaic model of the structure of cell membranes". *Science* Feb 1972;175 (4023): 720–31.
34. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al(2002). *Molecular Biology of the Cell* (4 th edition).
35. Gray J, Groeschler S, Tony Le, Gonzalez Z (2002). "Membrane Structure".
36. Özaydın A. Yaşlanma ve Diyabet Arasındaki İlişkinin Eritrosit Membran Değişiklikleri Açısından İncelenmesi (1994). Yüksek Lisans Tezi.
37. Eaton WJ, Philip E, Halloway and Nihol S Agar. Seventh Ann Arbour Conference, pages 23-38, Alan R. Liss, Inc.
38. Bretscher MS. Membrane structure: Some general principles. *Science*, 1978;181:623.
39. Jain SK. Evidence for membrane lipid peroxidation during the in vivo aging of human erythrocytes. *Biochem Biophys Acta*. 1988;937:205-210.
40. Rothman JE, Lenard J. Membrane asymetry. *Science* 1977;195:743.
41. Lee GR, BIRTHALL TC et al: Wintrobe's Clinical Hematology. Telen MJ: The mature erythrocyte 1993;Vol 1:101-132.
42. Van Deenen LLM. Topology and Dynamics of phospholipids in membranes. *FEBS Lett*. 1981;13:3-15.
43. Cooper RA. Abnormalities of cell membrane fluidity in pathogenesis of diseases. *N.Eng.J.Med*. 1977;297:371.
44. Sohet SB. Haemolysis and changes in erythrocyte membrane lipids. *N.Eng.J.Med*. 1972;577:638.
45. Nelson GJ. Composition of neutral lipids from erythrocytes of common mammals. *J.Lipid Res*. 1967;8:374.

46. Cooper RA. Influence of increased membrane cholesterol on membrane fluidity and cell function in human RBC's. *J.Cell Biochem.* 1978;8:413.
47. Glomset JA. The plasma lecithin: Cholesterol acyltransferase reaction. *J.Lipid Res.* 1968;9:155.
48. Bennett MJ, Rinaldo P, Strauss AW. Inborn errors of mitochondrial fatty acid oxidation. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2000;37:1–44.
49. Rinaldo P, Raymond K, Al Odaib A, et al. Clinical and biochemical features of fatty acid oxidation disorders. *Curr Opin Pediatr* 1998;10:615–621.
50. Costa CG, Dorland L, Holwerda U, et al. Simultaneous analysis of plasma free fatty acids and their 3-hydroxy analogs in fatty acid β -oxidation disorders. *Clin Chem* 1998;44:463–471.
51. Jones PM, Quinn R, Fennessey PV, Tjoa S, Goodman SI, Fiore S, Burlina AB, Rinaldo P, Boriack RL, Bennett MJ. Improved stable isotope dilution-gas chromatography-mass spectrometry method for serum or plasma free 3-hydroxyfatty acids and its utility for the study of disorders of mitochondrial fatty acid β -oxidation. *Clin Chem* 2000;46:149–155.
52. http://en.wikipedia.org/wiki/Polyunsaturated_fatty_acid
53. Martinez M. Abnormal profiles of polyunsaturated fatty acids in the brain, liver, kidney and retina of patients with peroxisomal disorders. *Brain Res* 1993;583:171–182.
54. Siguel E. Diagnosing essential fatty acid deficiency. *Circulation* 1998;97:2580–2583.
55. Ferdinandusse S, Denis SW, Mooijer PAW, Zhang Z, Reddy JK, Spector AA, Wanders RJA. Identification of the peroxisomal beta-oxidation enzymes involved in the biosynthesis of docosahexaenoic acid. *J Lipid Res* 2001;42:1987–1995.

56. Martinez M. Severe deficiency of docosahexaenoic acid in peroxisomal disorders: a defect of delta 4 desaturation? *Neurology* 1990; 40:1292–1298.
57. Wanders RJ. Peroxisomal disorders: Clinical, biochemical, and molecular aspects. *Neurochem Res* 1999;24:565–580.
58. Siguel EN, Lerman RH. Altered fatty acid metabolism in patients with angiographically documented coronary artery disease. *Metabolism* 1994;43:982–993.
59. Wood CB et al: Increase of oleic acid in erythrocytes associated with malignancies. *Br Med J* 1985; 291:163-165.
60. Apostolov K et al: Reduction in the stearic to oleic acid ratio in leukemic cells - A possible chemical marker of malignancy. *Blut* 1985;50: 349-354.
61. Persad Ra et al: Erythrocyte stearic to oleic acid ratio in prostatic carcinoma. *Br J Urology* 1990;65: 268-270.
62. Wood CB et al: Reduction in the stearic to oleic acid ratio in the circulating red blood Cells: a possible tumor marker in solid human neoplasma. *Eur J Surg Oncol.*1985; 11: 167-169.
63. Habib NA et al: Desaturation-producing factor present in the tissue, blood and urine of cancer patients. *Canc Detec Prev* 1987; 10: 57-61.
64. Jackson JA, Riordan HD, Hunninghake R, Meng X, Sarwar Y. Red Blood Cell Membrane Fatty Acids as a Diagnostic Test. *Journal of Orthomolecular Medicine.* 1997;Vol. 12:No. 1.
65. Oth D et al: Induction by adriamycin and mitomycin C, of modifications in lipid composition, Size distribution, membrane fluidity and permeability of cultured RDM4 lymphoma cells. *Biochim Biophys Acta* 1987; 900:198-208.
66. Green D, Stone NJ, Krumlowsky A. Putative atherogenic factors in patients with chronic renal failure. *Prog Cardiovasc Dis* 1983; 26: 133-44.

67. Dumm NG, Giammona AM, Touceda LA, Raimondi C. Lipid Abnormalities In Chronic Renal Failure Patients Undergoing Hemodialysis. *MEDICINA (Buenos Aires)* 2001; 61: 142-146.
68. Castelli, WP. The triglyceride issue: a view from Framingham. *Am Heart J* 1986; 112: 432-7.
69. Hahn R, Oette K, Mondorf H, Finke K, Sieberth HG. Analysis of cardiovascular risk factors in chronic hemodialysis patients with special attention to the hyperlipoproteinemias. *Atherosclerosis* 1983; 48: 279-88.
70. Malcolm Peet, MB, ChB, FRCPsych. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids in the Treatment of Schizophrenia. *Isr J Psychiatry Relat Sci* 2008;Vol 45 No1:19–25.
71. Marianne Haag, MSc, DSc. Essential Fatty Acids and the Brain. *Can J Psychiatry*, April 2003;Vol 48:No 3.
72. Stubbs CD, Smith AD. Essential fatty acids in membrane: physical properties and function. *Biochem Soc Trans* 1990; 18: 779-81.
73. Wood JN. Essential fatty acids and their metabolites in signal transduction. *Biochem Soc Trans* 1990; 18: 785-6.
74. Wood DA, Riemersma RA, Butler S, et al. Linoleic and eicosapentaenoic acids in adipose tissue and platelets and risk of coronary heart disease. *Lancet* 1987; 177-83.
75. Kaysen GA. Hyperlipidemia of chronic renal failure. *Blood Purif* 1994;12: 60-7.
76. Laurizen L, Hansen HS, Jorgensen MH et al. The essentiality of long chain n-3 fatty acids in relation to development and function of the brain and retina. *Prog Lipid Res* 2001;40:1-94.

77. Calder PC. n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation and inflammatory diseases. *Am J Clin Nutr* 2006; 83:1505-19.
78. Segal-Isaacson CJ, Wylie-Rosett J. The cardiovascular effects of fish oil and omega-3 fatty acids. *Heart Dis* 1999;1:149-154.
79. Ertek S, Karatan O. Böbrek hastalıklarının tedavisinde omega-3 yağ asitlerinin yeri. *Ankara Üniv Tıp Fak Mecmuası* 2004;57(4):249-255.
80. Sijben JW, Calder PC. Differential immunomodulation with long-chain n-3 PUFA in health and chronic disease. *Proc Nutr Soc* 2007;66(2):237-59.
81. Mozaffarian D, Pischon T, Hankinson SE, Rifai N, Joshipura K, Willett WC, Rimm E. Dietary intake of trans fatty acids and systemic inflammation in Women. *Am J Clin Nutr.*2004;79:606-612.
82. Guigliano D, Ceriello A, Esposito K. The Effects of Diet on Inflammation. *J Am Col Card.* 2006;48:677-685.
83. Baysal A. (2009). Beslenme. 12. Baskı, Hatiboblu Yayınları, Ankara
84. Matsuyama W, Mitsuyama H, Watanabe M, Oonakahara K, Higashimoto I, Osame M, Arimura K. Effects of ω -3 polyunsaturated fatty acids on inflammatory markers in COPD. *Chest.* 2005;128: 3817-3827.
85. Simopoulos A. Essential fatty acids in health and chronic disease. *Am J Clin Nutr.* 1999;70:560-569.
86. Kris-Etherton P, Harris W, Appel LJ. Fish Consumption, Fish Oil, ω -3 Fatty Acids, and Cardiovascular Disease. *Circulation.* 2002;106: 2747.
87. Jaber R. Respiratory and allergic diseases: from upper respiratory tract infections to asthma. *Prim Care.* 2002;29 231-261.
88. James MJ, Gibson RA, Cleland LG. Dietary polyunsaturated fatty acids and inflammatory mediator production. *Am J Clin Nutr.* 2000;71:343-348.

89. Zurier RB. Fatty acids, Inflammation and Immune Responses. Prostaglandins, Leukotriens and Essential Fatty Acids. 1993;48:57-62.
90. Kelley DS. Modulation of human immune and inflammatory responses by dietary fatty acids. Nutrition. 2001;17:669-673.
91. Furukawa K, Tashiro T, Yamamori H. Effects of soybean oil emulsion and eicosapentaenoic acid on stress response and immune function after a severely stressful operation. Ann Surg 1999; 229:255.
92. Tashiro T, Yamamori H, Takagi K, Hayashi N, Furukawa K. n-3 versus n-6 polyunsaturated fatty acids in critical illness. Nutrition 1998; 14:551-553.
93. Morlion BJ, Torwesten E, Lessire H, Perkar M, Fürst P. The effect of parenteral fish oil on leukocyte membrane fatty acid composition and leukotriene synthesizing capacity in patients with postoperative trauma. Metabolism 1996; 45:1208-1213.
94. Zadak Z, Cervinkova Z. PUFA n-3 lipid emulsion- a promising agent in ARDS treatment (editorial). Nutrition 1997; 13(3):232-233.
95. Schauder P, Rohn U, Schafer G, Korff G, Schenk HD. Impact of fish oil enriched total parenteral nutrition on DNA synthesis, cytokine release and receptor expression by lymphocytes in the postoperative period. Br J Nutr 2002; 82(suppl 1):103-113.
96. Johnson JA, Griswold JA, Muakkassa FF. Essential fatty acids influence survival in sepsis. J Trauma 1993; 35(1):128-131.
97. Meydani SN, Endres S, Woods MM, et al. Oral (n-3) fatty acid supplementation suppresses cytokine production and lymphocyte proliferation: comparison between young and older women. J Nutr 1991; 121:547-55.
98. Koller M, Senkal M, Kemen M, König W, Zumtobel V, Muhr G. Impact of omega-3 fatty acids enriched TPN on leukotriene synthesis by leukocytes after major surgery. Clin Nutr 2003; 22:59-64.

99. Wachtler P, König W, Senkal M, Kemen M, Koller M. Influence of a total parenteral nutrition enriched with omega-3 fatty acids on leukotriene synthesis of peripheral leukocytes and systemic cytokine levels in patients with major surgery. *J Trauma* 1997;42:191.
100. Kelbel I, Wagner F, Wiedeck-Suger H et al. Effects of n-3 fatty acids on immune function: a double-blind, randomized trial of fish oil based infusion in post-operative patients. *Clin Nutr* 2002; 21:13-4.
101. Hasselmann M, Reimund JM. Lipids in the nutritional support of the critically ill patients. *Crit Care* 2004; 10:449-455.
102. Kasım-Karakas SE, Almerio UR, Gregory L, Wong R, Todd H, Lasley LB. Metabolic and Endocrine Effects of a Polyunsaturated Fatty Acid-Rich Diet in Polycystic Ovary Syndrome: *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(2):615-620.
103. Almario RU, Vonghavaravat V, Wong R and Sidika E, Karakas K.. Effects of Walnut Consumption on Plasma Fatty Acids and Lipoproteins in Combined Hperlipidemia. *Am J Clin Nutr.* 2001;74:72-9.
104. Delarue J, Lefolla C, Corporeau C, Lucas D. n-3 Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids: A Nutritional Tool to Prevent Insulin Resistance Associated to Type 2 Diabetes and Obesity? *Reprod. Nutr. Dev.*2004; 44:289-299.
105. Ghafoorunissa, Ibrahim A, Rajkumar L, Acharya V. Dietary (n-3) Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids Prevent Sucroseinduced Insulin Resistance in Rats. *J Nutr.* 2005;135:2634-8.
106. Lydic M, Juturu V. Dietary Approaches and Alternative Therapies for Polycystic Ovary Syndrome. *Curre Nutr Food Sci.* 2008;4:265-281.
107. Yeşil Mızrak Fk. Diyabetik Nefropati Tanısında Mikroalbüminüri Tek Seçenek Mi? *Uzmanlık Tezi.*2011.
108. ADA. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care* 2010 Jan;33 (suppl 1).

109. Ana M. Blazquez-Medela, Jose M. Lopez-Novoa, Carlos Martinez-Salgado. Mechanisms Involved in the Genesis of Diabetic Nephropathy. *Current Diabetes Reviews*. March 2010; Volume 6, Issue 2:68-87(20).
110. A.O. Phillips and R. Steadman. Diabetic nephropathy: The central role of renal proximal tubular cells in tubulointerstitial injury. *Histology and Histopathology*, 2002;17: 247-252.
111. Piero Ruggenti and Giuseppe Remuzzi. Nephropathy of type 1 and type 2 diabetes: diverse pathophysiology, same treatment? *Nephrology Dialysis Transplantation*, 2000;15(12):1900-1902.
112. Fauci, Braunwald, Kasper, Hauser, Longo, Jameson, Loscalzo (editors-in chief). *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 17th Edition. Mc Graw Hall, 2008.
113. ADA. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, volume 34, supplement 1, january 2011.
114. Caroline Jane Magri, Stephen Fava. The role of tubular injury in diabetic nephropathy. *European Journal of Internal Medicine* 2009; (20):551–555.
115. Barry M. Brenner. *Brenner Rector's the Kidney*. 7th Edition. Vol 2. 2004.
116. M. Daroux, G. Prévost, H. Maillard-Lefebvre, et al. Advanced glycation end-products: Implications for diabetic and non-diabetic nephropathies. *Diabetes & Metabolism*, 2010;36:1-10.
117. Scott C. Thomson, Volker Vallon and Roland C. Blantz. Kidney function in early diabetes: the tubular hypothesis of glomerular filtration. *Am J Physiol Physiol*. 2004 Jan;286:F8–F15.
118. Zachary T. Bloomgarden, MD. Diabetic Nephropathy. *Diabetes Care* 2008;31–no.4:823-827.

119. Hsueh WA, Moore L, Bryer-Ash M. Contemporary diagnosis and management of type 2 diabetes. 2nd Edition. Handbooks in Health Care Co., Pennsylvania, 2005.
120. Kadiroğlu AK. Hemodiyaliz ve Srekli Ayaktan Periton Diyalizi Tedavisi Alan Son Dönem Böbrek Hastalarında Kardiyovaskler Risk Faktrleri Olarak Lipidlerin ve Lipoproteinlerin Değerlendirilmesi. Yan Dal Uzmanlık Tezi (2010).
121. K/DOQI Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and startification. Kidney Disease Outcome Quality Initiative. Am J Kidney Dis 2002;39(suppl 2):S1-246.
122. Lazarus JM, Brenner BM. Chronic renal failure. In: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL (eds), Harrison's Principles of Internal Medicine.14 th edition. The McGraw-HillCompanies, Inc USA 1998: S: 1513-1520.
123. Büyüköztürk K. İç Hastalıkları Cilt 2.İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2007.
124. Süleymanlar G, Seyahi N, Altıparmak MR, Serdengeçti K. Türkiye’de Renal Replasman Tedavilerinin Gncel Durumu: Türk Nefroloji Derneği Kayıt Sistemi 2009 Yılı zet Raporu.
125. Demel RA, Jansen JW, Van Dijck PWM, Van Deenen LLM. The preferential interaction of cholesterol with different classes of phospholipids. Biochim Biophys Acta. 1977;465:1–10.
126. Cooper RA, Arner EC, Wiley JS, Shattil SJ. Modification of red cell membrane structure by cholesterol rich lipid dispersion. J Clin Invest. 1975;55:115–126.
127. Prichard SS: Impact of dyslipidemia in end-stage renal disease. J Am Soc Nephrol 2003;14 (Suppl 4): 315–320.

128. Dobell E, Chan M et al. Food preferences and food habits of patients with chronic renal failure undergoing dialysis. *J Am Diet Assoc* 1993;93:1129–1135.
129. Ikizler TA, Morrow JD, Roberts LJ, Evanson JA, Becker B, Hakim RM, Shyr Y, Himmelfarb J: Plasma F2-isoprostane levels are elevated in chronic hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 2002;58: 190–197.
130. Kwiatkowska E, Wesolowska T, Bober J, et al. Effect of Hemodialysis on the Content of Fatty Acids in Monolayers of Erythrocyte Membranes in Patients with Chronic Renal Failure. *Renal Failure* 2007;29:447–452.
131. Vishwanath BS, Fux CA, Uehlinger DE, et al. Haemodialysis activates phospholipase A₂ enzyme. *Nephrology Dialysis Transplantation* 1996;11: 109–116.
132. Dasgupta A, Kenny MA, Ahmad S: Abnormal fatty acid profile in chronic hemodialysis patients: Possible deficiency of essential fatty acids. *Clin Physiol Biochem* 1990;8:238–243.
133. Varga Z, Karpati I, Paragh G, Buris L, Kakuk G: Relative abundance of some free fatty acids in plasma of uremic patients: Relationship between fatty acids, lipid parameters, and diseases. *Nephron* 1997;77:417–421.
134. Peck LW, Monsen ER, Ahmad S: Effect of three sources of long-chain fatty acids on the plasma fatty acid profile, plasma prostaglandin E₂ concentrations, and pruritus symptoms in hemodialysis patients. *Am J Clin Nutr* 1996;64:210–214.
135. Koorts AM, Viljoen M, Kruger MC: Red blood cell fatty acid profile of chronic renal failure patients receiving maintenance haemodialysis treatment. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2002;67: 13–18.
136. Rylance PB, George MP, Saynor R, Weston MJ: A pilot study of the use of MaxEPA in haemodialysis patients. *Br J Clin Pract Suppl* 1984;31:49–54.

137. Rylance PB, Gordge MP, Saynor R, Parsons V, Weston MJ: Fish oil modifies lipids and reduces platelet aggregability in haemodialysis patients. *Nephron* 1986;43:196–202.
138. Hamazaki T, Nakazawa R, Tateno S, et al: Effects of fish oil rich in eicosapentaenoic acid on serum lipid in hyperlipidemic hemodialysis patients. *Kidney Int* 1984;26:81–84.
139. Van Acker BA, Bilo HJ, Popp-Snijders C, van Bronswijk H, Oe PL, Donker AJ: The effect of fish oil on lipid profile and viscosity of erythrocyte suspensions in CAPD patients. *Nephrol Dial Transplant* 1987;2:557–561.
140. Lempert KD, Rogers JS 2nd, Albrink MJ: Effects of dietary fish oil on serum lipids and blood coagulation in peritoneal dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1988;11:170–175.
141. Rustemeijer C, Bilo H, Beukhof J, Schouten J, Mulder C, Donker A: The effect of fish oil concentrate on serum lipids and lipoproteins in patients on maintenance hemodialysis. *Curr Ther Res Clin Exp* 1988;43:559–567.
142. Azar R, Dequiedt F, Awada J, Dequiedt P, Tacquet A: Effects of fish oil rich in polyunsaturated fatty acids on hyperlipidemia of hemodialysis patients. *Kidney Int Suppl* 1989;27:239–242.
143. Rolf N, Tenschert W, Lison AE: Results of a long-term administration of omega-3 fatty acids in haemodialysis patients with dyslipoproteinaemia. *Nephrol Dial Transplant* 1990;5:797–801.
144. Goren A, Stankiewicz H, Goldstein R, Drukker A: Fish oil treatment of hyperlipidemia in children and adolescents receiving renal replacement therapy. *Pediatrics* 1991;88: 265–268.
145. Hombrouckx RO, Bogaert AM, Leroy FM, De Vos JY, Vermaercke NM, Picavet LM, Larno LA: Polyunsaturated fatty acids of the n-3 class in chronic dialysis. *ASAIO J* 1992;38: M331–M333.

146. Fracasso A, Toffoletto P, Landini S, Morachiello P, Righetto F, Scanferla F, Genchi R, Roncali D, Bazzato G: Effect of hypertriglyceridemia correction by omega-3 fatty acids on peritoneal transport in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 1993;13 (Suppl 2):437–439.
147. Dionisio P, Caramello E, Bergia R, et al: Atherogenic risk in patients undergoing regular dialysis treatment: Improvement of lipid pattern and lipoproteins by polyunsaturated omega-3 fatty acids. *Nephrol Dial Transplant* 1994;9:458.
148. Persichetti S, Maggi S, Ponzio R, Punzo G, Clemenzia G, Cottone G: Effects of omega 3-PUFA on plasma fibrinogen levels in hypertriglyceridemic hemodialysis patients. *Minerva Urol Nefrol* 1996;48:137–138.
149. Iorio L, Saltarelli G, Nacca RG, Simonelli R, Violi F: Hyperlipidemia in dialysis patients: What treatment? *Miner Electrolyte Metab* 1997;23:311–313.
150. Yorioka N, Masaki T, Ito T, Kushihata S, Nishida Y, Taniguchi Y, Oda H, Yamakido M: Lipid-lowering therapy and coagulation/fibrinolysis parameters in patients on peritoneal dialysis. *Int J Artif Organs* 2000;23:27–32.
151. Panzetta O, Cominacini L, Garbin U, Fratta Pasini A, Gammaro L, Bianco F, Davoli A, Campagnola M, De Santis A, Pastorino AM, et al.: Increased susceptibility of LDL to in vitro oxidation in patients on maintenance hemodialysis: Effects of fish oil and vitamin E administration. *Clin Nephrol* 1995;44:303–309.
152. Bonanome A, Biasia F, De Luca M, et al: n-3 fatty acids do not enhance LDL susceptibility to oxidation in hypertriacylglycerolemic hemodialyzed subjects. *Am J Clin Nutr* 1996;63: 261–266.
153. Holdt B, Korten G, Knippel M, Lehmann JK, Claus R, Holtz M, Hausmann S: Increased serum level of total homocysteine in CAPD patients despite fish oil therapy. *Perit Dial Int* 1996;16 (Suppl 1):246–249.

154. Donnelly SM, Ali MA, Churchill DN: Effect of n-3 fatty acids from fish oil on hemostasis, blood pressure, and lipid profile of dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 1992;2:1634–1639.
155. Khajehdehi P: Lipid-lowering effect of polyunsaturated fatty acids in hemodialysis patients. *J Ren Nutr* 2000;10:191–195.
156. Ando M, Sanaka T, Nihei H: Eicosapentanoic acid reduces plasma levels of remnant lipoproteins and prevents in vivo peroxidation of LDL in dialysis patients. *J Am Soc Nephrol*.1999;10:2177–2184.
157. Schmitz PG, McCloud LK, Reikes ST, Leonard CL, Gellens ME: Prophylaxis of hemodialysis graft thrombosis with fish oil: Double-blind, randomized, prospective trial. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:184–190.
158. Andersen LF, Solvoll K, Johansson LR, et al. Evaluation of a food frequency questionnaire with weighed records, fatty acids, and alpha-tocopherol in adipose tissue and serum. *Am J Epidemiol* 1999;150:75–87.
159. Baylin A, Kabagambe EK, Ascherio A, et al. High18:2 trans-fatty acids in adipose tissue are associated with increased risk of nonfatal acute myocardial infarction in Costa Rican adults. *J Nutr* 2003;133:1186–91.
160. Siscovick DS, Raghunathan TE, King I, et al. Dietary intake and cell membrane levels of long-chain n.3 polyunsaturated fatty acids and the risk of primary cardiac arrest. *JAMA* 1995;274:1363–7.
161. Qi Sun, Jing Ma, Hannia Campos, et al. Comparison between plasma and erythrocyte fatty acid content as biomarkers of fatty acid intake in US women. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2007;Vol. 86, No. 1:74-81.
162. Dayton S, Hashimoto S, Dixon W, Pearce ML. Composition of lipids in human serum and adipose tissue during prolonged feeding of a diet high in unsaturated fat. *J Lipid Res* 1966;7:103–11.

163. Katan MB, Deslypere JP, van Birgelen AP, et al. Kinetics of the incorporation of dietary fatty acids into serum cholesteryl esters, erythrocyte membranes, and adipose tissue: an 18-month controlled study. *J Lipid Res* 1997;38:2012–22.
164. Ma J, Folsom AR, Shahar E, Eckfeldt JH. Plasma fatty acid composition as an indicator of habitual dietary fat intake in middle-aged adults. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. *Am J Clin Nutr* 1995;62:564–71.
165. Olsen SF, Hansen HS, Sandstrom B, Jensen B. Erythrocyte levels compared with reported dietary intake of marine n.3 fatty acids in pregnant women. *Br J Nutr* 1995;73:387–95.
166. Stanford JL, King I, Kristal AR. Long-term storage of red blood cells and correlations between red cell and dietary fatty acids: results from a pilot study. *Nutr Cancer* 1991;16:183–8.
167. Baylin A, Kim MK, Donovan-Palmer A, et al. Fasting whole blood as a biomarker of essential fatty acid intake in epidemiologic studies: comparison with adipose tissue and plasma. *Am J Epidemiol* 2005;162:373–81.
168. www.cyberlipid.org/fattyt/fatt0001.htm
169. IUPAC Nomenclature for Chromatography. IUPAC Recommendations 1993, *Pure & Appl. Chem* 1993;Vol. 65, No. 4:819–872.
170. Chromatography Meditsiiniline keemia/Medical chemistry. [http://tera.chem. ut. ee/~koit/arstpr/krom_en.pdf](http://tera.chem.ut.ee/~koit/arstpr/krom_en.pdf)
171. http://en.wikipedia.org/wiki/Gas_chromatography.
172. "GasChromatography".LindeAG.http://hiq.linde-gas.com/international/web/ lg/spg/like35lgspg.nsf/docbyalias/anal_gaschrom. Retrieved 11 March 2012.
173. Gas Chromatography Detectors. Dr RPW Scott. <http://www.chromatography-online.org/GC-Detectors/Classification/rs1.html>.

174. Gower DB. Gas Chromatography in Biology and Medicine. Ciba Foundation Symposium. Edited by Ruth Porter. J & A Churchill 1969.
175. Parker KD, CR Fontan, YL Yee and PL Kirk. Gas Chromatographic Determination of Ethyl Alcohol in Blood for Medicolegal Purposes. Anal.Chem. 1963;34:1234.
176. Lial W. Brewer. Gas Chromatography, Chapter 21. P:257.
177. Di Marino L, Maffettone A, Cipriano P, Celentano E, Galasso R, Iovine C, Berrino F, Panico S. Assay of erythrocyte membrane fatty acids. Effects of storage time at low temperature. Int J Clin Lab Res. 2000;30(4):197-202.
178. Sigma Aldrich. Fatty Acid/FAME Application Guide (www.sigmaaldrich.com).
179. Supelco™ Column Test Report (Col No.48333-07) Conditioning Instructions.
180. Zivak FA GC/FID (Fizyolojik) Yağ Asidi Kiti
181. Seçilmiş H, Yılmaz M. 37 Adet Yağ Asidinin Ayrımı ve Çeşitli Yağlara Uygulanması. Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu.
182. Shirasawa S, Sasaki A, Saida Y, Satoh C. A rapid method for trans-fatty acid determination using a single capillary GC. J Oleo Sci. 2007;56(2):53-8
183. Supelco™ 37 Component FAME Mix, (Kat No.47885-U) Katalog Metodu.
184. The Analysis of Positional Geometric Fatty Acid Methyl Ester Isomers Using the 100m SP-2560 Capillary Column (<http://www.docstoc.com/docs/18103365/The-Analysis-of-Positional-Geometric-Fatty-Acid-Methyl-Ester>).
185. Prescott SL, Calder PC. N-3 polyunsaturated fatty acids and allergic disease. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2004;7:123-9.
186. Clandinin MT, Cheema S, Field CJ, et al. Dietary fat: exogenous determination of membrane structure and cell function. FASEB J 1991;5:2761-9.

187. Sun Q, Ma J, Campos H, Hankinson SE, Hu FB. Comparison between plasma and erythrocyte fatty acid content as biomarkers of fatty acid intake in US women. *Am J Clin Nutr* 2007;86:74–81.
188. Ebaugh FG Jr., Emerson CP, Ross JF. The use of radioactive chromium 51 as an erythrocyte tagging agent for the determination of red cell survival in vivo. *J Clin Invest* 1953;32:1260–76.
189. Fuhrman BJ, Barba M, Krogh V, et al. Erythrocyte-membrane phospholipid composition as a biomarker of dietary fat. *Ann Nutr Metab* 2006;50:95–102.
190. <http://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/gas-chromatography/fatty-acid-methyl-ester/fame-capillary-columns.html#sp2560>.
191. Clark C, Kulig, Thomas P, Beresford, And Gregory T, Everson. Rapid, Accurate, And Sensitive Fatty Acid Ethyl Ester Determination By Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *J Lab Clin Med* March 2006;133-138.
192. http://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/analytical_products.html?TablePage=14540681.
193. Manzano P, Arnáiz E, Diego JC, Toribio L, García-Viguera C, Bernal JL, Bernal J. Comprehensive two-dimensional gas chromatography with capillary flow modulation to separate FAME isomers. *J Chromatogr A*. 2011 Jul 29;1218(30):4952-9.
194. Fenner GP, Parks LW. Lipids. Gas chromatographic analysis of intact sterol esters in wild type *Saccharomyces cerevisiae* and in an ester accumulating mutant. 1989 Jul;24(7):625-9.
195. Urias KR. Experimental Studies in Temperature Programmed Gas Chromatography. Master Of Science In Chemistry. 2002.

196. de Lorgeril M, Renaud S, Mamelle N, et al. Mediterranean alinolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. *Lancet*. 1994;343:1454–9.
197. Grimsgaard S, Bonna KH, Bjerve KS. Fatty acid chain length and degree of unsaturation are inversely associated with serum triglycerides. *Lipids*. 2000 Nov;35(11):1185-93.
198. Bagdade J, Casaretto A. Effect of chronic uremia, haemodialysis and renal transplantation on plasma lipids and lipoproteins. *J Clin Invest*. 1976;87:37–41.
199. Chan MK, Varghese Z, Moorhead JF. Lipid abnormalities in uremia. *Kidney Int*. 1981;19:625–37.
200. Elshamaa MF, Sabry SM, Elghoroury EA, et al. Serum Lipid Profile and Plasma Fatty Acids Levels in Hemodialysis Pediatric Patients-Possible Deficiency of Essential Fatty Acids. *Kidney* 2010;19:316–323.
201. Ibels LS, Simons LA, King JD. Plasma post heparin lipolytic activity and triglyceride clearance in uremic haemodialysis patients and renal allograft recipients. *J Lab Clin Med*. 1976;87:648–58.
202. Javor ED, Moran SA, Young JR et al. Proteinuric nephropathy in acquired and congenital generalized lipodystrophy: baseline characteristics and course during recombinant leptin therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:3199-3207.
203. Lennon R, Pons D, Matthew AS et al. Saturated fatty acids induce insulin resistance in human podocytes: implications for diabetic nephropathy. *Nephrol. Dial. Transplant*. 2009;24 (11):3288-3296.
204. Dimopoulos N, Watson M, Sakamoto K, et al. Differential effects of palmitate on insulin action and glucose utilization in rat L6 skeletal muscle. *Biochem J* 2006;399:473-481.

205. Van Epps-Fung M, Williford J, Wells A, et al. Fatty acid-induced insulin resistance in adipocytes. *Endocrinology* 1997;138:4338-4345.
206. Hunnicutt JW, Hardy RW, Williford J, et al. Saturated fatty acid-induced insulin resistance in rat adipocytes. *Diabetes* 1994;43:540-545.
207. Wang L, Folsom AR, Zheng ZJ, et al: ARIC Study Investigators. Plasma fatty acid composition and incidence of diabetes in middle-aged adults: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Clin Nutr* 2003;78:91–8.
208. Hodge AM, English DR, O'Dea K, et al. Plasma phospholipid and dietary fatty acids as predictors of type 2 diabetes: interpreting the role of linoleic acid. *Am J Clin Nutr* 2007;86:189–97.
209. Laaksonen DE, Lakka TA, Lakka HM, et al. Serum fatty acid composition predicts development of impaired fasting glycaemia and diabetes in middle-aged men. *Diabet Med* 2002;19:456–64.
210. Krachler B, Norberg M, Eriksson JW, et al. Fatty acid profile of the erythrocyte-membrane preceding development of Type 2 diabetes mellitus. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2008;18:503–10.
211. Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, et al. Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Circulation*. 2003;108:2154-2169.
212. Morbidity & mortality. Atlas of end-stage renal disease in the United States. *Am J Kidney Dis*. 2009;53(suppl 1):S211-S226.
213. Priori SG, Aliot E, Blömstrom-Lundqvist C, et al. Task Force on Sudden Cardiac Death, European Society of Cardiology. *Europace*. 2002;4:3-18.

214. Herzog CA, Mangrum JM, Passman R. Sudden cardiac death and dialysis patients. *Semin Dial.* 2008;21:300-307.
215. Siscovick DS, Raghunathan TE, King I, et al. Dietary intake and cell membrane levels of long-chain ω -3 polyunsaturated fatty acids and the risk of primary cardiac arrest. *JAMA.* 1995;274:1363-1367.
216. Albert CM, Campos H, Stampfer MJ, et al. Blood levels of longchain n-3 fatty acids and the risk of sudden death. *N Engl J Med.* 2002;346:1113-1118.
217. Marchioli R, Barzi F, Bomba E, et al. Early protection against sudden death by n-3 polyunsaturated fatty acids after myocardial infarction: time-course analysis of the results of the Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico (GISSI)-Prevenzione. *Circulation.* 2002;105:1897-1903.
218. Burr ML, Fehily AM, Gilbert JF, et al. Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART). *Lancet.* 1989;2:757-761.
219. Friedman AN, Moe SM, Perkins SM, Li Y, Watkins BA. Fish consumption and omega-3 fatty acid status and determinants in long-term hemodialysis. *Am J Kidney Dis.* 2006;47:1064-1071.
220. Dasgupta A, Kenny MA, Ahmad S. Abnormal fatty acid profile in chronic hemodialysis patients: possible deficiency of essential fatty acids. *Clin Physiol Biochem.* 1990;8(5):238-43.
221. Peuchant E, Salles C, Vallot C, Wone C, Jensen R. Increase of erythrocyte resistance to hemolysis and modification of membrane lipids induced by hemodialysis. *Clin Chim Acta.* 1988;178:271-282
222. Westhuyzen J, Saltissi D and Stanbury V. Oxidative Stress and Erythrocyte Integrity in End-Stage Renal Failure Patients Hemodialysed Using a Vitamin E-Modified Membrane. *Ann Clin Lab Sci* Winter 2003 vol. 33 no. 1 3-10.

223. Sinzinger M, Leitner C. Eicosanoids of platelet and vascular wall in chronic renal insufficiency. *Am J Nephrol.* 1987;7:211–30.
224. An WS, Kim SE, Kim KH, Lee S, Park Y, Kim HJ, et al. Comparison of fatty acid contents of erythrocyte membrane in hemodialysis and peritoneal dialysis patients. *J Renal Nutr.* 2009;19(4):267–74.
225. Katerina H, Maria H, Anatoli P, Vassilios M, Theodouli P, Victor A, et al. Plasma fatty acids in asthmatic children of Northern Greece. *Arch Med Sci.* 2009;5(1):51–6.