

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

HİPERKOLESTEROLEMİK BİREYLERDE FINDIK TÜKETİMİNİN
SERUM VE PLAZMADA OKSİDAN - ANTİOKSİDAN DENGEEYE
ETKİSİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
TUĞBA MAZLUM

TEMMUZ - 2009
TRABZON

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

HİPERKOLESTEROLEMİK BİREYLERDE FINDIK TÜKETİMİNİN
SERUM VE PLAZMADA OKSİDAN - ANTİOKSİDAN DENGEEYE
ETKİSİNİN İNCELENMESİ

TUĞBA MAZLUM

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 25.06.2009

Tezin Sözlü Savunma Sınavı : 09.07.2009

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Asım ÖREM

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Orhan DEĞER

Jüri Üyesi : Doç. Dr. İlknur TOSUN

Enstitü Müdürü : Prof. Dr. Orhan DEĞER

TEMMUZ -2009

TRABZON

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	iii
TABLolar DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
KISALTMALAR	vi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Oksidan Sistemler ve Oksidatif Stres	4
2.2. Serbest Radikaller	5
2.3. Serbest Radikal Hasarı	9
2.3.1. Lipid Peroksidasyonu	10
2.3.2. Protein Oksidasyonu	11
2.4. Antioksidan Sistemler	13
2.5. Sert Kabuklu Meyveler	16
2.6. Fındık	18
3. MATERYAL ve METOD	20
3.1. Materyal	20
3.1.1. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler	20
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	21
3.2. Metod	22
3.2.1. Deneyin Planlanması ve Numunelerin Toplanması	22
3.2.2. Biyokimyasal Parametreler	23
3.2.3. Plazma Lipid Peroksid (MDA) Seviyesi Tayini	23
3.2.4. Toplam Oksidan Statünün (TOS) Belirlenmesi	25
3.2.5. Toplam Antioksidan Statünün (TAS) Belirlenmesi	27
3.2.6. İleri Oksidasyon Protein Ürünü (AOPP) Ölçümü	29

3.2.7. Glutasyon Redüktaz (GSH-R) Aktivitesi Tayini	31
3.2.8. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesi Tayini	32
3.3. İstatistiksel Analizler	34
4. BULGULAR	35
4.1. Çalışma Grubunun Demografik Verileri ve Başlangıç, 30. Gün, 60. Gün ve 90. Güne Ait parametrelerin Ortalama Değerleri	35
4.2. Çalışma Grubunda Serum Ve Plazmada Oksidan- Antioksidan Sistem Parametre Bulguları	36
4.3. Çalışma Grubunda Başlangıç, 30. Gün, 60. Gün ve 90. Günde Parametreler Arası Korelasyonlar	38
4.4. Çalışma Grubuna Ait Parametrelerin Yüzde Değişimleri Arasındaki Korelasyonlar	38
5. TARTIŞMA	39
5.1. Çalışmanın Dezavantajları	45
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	46
7. ÖZET	48
8. SUMMARY	49
9. KAYNAKLAR	50
ÖZGEÇMİŞ	vii

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmada bilgi ve deneyimlerini aktaran, her konuda bana yardımcı olan tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Asım Örem başta olmak üzere, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Orhan Değer' e, Sayın Prof. Dr. E. Edip Keha' ya, Sayın Prof. Dr. Ekin Önder'e, Sayın Doç. Dr. S. Caner Karahan'a, Sayın Doç. Dr. Birgül Vanizor Kural' a, Sayın Doç. Dr. Yüksel Aliyazıcıoğlu' na ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Ahmet Alver' e,

Yardımlarından dolayı çalışma arkadaşlarım Dr. Fulya Balaban Yücesan ve Arş. Gör. Buket Akcan' a,

Anabilim dalındaki tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Beni bu günlere getiren ve her zaman destekleyen aileme sonsuz teşekkür ederim.

Tuğba Mazlum

Bu çalışma K.T.Ü. B.A.P. 2007.114.001.4 kod nolu proje ile desteklenmiştir.

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: En Sık Karşılaşılan Serbest Radikaller Ve Serbest Radikal Üreten Türlerin Bazı Özellikleri	6
Tablo 2 : Bazı Sert Kabuklu Meyvelerin 100 Gramında Bulunan Yağ Asidi, E Vitamini, Arginin Ve Metiyonin Miktarları	17
Tablo 3 : Fındığın 100 Gramında Bulunan Yağ Asitleri Ve Miktarları	18
Tablo 4 : Çalışma Grubuna Ait Demografik Veriler	35
Tablo 5: Çalışma Grubunun Dört Döneme Ait Serum Ve Lipoprotein Lipid Parametreleri	36
Tablo 6 : Hiperkolesterolemik Bireylerin Serum Ve Plazmada Oksidan- Antioksidan Sistem Değerleri	37

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1 : Solunum Sisteminde Oksijenin İndirgenme Metabolizması	7
Şekil 2 : Malondialdehit (MDA) Oluşum Basamakları	11
Şekil 3 : Protein Karbonil Oluşumuna Yol Açan Primer Modifikasyon Reaksiyonları	13
Şekil 4 : Antioksidanların Sınıflandırılması	16
Şekil 5 : Plazma MDA Seviyesi İçin Standart Grafiği	25
Şekil 6 : Toplam Oksidan Kapasite (TOS) İçin Standart Grafiği	27
Şekil 7 : Toplam Antioksidan Kapasite (TAS) İçin Standart Grafiği	29
Şekil 8 : Fındık Diyeti Yüzde Değişim Korelasyon Grafiği (MDA- GSH-R)	39

KISALTMALAR

HDL	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
MUFA	: Tekli doymamış yağ asiti
NCEP-ATP III	: National Cholesterol Education Programme Adult Treatment Panel III
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asiti
TG	: Triaçil gliserol
TOS	: Toplam oksidan kapasite
TAS	: Toplam antipksidan kapasite
AOPP	: İleri oksidasyon protein ürünü
MDA	: Malondialdehit
GSH-R	: Glutasyon redüktaz
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
Apo AI	: Apolipoprotein AI
Apo B	: Apolipoprotein B

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Canlıların yaşamlarını devam ettirebilmeleri için oksijene ihtiyaçları vardır. Bu nedenle karbon ve hidrojen zengin besinleri okside ederler.

Oksijen, dış orbitaline bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron eklenmesiyle serbest oksijen radikaline dönüşür. Serbest radikaller dış orbitallerinde eşleşmemiş elektron içerdikleri için kolayca diğer moleküllerle reaksiyona girerek onları tahrip eder ve organizmada çok etkili hasarların meydana gelmesine sebep olurlar (1).

Serbest radikallerin etkisiyle oluşabilecek oksidatif hasarları önlemek amacıyla canlı sistem tarafından gerçekleştirilen savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar “Antioksidan Savunma Mekanizmaları” ya da “Antioksidan Savunma Sistemleri” olarak adlandırılırlar. Bu sistemler, serbest radikallerin oluşturduğu oksidasyonu engelleyen veya önleyen bileşiklerden oluşurlar.

Antioksidan savunma sistemi doğal antioksidanlar ve yapay antioksidanlar olmak üzere iki kısma ayrılır. Doğal antioksidanlar da enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılırlar. Enzimatik antioksidanların en önemlilerini; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GSSG-R), glutatyon S transferaz (GST) ve sitokrom oksidaz oluşturur. Enzimatik olmayan antioksidanlar ise kendi aralarında endojen ve eksojen kaynaklı olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Endojen antioksidanlar seruloplazmin, transferin, glutatyon, albumin, ferritin, seruloplazmin ve bilirubindir. Eksojen antioksidanlar ise E vitamini (α - tokoferol), A vitamini (β - karoten), C vitamini (askorbik asit) ve flavonoidlerdir (2, 3, 4). Yapay antioksidanlar da

bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve bütillenmiş hidroksianisol (BHA) ve troloksdur.

Serbest radikaller, protein, lipid, karbohidrat ve DNA gibi canlıların yapısında bulunan hemen hemen tüm bileşiklerle reaksiyona girerek etkileşir ve hasar meydana getirilebilirler (5, 7).

Serbest radikallerin etki ettiği patolojik durumlar arasında kalp ve kardiyovasküler sistem (ateroskleroz), akciğer ve solunum sistemi (kistik fibroz), karaciğer (hepatit, sentez bozuklukları), genel vücut sistemleri (immün yetersizlik), bağırsak (Crohn hastalığı), pankreas (diabet), testisler (infertilite) sayılabilir (7).

Hiperlipidemi kan lipid düzeylerinin normalin üzerinde olması ile karakterize bir durumdur. Bu durum diyet ve ilaç tedavisiyle kontrol altına alınabilir. Diyet, korunma ve tedaviye yardımcı olması ile önemlidir. İlaç tedavisi devam etse bile diyet sürdürülmeli ve yaşam boyu devam eden bir alışkanlık haline getirilmelidir. Günlük diyetle alınan sebze, meyve, tam tahıl oranının artırılması, sert kabuklu meyvelerin (findık, fıstık, badem, ceviz gibi) ve rafine edilmiş tahıl tüketiminin (örneğin, beyaz ekmek ve şeker) azaltılması aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklar yönünden sağlıklı beslenmenin önemli unsurlarındandır (8).

Sert kabuklu meyvelerin tüketimi özellikle kalp ve damar hastalıklarının gelişimini önleme amacıyla tavsiye edilen pek çok diyetle yer almaktadır. Son yıllarda yapılan araştırmalar sert kabuklu meyveler sınıfından olan findık tüketiminin insan beslenmesi üzerinde olumlu etkilerinin olduğunu belirlemiştir. Findık, doymuş yağ asidi yönünden fakir, MUFA (özellikle oleik asit) yönünden zengin, PUFA miktarı yeterli ve antioksidan (E vitamini) potansiyeli yüksektir. Ayrıca çinko, selenyum, kalsiyum, fosfor, magnezyum gibi elementleri de içerir. Bu nedenle findık ve findık yağına günlük diyetle (yağdan gelen enerjinin %18- 20' sini geçmeyecek şekilde) yer verilmesinin, aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklardan korunmada yararlı olabileceği öne sürülmüştür (9, 10). FDA (Food and Drug Administration) 2003' de sert kabuklu meyveleri (findık, fıstık, badem, ceviz gibi) kardiyovasküler hastalıklardan korunmada tüketilmesi gerekli gıdalar arasında bildirmiştir.

Ülkemiz fındık üretimi açısından dünyada ilk sıralarda yer almasına rağmen tüketimi oldukça düşüktür (11). Sert kabuklu meyve tüketiminin hiperkolesterolemik bireylerde lipid profili üzerine etkili olduğu çalışmalar ile gösterilmiştir (12).

Bu çalışmada, NCEP ATP III (National Cholesterol Education Programme Adult Treatment Panel III) kriterlerine göre ilaç tedavisi gerektirmeyen hiperkolesterolemik gönüllü bireylerde her gün düzenli fındık tüketiminin serum ve plazmada oksidan – antioksidan denge üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla antioksidan enzimlerin (glutasyon peroksidaz, glutasyon redüktaz), total oksidan kapasite (TOS), total antioksidan kapasite (TAS), lipid peroksidasyon ürünleri (MDA), ileri protein oksidasyon ürünü (AOPP) düzeyleri belirlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Oksidan Sistemler ve Oksidatif Stres

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak tanımlanır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına sebep olur (13). Oksidatif stres, oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulmasıyla hasarlara yol açarak insanda pek çok hastalığın oluşmasını sağlayan durum olarak tanımlanır (2, 14). Oksidatif olayların meydana gelmesi serbest radikal artışıyla ilişkili bir durumdur. Bunun sonucunda hücreler, dokular ve organlar için tehlikeli olan pek çok patolojik şartlar oluşur ki bunlar kardiyovasküler hastalıklardan nöronal bozukluklara, inflamasyondan yaşlanmaya kadar geniş alanda etki gösterir ve dejeneratif hasarlar meydana gelir (15, 16). Bunlara ek olarak vasküler hasar oluşabildiği gibi oksidatif stres esnasında immün sistemdeki fagositik hücrelerin aktive olmasıyla solunumsal patlama oluşabilir (17).

Aşırı yağ ve şeker miktarı yüksek gıdalarla beslenme, alkol ve yoğun egzersizler de oksijen kullanımındaki artışla beraber vücudumuzdaki serbest radikallerin miktarının artmasına neden olmaktadır. Serbest radikallerin artışı, vücutta somatik hücrelere ve bağışıklık sistemine etki ederek oksidasyona sebebiyet verir. Vücudumuz normal fonksiyonları için enerji üretirken, serbest radikal oluşmasına da neden olur. Çevre kirliliği, kimyasal maddeler, petrokimya ürünleri,

sanayi atıkları, ilaçlar, güneşin UV ışınları, ozon kozmik ışınlar, X-ışınları, virüsler, enfeksiyon, stres, sigara dumanı ve otomobil egzoz gazları gibi pek çok etken vücudumuzdaki serbest radikallerin sayısını sürekli olarak artırır (6) .

2.2. Serbest Radikaller

Serbest radikaller üzerinde eşleşmemiş elektron taşıyan atom veya moleküllerdir. Biyolojik sistemlerde çoğunlukla aerobik metabolizmanın normal bir sonucu olarak ortaya çıkarlar. Serbest radikalleri oluşturan bu eşleşmemiş elektronlar yüksek enerjilidir ve eşleşmiş elektronlara saldırır. Bu işlem serbest radikalleri tehlikeli yapar. Bir serbest radikal, çift halde bulunan elektronların çoğunu birbirinden ayırarak reaksiyonu durdurur. Ama sonuçta serbest radikal kendine bir elektron alarak elektron çifti haline geçer, diğer elektronsa yeni bir serbest radikal oluşturur. Serbest radikaller çok kısa ömürlü olmalarına karşın, radikal olmayan maddelerle reaksiyona girip onları da radikal yaparak bir dizi zincir reaksiyonu başlatırlar. Zincir reaksiyonlarını başlatmaları ve radikal oluşturmalarından dolayı oldukça tehlikelidirler. Serbest radikaller, eşleşmemiş elektronunun belirtilmesi amacıyla üst kısımlarına yazılan bir nokta (X) ile gösterilirler (18).

Eşleşmemiş elektron biyolojik önemi olan birçok molekülde bulunabilir. Sülfür, karbon, hidrojen, oksijen ve nitrojen merkezli radikaller olabilir (9).

Serbest radikaller, vücutta akciğer ve solunum sistemi (kistik fibroz) , kalp ve kardiyovasküler sistem (ateroskleroz), karaciğer, pankreas, immün yetmezlik, overler ve testisler, (infertilite) , barsak (Croh'n hastalığı) olmak üzere geniş bir etki alanına sahiptir. Bu hastalıkların serbest radikaller ve okside edici ajanlarla ilişkili olduğu çeşitli araştırmalarla gösterilmiştir (19). Çoğunlukla fizyolojik olarak meydana gelmelerine rağmen serbest radikaller, başta lipidler olmak üzere proteinler, DNA, karbohidratlar ve diğer bazı moleküller üzerinde toksik etki gösterirler. Oksidan- antioksidan dengenin oksidanlar lehine olduğu durumlarda vücut yapısal ve fonksiyonel olarak çeşitli patolojik oluşumlara maruz kalır (20).

Proteinlerin, peptid bağlarının hidrolizi, disülfid bağı oluşumu ve çapraz bağlanma ile üç boyutlu yapısını ve böylece fonksiyonlarını değiştirirler. DNA üzerindeki hasarları ise mutasyon oluşturarak gerçekleştirir (7, 21).

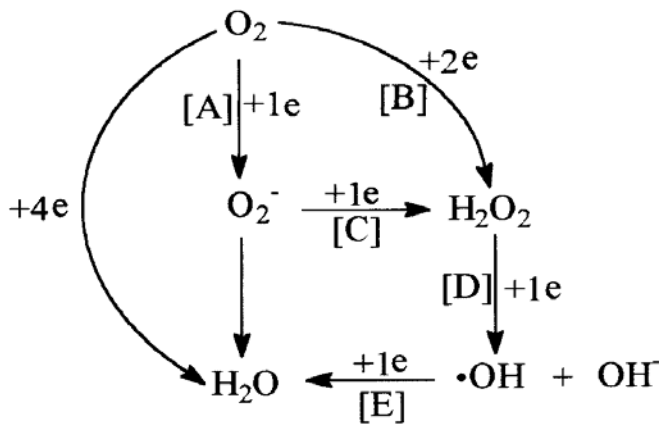
Radikaller, oksijen içerip içermediklerine göre, serbest oksijen radikalleri (SOR) ve oksijen içermeyen radikaller olarak ayrılır (20). Tablo 1’de organizmalarda en çok oluşan ve tanınan serbest radikaller belirtilmektedir. Serbest radikallerin olumsuz etkilerinden en fazla zarar gören yapılardan biri membranlardır. Serbest radikaller, membranlardaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış çift bağları ile kolaylıkla reaksiyona girerek çeşitli peroksidasyon ürünleri meydana getirirken, membranların yapısını ve fonksiyonunu bozup, membran enzimlerinin inaktivasyonuna neden olurlar (6).

Tablo 1. En Sık Karşılaşılan Serbest Radikaller Ve Serbest Radikal Üreten Türlerin Bazı Özellikleri

Serbest Radikalin ve Radikal Üreten Türün		
Adı	Simgesi	Özelliği
Hidrojen radikali	H [•]	Bilinen en basit radikal
Süperoksit radikali	O ₂ ^{•-}	Oksijen metabolizmasının ilk ara ürünü
Hidroksil radikali	OH [•]	En toksik (reaktif) oksijen metaboliti radikali
Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂	Reaktivitesi çok düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf
Singlet oksijen	¹ O ₂	Yarılanma ömrü kısa, güçlü oksidatif form
Perhidroksi radikali	HO ₂ [•]	Lipidlerde hızlı çözünerek lipid peroksidasyonunu artırmaktadır
Peroksil radikali	ROO ^{•-}	Perhidroksile oranla daha zayıf etkili, lipidlere lokalize olma yeteneği

Triklorometil radikali	$\text{CCl}_3\cdot$	CCl_4 metabolizması ürünü, karaciğerde üretilen bir radikal
Tiyil radikali	$\text{RS}\cdot$	Sülfürlü ve eşleşmemiş elektron içeren türlerin genel adı
Alkoksil radikali	$\text{RO}\cdot$	Organik peroksitlerin yıkımı ile üretilen oksijen metaboliti
Azot monoksit	NO	<i>L</i> – argininden <i>in vivo</i> üretilir
Azot dioksit	NO_2	NO 'in oksijen ile reaksiyonundan üretilir

Oksijenin kısmi indirgenmesi sonucu serbest oksijen radikalleri oluşur. Bu indirgenme Şekil 1'de görülen mekanizmalarla, genellikle tek elektronların transferini içeren basamaklar halinde gerçekleşir (18, 22, 23).

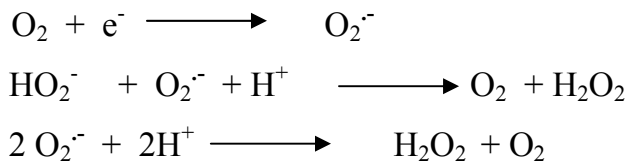


Şekil 1. Solunum Sisteminde Oksijenin İndirgenme Metabolizması

Moleküler oksijenin bir elektron indirgenmesiyle süperoksit (O_2^-), iki elektron indirgenmesiyle hidrojen peroksit (H_2O_2) ve üç elektron indirgenmesiyle hidroksil radikali ($\text{OH}\cdot$) meydana gelir (Şekil 1). Hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hipoklorik asit (HOCl) gibi bazı oksijen türevleri radikalik özellik göstermemesine

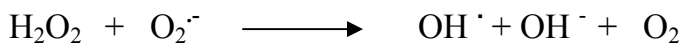
rağmen son derece reaktif oluşları sebebiyle diğer oksijen radikalleri ile birlikte sınıflandırılırlar. Oluşan bu radikallerin bir kısmı lizozomlarda ve lökositlerde ksenobiyotik ve savunma mekanizmasında rol oynarlar. Temel haldeki oksijen triplet oksijendir ve $^3\text{O}_2$ olarak gösterilir (20).

Süperoksit (O_2^-) moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesiyle meydana gelen radikaldir. Daha çok O_2^- veya O_2^- anyonu şeklinde gösterilir. Süperoksit radikali aerobik hücrelerde oldukça sık oluşur. Fakat daha çok elektron transfer sistemlerinde meydana gelir. Bunun yanında pek çok enzimatik ve enzimatik olmayan yollarla da meydana gelebilir (24).

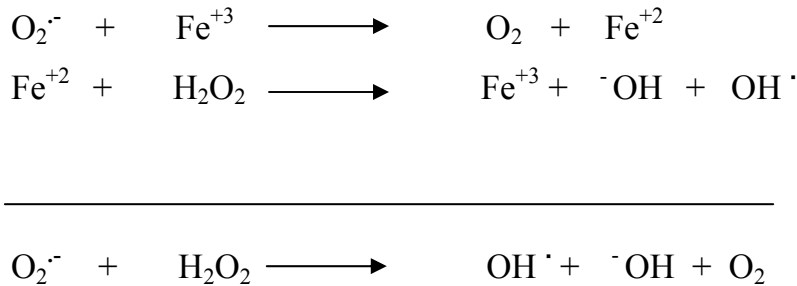


Süperoksit radikali, diğer radikallere nazaran daha az toksik etkiye sahiptir. Çünkü bu radikal, yüklü olduğu için hücre membranından doğrudan geçemez. Ancak eritrosit membranlarındaki anyon kanalından geçebilir. Anyon kanalından Cl^- ve HCO_3^- iyonlarının yer değiştirmesiyle geçebilmektedir. Süperoksit radikalinin esas zararlı etkisi onun protonlanmasıyla oluşmaktadır. Protonlanma ile çok daha aktif bir radikal olan perhidroksil radikali (HO_2^-) meydana gelir. Süperoksit radikali ile perhidroksil radikali birbirleriyle reaksiyona girdiklerinde biri yükseltgenirken diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonu sonucu ise oksijen molekülü ve hidrojen peroksit meydana gelir. Süperoksit radikali, oldukça reaktif bir molekül olup, iyi bir indirgeyici ve zayıf bir oksitleyici maddedir (25).

Hidrojen peroksit bir radikal olmadığı halde doğrudan çeşitli radikallerin oluşumunda önemli bir rol oynar. Süperoksit ile reaksiyona girerek en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikalini oluşturur.



Bu reaksiyon ‘‘Haber - Weiss Reaksiyonu’’ olarak adlandırılır. Haber - Weiss reaksiyonu katalizörlü ya da katalizörsüz meydana gelebilir. Katalizörsüz reaksiyon oldukça yavaş olup, demir katalizörlüğündeki reaksiyon ise çok hızlıdır. Bu reaksiyonda önce Fe^{+3} süperoksit tarafından Fe^{+2} 'ye indirgenir. Daha sonra Fe^{+2} kullanılarak ‘‘Fenton Reaksiyonu’’ ile hidrojen peroksitin dismutasyonu sonucu OH^{\cdot} ve OH^{-} oluşur (18, 26).



Biyolojik sistemlerde aerobik solunumun dışında, enzimatik ya da enzimatik olmayan pek çok yolla daha serbest oksijen türleri (SOR) oluşmaktadır. Bunlardan bir tanesi olan azot monoksit (veya nitrik oksit) (NO), canlı sistemler de üretilen serbest bir oksijen radikalidir. Nitrik oksit birçok farklı fonksiyona sahip olan bir aracı moleküldür. Sistemik kan basıncının düzenlenmesinde, sinir sisteminde ikincil mesajcı olarak, immün sistemin oluşmasında çeşitli fizyolojik rollere sahiptir (27). Patolojik şartlarda aşırı miktarlarda sentezlenen nitrik oksit antimikrobiyal etki göstermesi gibi hem yararlı işlevler görebilir, hem de hücre öldürücü etki gösterebilir ve doku hasarına neden olabilir. Nitrik oksit çeşitli hücrelerde fizyolojik ya da patofizyolojik uyarılara cevap olarak L- argininden sentezlenir. Bu sentez küçük bir enzim ailesi olan nitrik oksit sentazlar (NOS) aracılığıyla gerçekleşir.

2.3. Serbest Radikal Hasarı

Oksijen radikalleri canlı sistemlerde bulunan lipidler, proteinler, karbohidratlar, nükleik asitler gibi biyomoleküllerin oksidasyonuna sebep olurlar. Dolayısıyla bu moleküllerin üç boyutlu yapıları ve buna bağlı olarak fonksiyonları değişir. Tüm biyomoleküller üç boyutlu yapılarıyla fonksiyon gösterirler. Üç

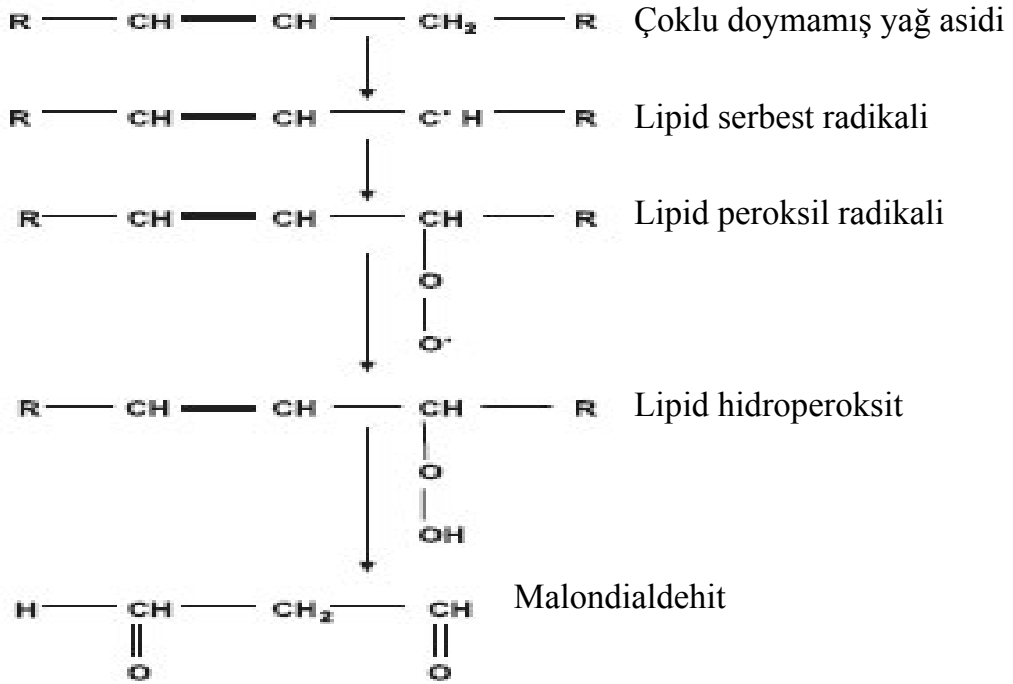
boyutlu yapılarının herhangi bir etkiyle değişmesi sonucu biyomoleküllerin fonksiyonları artar, azalır ya da durur (6).

2.3.1. Lipid Peroksidasyonu

Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenirler, fakat lipidler en hassas olanlarıdır. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) 'nin oksidatif yıkımı, lipid peroksidasyonu olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerlediği için, lipid peroksidasyonuyla meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür (18).

Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan bir serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlar. Bunun sonucu yağ asidi zinciri bir lipid radikali niteliği kazanır. Oluşan lipid radikali dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesi ile lipid radikalinin moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipid peroksil radikali meydana gelir. Lipid peroksil radikalleri, membran yapısındaki diğer PUFA 'ları etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksidlerine dönüşürler. Bu dönüşümler sonucunda malondialdehit (MDA), 4-hidroksinonenal (HNE) gibi toksik moleküller meydana gelir (28) (Şekil 3). MDA, lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir (29).

Lipid peroksidasyonu membran içeriğinin membrandaki çoklu doymamış yağ asitlerinin yapısının bozulmasına ve membran akışkanlığının değişmesine yol açar (30).



Şekil 2. Malondialdehit (MDA) Oluşum Basamakları

2.3.2. Protein Oksidasyonu

Protein oksidasyonu, proteinlerin reaktif oksijen türevleri veya oksidatif stres ürünleri ile kovalent modifikasyonu sonucu oluşur. Proteinler lipidlere kıyasla daha az hassastırlar ve içerdikleri aminoasitlere göre etkilenirler. Protein oksidasyonunun biyokimyasal sonuçları protein fonksiyonlarının kaybı, enzim aktivitesindeki azalma, protein agregasyonu, gen transkripsiyonundaki değişimler, immünojen aktivitedeki artış olarak belirtilebilir (31).

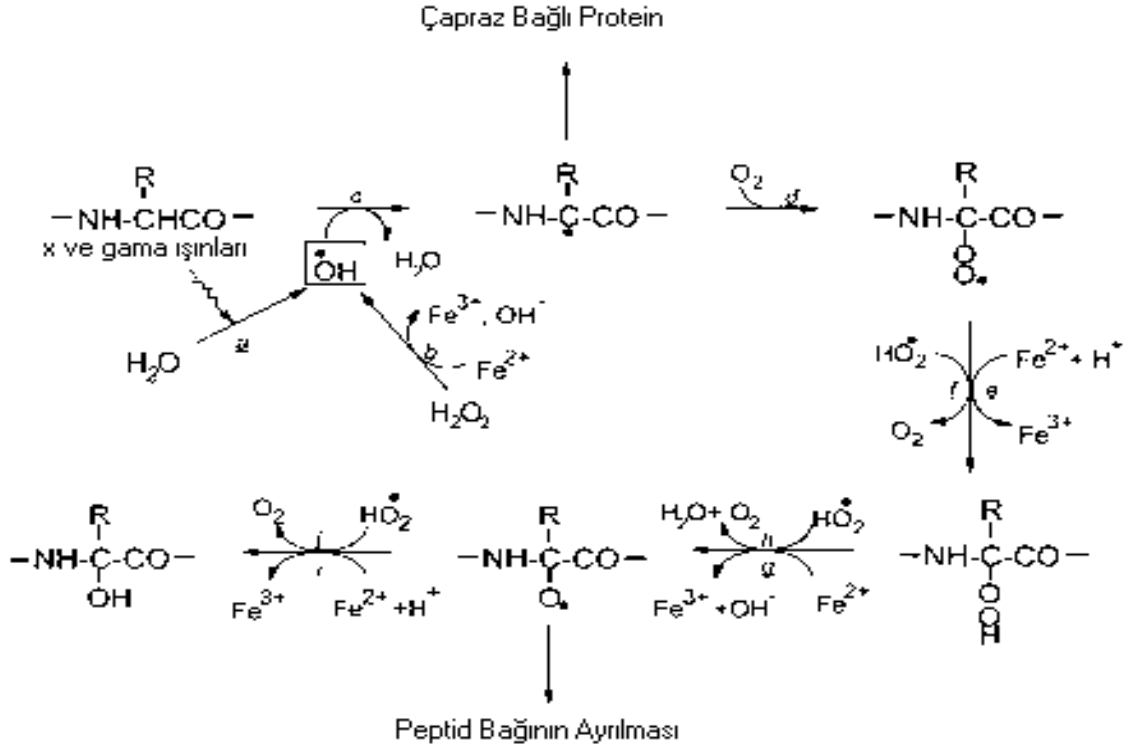
Proteinlerde yapısal farklılıklara neden olan reaksiyonlar, protein karbonil oluşumu (PCO), protein tiyol (P-SH) gruplarının kaybı, nitrotirozin (NT) ve ileri oksidasyon protein ürünlerinin (AOPP) oluşumudur (32). İleri oksidasyon protein ürünleri, ditirozin içeren çapraz bağlı protein ürünleri olarak tanımlanmaktadır.

AOPP protein oksidasyonunun derecesini belirlemede duyarlı bir belirteçtir (32). Witko - Sarsat ve ark. tarafından yapılan çalışmada, AOPP düzeylerinin, protein oksidasyonunun göstergesi olan plazma ditirozin ve ileri glikasyon son ürünü olan pentozidin düzeyleri ile korelasyon gösterdiği, fakat lipid peroksidasyon belirleyicisi olan tiyobarbütirik asit ile reaksiyonlaşan maddelerle korelasyon göstermediği bildirilmiştir (33).

Karbonil grupları (CO: aldehitler ve ketonlar), proteinlerin Pro, Arg, Lys ve Thr rezidülerini içeren yan zincirleri okside olduğunda üretilirler. Ayrıca, proteinin Cys, His ve Lys rezidülerini içeren nükleofilik yan zincirinde de ikincil reaksiyonla üretilirler. Protein karbonil grubu içeriği protein oksidasyonunda genel olarak belirleyici bir öge olarak kullanılır ve protein karbonil gruplarının birikimi oksidatif strese bağlı olarak yaşlanma ve diyabet, Alzheimer gibi pek çok hastalığın oluşmasına sebep olur (33). Reaktif türevlerin doğrudan proteinler (primer modifikasyon reaksiyonları), şekerler ve lipitlerle reaksiyona girmesi sonucunda oluşan ürünler, tekrar proteinler ile reaksiyona girerek sekonder modifikasyon reaksiyonlarına yol açmaktadır. Reaktif türevler ya peptit bağları ile ya da amino asit yan zincirleri ile reaksiyona girer. Oksidatif modifikasyona uğramış proteinler düşük molekül ağırlıklı ürünlere ayrılır ya da çapraz bağlı yüksek molekül ağırlıklı ürünleri oluşturur. Protein oksidasyonu esas olarak hidroksil radikali (OH[•]) ile başlar. Diğer taraftan oksidasyon sürecinde O₂ ile birlikte, süperoksit anyon radikali (O₂^{•-}), ve süperoksit radikalinin protonlanmış formu olan hidroperoksil (HO₂[•])'in varlığı da gereklidir. Bu reaktif oksijen türevleri amino asitlerin yan zincirlerinin oksidasyonuna, protein-protein çapraz bağlarının oluşumuna ve protein omurgasının oksidasyonu yolu ile protein fragmentasyonuna neden olur (Şekil 3) (35).

Protein karbonil (PCO) türevlerinin oluşumuna yol açan primer modifikasyon reaksiyonları amino asitlerin α - karbon atomlarının veya R yan zincirlerinin oksidatif modifikasyonlarından ve bu modifikasyonları takiben meydana gelen reaktif oksijen-aracılı peptit ayrılması reaksiyonundan oluşmaktadır. Reaktif oksijen türevlerinin proteinlerle etkileşimi sonucunda, prolin, histidin, arjinin ve lizin gibi çok sayıda amino asitin toplamında ya da proteinlerin peptit

omurgasında oluşan oksidatif hasara bağlı olarak PCO ürünleri meydana gelir. PCO düzeylerinin saptanması protein oksidasyonunu belirlemede duyarlı ve genel olarak kabul görmüş bir yöntemdir (33, 35).



Şekil 3. Protein Karbonil Oluşumuna Yol Açan Primer Modifikasyon Reaksiyonları (34).

2.4. Antioksidan Sistemler

Antioksidanlar, hücrelere zarar veren serbest radikallerle reaksiyona girip onları etkisiz hale getirerek, kanser ve kalp hastalıkları dahil pek çok hastalığa ve erken yaşlanmaya neden olabilecek zincir reaksiyonlarını engelleyen ya da etkilerini azaltan moleküllerdir (1).

Antioksidanlar doğal antioksidanlar ve yapay antioksidanlar (ilaçlar) olarak ikiye ayrılır. Doğal antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak iki gruba ayrılabilir. Enzimatik antioksidanlar, katalaz (KAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GSH-R), glutatyon S transferaz (GST) ve sitokrom oksidazdır. Enzimatik olmayan

antioksidanlar endojen ve eksojen olarak iki gruba ayrılır. Endojen antioksidanlar, seruloplazmin, transferin, glutasyon, albumin, ferritin, seruloplazmin ve bilirubindir. Eksojen antioksidanlar ise E, A, C vitaminleri ve flavonoidlerdir. Yapay antioksidanlar ise; butillenmiş hidroksitoluen (BHT), butillenmiş hidroksianisol (BHA) ve troloksdur (Şekil 4) (2, 18).

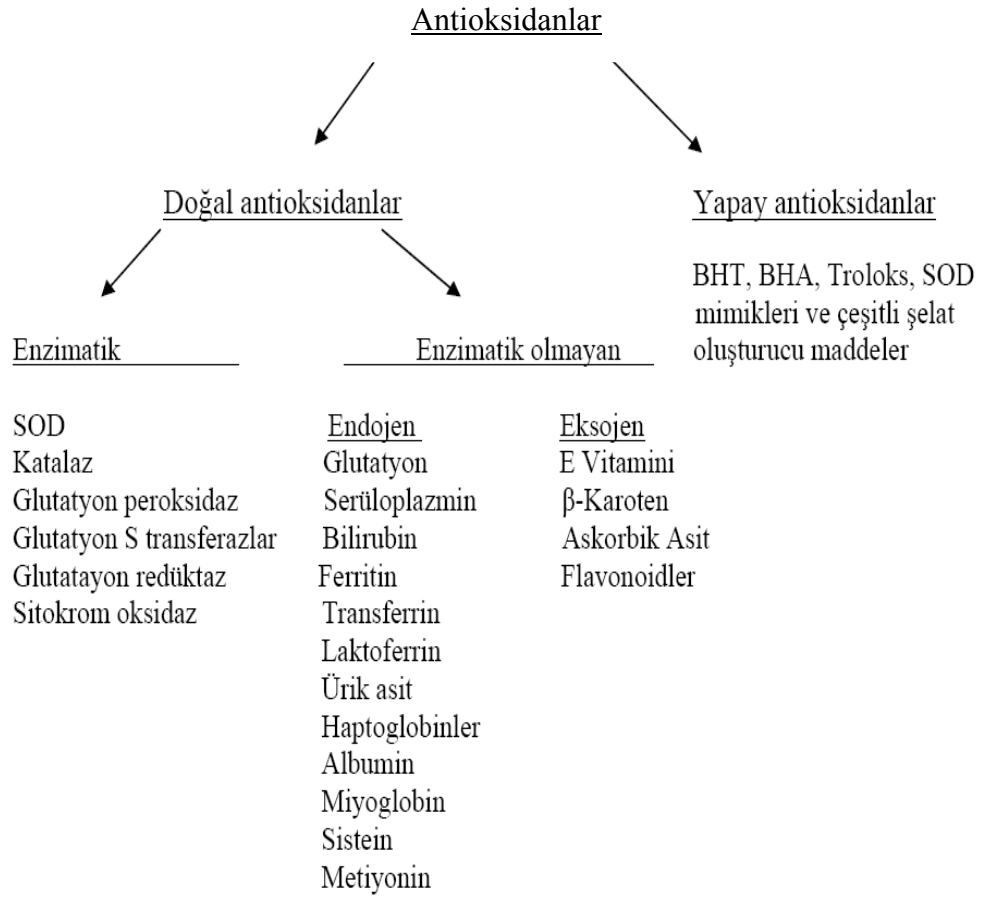
Süperoksit dismutaz (EC-SOD), süperoksit radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. İnsanda süperoksit dismutazın iki izomer tipi bulunmaktadır. Cu-Zn SOD sitozolde bulunur, Cu ve Zn içerir, dimerik yapıdadır, siyanidle inhibe edilir. Mn SOD mitokondride bulunur, Mn içerir, tetramerik yapıdadır, siyanidle inhibe olmaz. Genel olarak hücrede en bol bulunan izomer sitozolik Cu-Zn SOD'dır. Katalaz (EC-KAT) hidrojen peroksidin moleküler oksijen ve suya hidrolizini katalizler. Yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir, esas olarak peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. Glutasyon peroksidaz (EC-GSH-Px) hidroperoksidlerin yükseltgenmesinden sorumlu, tetramerik, dört selenyum atomu ihtiva eden sitozolik bir enzimdir. Hücre içinde düşük konsantrasyonda oluşan hidrojen peroksiti indirger. Glutasyon redüktaz (EC-GSH-R) okside glutasyonun indirgenmesini katalizleyen, iki özdeş alt birimden oluşan bir enzimdir. Yükseltgenmiş glutasyonun (GSSG), indirgenmiş glutatyona (GSH) dönüşümünü sağlar. Glutasyon S-transferazlar (EC-GST) her biri iki alt birimden oluşmuş bir enzim ailesidir, başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı selenyum-bağımsız GSH-Px aktivitesi göstererek bir antioksidan savunma mekanizması oluştururlar. Sitokrom oksidaz solunum zincirinin son enzimidir ve süperoksidi ($O_2^{\cdot-}$) uzaklaştırır (2, 39).

Glutasyon (GSH), karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç olmadan sentezlenebilen bir tripeptittir. Serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur ve hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol alır. Albümin, lipid peroksit toplayıcısıdır. Ferritin, dokudaki demiri bağlar. Seruloplazmin, SOD' a benzer mekanizmayla etki gösterir. Ferro demiri (Fe^{+2}) ferri demire (Fe^{+3}) yükseltgeyerek

fenton reaksiyonunu ve böylece hidroksil radikali oluşumunu inhibe eder. Bilirubin, süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır (1).

Vitamin E (α -tokoferol), çok güçlü bir antioksidandır, hücre membran fosfolipidlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. Vitamin E süperoksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipid peroksit radikallerini ve diğer radikalleri indirger. E vitamini aterosklerotik ve diğer patolojik durumlar açısından hasarların oluşumunu engelleyici ya da hasarlara karşı koruyucu etki gösterir. Oksidatif stres sonucu oluşabilecek monositlerdeki serbest oksijen türlerine karşı mücadelesinde öncü rol oynar. Vitamin C (askorbik asit), organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak görev yapar, kollajen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu için gereklidir. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) ve hidroksil radikali (OH^{\cdot}) ile reaksiyona girerek onları ortamdan temizler. Vitamin A (β -karoten), singlet oksijeni bastırabilir, süperoksit radikalini temizler ve peroksit radikalleriyle direkt olarak etkileşerek antioksidan görev görür. Flavonoidler, enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlarla reaktif oksijen türlerini temizleyen bir antioksidan olarak görev yaparlar (26, 40).

Normal şartlarda antioksidan ve oksidan sistem arasında bir denge vardır. Antioksidan savunmalar zayıfladığında vücut hücreleri ve dokuları fonksiyonlarını yerine getirememeye ya da hastalık geliştirmeye daha yatkın hale gelirler. Böylece, yeterli antioksidan düzeylerinin doz aşılmadan sürdürülmesi, çok sayıda hastalık durumunu önlemek ve hatta kontrol altına almak için gereklidir (39, 41).



Şekil 4. Antioksidanların Sınıflandırılması

2.5. Sert Kabuklu Meyveler

Sert kabuklu meyveler yağlı, besin değerleri yüksek yiyeceklerdir. Pek çok sert kabuklu meyvenin kalorisinin yaklaşık %75-80' i yağdan gelir ve bu yüzde içinde doymamış yağ asitleri ağırlıktadır. Doymamış yağ asitlerinin büyük bir kısmını tekli doymamış yağ asidi (MUFA) oluşturur, cevizde ise çoklu doymamış yağ asidi (PUFA)' nin miktarı daha fazladır. Sert kabuklu meyveler E vitamini yönünden zengindirler, ayrıca metiyonin, arginin ve folik asit de içerirler. Arginin, nitrik oksitin öncü molekülüdür (42). Bazı sert kabuklu meyvelerin 100 gramında bulunan yağ asidi, E vitamini, arginin ve metiyonin miktarları tablo 2' de görülmektedir (43, 44).

	Fındık	Ceviz	Badem	Yer Fıstığı
DoymuşYağ asidi (g)	4,6	3,36	3,88	6,83
Oleik asit (g)	48,63	8,8	33,3	23,8
Linoleik asit (g)	5,83	38,1	10,5	15,6
α -linolenik asit (g)	0,15	9,1	0,4	0
α - tokoferol (mg)	15,03	1,8	25,87	8,33
γ - tokoferol (mg)	0	28,48	0,89	0
Arginin (mg)	2211	2278	2495	3085
Metiyonin (mg)	221	236	227	317
Folik asit (ug)	113	100	70	173

Tablo 2. Bazı Sert Kabuklu Meyvelerin 100 Gramında Bulunan Yağ Asidi, E Vitamini, Arginin Ve Metiyonin Miktarları

Yapılan çalışmalarda plazma kolesterol seviyeleri üzerine sert kabuklu meyvelerin tüketiminin etkileri değerlendirilmiştir. Günlük 80- 100 g sert kabuklu meyve tüketiminin serum toplam kolesterol seviyesini % 10-20 azalttığı belirlenmiştir (45, 46).

Yapılan literatür taramasına göre, badem ile yapılan 3 (50-100 g/gün), yer fıstığı ile yapılan 2 (35- 68 g/gün) ceviz ile yapılan ise 4 (40-84 g/gün) çalışmada kontrol diyeti ile beslenenlere göre toplam kolesterolde % 2-16, LDL kolesterolde % 2-19 arasında bir azalma belirlenmiştir. Buna göre günde 50-100 g olmak üzere, haftada 5 kez ya da daha fazla sert kabuklu meyve tüketimi, normolipidemik ve hiperlipidemik kişilerde total kolesterol ve LDL kolesterolün anlamlı olarak azalmasına neden olmaktadır (46) .

Sert kabuklu meyveleri haftada 1 kereden az tüketen insanlarla 1-4 kez tüketen insanlar arasında karşılaştırma yapıldığında, haftada 1-4 kez tüketme ile koroner kalp hastalıklarından ölme riskinin azaldığı belirlenmiştir. Tüketim sıklığı

haftada 5 ya da daha fazla olduğunda ise bu riskin daha da azaldığı belirtilmiştir (44, 46, 47).

2.6. Fındık

Fındık yağ ve protein açısından zengin bir besindir. 100 g iç fındık, 55 - 66 g yağ, 11 - 15 g protein, 12 - 17 g karbohidrat, 8 - 10 g lif içerir ve yaklaşık 650 kcal. enerji sağlar. Fındık yağı bileşimi üzerine yapılan çalışmalarda içerik olarak zeytinyağına benzediği ve tüm çeşitlerde en fazla oleik asidin (18:1) bulunduğu belirlenmiştir. Ayrıca, sırasıyla linoleik (18:2), palmitik (16:0), stearik (18:0) ve linolenik (18:3) asitlerin de bulunduğu belirtilmiştir. Fındığın 100 gramında bulunan yağ asitleri ve miktarları Tablo. 3 de belirtilmiştir (9).

Doymuş Yağ Asitleri (g)				Doymamış Yağ Asitleri (g)						
				MUFA				PUFA		
14:0	16:0	18:0	toplam	16:1	18:1	20:1	toplam	18:2	18:3	toplam
0,12	3,12	1,27	4,6	0,21	48,63	0,1	49	5,83	0,15	6

Tablo.3 Fındığın 100 Gramında Bulunan Yağ Asitleri Ve Miktarları

Fındık sağlıklı beslenme yönünden uygun niteliklere sahip ve yüksek enerji içeren bir besin maddesidir. Son yıllarda yapılan çalışmalarla fındıkta çok yüksek düzeylerde bulunan tekli doymamış yağ asidi oleik asidin (%82 oleik asit, %12 linoleik asit, %15 palmitik asit ve %1 stearik asit) kanda kolesterolün yükselmesini önlediği ve böylece kalp ve damar hastalıklarına karşı koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir (11). Ayrıca kalsiyum, magnezyum, fosfor ve potasyum başta olmak üzere iyi bir mineral kaynağıdır. Sodyum bakımından düşük ve tansiyonu dengelediği fakat mineraller bakımından zengin olduğu için fındık ve fındık yağı, demir ve çinko bakımından en iyi kaynaklardan biridir (9).

E vitamininden zengin bir besin olduğu için sağlıklı beslenme diyetinin bir parçası olarak yer almaktadır. Durak ve ark.'nın yaptığı çalışmada sağlıklı bireylerin normal diyetlerine günde kilogram başına 1 g olacak şekilde 30 gün boyunca fındık ilave edilmiştir. 30. gün sonunda fındık tüketiminin toplam kolesterol, LDL kolesterol ve MDA düzeylerini düşürdüğü, HDL kolesterol, trigliserid düzeylerini ve antioksidan potansiyelini arttırdığı belirlenmiştir (8).

Fındığın normolipidemik bireylerde serum total kolesterol ve Apo B düzeylerini önemli ölçüde düşürdüğü, Apo A-I düzeyini ise anlamlı olarak arttırdığı bulunmuştur (48).

Özetle doymuş yağ asidi yönünden fakir, tekli doymuş yağ asidi (MUFA) yönünden zengin, çoklu doymuş yağ asidi (PUFA) miktarı yeterli ve antioksidan potansiyeli yüksek olan fındık ve fındık yağına günlük diyetle yağdan gelen enerjinin %18-20 'sini geçmeyecek şekilde yer verilmesi, aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklardan korunmada faydalı olacaktır (10). Bu amaçla hiperlipidemik kişilerin diyetine fındık ilavesinin etkisinin bu çalışmada değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

Santrifüj	(EPPENDORF 5810, BECKMAN COULTER MICROFUGE 18 CENTRIFUGE)
Spektrofotometre	(SHIMADZU, UV-1601 UV/VİSİBLE SPECTROPHOTOMETER)
Etüv	(GALLENKAMP)
pH-metre	(HANNA INSTRUMENTS, HI 9321)
Vorteks	(NUVE, NM 110)
Manyetik Karıştırıcı	(IKAMAG RH)
Mikroplate okuyucusu	(VERSAmax)
Hassas Terazı	(OERTLING NA164)
Dondurucu	(THERMA ELECTRON CORPORATION FORMA - 86C ULT FREEZER, VESTEL -20C FT280)
Soğutucu	(VESTEL RT 140B, ARÇELİK)
Kuartz küvetler	(SIGMA)

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Sodyum Bikarbonat (MERCK)

Tris (hidroksimetil)- aminometan (MERCK)

Troloks (56510, FLUKA)

Sülfürik Asit (CARLO ERBA)

Asetik Asit (MERCK)

Potasyum Dihidrojen Fosfat (MERCK)

DTNB (SIGMA)

Potasyum İyodür (TEKNİK KİMYA)

Ksilenol Oranj (MERCK)

Gliserol (BİRKA)

Demir II Amonyum Sülfat (MERCK)

O- Dianizidin Dihirdoklorür (SIGMA)

Hidrojen Peroksit (SIGMA)

EDTA (CARLO ERBA)

Glutatyon (SERVA, SIGMA)

β - NADPH (SERVA)

Sodyum Azit (SIGMA)

İmidazol (LANCASTER)

Tiyobarbitürik Asit (SIGMA)

Glutatyon Redüktaz (SIGMA)

3.2. Metod

3.2.1. Deneyin Planlanması ve Numunelerin Toplanması

Bu çalışma NCEP ATP III (National Cholesterol Education Programme Adult Treatment Panel III) kriterlerine göre ilaç tedavisi gerektirmeyen hiperkolesterolemik gönüllü bireyler üzerinde yapılmıştır. Çalışmada yaşları 27 ile 59 arasında değişen 13 erkek, 2 kadın toplam 15 kişi yer almıştır. Çalışma grubunu oluşturacak kişilerin çalışmaya başlanmadan önce lipid profilleri belirlenerek, hiperlipidemik olup olmadıkları tespit edilmiştir. Diyabet, obezite, hipertansiyon, koroner arter hastalığı ve başka sistemik hastalıkları olanlar ve düzenli ilaç kullananlar çalışma grubuna dahil edilmemiştir. Bireylere, vücut ağırlığı, belirlenen yağ yüzdeleri ve vücut kitle indeksine göre ideal kilolarına gelebilmeleri için başlangıçtan itibaren bir ay boyunca diyet uygulanmıştır. Bu sürede enerji kısıtlaması yapılarak günlük alınması gereken kalori miktarlarına göre tüm besin gruplarıyla beslenmelerine dikkat edilip bu dönem kontrol diyeti dönemi olarak belirlenmiştir. Takip eden ikinci bir aylık dönemde, diyetlerinde herhangi bir enerji kısıtlaması yapılmamıştır. Geldikleri kilo seviyeleri temel alınarak diyetlerine günlük enerji ihtiyaçlarının % 18- 20' sini fındıktan karşılayacakları şekilde karbohidrat kısıtlaması yapılarak fındık ilave edilmiş ve dolayısıyla fındık diyeti uygulanmıştır. Yenmesi gereken günlük fındık miktarının yarısı sabah saat 10.00-11.00 arasında, diğer yarısı da öğleden sonra saat 15.00-16.00 arasında olmak üzere ikiye bölünerek tüketilmiştir. Üçüncü aylık dönemde ise eşdeğer kaloriye karşılık gelen fındıksız kontrol diyeti uygulanmıştır. Bu dönemde bireylerin günlük diyetlerinden fındık çıkarılarak yerine enerji ihtiyaçlarını karşılayabilecekleri karbohidrat ilavesi yapılmıştır. Bireylerden çalışmanın başlangıcında, 30. günde, 60.günde ve 90. günde kan alınmıştır.

Bir gecelik (12 saatlik) açlık dönemini takiben bireylerden antikoagülsüz ve 1mg/mL EDTA içeren antikoagülanlı vakumlu tüplere yaklaşık 20 mL venöz kan alınmıştır. Tüpler 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek serum ve plazmalar elde

edilmiş, günlük analizler dışında kullanılacak örnekler – 80 °C’de saklanmıştır. Saklanan örneklerden “Dislipidemik Bireylerde Fındık Tüketiminin Plazma Lipidleri, Lipoproteinleri Ve Bunların Alt Birimleri, LDL Oksidasyon Kapasitesi, Plazma Oksidan - Antioksidan Kapasiteleri Üzerine Etkileri” başlıklı projenin kapsamında bu yüksek lisans tez çalışması yapılmıştır.

3.2.2. Biyokimyasal Parametreler

Serum toplam kolesterol (TK), trigliserid (TG), HDL-kolesterol (HDL-K), LDL-kolesterol (LDL-K) ölçümü ROCHE / HITACHI Modüler Sistem otoanalizöründe orijinal reaktifler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Apolipoprotein AI (ApoAI), apolipoprotein B (ApoB) tayinleri nefolometre (DADE BEHRING, BN II) cihazı ile orijinal reaktifler kullanılarak monoklonal immünopresipitasyon prensibine dayanılarak yapılmıştır.

Otoanalizörlerde tayin edilen tüm parametreler günlük kalite kontrol uygulamalarının ardından yapılmıştır (55).

3.2.3. Plazma Lipid Peroksit (MDA) Seviyesi Tayini

Plazma lipid peroksit (MDA) seviyesi tayini Yagi K. ve Satoh K.’ın metodlarına göre yapıldı (48, 49). Bu metodların prensibi MDA ile tiyobarbütirik asit arasındaki reaksiyon sonucu oluşan kırmızı rengin 532 nm’de spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanır.

Kullanılan Çözeltiler

1. 0,084 N Sülfürik Asit(H₂SO₄) ;

577 µl % 97’ lik H₂SO₄ den alınıp, hacim deiyonize su ile 250 ml ‘ye tamamlandı.

2. % 10' luk Fosfotungstik Asit ($H_3(W_3O_{10})_4 \cdot H_2O$);

5,55 g fosfotungstik asit 50 ml deiyonize suda çözüldü.

3. Tiyobarbitürik Asit (TBA) Reaktifi;

0,67 g TBA' ya 100 ml deiyonize su ilave edildi, ısıtıcı üzerinde TBA'nın çözünmesiyle 100 ml asetik asit (% 50) eklendi. TBA tamamen çözününce soğumaya bırakıldı. Reaktif ılık olarak kullanıldı.

4. Standart Çözeltileri;

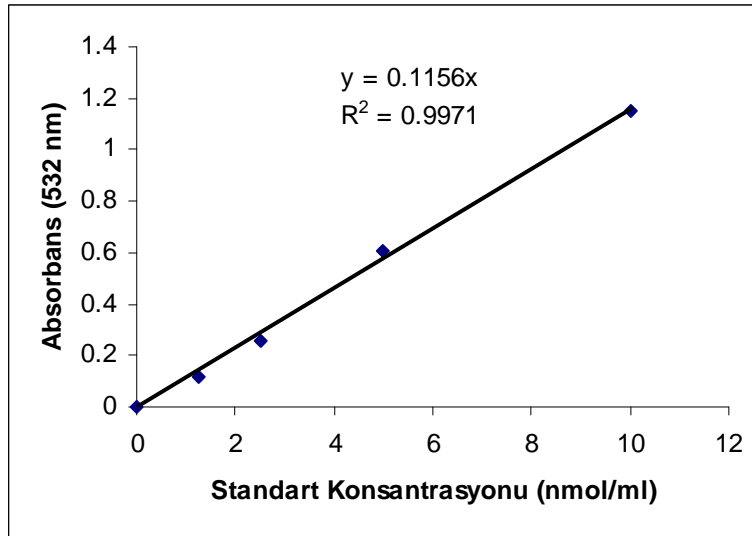
Standartlar 10, 5, 2,5, 1,25, 0 nmol/ ml olacak şekilde hazırlandı.

164,7 µl TMP (1,1,3,3- tetrametoksipropan) alınıp, 0,01M HCl ile çözülerek hacmi 100 ml ye tamamlandı, 50 °C de 1 saat inkübe edildi. Bu stok çözeltilerden deiyonize su ile seri dilisyonlar yapılarak standartlar hazırlandı.

Deneyin yapılışı

Aşağıdaki tabloya göre pipetlemeler yapıp 532 nm'de absorbansları okunarak standart grafik yardımıyla sonuçlar bulundu (Şekil 5).

Reaktifler	Numune (µl)	Standart (µl)
Numune	300	-
H ₂ SO ₄	2500	-
Fosfotungstik asit	300	-
Vorteklendi, 5 dakika beklendi, 4000 rpm de 10 dakika santrifüjlenip üst fazı atıldı.		
Deiyonize su	4000	-
Çökelek vorteksenerek çözüldü.		
Standart	-	2000
TBA	1000	500
1 saat 105 °C de etüvde bekletildi, etüvden çıkarılınca soğuması için beklendi. 3000 rpm de 10 dk. santrifüjlendi, üst faz alınarak 532 nm de okuma yapıldı.		



Şekil 5. Plazma MDA Seviyesi İçin Standart Grafiği

3.2.4. Toplam Oksidan Kapasitenin Belirlenmesi (TOS)

Toplam oksidan kapasiteyi belirlemek için Erel, Ö.'in oluşturduğu kolorimetrik metod uygulandı (50). Bu metodun prensibi asidik ortamda farklı oksidan türleriyle Fe^{+2} 'nin Fe^{+3} 'e yükseltgenmesi ve Fe^{+3} 'ün ksilenol oranj ile meydana getirdiği renk değişiminin 560 nm' de ölçülmesi esasına dayanır.

Kullanılan Çözeltiler

1. Reaktif I(pH 1,75);

25 mM H_2SO_4 (% 95-97);

1,38 ml H_2SO_4 alınıp, hacim deiyonize su ile 1L ye tamamlandı.

Son konsantrasyonu 150 μ M ksilenol oranj, 140 mM NaCl, 1,35 M gliserol olacak şekilde reaktif hazırlandı.0, 114 g ksilenol oranj, 8, 18 g NaCl 900 ml 25 mM H_2SO_4 de çözüldü, 100 ml gliserol ile hacim 1L ye tamamlandı.

2. Reaktif II

Son konsantrasyonu 5mM $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$, 10mM o-dianizidin dihidroklorür olacak şekilde, 0,49g $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$, 2,079 g o-dianizidin dihidroklorür 25 mM H_2SO_4 ile çözüldü, hacim 250 ml ye tamamlandı.

3. Standartların hazırlanması

Standartlar 25, 12,5, 6,25, 3,125, 1,56 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eq/ L olacak şekilde hazırlandı, deiyonize su ile seri dilisyonlar yapıldı.

Deneyin yapılışı

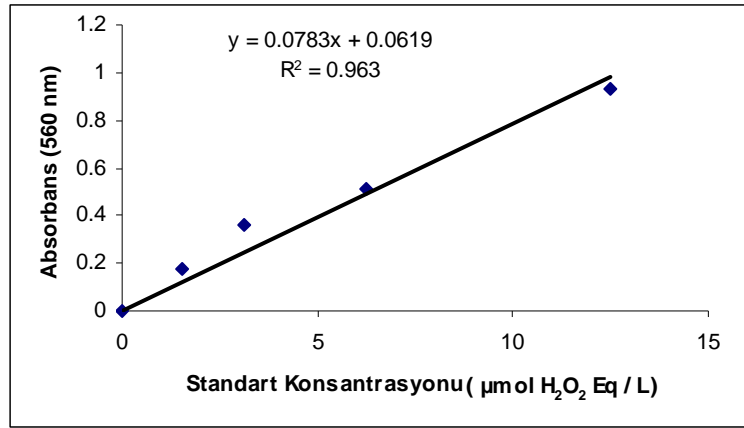
Aşağıdaki tabloya göre pipetlemeler yapıp 560 nm' de absorbsansları okundu. A1 değerleri A2 değerlerinden çıkarılarak bu absorbsans değerlerine karşılık gelen konsantrasyon miktarı elde edildi, standart grafik yardımıyla sonuçlar bulundu (Şekil 6).

Reaktifler	Kör (μl)	Standart (μl)	Numune (μl)
Deiyonize su	35	-	-
Standart	-	35	-
Numune	-	-	35
Reaktif I	225	225	225

A1: 560 nm de ilk okuma yapıldı.

Reaktif II	11	11	11
------------	----	----	----

A2: 560 nm de 3. ve 4. dakikalarda ikinci okuma yapıldı.



Şekil 6. Toplam Oksidan Kapasite (TOS) İçin Standart Grafiği

3.2.5. Toplam Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi (TAS)

Toplam antioksidan kapasiteyi belirlemek için Erel, Ö.'in oluşturduğu kolorimetrik metod uygulandı (51). Bu metodun prensibi fenton reaksiyonu sonucu hidroksil (OH·) radikalının üretimi ile başlatılan etkili serbest radikal reaksiyonlarında oluşan renkli dianizidil radikalının 444 nm de ölçülmesi esasına dayanır.

Kullanılan Çözeltiler

1. Reaktif I;

75 mM HCl;

6,41 ml HCl alınıp hacim deiyonize su ile 1L ye tamamlandı.

75 mM KCl;

5,59 g KCl tartılıp, 1L deiyonize suda çözüldü.

800 ml KCl ile 200 ml HCl pH 1,8 olacak şekilde karışım elde edildi.

10 mM o-dianizidin dihidroklorür;

0,31 g o-dianizidin dihidroklorür 100 ml karışımında çözüldü.

45 µM Fe(NH₄)₂(SO₄)₂. 6 H₂O;

0,0017g $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ tartıldı, o-dianizidin dihidroklorürlü karışıma eklendi.

2. Reaktif II: 7,5 mM H_2O_2 ;

32,05 μl H_2O_2 alınıp hacim HCl/KCl (1/4) karışımıyla 50 ml ye tamamlandı.

3. Standartların hazırlanması;

2, 1, 0,5, 0,25 mmol/L konsantrasyonlara sahip troloks standartları hazırlandı.

0,012 g troloks 5 ml etanolde çözüldü, hazırlanan stok standarttan pH'sı 7,4 olan fosfat tamponu ile seri dilisyonlar yapıldı.

Deneyin yapılışı

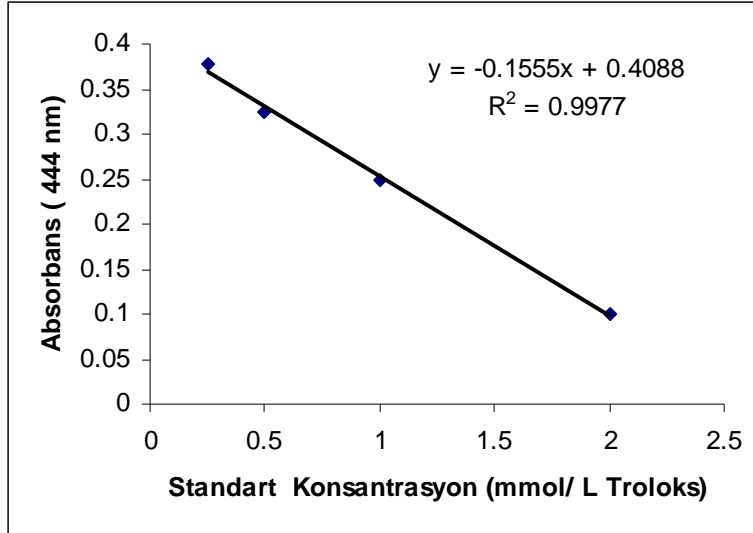
Aşağıdaki tabloya göre pipetlemeler yapıp 444 nm' de absorbanları okundu. A1 değerleri A2 değerlerinden çıkarılarak bu absorban değerlerine karşılık gelen konsantrasyon miktarı elde edilen standart grafik yardımıyla sonuçlar hesaplandı (Şekil 7).

Reaktifler	Kör (μl)	Standart (μl)	Numune (μl)
Deiyonize su	5	-	-
Standart	-	5	-
Numune	-	-	5
Reaktif I	200	200	200

A1: 444 nm de ilk okuma yapıldı.

Reaktif II	10	10	10
------------	----	----	----

A2: 444 nm de 3. ve 4. dakikalarda ikinci okuma yapıldı.



Şekil 7. Toplam Antioksidan Kapasite (TAS) İçin Standart Grafiği

3.2.6. İleri Oksidasyon Protein Ürünü Ölçümü (AOPP)

İleri oksidasyon protein ürünü seviyesini belirlemek için Witko ve ark. kullandığı metod uygulandı (52). Bu metod 340 nm' de spektrofotometrik okuma esasına dayanır.

Kullanılan Çözeltiler

1. PBS Tamponu (pH 7,4);

0,8 g NaCl, 0,02 g KCl, 0,02 g KH₂PO₄ ve 0,21 g Na₂HPO₄ · 7H₂O 50 ml deiyonize suda çözüldü, pH 7,4'e ayarlandıktan sonra hacim 100 ml ye tamamlandı.

2. **KI**; 4,81 g KI 25 ml deiyonize suda çözüldü.

3. **Asetik Asit**; Saf olarak kullanıldı.

Deneyin yapılışı

Aşağıdaki tabloya göre pipetlemeler yapıp 340 nm' de absorbansları okundu. İleri oksidasyon protein ürünü aktivitesi $\mu\text{mol/ L}$ olarak belirlendi.

$$\text{İleri Oksidasyon Protein Ürünü Aktivitesi}(\mu\text{mol/ L}) = \frac{\Delta A}{\text{dk.}} \times \frac{V_t \times 10^6}{\epsilon \times b \times V_s}$$

Burada, V_t : Toplam reaksiyon hacmi (ml)

V_s : Numune hacmi (ml)

ϵ : molar absorbtivite katsayısı ($\epsilon = 26,1 \text{ mM}^{-1}$)

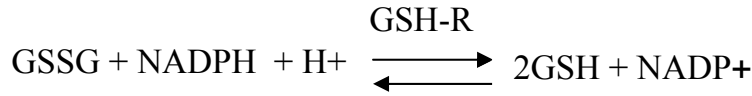
b : Işık yolunun uzunluğu (cm)

Reaktifler	Kör (μl)	Numune (μl)
PBS	750	600
Numune	-	150
KI	37,5	37,5
2 dakika bekletildi.		
Asetik Asit	75	75
340 nm' de absorbansları okundu.		

3.2.7. Glutasyon Redüktaz (GSH-R) Aktivitesi Tayini

Glutasyon redüktaz aktivitesi belirlenmesi için Goldberg, D.M. ve Spooner, R.J.'nin tayin yöntemi uygulandı (53). Bu metodun prensibi plazmada okside glutasyonun (GSSG) glutasyon redüktaz (NADPH: okside glutasyon oksidoredüktaz, EC 1.6.4.2) enzimi ve NADPH varlığında, redükte glutatyona (GSH) dönüşümünün

340nm'de NADPH'ın absorbansındaki oksidasyondan dolayı azalmanın spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır.



Kullanılan Çözeltiler

Reaksiyon karışımı:

Son konsantrasyonları 0,2 M TRİS- HCl (pH: 7,8), 2,3 mM EDTA, 0,5mM GSSG, 0,2 mM NADPH olmak üzere, 2,422 g TRİS 50 ml deiyonize suda çözüldü, pH ayarlaması yapıldıktan sonra 0,111 g EDTA, 0,03 g GSSG, 0,016g NADPH eklendi, hacim deiyonize su ile 100 ml' ye tamamlandı.

Deneyin yapılışı

Belirtilen tabloya göre pipetlemeler yapıp 340 nm'de absorbansları okundu. Glutatyon redüktaz aktivitesi U/L olarak belirlendi.

$$\text{Glutatyon redüktaz Aktivitesi (U/L)} = \frac{\Delta A}{\text{dk.}} \times \frac{V_t \times 10^6}{\epsilon \times b \times V_s}$$

Burada, V_t : Toplam reaksiyon hacmi (ml)

V_s : Numune hacmi (ml)

ϵ : molar absorbtivite katsayısı ($\epsilon_{\text{NADPH}} = 6300\text{L/mol/cm}$)

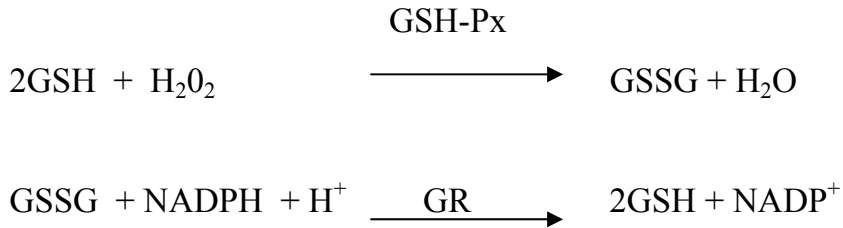
b : Işık yolunun uzunluğu (cm)

Reaktifler	Kör (µl)	Numune (µl)
Reaksiyon karışımı	1000	1000
Numune	-	50
Deiyonize su	50	-

340 nm’de absorbanları okundu.

3.2.8. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesi Tayini

Glutasyon peroksidaz aktivitesi belirlenmesi için Beutler ‘in tayin yöntemi uygulandı (54). Bu metodun prensibi redükte glutasyonun hidrojen peroksitle reaksiyonu sonucu okside glutatyonun yükseltgenmesini katalizleyen glutasyon peroksidazın (glutasyon : H₂O₂ oksidoredüktaz, EC 1.11.1.9) aktivitesinin okside glutatyonun (GSSG), NADPH varlığında glutasyon redüktaz (GSH-R) enzimi tarafından GSH’a indirgenmesi, NADPH ‘daki azalmasının 340 nm’ de takip edilmesi esasına dayanır.



Kullanılan Çözeltiler

1. Fosfat tamponu;

3,402 g KH₂PO₄ tartıldı, 100 ml deiyonize suda çözüldü, pH’ sı 1N KOH ile 7,0 a ayarlanıp hacim deiyonize su ile 250ml ye tamamlandı.

2. 0,2 M EDTA;

0,37 g EDTA 5ml deiyonize suda çözüldü.

3. 1mM H₂O₂;

6,13µl orijinal (% 50w/w) şişeden alınıp 10 ml fosfat tamponunda çözüldü.

4. 0,4 M Na- azid;

0,026 g Na- azid 1ml deiyonize suda çözüldü.

5. 2 mM NADPH;

0,017 g NADPH 10 ml deiyonize suda çözüldü.

6. 0,1 M GSH;

0,03 g GSH 1ml deiyonize suda çözüldü.

7. 10 U/ ml GR;

100 µl GR 10 ml deiyonize suda çözüldü.

Deneyin yapılışı

Belirtilen tabloya göre pipetlemeler yapıp 340 nm'de absorbansları okundu.
Glutatyon peroksidaz aktivitesi U/L olarak belirlendi.

$$\text{Glutatyon peroksidaz Aktivitesi (U/L)} = \frac{\Delta A}{dk.} \times \frac{Vt \times 10^6}{\epsilon \times b \times Vs}$$

Burada, Vt: Toplam reaksiyon hacmi (ml)

Vs: Numune hacmi (ml)

ϵ : molar absorbtivite katsayısı ($\epsilon_{\text{NADPH}} = 6300\text{L/mol/cm}$)

b: Işık yolunun uzunluğu (cm)

Reaktifler	Kör (µl)	Numune (µl)
Fosfat tamponu	100	100
GSH	-	10
EDTA	20	20
GR	100	100
Na-azid	10	10

NADPH	100	100
Numune	50	50
Deiyonize su	640	630

Küvetler alt üst edilip, 37°C de 10 dakika inkübe edildi

H ₂ O ₂	10	10
340 nm' de absorbansları okundu.		

3.2.9. TOS / TAS Oranının Belirlenmesi

Oksidatif stres seviyesinin belirlenmesi için Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) kullanıldı (69).

$$OSİ = \frac{\text{TOS, } \mu \text{ mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq / L}}{\text{TAS, } \mu \text{ mol Troloks Eq / L}} \times 100$$

3.3. İstatistiksel Analizler

Her dört döneme ait değerler aritmetik ortalama ve standart sapma ($X \pm SD$) olarak ifade edildi. Parametrelerin normal dağılıma uygunluğu “Kolmogorov-Simironov” testi yapılarak belirlendi. Normal dağılıma uyan parametreler “Tekrarlı ölçümlerde tek yönlü varyans analizi” yapılarak değerlendirildi. Grup içi parametreler arasındaki ilişki ve yüzde değişimler arasındaki ilişki “Pearson” veya “Spearman” korelasyon testi kullanılarak incelendi. $p < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. “Tekrarlı ölçümlerde tek yönlü varyans analizi” yapılarak değerlendirilen parametreler için “F” değerleri verilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Çalışma Grubunun Demografik Verileri ve Başlangıç, 30.Gün, 60.Gün ve 90.Güne Ait Parametrelerin Ortalama Değerleri

Çalışma grubuna ait demografik veriler “Dislipidemik Bireylerde Fındık Tüketiminin Plazma Lipidleri, Lipoproteinleri Ve Bunların Alt Birimleri, LDL Oksidasyon Kapasitesi, Plazma Oksidan- Antioksidan Kapasiteleri Üzerine Etkileri” başlıklı projenin kapsamında yer alan “Fındık Tüketen Hiperkolesterolemik Bireylerden Elde Edilen Hdl’ nin Ldl Oksidasyonu Üzerine Etkisinin İncelenmesi” isimli yüksek lisans tezinden bu çalışmanın ön bulguları niteliğinde yararlanılmıştır (55).

Parametreler tablo 4’ te belirtilmiştir. Çalışmada yer alan bireylerin vücut kitle indeksleri 60. gün ve 90. günde 30. güne göre anlamlı olarak azaldı ($F_{kg} = 25,467$, $P_{kg} = 0,001$)($F_{BMI} = 22,946$, $P_{BMI} = 0,001$).

Tablo 4. Çalışma Grubuna Ait Demografik Veriler

	Yaş (yıl)	Cinsiyet (E/K)	Vücut Ağırlıkları (kg)			
			Başlangıç	30.gün	60.gün	90. gün
			82 ± 14	79,5 ± 13,7	77,9 ± 13,4	77,5 ± 13,4
n = 15	43 ± 9	13/2	Vücut Kitle İndeksi (kg/m ²)			
			27,87 ± 3,4	27,01 ± 3,1	26,43 ± 2,9	26,30 ± 2,8

Çalışma grubuna ait rutin biyokimya parametreleri tablo 5’ te görülmektedir. Toplam TG, kolesterol ve LDL-K düzeylerinde 60. günde anlamlı bir azalış görüldü. HDL-K aktivitesinde 60. günde gözlenen artış ve 90. günde gözlenen azalış anlamlı bulunmadı. Apo B düzeyinde 60. günde bir azalma görüldü ama istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Apo AI düzeylerinde 60. ve 90. günlerde, Apo B düzeyinde ise 90. günde anlamlı bir artış görüldü.

Tablo 5. Çalışma Grubunun Dört Döneme Ait Serum Ve Lipoprotein Lipid Parametreleri

	Başlangıç	30. gün	60. gün	90. gün	F*	P*	Fındık diyeti % değişim	Kontrol diyeti % değişim	P
TK (mg/dL)	239 ± 18	216 ± 23	199 ± 25 ^{a,b}	214 ± 22	15,245	0,002	-8,03 ± 6	8,6 ± 12	0,001
TG (mg/dL)	205 ±136	164 ± 116	145 ± 102 ^a	152 ± 90	5,182	0,039	-12,7 ±15	8,6 ± 33	0,034
HDL-K (mg/dL)	40 ± 6	42 ± 7	44 ± 9	43 ± 8	2,63	0,127	3,84 ± 7	-1,3 ± 10	0,143
LDL-K (mg/dL)	165 ± 25	150 ± 28	137 ± 28 ^{a,b}	148 ± 22	13,31	0,003	-8,2 ± 7	9,3 ± 13	0,001
Apo AI (mg/dL)	135 ± 14	128 ± 17	133 ± 19 ^a	140 ±15 ^a	6,178	0,026	4,7 ± 15	6,9 ± 13	0,669
Apo B (mg/dL)	132 ±18	113 ± 14	111 ± 20	122 ±20 ^a	4,984	0,042	-1,5 ± 13	11 ± 18	0,039

p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, a; 30. gün değerine göre anlamlıdır, b; 90. gün değerlerine göre anlamlıdır.

*“Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi” ne göre “p” ve “F” değerleri

4.2. Çalışma Grubunda Serum Ve Plazmada Oksidan- Antioksidan Sistem Parametre Bulguları

Fındık diyeti sonrası değerler ile başlangıç değerleri karşılaştırıldığında lipid peroksidasyonunu gösteren MDA değerlerinde ve protein oksidasyonu göstergesi olan ileri protein oksidasyon ürünlerinde azalma belirlendi (p= 0,007, p= 0,052). Oksidasyon kapasitesi göstergesi olan toplam oksidan kapasite (TOS) azalma (p= 0,4), antioksidan kapasite göstergesi olan toplam antioksidan kapasite (TAS) artma

($p= 0,016$) gösterdi. Glutasyon redüktaz (GSH-R) ve glutasyon peroksidaz (GSH-Px) değerlerinde artış gözlemlendi ($p= 0,001$, $p= 0,035$). Yüzde değişim parametrelerine bakıldığında MDA ($p= 0,146$), TOS ($p= 0,062$), TAS ($p= 0,015$), AOPP ($p=0,146$), GSH-R ($p= 0,037$), GSH-Px ($p= 0,001$) sonuçları bulundu (Tablo 6).

Tablo 6. Hiperkolesterolemik Bireylerin Serum Ve Plazmada Oksidan- Antioksidan Sistem Değerleri

	Başlangıç	30. gün	60.gün	90.gün	F*	P*	Fındık diyeti % değişim	Kontrol diyeti % değişim	p
MDA(nmol/ml)	4,44±1,20	4,42±1,26	3,74±0,71 ^{a,b}	3,66±0,93 ^{a,b}	9,772	0,007	-11,70±17,52	-1,78±18,63	0,146
TOS (µmol H ₂ O ₂ Eq/ L)	0,84±0,18	0,85±0,20	0,79±0,16	0,92±0,21	0,754	0,4	-3,75±28,64	17,90±22,20	0,062
TAS (mmol/L Troloks)	0,95±0,18	1,02±0,14	1,10±0,12 ^a	1,03±0,10	7,450	0,016	8,38±13,59	-5,55±11,39	0,015
OSİ	93,40±32,51	85,59±24,54	72,28±16,54 ^a	89,24±20,3 ^c	8,343	0,012	30,27±7,02	49,44±9,76	0,002
AOPP (µmol/L)	28,85±11,7	26,29±17,1	23,2±12,3	24,66±12,0	4,492	0,052	-11,7±17,5	-1,79±18,6	0,146
GSH-R (U/L)	59,38±11,22	58,40±6,87	67,34±17,21 ^b	62,49±12,04	5,472	0,035	67,34±17,21	-5,49±13,22	0,037
GSH- Px (U/L)	74,04±14,00	71,48±11,6	80,71±9,07 ^b	68,63±10,74	31,583	0,001	14,29±11,87	-14,90±10,24	0,001

$p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, a; 0. gün değerine göre anlamlıdır, b; 30. gün değerlerine göre anlamlıdır, c; 90. gün değerine göre anlamlıdır.

*“Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi” ne göre “p” ve “F” değerleri

4.3. Çalışma Grubunda Başlangıç (0.Gün) , 30. Gün, 60. Gün ve 90.

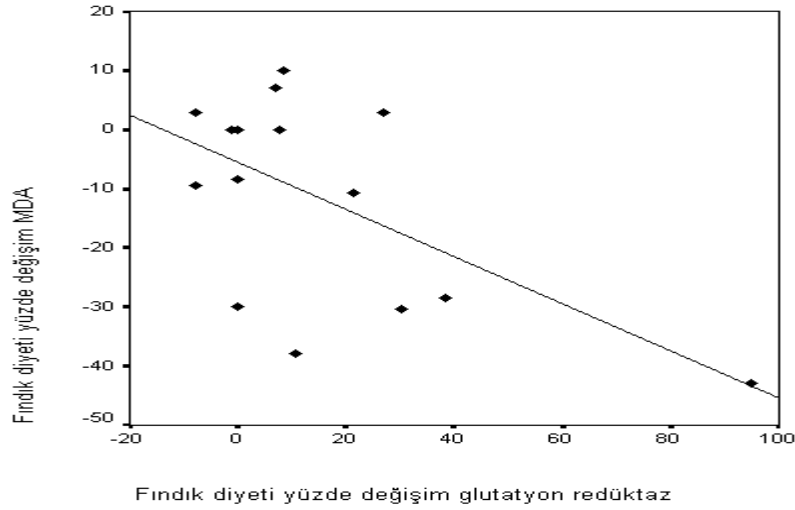
Günde Parametreler Arası Korelasyonlar

Fındık diyeti sonrası parametrelerinde anlamlı korelasyon görülmemiştir. Sadece başlangıç dönemi parametrelerinde TAS ile TOS arasında anlamlı negatif korelasyon bulunmuştur ($r= -0,532$, $p= 0,041$).

4.4. Çalışma Grubuna Ait Parametrelerin Yüzde Değişimleri Arasındaki Korelasyonlar

Fındık diyeti döneminde elde edilen parametrelerin yüzde olarak ne kadar değişim gösterdiği ve farklı parametrelerde gözlenen değişimlerin birbirlerini nasıl etkilediğini tespit etmek için yüzde fındık diyeti değişimi ile yüzde kontrol diyeti değişimi parametrelerinin farklarının yüzdesi alınarak korelasyon yapıldı.

Fındık diyeti döneminin yüzde değişimleri arasındaki korelasyonlara bakıldığında sadece MDA ile GSH-R arasında negatif korelasyon bulundu ($r = -0,592$, $p = 0,020$) (Şekil 8).



Şekil 8. Fındık Diyeti Yüzde Değişim Korelasyon Grafiği (MDA- GSH-R)

5. TARTIŞMA

Ağaçta yetişen sert kabuklu meyveler (yer fıstığı hariç) genel olarak “nut” başlığı altında toplanmışlardır. Bu meyveler besin içeriği olarak benzer özelliklere sahiptirler. 2003 yılına kadar yapılan vaka kontrol çalışmaları veya uzun süreli takip çalışmalarına göre bu meyvelerin tüketilmesinin sağlık üzerine olumlu etkileri ortaya konulmuştur. Amerikan FDA (Food And Drug Administration) kuruluşu bu çalışma sonuçlarına dayanarak nut’ları özellikle kardiyovasküler hastalık riskini azalttığından dolayı tüketilmesi gereken beş ana gıda maddesi arasında ilan etmiştir. Fındığın bu nut’lar arasında özellikle ülkemizin ana üretimi olması sebebiyle ayrı bir yeri vardır. Fındıkla ilgili yapılan çalışmalar da diğer nut’larla yapılan çalışmaları destekler niteliktedir. Üzerinde en çok odaklanılan konu kan yağları üzerine olan olumlu etkileridir. Fındık yağ ve protein açısından zengin bir besindir. 100 g iç fındık, 55-66 g yağ, 11-15 g protein, 12-17 g karbohidrat, 8-10 g lif içerir ve yaklaşık 650 kcal. enerji sağlar. Fındık yağı bileşimi üzerine yapılan çalışmalarda yaklaşık %82’ si tekli doymamış yağ asidi (MUFA) dir. İçerik olarak zeytinyağına benzediği ve tüm çeşitlerde en fazla oleik asidin (18:1,w-9) bulunduğu belirlenmiştir. Ayrıca, sırasıyla linoleik (18:2), palmitik (16:0), stearik (18:0) ve linolenik (18:3) asitlerin de bulunduğu belirtilmiştir (9). Doymuş yağ asitleri (SFA) fındıkta diğer nut’lara göre en az miktarda (%4-6) bulunur. Gerek MUFA’dan çok zengin gerekse SFA’dan fakir olması, fındığın kan yağlarını düşürücü etkide temel faktördür. Yine fındığın yapısında yer alan lifler, fitositeroller ve diğer biyolojik ürünler, bu kan yağlarının düşürülmesinde önemli katkı sağlar. Sert kabuklu meyveler bitkisel yağlardan sonra en zengin yağ içeriğine sahip doğal bitkisel yiyeceklerden biridir. Yağ asidi kompozisyonları zararlı değildir, çünkü doymuş yağ asidi içeriği düşüktür (% 4-16). Bunun yanında toplam yağ asidi içeriğine

bakıldığında neredeyse yarısını doymamış yağ asitleri oluşturur ve buda tekli doymamış yağ asitlerini (oleik asit) gösterir.

NCEP ATP III (National Cholesterol Education Programme Adult Treatment Panel III) kriterlerine göre ilaç tedavisi gerektirmeyen hiperkolesterolemik gönüllü bireylerde her gün düzenli fındık tüketiminin serum ve plazmada oksidan – antioksidan denge üzerine etkisini incelemeyi amaçladığımız bu çalışma gönüllü şahıslar üzerinde yapılmıştır. Çalışmaya yaşları 27 ile 59 arasında değişen 13 erkek, 2 kadın toplam 15 kişi katılmıştır. Kişilerin anamnezlerinde fındık alerjilerinin olmamasına dikkat edilmiş ve çalışmaya katılımlarında gönüllülük esas alınmıştır. Şahıslara, ölçülen vücut kitle indeksi ve vücut ağırlığına göre, ideal sınırlara gelebilmeleri için başlangıçtan itibaren bir ay boyunca kontrol diyeti uygulanmıştır. Takip eden ikinci bir aylık dönemde diyetlerine enerji ihtiyacının % 18-20' sini karşılayacak şekilde fındık eklenmiştir. Son dönemde ise eşdeğer kalorige fındıksız kontrol diyeti uygulanmıştır. Fındığın normal öğünlerle alınan besinlerle etkileşimini azaltmak için günlük fındık alınımı ikiye bölünmüş, birinci doz sabah ile öğle saatleri arasında, ikinci doz ise öğle ve akşam saatleri arasında alınmış, su dışında ilave içecek ve gıda alınımına müsaade edilmemiştir. Bu uygulamayla literatürde sert kabuklu meyvelerle yapılan çalışmalarda uygulanmış olan çalışma süresi, fındığın tüketim miktarı ve tüketim şeklinin standardize edilmesi amaçlanmıştır. Fındığın yağlı bir yiyecek olması sebebiyle düzenli tüketiminin vücut ağırlığında artışa neden olabileceği düşünülebilir. Lipid profili, plazma LDL oksidasyonu, HDL oksidasyonu ve fındık tüketen hiperlipidemik bireylerden elde edilen HDL' nin LDL oksidasyonu üzerine etkisinin incelendiği çalışma dahilinde olup tez kapsamı dışında olan çalışmamız tamamlandığında vücut ağırlığı ve vücut kütle indeksinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Çalışmada yer alan bireylerin vücut kütle indeksleri ve vücut ağırlıkları fındık diyeti sonrasında anlamlı olarak azalmıştır (55). Literatürdeki çalışmalara bakıldığında, normolipidemik bireylerde yapılan bir çalışmada fındığın günlük diyetlerine kalori ihtiyaçlarının yaklaşık %10-20 kadarı bir ek kalori sağlamasına rağmen bireylerde kilo artışı yapmadığı, çalışma tamamlandığında vücut kütle indekslerinin değişmediği gözlenmiştir (47). Durak ve ark (8), sağlıklı bireylerin normal diyetlerine günde kilogram başına 1 g olacak

şekilde 30 gün boyunca fındık eklenerek gerçekleştirdikleri çalışmada vücut ağırlığının değişmediği gözlemlenmiştir. Koçyiğit ve ark. sağlıklı normolipidemik bireylerde çam fıstığı tüketiminin plazma lipid profili ve oksidatif durumu üzerine olan etkilerini incelemişlerdir. Bireyler aldıkları günlük kalori miktarının %20' sini oluşturacak şekilde 3 hafta boyunca çam fıstığı tüketmiş ve sonuçta vücut kütle indekslerinin değişmediği saptanmıştır (60). Hiperkolesterolemik bireylerde de vücut ağırlığı ve vücut kütle indeksinin sert kabuklu meyve tüketimi ile değişmediği gözlenmiştir. Sert kabuklu meyvelerin sık tüketiminin tokluk hissini arttırması, yüksek miktardaki protein ve doymamış yağ asidi içeriği nedeni ile dinlenme halinde metabolik hızı arttırması ve yetersiz sindirilmeleri nedeni ile fekal yağ kaybının artıp kullanılabilir enerjinin azalması kilo kaybının sebepleri olarak düşünülmektedir (45, 56).

Sert kabuklu meyveler bitkisel yağlardan sonra en zengin yağ içeriğine sahip doğal bitkisel yiyeceklerden biridir. Yağ asidi kompozisyonları zararlı değildir, çünkü doymuş yağ asidi içeriği düşüktür (% 4-16). Bunun yanında toplam yağ asidi içeriğine bakıldığında neredeyse yarısını doymamış yağ asitleri oluşturur ve bu da tekli doymamış yağ asitlerini (oleik asit) gösterir. Sert kabuklu meyvelerden özellikle cevizde çoklu doymamış yağ asitleri de (linoleik asit ve α -linolenik asit) bulunur (57). Son yıllarda yapılan çalışmalarla fındıkta çok yüksek düzeylerde bulunan tekli doymamış yağ asidi oleik asidin (% 82 oleik asit, % 12 linoleik asit, % 15 palmitik asit ve %1 stearik asit) kanda kolesterolün yükselmesini önlediği ve böylece kalp ve damar hastalıklarına karşı koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir (11). Sert kabuklu meyvelerin tüm yiyecekler arasında kardiyovasküler açıdan faydalı etkileri olduğu desteklenmektedir. Epidemiyolojik çalışmaların büyük bir çoğunluğu sık olarak sert kabuklu meyve tüketiminin koroner kalp hastalıklarını azalttığını belirtmektedir (44,65). Beslenme üzerine yapılan çalışmalar açıkça gösterir ki, sağlıklı beslenmenin bir parçası olarak her türlü sert kabuklu meyve tüketiminin kolesterol düşürücü etkisi vardır (57). Tez kapsamı dışında yaptığımız çalışmayla serum toplam kolesterol düzeylerinde fındık diyeti sonrasında önemli ölçüde azalma, (% 8,03, $p<0,05$) LDL-K (%8,1) ve TG (%12,7) düzeylerinde serum total kolesterol düzeyleri gibi önemli ölçüde azalma belirlenmiştir. Fındıkta

MUFA miktarının yüksek olması özellikle oleik asit içermesi nedeniyle kandaki lipid parametreleri üzerine olumlu etki yaptığını beklemekteyiz. Yine Alper ve Mattes sağlıklı yetişkinler üzerinde yaptıkları çalışmada düzenli yer fıstığı tüketiminin serum trigliserid düzeyini düşürdüğünü, bunun yanı sıra toplam kolesterol, LDL kolesterol ve HDL kolesterol düzeylerini değiştirmediğini bulmuşlardır (58). E vitamini plazmada esas olarak LDL ile taşınır ve diğer dokularda olduğu gibi plazma E vitamininin %90 gibi büyük bir kısmını α -tokoferol oluşturur. Fındık ve fındık yağı E vitamininin en iyi doğal kaynağıdır. Her gün sadece 25-30 g fındık günlük E vitamini ihtiyacının tamamını karşılamaktadır (9). Fındık içeriğindeki yüksek E vitamini sebebiyle güçlü antioksidan özellik gösterir. E vitamini aterosklerotik ve diğer patolojik durumlar açısından hasarların oluşumunu engelleyici ya da hasarlara karşı koruyucu etki gösterir. Oksidatif stres sonucu oluşabilecek monositlerdeki serbest oksijen türlerine karşı mücadelesinde öncü rol oynarlar (60). Vitamin E çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna sebep olan zincir reaksiyonlarının sonlanmasında peroksil radikalının yakalanmasında antioksidan olarak fonksiyon görür (61,67). Bu özelliğiyle lipid peroksidasyonunda MDA (malondialdehit) üzerinde etkilidir. Malondialdehit (lipid oksidasyonu ürünü, MDA), lipid peroksidasyonunun son ürünlerindedir. Serbest radikallerin etkisiyle membran lipidlerinin peroksidasyonu sonucu oluşan MDA, membran akışkanlığının azalmasına neden olur (8). Plazmada yaptığımız çalışmayla fındık diyeti sonrasında MDA miktarında azalış gözlenmiştir. Fındığın içerdiği E vitamini sebebiyle antioksidan olarak görev yapıp, lipid peroksidasyonu sonucu oluşan MDA'ya etki ettiği beklenmektedir. Plazma MDA seviyelerinin ölçüldüğu pek çok çalışma vardır. Diyet sonrasında MDA seviyelerinde meydana gelen azalış bulgularımızı destekler niteliktedir ($3,74 \pm 0,71 - 3,66 \pm 0,93$ nmol/ml, $p < 0,05$). Bir çalışma badem diyeti sonrasında plazma malondialdehit (MDA) düzeylerinde azalış olduğunu gösterir (62). Berry ve ark tarafından sağlıklı bireyler üzerinde badem diyeti uygulanarak yapılan çalışmada badem diyeti sonrasında plazma ve LDL lipidlerinin oksidasyonu açısından azalma olmuştur (63).

Proteinlerin oksidasyonu sonucu, ileri oksidasyon ürünleri (AOPP) oluşur. Reaktif oksijen türlerinin proteinlerle etkileşimleri sonucu, histidin, arginin, prolin

ve lizin gibi amino asit yan zincirlerinde oluşan oksidatif hasar sonucunda protein karbonil ürünleri oluşur. Proteinlerin oksidatif stres göstergesi olarak ileri protein oksidasyon ürünleri (AOPP) kullanılır. AOPP, ditirozin içeren çapraz bağlı protein ürünleridir (33). Protein açısından önemli kaynaktırlar (enerjinin % 25), arginin bakımından zengindirler. Bu nedenle amino asit yan zincirlerinde meydana gelen ileri oksidasyon ürünlerini bertaraf ederler. Plazmada yaptığımız çalışmada tüm dönemler arasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$). Fındıkta bulunan arginin miktarının amino asit yan zincirlerinde meydana gelen oksidasyona olumlu yönde, amino asit sağlayıcısı olarak etki ettiği beklenmektedir. Çeşitli sebeplerle oksidasyona maruz kalma sonucunda ileri oksidasyon ürünlerinin ölçümü yapılmış olmasına rağmen, fındık diyeti ile ileri oksidasyon ürünleri arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmalara rastlanmamıştır. Ancak patolojik durumlarda ileri oksidasyon ürünlerinin arttığını belirten çalışmalar vardır (64).

Fındık fenolik bileşikler yönünden zengin bir besindir. İçerdiği polifenollerin özellikle flavonoidlerin Fe^{+2} , Cu^{+2} ve Zn^{+2} gibi geçiş metallerini bağladığı, elektron transferini katalizlediği ve serbest radikalleri temizlediği bilinmektedir. Yüksek Fe^{+2} bağlama özelliği iyi antioksidan aktivitenin bir göstergesidir. Serbest Fe (II) iyonları redoks aktif türler olup ve fenton reaksiyonları aracılığıyla serbest radikal oluşumlarına ve lipid peroksidasyonlarına neden olurlar (20). Polifenol ya da flavonoidler serbest radikaller üzerinde radikallerin zararlı etkilerini azaltıcı olarak görev alırlar. Flavonoidlerin serbest radikal temizleme kapasitesi yüksek olan antioksidan bileşiklerin yapısında yer aldığı belirtilmektedir (1, 68). Antioksidan enzimlerden olan glutatyon redüktaz ve glutatyon peroksidaz ile ilgili plazmada yaptığımız çalışmalarda fındık diyeti sonrasında anlamlı artış gözlemlendi ($p<0,05$). Fındıkta bulunan flavonoidler sayesinde fenton reaksiyonlarını azalttığı, antioksidan enzimlerin aktivitelerini arttırdığı beklenmektedir. Sert kabuklu meyve diyeti sonrasında antioksidan enzimlerde aktivite tayini çalışmalarına rastlanmamıştır. Bu anlamda yaptığımız çalışma literatür bilgilerine kaynak oluşturacak niteliktedir.

Fındık ve fındık yağının E vitamini bakımından zengin olması sebebiyle toplam oksidan- antioksidan kapasite üzerine etkilerinin olması beklenmektedir (66). Serumda yaptığımız çalışmada fındık diyeti sonrasında toplam oksidan

kapasite (TOS) nin azaldığı görüldü. Dönemler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Ancak ikili karşılaştırmalarda fındık diyeti sonrasındaki kontrol diyeti döneminde anlamlı fark görüldü. Fındık diyeti sonrasında toplam antioksidan kapasite (TAS) nin arttığı görüldü. Normolipidemik bireylerde fındık tüketiminin etkilerinin incelendiği bir çalışmada TAS miktarlarının fındık tüketiminden etkilenmediği değişmeden, kaldığı gözlenmiştir (47). Çalışmamızda Durak ve ark.'nın çalışmalarına benzer olarak fındığın antioksidan potansiyeli (AOP) arttırdığını gözlemledik. Durak ve ark. fındığın bazı antioksidan bileşenlerinin plazma antioksidan potansiyelini (AOP) arttırarak peroksidasyon reaksiyonlarını önleyebileceğini ileri sürmüşlerdir (8).

Yapılan bütün bu çalışmalar fındık ve yağ asitleri içeriği bakımından zeytinyağına yaklaşık değerinde olan fındık yağının lipid parametreleri üzerine etki ederek kardiyovasküler hastalıklardan korunmada önem taşıdığını göstermektedir. Oksidan – antioksidan denge üzerine olumlu etkileri olması nedeniyle fındık ve fındık yağının günlük diyetinde yer alması faydalı olacaktır.

5.1. Çalışmanın Dezavantajları

Üniversitemizin BAP destekleme kapsamında olan bu çalışmada yer alan bazı parametreler bazı aksaklıklar nedeniyle mevcut tez süresince yetiştirilememiştir. Antioksidan enzimlerden süperoksid dismutaz (SOD) ve katalaz (KAT), eser elementlerden çinko, selenyum seviyelerinin belirlenmesi gibi sonuçlar eksik kalmıştır. Aksaklıkların giderilmesiyle eksik kalan çalışmalar tez kapsamı dışında tamamlanıp sonuçlar tekrar değerlendirilecektir.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

Çalışma grubunu oluşturan 15 kişinin fındık ve kontrol diyeti sonrası elde edilen sonuçlarına bakıldığında;

Kan yağları değerleriyle yapılan fındık diyeti ve kontrol diyeti % değişim korelasyonları incelendiğinde total kolesterol ile glutatyon redüktaz arasında anlamlı pozitif korelasyon, total kolesterol ile MDA arasında anlamlı negatif korelasyon belirlendi.

MDA değerlerinde fındık diyeti sonrasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Fındık diyeti % değişim korelasyonlarına bakıldığında MDA ile GSH-R arasında anlamlı negatif korelasyon belirlendi.

TOS değerlerinde fındık diyeti sonrasında azalma olmasına rağmen, dönemler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (yapılan korelasyonlarda TOS ile TAS arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon bulundu).

TAS değerlerinde fındık diyeti sonrasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görüldü. Kontrol diyeti % değişim korelasyonlarına bakıldığında GSH-R ile TAS arasında azalış belirlendi. TAS/TOS oranlarında fındık diyeti dönemine bakıldığında anlamlı azalma belirlenirken, kontrol diyeti döneminde artma belirlendi. İstatistiksel olarak bu değişimler anlamlı bulundu.

AOPP değerlerinde dönemler arasında anlamlı fark görülmedi. Ancak ikili karşılaştırmalarda fındık diyeti sonrasında anlamlı fark bulundu.

GSH-R değerlerine bakıldığında dönemler arasında istatistiksel olarak anlamlı artış görüldü.

GSH-Px değerlerine bakıldığında fındık diyeti sonrasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenirken, kontrol diyeti döneminde anlamlı düzeyde azalış belirlendi.

6.2. Öneriler

İlaç kullanımı gerektirmeyen hiperkolesterolemik bireylerde her gün belirli miktar fındık (enerji ihtiyacının %18-20' sini geçmeyecek şekilde) tüketmelerinin oksidan sistemi azaltan etkisi olduğu düşüncesindeyiz.

Bunun yanında devam etmekte olan proje kapsamında bu çalışmada eksik kalan antioksidan enzim parametrelerinin ve eser element seviyelerinin belirlenmesi ile daha kesin bir değerlendirme yapılabileceği düşünülmektedir.

7. ÖZET

HİPERKOLESTEROLEMİK BİREYLERDE FINDIK TÜKETİMİNİN SERUM VE PLAZMADA OKSİDAN - ANTIOKSİDAN DENGEEYE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Fındık tekli doymamış yağ asidi (oleik asit) ve E vitamini içeriğiyle serbest radikal hasarlarına karşı antioksidan olarak görev yapar. Fındık tüketiminin hiperkolesterolemik bireylerde serum ve plazmada oksidan - antioksidan dengeye etkisini incelemeyi amaçladık. Çalışma grubu 13 erkek ve 2 kadından oluşmaktadır. Kan örnekleri 0. gün (başlangıçta), 30. gün, 60. gün (findık diyeti sonrası) ve 90. gün (kontrol diyeti sonrası)de toplanmıştır. Bireylerin işlenmemiş fındık tüketimi, günlük enerji ihtiyaçlarının % 18-20' sini karşılamaktadır.

Fındık diyeti sonrasında plazma lipid peroksidasyon göstergesi olan malondialdehit (MDA) seviyesinde anlamlı olarak azalma ($p < 0,05$), plazma protein oksidasyonu göstergesi olan ileri oksidasyon ürünleri (AOPP) seviyesinde azalma ($p > 0,05$) gözlenmiştir. Serumda toplam oksidan kapasite (TOS) değerlerinde anlamlı olarak azalma ve toplam antioksidan kapasite (TAS) değerlerinde anlamlı olarak artma gözlenmiştir ($p < 0,05$). Plazmada glutatyon redüktaz (GSH-R) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir ($p < 0,05$).

Sonuç olarak hiperkolesterolemik bireylerde fındık tüketiminin serum ve plazmada oksidasyon üzerine olumlu etkilerinin olduğu söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Fındık, Hiperkolesterolemi, Protein Oksidasyonu, Lipid Peroksidasyonu , Oksidasyon.

8. SUMMARY

AN INVESTIGATION OF THE EFFECT OF HAZELNUT CONSUMPTION ON SERUM AND PLASMA OXIDANT- ANTIOXIDANT BALANCE IN HYPERCHOLESTEROLEMIC INDIVIDUALS

Hazelnut performs antioxidant against free radical damages with vitamin E and monounsaturated fatty acid (oleic acid) contents. We aimed to determine the effects of hazelnut consumption by diet on serum and plasma oxidant – antioxidant balance in hypercholesterolemic individuals. Study group was included 13 men and 2 women. Blood samples were collected before starting the study, on 30th day, 60th day (after hazelnut diet) and 90th day (after control diet) of the study. Raw hazelnut consumption compensate of individuals daily energy needs of 18-20 %.

After hazelnut diet we indicate that malondialdehyde (MDA), demonstration of plasma lipid peroxidation, levels reduce with statistical significance ($p < 0,05$), advanced oxidation protein product (AOPP), demonstration of plasma protein oxidation, levels reduce ($p > 0,05$). Total oxidant capacity (TOS) values decrease and total antioxidant capacity (TAS) values increase with statistical significance on serum ($p < 0,05$). Glutathione reductase (GSH-R) and glutathione peroxidase (GSH-Px) levels have with statistical significance difference on plasma ($p < 0,05$).

It can be concluded that hazelnut consumption in hypercholesterolemic individuals have beneficial effects oxidation on serum and plasma.

Keywords: Hazelnut, hypercholesterolemia, oxidation- antioxidant, lipid peroxidation, protein oxidation.

9. KAYNAKLAR

1. Rice-Evans, C. A., Miller N. J. and Paganga G. : Antioxidant Properties of Phenolic Compounds , *Trends Plant Sci.*, 2 , 152-159, 1997.
2. Polidori, M. C., Stahl, W., Eichler, O., Niestroj, I. and Sies, H. : Profiles Of Antioxidants In Human Plasma , *Free Rad. Bio. & Med.*, Vol.30, No.5, 456- 462, 2001.
3. Aust, O., Sies, H., Stahl, W. and Polidori, M.C. : Analysis Of Lipophilic Antioxidants In Human Serum And Tissues: Tocopherols And Carotenoids *J. Of Chrom. A*, 936, 83–93, 2001.
4. Jose´ M. Mates, J.M., Cristina Perez-Gomez, C. and Nunez De Castro, I. : Antioxidant Enzymes and Human Diseases, *Clin. Biochem.*, Vol. 32, No. 8, 595–603, 1999.
5. Ames, B.N., Shigenaga, M.K. and Hagen, T.M. : Oxidants, Antioxidants And The Degenerative Diseases Of Aging, *Proc. Natl. Acad Sci. USA*, 90: 7915-7922, 1993.
6. Sies H. : Oxidative Stress: Oxidants And Antioxidants, *Experimen. Phys.*, 82. 291- 295, 1997.

7. Gate, M., Paul, J., Nguye, B.G., Tew, K.D. and Tagiero, H. : Oxidative Stres Induced In Patholigies : The Role Of Antioxidants, *Biomed. & Pharm.*, 53: 169-180, 1999.
8. Durak, İ., Köksal, İ., Kaçmaz, M., Büyükkoçak S., Çimen, B. ve Öztürk, S. : Hazelnut Supplementation Enhances Plasma Antioxidant Potential And Lowers Plasma Cholesterol Levels, *Clin. Chim. Acta* 284, 113–115, 1999.
9. Pehlivanoğlu, S. : Kalp ve Damar Hastalıklarından Korunmada Fındığın Etkisi, 3. Milli Fındık Şurası Tebliğler Kitabı, *Uğur Eğitim Hizmetleri ve Yayıncılık*, Ocak, 584-586, 2006.
10. Bayram, F., Şahan, S., Kurtoğlu, S. ve Karadeniz, T. : Sağlık Ve Beslenme Gözüyle Fındık, 3. Milli Fındık Şurası Tebliğler Kitabı, *Uğur Eğitim Hizmetleri ve Yayıncılık*, Ocak, 590-595, 2006.
11. Yağmur, C. ve Özer, A. : Fındığın İnsan Beslenmesi Ve Sağlığındaki Önemi, 3. Milli Fındık Şurası Tebliğler Kitabı, *Uğur Eğitim Hizmetleri ve Yayıncılık*, Ocak, 602-607,2006.
12. Almario, R., Wong, R., Karakas, K. and Vonghavaravat, V. : Effects Of Walnut Consumption On Plasma Fatty Acids And Lipoproteins In Combined Hyperlipidemia, *Am. J. Clin. Nutr.*, 74:72–9, 2001.
13. Altan, N., Dinçel, A.S. ve Koca, C. : Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres, *Türk Biyokimya Dergisi*, 31 (2); 51–56,2006.
14. Çakatay, U. ve Kayalı, R. : Serbest Radikal Biyokimyasının Tarihsel Süreçteki Gelişimi, *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 37: 162 – 167, 2006.
15. Azzi, A. : Oxidative Stres : A Dead End / Or A Laboratory Hypothesis?, *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 362, 230–232, 2007.

16. Gümüřtař, M.K. ve Atukeren, P. : Oksidatif Ve Nitrozatif Stresin Psikiyatrik Bozukluklarla İlişkisi, *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakóltesi Sürekli Tıp Eđitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi*, 62,329-340, 2008.
17. Oldham, K.M. and Bowen, P.E. : Oxidative Stres In Critical Care: Is Antioxidant Supplementation Beneficial, *J. Am. Diet. Assoc.* 98: 1001- 1008, 1998.
18. Akkuş, İ. : Serbest Radikaller ve Fiziopatolojik Etkileri, Mimoza Yay., Konya, 34-35, 1995.
19. Slater, T.F., Cheeseman, K.H., Davies, M.J.K., Proudfoot, K. and XIN, W. : Free Radical Mechanisms In Relation To Tissue Injury, *Proc. Of The Nutr. Soc.* , 46,1-12, 1987.
20. Halliwell, B. : Oxidants And Human Disease: Some New Concepts. *Faseb J.* 1: 358-364; 1987.
21. Kohen, R. : Skin Antioxidants: Their Role In Aging And Oxidative Stress- New Approaches For Their Evaluation, *Biomed. &Pharm.*, 53 :181-92, 1999.
22. Kelly, S.A., Havrilla,M.C., Brady, T.C., Abramo, K.H. and Levin E.D. : Oxidative Stress In Toxicology: Established Mammalian and Emerging Piscine Model Systems, *Environ. Health Persp.* ,106:375 384,1998.
23. Nelson, D.L. and Cox, M.M. : Lehninger Principles of Biochemistry, 4th ed., *W.H. Freeman and Company*, 821-825 , 2005.

24. Bauer, G. and Chatgialiloglu, C. : Biologically Relevant Small Radicals , *Chimia*, 62, 704-712, 2008.
25. Fridovich, I. and Hassan, H.M. : Regulation Of The Synthesis Of Superoxide Dismutase In E. Coli, *The J. Of Biologicalchem.*, 252, 7667-7672, 1977.
26. Shindo, Y., Witt, E. and Packer, L. : Antioxidant Defense Mechanisms In Murine Epidermis And Dermis And Their Responses To Ultraviolet Light, *J. Of Inves. Derma.* , 100, 260–265, 1993.
27. Pacher, P., Beckman, J.S. and Liaudet, L. : Nitric Oxide And Peroxynitrite In Health And Disease, *Physiol. Rev.*, 87: 315-424, 2007.
28. Hoe, H.F. and O'Neil, J. : Structural And Functional Changes In LDL After Modification With Both 4-Hydroxynonenal And Malondialdehyde, *J. Lipid Res.*, 34: 1209-1217,1993.
29. Halliwell, B. and Chirico, S. : Lipid Peroxidation: Its Mechanism, Measurement And Significance, *Am. J. Clin. Nutr.*, 57: 715-725,1993.
30. Kusano, C. and Ferrari, B. : Total Antioxidant Capacity: A Biomarker In Biomedical And Nutritional Studies, *J. Of Cell And Mol. Bio.* 7(1) : 1-15, 2008.
31. Dalle-Donne, I. and Rossi, R. : Biomarkers Of Oxidative Damage In Human Disease, *Clin. Chem.*, 52:4, 601–623,2006.
32. Chatgialiloglu, C. and Ferreri, C. : Lipidomics And Free Radical Modifications Of Lipids, *Chimia*, 62, 713-720, 2008.

33. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillere-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, Jungers P and Descamps-Latscha B. : Advanced Oxidation Protein Products As A Novel Marker Of Oxidative Stress In Uremia, *Kidney Int.*, 49: 1304-1313, 1996.
34. Dalle-Donne, I., Rossi, R., Giustarini, D., Milzani, A. and Colombo, R. : Protein Carbonyl Groups As Biomarkers Of Oxidative Stres, *Clin. Chim. Acta* 329, 23–38, 2003.
35. Berlett, B.S. and Stadtman, E. R. : Protein Oxidation In Aging, Disease, And Oxidative Stres, *The J. Of Bio. Chem.*, 272: 33,20313–20316, 1997.
36. Stadtman, E. R. and Levine, R. L.: Free Radical-Mediated Oxidation Free Amino Acids And Amino Acid Residues In Proteins, *Amino Acids*, 25: 207–218,2003.
37. Kayalı, R. ve Çakatay, U. : Protein Oksidasyonunun Ana Mekanizmaları, *Cerrahpaşa J. Med.*, 35: 83-89, 2004.
38. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Nguyen Khoa T, Capeillere-Blandin C, Nguyen AT, Canteloup S, Dayer JM, Jungers P, Drüeke T. and Descamps-Latscha B. : Advanced Oxidation Protein Products As A Novel Mediators Of Inflammation And Monocyte Activation In Chronic Renal Failure, *J. Immunol.*, 161: 2524-2532, 1998.
39. Dündar, Y. ve Aslan, R. : Bir Antioksidan Olarak Vitamin E, *Genel Tıp Dergisi*, 9-3, 109-116, 1999.
40. Jenkins, D.J.A., Kendall, C.W.C., Marchie, A., Parker, T.L., Connelly, P.W., Qian, W., Haight, J.S., Faulkner, D., Vidgen, E., Lapsley, K.G. and Spiller, G.A. : Dose Response Of Almonds On Coronary Heart Disease Risk Factors:

Blood Lipids, Oxidized Low-Density Lipoproteins, Lipoprotein (a), Homocysteine, and Pulmonary Nitric Oxide, *Circulation.*, 106: 1327-1332, 2002.

41. Jenkins, D.J.A., Kendall, C.W.C., Popovich, D.G., Vidgen, E., Mehling, C.C., Vuksan, V., Ransom, T.P.P., Rao, A.V., Rosenberg-Zand, R., Tariq, N., Corey, P., Jones, P.J.H., Raeini, M., Story, J.A., Furumoto, E.J., Illingworth, D.R., Pappu, A.S. and Connelly, P.W. : Effect Of A Very-High-Fiber Vegetable, Fruit And Nut Diet On Serum Lipids And Colonic Function, *Metabolism.*, 50: 494-503, 2001.
42. Hu, F.B. : Plant-Based Foods And Prevention Of Cardiovascular Disease: An Overview, *Am. J. Clin. Nutr.*, 78: 544-551, 2003.
43. Fraser, G.E. : Nut Consumption, Lipids And Risk Of A Coronary Event, *Clin. Cardiol.*, 22 : III-11-III15, 1999.
44. Mukuddem-Petersen, J., Oosthuizen, W. and Jerling, J.C. : A Systematic Review Of The Effects Of Nuts On Blood Lipid Profiles In Humans, *J. Nutr.*, 135: 2082–2089, 2005.
45. Sabaté, J. : Nut Consumption And Body Weight, *Am. J. Clin. Nutr.*, 78: 647–650, 2003.
46. Anderson, J.W. , Tammy, J. MD., Hanna, BS., Xuejun Peng, BS. And Kryscio, R.J. : Whole Grain Foods and Heart Disease Risk, *J. Of The Am. Col. Of Nutr.*, 19-3, 291–299, 2000.
47. Balaban, F. : Normolipidemik Bireylerde Fındık Tüketiminin Aterojenik Ve Antiaterojenik Parametreler Üzerine Etkileri, KTÜ Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tez Çalışması, 2006.

48. Yagi K. : Assay For Blood Plasma Or Serum Methods In Enzymol, 105: 328-331, 1984.
49. Satoh K. : Serum Lipid Peroxidase In Cerebrovascular Disorders Determined By A New Colorimetric Method, *Clin. Chim. Acta*, 90: 37-43, 1978.
50. Erel Ö. : A New Automated Colorimetric Method For Measuring Total Oxidant Status, *Clin. Biochem.*, 38: 1103-1111, 2005.
51. Erel, Ö. : A Novel Automated Method To Measure Total Antioxidant Response Against Free Radical Reactions, *Clin. Biochem.*, 37;2, 112-119, 2004.
52. Witko, V., Nguyen, A.T. and Decamps-Latscha, B. : Microtiter Plate Assay For Phagocyte Derived Taurinechloramines, *J. Clin. Lab. Anal.*, 6, 47-53, 1992.
53. Goldberg, D.M. and Spooner, R.J. : In Methods Of Enzymatic Analysis (Bergmeyer H.V. Ed.) 3rd Edn., *Verlag Chemie, Deerfield Beach, Fl.* 3, 258-265, 1983.
54. Beutler E. : A Manual Of Biochemical Methods. 2nd ed. New York. *Grunef Strotton*, 1975.
55. Akcan, B. : Fındık Tüketen Hiperkolesterolemik Bireylerden Elde Edilen Hdl' nin Ldl Oksidasyonu Üzerine Etkisinin İncelenmesi, KTÜ Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tez Çalışması, 2008.

56. Jiang, R., Jacobs, DR., Mayer-Davis, E., Szklo, M., Herrington, D., Jenny, N., Kronmal, R. and Barr, RG. : Nut and Seed Consumption And Inflammatory Markers In The Mlti- Ethnic Study Of Atherosclerosis, *Am. J. Epid.*, 163,222-231,2006.
57. Kelly, JH. and Sabate, J. : Nuts and Coronary Heart Disease: An Epidemiological Perspective, *Br. J. Nutr.*, 96,61-67,2006.
58. Alper, C.M. and Mattes, R.D. : Peanut Consumption Improves Indices Of Cardiovascular Disease Risk In Healthy Adults, *J. Of The Am. Col. Of Nutr.*, Vol. 22, No. 2, 133-141, 2003.
59. Koçyiğit, A., Koylu, A.A. ve Keleş, H. : Effects Of Pistachio Nuts Consumption On Plasma Lipid Profile And Oxidative Status In Healthy Volunteers, *Nutr., Met. And Cardio. Dis.*, 16: 202-209, 2006.
60. Blomhoff, R. : Dietary Antioxidants And Cardiovascular Disease, *Curr. Opin. Lipidol.*, 16,47-54,2005.
61. Singh, U., Devaraj, S. and Jialal, I. : Vitamin E, Oxidative Stress, And Inflammation, *Annu. Rev. Nutr.*, 25:151–74, 2005.
62. Jenkins, CW. and Marchie, A. : Almonds Reduce Biomarkers Of Lipid Peroxidation In Older Hyperlipidemic Subjects, *J. Nutr.*, 138,908-913,2008.
63. Berry, EM., Eisenberg, S. and Friedlander, Y. : Effects Of Diets Rich In Monosaturated Fatty Acids On Plasma Lipoproteins- The Jerusalem Nutrition Study. II Monosaturated Fatty Acids vs Carbohydrates, *Am. J. Clin. Nutr.*, 56,394-403, 1992.

- 64.** Yazıcı, C. ve Köse, K. : Kronik Böbrek Yetmezliğinde Oksidatif Stres ve Biyomarkırları, *Nefroloji Dergisi*, 13 (3) 117-124, 2004.
- 65.** Ros, E. and Mataix, J. : Fatty Acid Composition Of Nuts, Implications For Cardiovascular Health, *Br. J. Nutr.*, 96, 29-35, 2006.
- 66.** Blomhoff, R., Carlsen, M.H., Frost Andersen, L. and Jacobs, D.R. Jr. : Health Benefits Of Nuts : Potential Role Of Antioxidants, *Br. J. Nutr.*, 96, 52-60, 2006.
- 67.** Traber, M.G. : Vitamin E Regulatory Mechanisms, *Annu. Rev. Nutr.* , 27: 347-62, 2007.
- 68.** Sang, S., Lapsley, K., Jeong, WS, Iachance, PA., Ho, CT and Rosen, RT. : Antioxidative Phenolic Compounds Isolated From Almond Skins, *J. Agric. Food Chem.*, 50, 2459-2463, 2002.
- 69.** Harma, M. , Harma, M., Erel, Ö. : Increased Oxidative Stress In Patients With Hydatidiform Mole, *Swiss Med Wkly* 133: 563- 566, 2003.

ÖZGEÇMİŞ

Tuğba Mazlum 1984 yılında Trabzon'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini aynı ilde tamamladı. 2002 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Giresun Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde öğrenime başladı ve 2006 yılında mezun oldu. 2007 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladı. Halen aynı enstitüde yüksek lisans öğrenimine devam etmektedir.