

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

FINDIK TÜKETEN HİPERKOLESTEROLEMİK BİREYLERDEN
ELDE EDİLEN HDL' NİN LDL OKSİDASYONU ÜZERİNE
ETKİSİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BUKET AKCAN

TEMMUZ-2008
TRABZON

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

FINDIK TÜKETEN HİPERKOLESTEROLEMİK BİREYLERDEN
ELDE EDİLEN HDL' NİN LDL OKSİDASYONU ÜZERİNE
ETKİSİNİN İNCELENMESİ

BUKET AKCAN

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 09.07.2008

Tezin Sözlü Savunma Sınavı : 23.07.2008

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Asım ÖREM

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Orhan DEĞER

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Cihan ÖREM

Enstitü Müdürü : Prof. Dr. Orhan DEĞER

TEMMUZ-2008

TRABZON

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	iii
KISALTMALAR	iv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Lipoproteinler ve Genel Özellikleri	3
2.1.1. Apolipoproteinler	4
2.1.2. Şilomikronlar	5
2.1.3. Çok Düşük Yoğunluklu Lipoproteinler	5
2.1.4. Ara Yoğunluklu Lipoprotein	5
2.1.5. Düşük Yoğunluklu Lipoprotein	5
2.1.6. Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein	6
2.2. LDL Oksidasyonu	10
2.2.1. LDL' nin Oksidasyon Mekanizması	10
2.2.2. Okside LDL Şekilleri	11
2.2.3. Okside LDL ve Ateroskleroz	13
2.3. HDL Oksidasyonu	13
2.4. Oksidan Sistemler ve Oksidatif Stres	14
2.5. Hiperlipidemi ve Ateroskleroz	16
2.6. HDL ve Ateroskleroz	17
2.6.1. Paraoksonaz	19
2.7. Sert Kabuklu Meyveler	21
2.7.1. Fındık	22
3. MATERYAL ve METOD	25
3.1. Materyal	25
3.1.1. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler	25
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	26
3.2. Metod	27

3.2.1. Deneyin Planlanması ve Numunelerin Toplanması	27
3.2.2. Biyokimyasal Parametreler	27
3.2.3. Lipoproteinlerin İzolasyonu	28
3.2.4. Lipoproteinlerin Diyalizi	30
3.2.5. Lipoproteinlerde Protein Tayini	31
3.2.6. LDL Oksidasyonu	34
3.2.7. HDL Oksidasyonu	36
3.2.8. HDL Varlığında LDL Oksidasyonu	37
3.2.9. PON Aktivitesinin Belirlenmesi	38
3.2.10. Lipid Elektroforezi	38
3.3. İstatistiksel Analizler	38
4. BULGULAR	39
4.1. Çalışma Grubunun Demografik Verileri ve Başlangıç, 30. Gün, 60. Gün ve 90. Güne Ait parametrelerin Ortalama Değerleri	39
4.2. Çalışma Grubunda 30. Gün, 60. Gün ve 90. Günde Parametreler Arasındaki Korelasyonlar	45
4.2.1. 30. Gün Parametreleri Arasındaki Korelasyonlar	45
4.2.2. 60. Gün Parametreleri Arasındaki Korelasyonlar	45
4.2.3. 90. Gün Parametreleri Arasındaki Korelasyonlar	46
4.3. Çalışma Grubuna Ait Parametrelerin Yüzde Değişimleri Arasındaki Korelasyonlar	46
4.3.1. 30. Gün ve 60. Gün Yüzde Değişimleri Arasındaki Korelasyonlar	46
4.3.2. 60. Gün ve 90. Gün Yüzde Değişimleri Arasındaki Korelasyonlar	47
5. TARTIŞMA	49
5.1. Çalışmanın Dezavantajları	56
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	57
6.1. Sonuçlar	57
6.2. Öneriler	58
7. ÖZET	59
8. SUMMARY	61
9. KAYNAKLAR	63
ÖZGEÇMİŞ	

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. Kağan Kılınç ve Dr. Fulya Balaban Yücesan' a,

Kardiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Sayın Doç.Dr. Cihan Örem' e,

Çalışma grubunda yer alan gönüllülere,

Anabilim dalındaki tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Her zaman bana destek olan ve hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan aileme en içten dileklerle teşekkür ederim.

Buket Akcan

KISALTMALAR

A ⁰	: Sıfırıncı dakikadaki absorbans
Apo	: Apolipoprotein
CETP	: Kolesterol ester transfer proteini
DKH	: Dien konjugasyon hızı
HDL	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HL	: Hepatik lipaz
IDL	: Ara yoğunluklu lipoprotein
LCAT	: Lesitin kolesterol açıl transferaz
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
LPL	: Lipoprotein lipaz
Lp(a)	: Lipoprotein a
MDK	: Maksimum dien konsantrasyonu
MUFA	: Tekli doymamış yağ asiti
NCEP-ATP III: National Cholesterol Education Programme Adult Treatment Panel III	
mmLDL	: Hafif modifiye LDL
ox-LDL	: Okside LDL
PAF-AH	: Platelet aktive edici faktör asetil hidrolaz
PC	: Fosfolipid kolin
PLTP	: Fosfolipid transfer proteini
PON	: Paraoksonaz
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asiti
ŞM	: Şilomikron
TG	: Triaçil gliserol
t-lag	: Gecikme süresi
t-max	: Maksimum absorbansa ulaşma süresi
VLDL	: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kardiyovasküler hastalıklar ve buna bağlı ölümler günümüzde özellikle gelişmiş ülkelerde en önemli sağlık problemlerinin başında gelir. (1). Kardiyovasküler hastalıklar Avrupa Birliği ülkelerinde yılda yaklaşık 1,5 milyon insanın ölümüne neden olmaktadır. Ülkemizde de benzer tablo vardır. Kardiyovasküler hastalıkların altında yatan başlıca sebep aterosklerozdur.

Ateroskleroz orta ve büyük arterlerin intima tabakasında gelişen, “aterom” denilen fibröz-yağlı plak oluşumu ile karakterize, kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Endotel disfonksiyonu, lipid ve lipoprotein düzeylerindeki değişimler ve LDL yapısında meydana gelen oksidasyon aterosklerozun patogenezinde oldukça önemlidir. Genetik yatkınlık, hipertansiyon, dislipidemi, diabetes mellitus, obezite, oksidatif stres, sigara, bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, hiperhomosisteinemi ve doymuş yağ ve kolesterol oranı yüksek, sebze, meyve ve tahıl oranı düşük diyet ateroskleroza neden olan başlıca risk faktörleridir.

Hiperlipidemi kan lipid düzeylerinin normalin üzerinde olması ile karakterize bir durumdur. Serum kolesterolü yüksekliği ile ateroskleroz gelişimi arasında sürekli, dereceli ve kuvvetli bir ilişki olduğu gösterilmiştir.

HDL, ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıkların gelişimini engelleyici bir rol oynar ve yüksek plazma HDL düzeyleri ile ateroskleroz gelişim insidansı ters yönde ilişkilidir (2). HDL antiaterojenik, kardiyoprotektif ve antiinflamatuvar özelliklerini birçok mekanizma ile gösterir. Dokuların kolesterol düzeyini düzenleyen “ters yönde kolesterol taşınması”, LDL'nin oksidasyonunu engellemesi ve inflamatuvar yanıtı azaltması bunlardan en önemli olanlarıdır (2).

Diyet hem korunma hem de tedaviye eşlik etme açısından önemlidir. İlaç tedavisine başlansa bile diyet sürdürülmeli ve yaşam boyu devam eden bir alışkanlık haline getirilmelidir (3). Diyetle aldığımız yağların plazma lipid düzeylerini ve lipoproteinlerin

yağ asidi kompozisyonlarını değiştirmesi ateroskleroz ve koroner arter hastalığı gelişiminde oldukça önemlidir. Günlük diyet içerisinde meyve, sebze, sert kabuklu meyvelerin (fındık, fıstık, badem, ceviz gibi) ve tam tahıl oranının arttırılması, rafine edilmiş tahıl tüketiminin (rneğin beyaz ekmek) azaltılması kalp ve damar hastalığı yönünden sağlıklı beslenmenin ana öğeleridir (1).

Sert kabuklu meyvelerin tüketimi ateroskleroz ve koroner arter hastalığı gelişiminin önlenmesi için tavsiye edilen pek çok diyetle yer almaktadır. Son yıllarda yapılan birçok araştırma sert kabuklu meyveler sınıfından olan fındık tüketiminin insan beslenmesi üzerinde olumlu etkilerinin olduğunu ortaya koymuştur (1). Doymuş yağ asidi yönünden fakir, MUFA (zellikle oleik asit) yönünden zengin, PUFA miktarı yeterli ve antioksidan (E vitamini) potansiyeli yüksek olan fındık ve fındık yağına günlük diyetle (yağdan gelen enerjinin %20' sini geçmeyecek şekilde) yer verilmesinin, aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklardan korunmada yararlı olacağı ne srlmştir (4).

Kardiyovasküler hastalık oranının yüksek olduğu ülkemiz, dünya fındık üretiminin büyük bir kısmını karşılamasına rağmen tüketimi fazla değildir. Dünya fındık üretiminin %74'  ve fındık ihracatının %87' si ülkemiz tarafından karşılanmaktayken i tüketimimiz üretimimizin %8-10'u kadardır (5). Fındığın tüketimi ülkemizde olduğu gibi Avrupa ve Amerika kıtasında bulunan ülkelerde de oldukça sınırlıdır. Avrupa ve Amerika kıtasında antiaterojenik özelliği olan doğal besin kaynaklarının tüketimi bu besin kaynaklarının antiaterojenik özelliklerinin bilimsel çalışmalar ile ortaya konulmasından sonra büyük bir hızla artmıştır.

Fındığın insanlarda total kolesterol, trigliserid, LDL kolesterol ve HDL kolesterol düzeylerine olan etkisini gösteren çalışmalar olduğu gibi (6), fındık yağının hayvanlar üzerine etkisini gösteren çalışmalar da mevcuttur (7). Sert kabuklu meyve tüketiminin hiperkolesterolemik bireylerde de lipid profili üzerine etkili olduğu pek çok çalışma ile gösterilmiştir (8). Fakat fındığın hiperkolesterolemik bireylerde lipoproteinlerin oksidasyonu üzerine etkisini gösteren bir çalışma yoktur.

Bu alışmada, NCEP ATP III (National Cholesterol Education Programme Adult Treatment Panel III) kriterlerine göre ilaç tedavisi gerektirmeyen hiperkolesterolemik bireylerde her gün düzenli fındık tüketiminin total kolesterol, trigliserid, LDL kolesterol ve HDL kolesterol düzeylerine olan etkisi yanında izole HDL ve LDL oksidasyonu ile bu bireylerden elde edilen HDL' nin LDL oksidasyonu üzerine etkisini incelemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Lipoproteinler ve Genel Özellikleri

Sulu çözeltilerde çözünmediklerinden veya çok az çözündüklerinden dolayı lipidler plazmada protein molekülleri ile beraber lipoprotein denilen suda çözünebilir makromolekül kompleksleri şeklinde taşınır halde bulunurlar (9). Lipoproteinler genel olarak içte hidrofobik lipidleri (trigliserid ve ester kolesterol) barındıran bir çekirdek ile dışta bir fosfolipid tabakası ile bu tabaka arasına yerleşmiş serbest kolesterol ile proteinlerden oluşur. Proteinler hücre membranında olduğu gibi bu tabaka arasında ve üzerinde yerleşik olabilir.

Lipoproteinlerin protein kısımları apolipoprotein (veya apoprotein) ile enzimlerden meydana gelir (9). Apoproteinler son derece geniş bir sınıfı oluştururlar ve reseptör ligandından enzim aktivatörlüğüne kadar çeşitli görevleri yerine getirirler. Enzimler diğer bazı proteinlerle beraber lipidlerin transferinde, şekillendirilmesinde rol oynadıkları gibi antioksidan özelliklerden de sorumlu olabilmektedirler.

Lipoproteinler, elektroforetik hareketliliklerine, yoğunluklarına ve içerdikleri apoproteinlere göre altı farklı lipoprotein sınıfını oluştururlar: Şilomikronlar (ŞM), çok düşük yoğunluklu lipoproteinler (VLDL), düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL), ara yoğunluklu lipoproteinler (IDL), yüksek yoğunluklu lipoproteinler (HDL) ve Lipoprotein (a) [Lp(a)] (9).

Tablo 1: Lipoprotein Sınıfları ve Genel Özellikleri (9)

Sınıfı	Yoğunluğu (g/mL)	Çapı (nm)	Flatasyon hızı (Sf)	Lipid ve protein (p) İçeriği (%)				Apolipoproteinleri
				P	TK	TG	FL	
ŞM	<0.95	75-200(0)	<400	1-2	4	85	8	B48,AI,AIV,
VLDL	0.95-1.006	30-80(preβ)	20-400	8	23	55	15	B100,E,CI,CII,CIII
IDL	1.006-1.019	25-35 (β)	12-20	10	35	28	26	B100, E
LDL	1.019-1.063	18-25 (β)	0-12	18	65	8	13	B100
HDL	1.063-1.210	5-12 (α)		50	25	5	20	AI,AII,CI,CII,CIII, E
Lp(a)	1.055-1.085	15-20		21	66	8	26	apo(a), B100

Diyetle alınan lipidler kısmi bir hidrolizasyonun ardından yağ asitleri, monoaçilgliserol, kolesterol ve fosfolipidler halinde barsak mukoza hücrelerinden emilip şilomikronlar halinde lenfatik sistem vasıtasıyla dolaşıma verilerek metabolize olurlar. Eksojen lipid metabolizması olarak adlandırılan bu yolun ardından lipoproteinlerin dinamik biçimde değişime uğradığı ve birbirleri ile etkileştiği endojen lipid metabolizması gelir. Bu yolda karaciğerde sentezlenen VLDL özellikle lipoprotein lipazın (LPL) ve hepatik lipazın (HL) etkisiyle kolesterol ve kolesterol esterince zengin IDL'ye, o da bu sürecin devam etmesi ile LDL'ye dönüşür. LDL kolesterol içeriğince zengindir ve büyük çoğunlukla ekstrahepatik dokular tarafından metabolize edilir. (9)

2.1.1. Apolipoproteinler

Lipoproteinler fonksiyonlarını yapılarında bulunan veya dolaşımda etkileşim halinde buldukları apolipoproteinler vasıtasıyla gerçekleştirirler. Lipoproteinlerin şekillerinin oluşturulmasından reseptör ligandına, ilişkili enzimlerin aktivasyon veya inhibisyonundan lipoproteinlerin dolaşımdaki ömürlerinin belirlenmesine kadar çok çeşitli rolleri üstlenirler. Bir lipoprotein birden fazla apoprotein içerebilir. Apoproteinler genelde karaciğer kaynaklı olmakla beraber bazı apoproteinler barsak gibi başka dokularda da sentez edilebilmektedir.

ApoA-I, ApoA-II, ApoA-I, ApoC-I, ApoC-II ve ApoC-III HDL'nin yapısında bulunan ve HDL' nin biçimlenmesini, kolesterol alışverişini, oksidan-antioksidan özelliklerinin belirlenmesini sağlayan ve hatta dolaşımdaki ömrünü belirleyen apoproteinlerdir (10).

2.1.2. Şilomikronlar

Şilomikronlar çapı en büyük, yoğunluğu en az olmakla birlikte trigliserit içeriği en yüksek olan lipoproteinlerdir. Şilomikronlar, trigliseritlerin barsaklardan dokulara taşınımı sırasında lipoprotein lipazın etkisiyle yapıdaki trigliseritler hidroliz olarak şilomikron kalıntıları haline gelir. Şilomikron kalıntıları karaciğere gelerek apo E reseptörleriyle katabolize edilir. Şilomikron kalıntıları kolesterolce zengindir.

2.1.3. Çok Düşük Yoğunluklu Lipoproteinler (VLDL)

Diyete bağlı olarak karaciğerde sentezlenen trigliseritler VLDL yapısında paketlenerek dolaşıma verilirler. Olgun VLDL yapısındaki TG' i lipazların (hepatik lipaz, lipoprotein lipaz ve endotel lipaz) hidrolizi ile dokulara vererek kolesterolce zengin lipoprotein yapılarına dönüşür.

2.1.4. Ara Yoğunluklu Lipoproteinler (IDL)

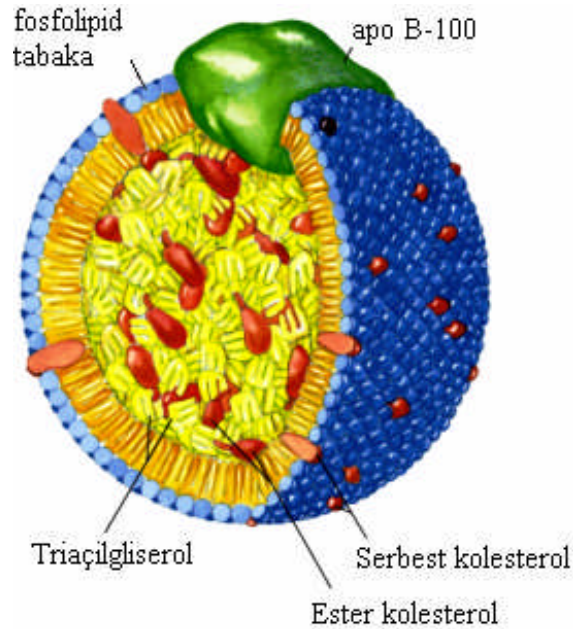
VLDL lipolitik enzimlerce IDL'ye dönüştürülür. Normal koşullarda plazmada düşük miktarlarda bulunur. IDL' nin yaklaşık % 50' si karaciğerde apo E reseptörleriyle alınarak katabolize edilir. Geri kalanı trigliseritce fakir, kolesterolce zengin LDL' ye dönüşür.

2.1.5. Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (LDL)

Plazmadaki başlıca kolesterol taşıyıcı lipoprotein olup (plazma kolesterolünün yaklaşık %70'i) farklı büyüklükte ve yoğunlukta, farklı yapı ve fizikokimyasal kompozisyona sahip heterojen partiküller halinde bulunurlar (11). Tek apoproteini apo B 100'dir. Yapısında zengin çeşitlilikte (1300 tip kadar) çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) bulunmaktadır ki bu özelliği ile içeriğinde α -tokoferol, karetenoid gibi bazı antioksidanlar bulunmasına rağmen güçlü oksidasyon potansiyeline sahiptir. Yine fosfolipidler içinde fosfotidilkolin en fazla bulunan fosfolipiddir (11).

ApoB-100 LDL'nin yapısal bütünlüğünün oluşturulması ve LDL reseptörüne lipoprotein lipaz bağlanması gibi görevleri üstlenmiştir. Pozitif yüklü lizin ve arginin amino asitlerinin glikozaminoglikanlarla etkileştiği bilinmektedir, dolayısıyla lizin ve

arginin matriks-LDL etkileşimlerini kontrol eder (10). LDL oksidasyonu sırasında bu protein serbest radikallerin hedeflerinden biridir. LDL yapısı şekil 1 de görülmektedir (9).



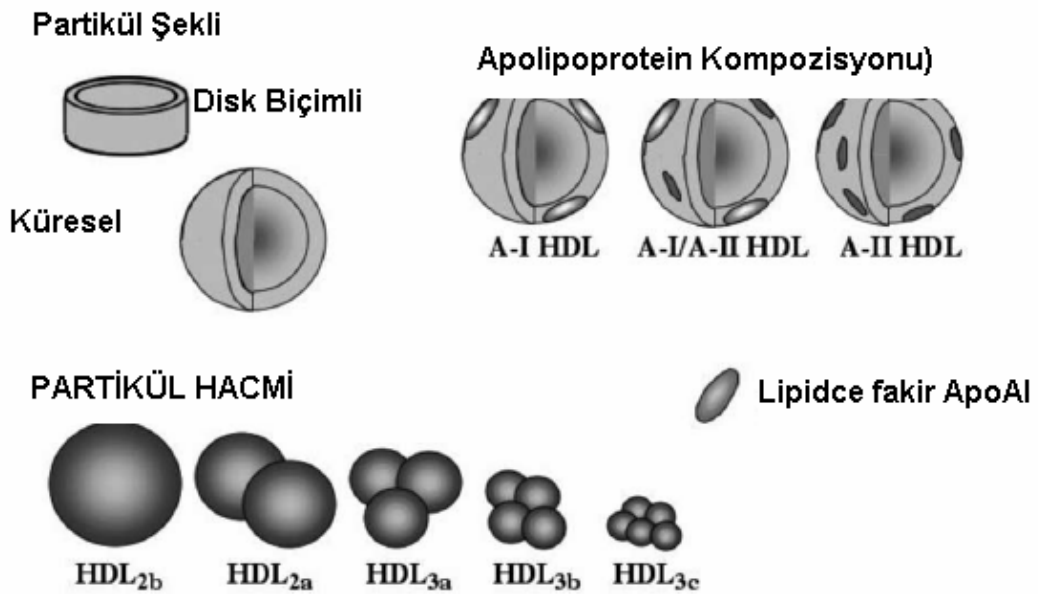
Şekil 1: Düşük yoğunluklu lipoprotein' in yapısı

2.1.6. Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (HDL)

Yoğunlukları yüksek ($1.063 < d < 1.21 \text{g/mL}$), hacimleri düşük (5-17 nm çap) olan lipoprotein fraksiyonlarıdır. Başlıca proteini ApoA-I'dir ve protein içeriğinin yaklaşık % 70'ni oluşturur. Bundan başka Apo A-II, Apo A-IV, Apo-AV, Apo C-I, C-II ve C-III Apo-D, Apo-E, Apo-J (clusterin) ve Apo-L gibi diğer apoproteinler de bulunur. Bu apoproteinler lesitin kolesterol açıl transferaz (LCAT), paraoksonaz (PON), haptoglobulin, platelet aktive edici faktör asetil hidrolaz (PAF-AH) gibi özellikle antioksidan sistemle alakalı pek çok proteinin HDL'nin yapısına katılması, inhibisyon veya aktivasyonu ve ekstrahepatik dokularla etkileşimleri ile ilişkilidirler (12).

HDL başlıca karaciğer ve barsakta sentezlenmektedir. Dolaşımında Apo A-I ile ilişkili olarak üç boyutlu yapısını kazanmaktadır.

Yeni sentezlenen HDL ince bir ikili fosfolipid tabakası ile bu tabakanın açıl zincirlerine α amfipatik helikal domainleri ile paralel yerleşimli Apo A-I'den ibarettir. Diskoidal model denen bu yapı pre- β HDL olarak adlandırılır ve kolesterole afinitesi yüksektir. Yeni sentezlenen öncü HDL (pre- β HDL), fosfolipid, ester kolesterolü ve apolipoprotein A-II katılımı ile HDL₃'e dönüşür. Yapısındaki enzimlerin etkisi ile lipid ve protein alışverişi sonucu HDL₂ oluşur. Olgun HDL ise (α HDL) kolesterol ester ve fosfolipid içeriği zengin olup HDL'nin son basamağını oluşturur ve zayıf kolesterol alıcısıdır. Şekil 2'de dolaşımdaki HDL partiküllerinin şekil ve kompozisyonu gösterilmiştir (12).



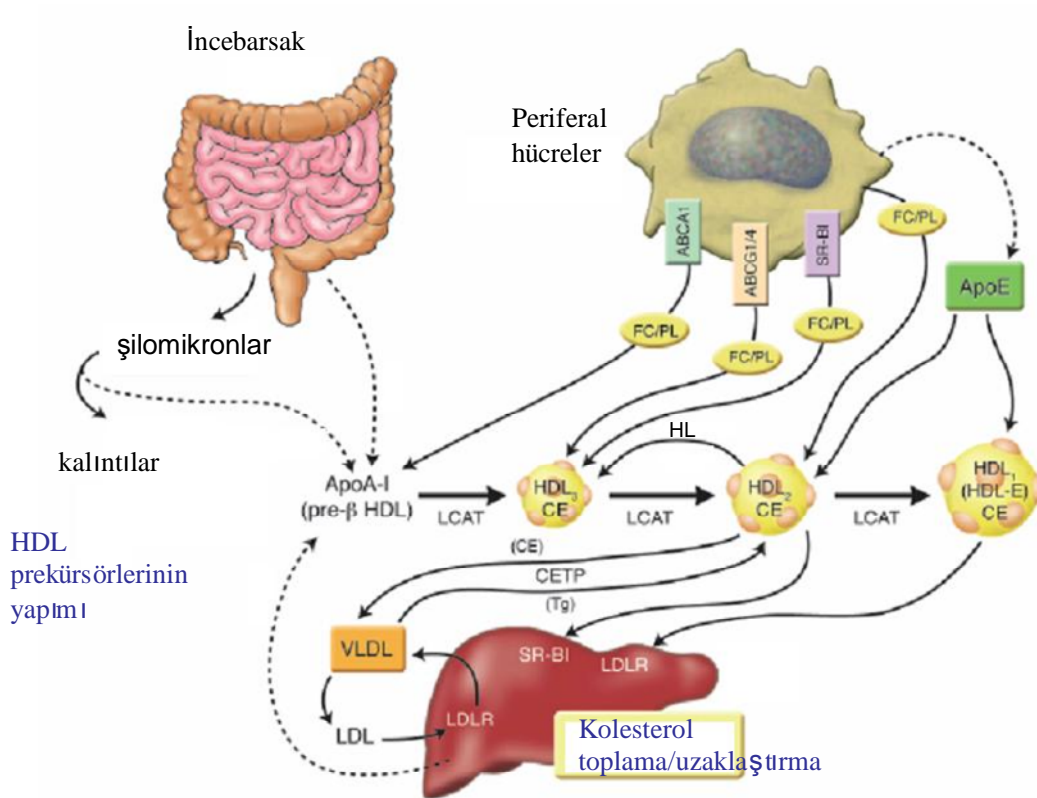
Şekil 2: Dolaşımdaki HDL partiküllerinin şekil ve kompozisyonu

Tablo 2: HDL ile ilişkili apoproteinlerin sentez yerleri ve görevleri (13)

Apoprotein	Başlıca Sentez Yeri	Fonksiyonu
Apo A-I	Karaciğer, İnce barsak	HDL'nin ana proteini LCAT aktivatörü Kolesterol akışının uyarıcısı HDL'nin bağlayıcı bölge ligandı(SR-BI, ABCA1)
ApoA-II	Karaciğer	HDL'nin diğer yapısal proteini, HL inhibitörü, HDL'nin bağlayıcı bölge ligandı
Apo A-IV	İnce barsak, karaciğer	LCAT aktivasyonu, LPL modulatörü, kolesterol akışının uyarıcısı
ApoC-I	Karaciğer	LCAT aktivatörü, hepatik trigliseritce zengin lipoprotein alınımının inhibisyonu
ApoC-II	Karaciğer	LCAT aktivatörü, hepatik trigliseritce zengin lipoprotein alınımının inhibisyonu
ApoC-III	Karaciğer	LCAT inhibitörü hepatik trigliseritce zengin lipoprotein alınımının inhibisyonu
ApoD	Karaciğer, dalak, ince barsak, plasenta	
ApoE	Karaciğer, makrofaj, merkezi sinir sistemi	ApoE reseptör ligandı, makrofajlarda hücrel kolesterolün mobilizasyonu, kolesterol akışının sağlanması
Apo J	Karaciğer, ince barsak	PON'un HDL'ye bağlanması, aktivasyonu

SR BI: Scavenger reseptör sınıf B tip I; LCAT: Lesitin:Kolesterol açıl transferaz, ABCA1 :
ATP bağlayıcı kaset transporter I; HL: Hepatik lipaz; LPL: Lipoprotein lipaz

HDL dolaşımında ekstrahepatik dokulardan serbest kolesterol ve fosfolipid olarak disk biçimli yapıdan küreselleşen bir yapıya dönüşür. Almış olduğu kolesterol, lesitin kolesterol açil transferaz (LCAT) enzimince esterleştirilir. Dolaşımdaki etkileşim sırasında kolesterolün bir kısmı LDL gibi lipoproteinlere diğer kısmı ise spesifik HDL reseptörleri ile (SR-BI) karaciğere dağıtılır. Bu işleme ters yönde kolesterol taşınımı denir. HDL sadece lipidlerin (ester kolesterolü, fosfolipid, trigliserid) değil aynı zamanda apoproteinlerin de (Apo C I, CII, CIII ve apoE) diğer lipoproteinlere dağıtımını sağlar. Hepatik lipaz, LPL, kolesterol ester transfer protein (CETP), fosfolipid transfer protein (PLTP) gibi enzimlerce lipid ve protein içeriği sürekli değiştirilir. Bu içerik değişimi HDL alt sınıflarının oluşmasına yol açar. Şekil 3' de HDL metabolizmasının özeti görülmektedir (14).



Şekil 3: HDL metabolizmasının Özeti

2.2. LDL Oksidasyonu

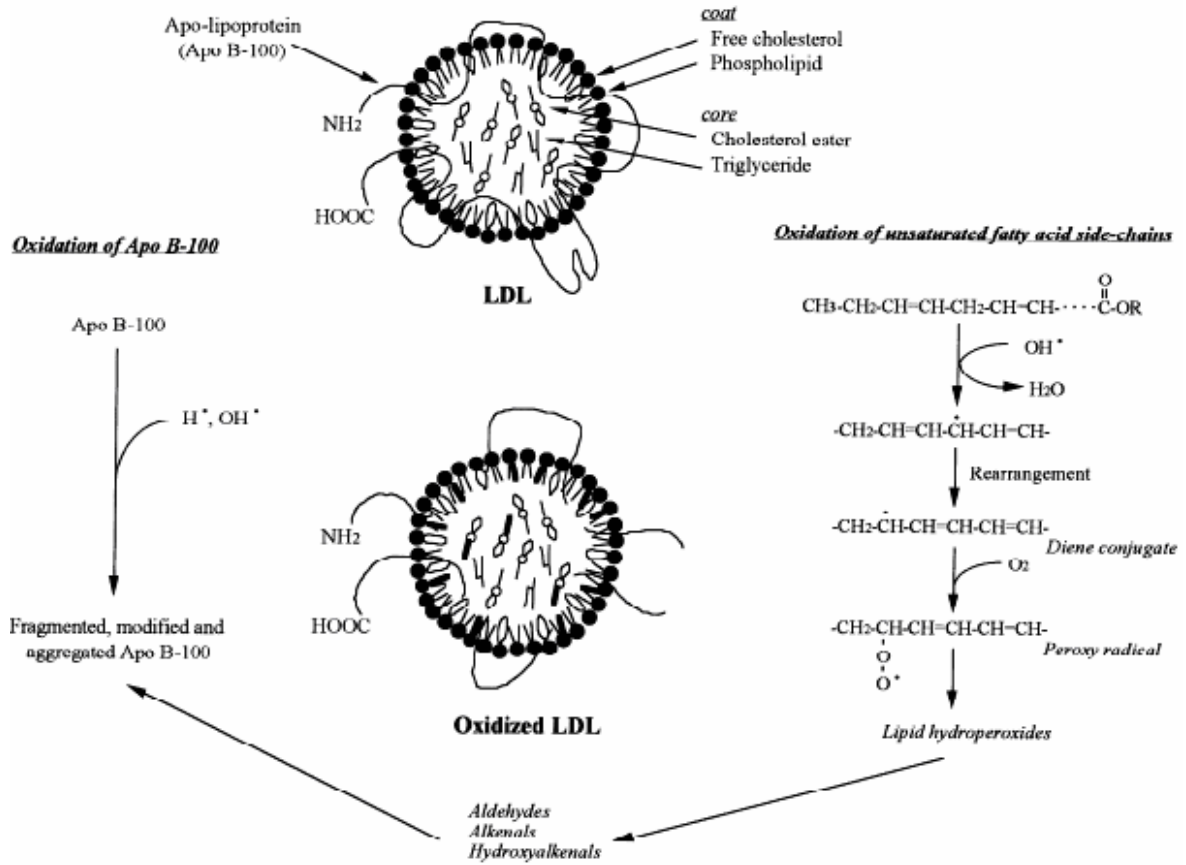
Plazmadaki yüksek antioksidan kapasite sebebiyle, LDL özellikle subendotelyal alanda serbest radikaller, reaktif oksijen türleri, lipooksidan enzimler gibi okside ajanların etkisi ile oksidasyona uğrar. Bu oksidasyonda substrat özelliği, ortamın antioksidan özelliğinin yanı sıra ve partikül büyüklüğü gibi LDL'nin bazı özellikleri de etkili olmaktadır. Fosfolipidler PUFA bakımından zengin olup oksidasyona hassastırlar. LDL'nin fosfolipid içeriği özellikle fosfatidilkolin (PC) bakımından zengindir. PC'de daha çok palmitat (18:1), linoleat (18:2) ve araşidonat (20:4) bulunmaktadır. PUFA'ların oksidasyona yatkınlığı LDL'nin de oksidasyonunu kolaylaştırmaktadır (15,16).

LDL'deki tokoferol, likopen, ubiñinol-10 gibi antioksidanların oksidan çevrede çabuk biçimde tüketilmesi ile oksidan etkiye zaafi artar ve lipid peroksidasyonu başlar. PUFA'ların bir kısmı veya çoğu kaybolur, hidroksi ve hidroperoksi-PUFA içeriği artar. Konjuge dien miktarı yüksektir. Malondialdehit, hekzanal, 4-hidroksinonenal ve diğer aldehytleri artar. Apo B serbest amino grupları kısmen kaybolur ve bu protein daha küçük peptitlere parçalanır. Meydana gelen okside LDL (oxLDL) farklı moleküler yapı ve fizyolojik özellikler gösterir (17).

Hücrel proooksidan kapasitede değişiklikler, ekstraselüler ortamda artmış metal iyonları konsantrasyonu, ekstraselüler antioksidan konsantrasyonu, HDL konsantrasyonu ve LDL'nin subendotelyal bölgede bulunma süresi LDL'nin oksidasyonunda kendi özellikleri dışında etkili olan diğer faktörlerdir.

2.2.1. LDL'nin Oksidasyon Mekanizması

LDL oksidasyonundaki ilk basamak ester kolesterol ve fosfolipidlerdeki PUFA'ların peroksidasyonudur. PUFA'ların peroksidasyonu sonucu sırası ile konjuge dienler, peroksi radikalleri ve ardından lipid hidroperoksitler, aldehyt ve alkenler oluşur. Apo B-100 ise ya doğrudan ya da oluşan aldehytlerin bir kısmınının, proteinin serbest amino lizin grupları ile kovalent bağlarla etkileşimi sonucu küçük peptitlere parçalanır (18, 19, 20). MDA bu aldehytler içinde en etkili olanıdır. Pozitif yüklü lizin molekülleri, negatif yüklü MDA ile schiff bazı tepkimesini verir (Şekil 4) (21). ApoB100'ün bu lizin kalıntıları, doğal LDL'nin reseptör aracılıklı endositozunda önemli role sahiptir (16).



Şekil 4: LDL' nin oksidasyon mekanizması

2.2.2. Okside LDL Şekilleri

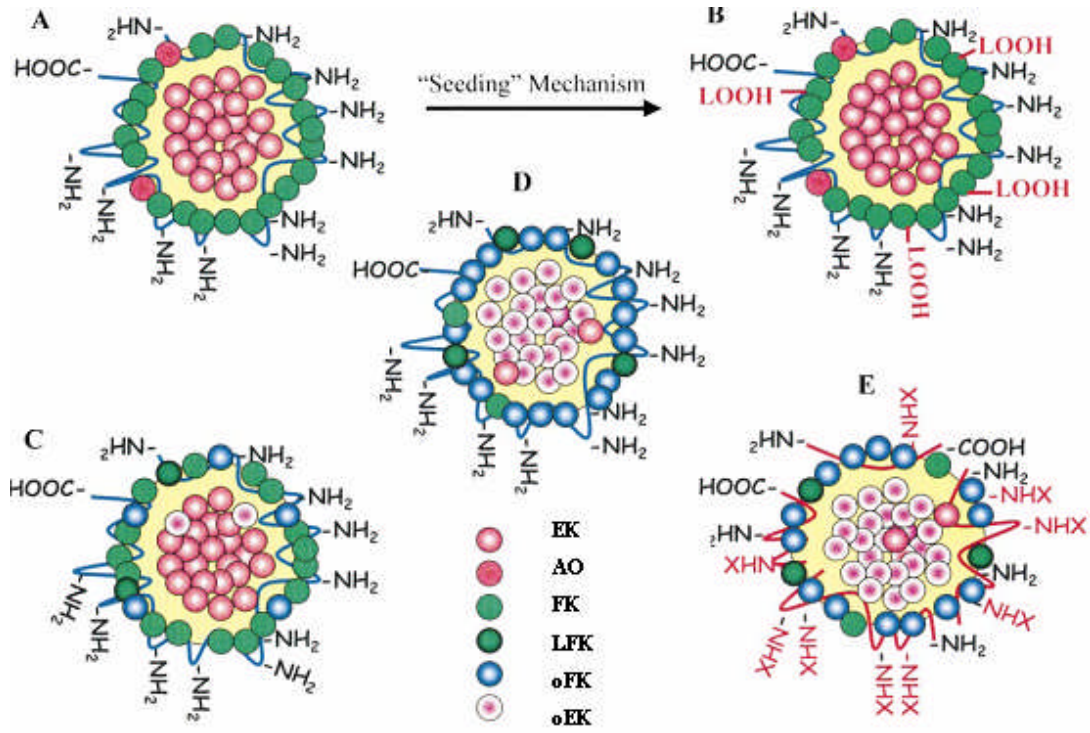
LDL'nin oksidasyon derecesine bağlı olarak tiplendirmeleri şekil 5'de gösterilmiştir (22).

Doğal LDL, yapısında lipid peroksit ve aldehit içermez. LDL reseptörleri aracılığı ile temizlenir.

Hafif Modifiye LDL (MM LDL), biyolojik olarak fonksiyoneldir ancak PUFA ve antioksidan içeriği azalmıştır. Lipid hidroperoksit oluşumunun başlangıç evresindedir.

Orta derecede okside LDL'de PUFA ve antioksidan miktarları iyice azalmış, apoB-100 parçalanmış ve lizolesitinler oluşmaya başlamıştır.

İleri derecede okside LDL'de ise antioksidanlar tükenmiş, aldehit ve ketonlar oluşmuştur. LDL reseptörleri yerine makrofajlar tarafından çöpçü reseptörlerle tanınır ve temizlenir.



Şekil 5: Okside LDL şekilleri. A: Doğal LDL, B: Seeded LDL, C: MM-LDL

D: Orta derecede ox-LDL, E:Aşırı ox-LDL

EK: Ester kolesterol, AO: Antioksidan, FK: Fosfatidilkolin, LFK: Lizofosfatidilkolin, oFK: Okside fosfatidilkolin, oEK: Okside ester kolesterol

2.2.3. Okside LDL ve Ateroskleroz

LDL oksidatif modifikasyona maruz kaldıktan sonra, aterogenezde ana risk faktörü haline gelir. LDL oksidasyonu serbest radikaller ya da diğer oksidanlar aracılığı ile gerçekleşir (2).

Oksidasyon LDL' nin yapısındaki lipidler ve apo B de yapısal modifikasyona sebep olur. Apo B' deki değişim okside LDL' nin apoB/E reseptörlerine olan ilgisini azaltırken, çöpçü reseptörlere olan ilgisini artırır. Makrofajların okside LDL' yi alması sonucu oluşan köpük hücreler, erken aterosklerotik lezyonun göstergesi olan yağlı çizgilenmeyi oluşturur (2).

Okside LDL' nin endotel tarafından salgılanan ve aterogenezde rolü olduğu tespit edilen pek çok vazoaaktif molekül üzerinde de etkili olduğu bulunmuştur. Okside LDL endotel hücreleri tarafından NO üretimini azaltırken, NO yıkımını da arttırabilir (23).

Okside LDL sitokinlerin ve adezyon moleküllerinin özellikle VCAM-1' in ekspresyonunu arttırdığı gözlenmiştir (24, 25).

2.3. HDL Oksidasyonu

Çeşitli çalışmalar HDL' nin in vitro koşullarda, metal iyonları, peroksil ve hidroksil radikalleri, aldehidler ve tirozil radikalleri gibi farklı oksidanlarla kolayca modifiye olduğunu göstermektedir. In vivo da ise HDL oksidasyonunun dolaşıma oranla, arter duvarındaki aterosklerotik lezyonlar gibi inflamatuvar mikro çevrede daha çok gerçekleştiği hipotezi öne sürülmüştür. (26)

HDL oksidasyonunu lipid peroksidasyonunun göstergesi olan konjuge dien, lipid hidroperoksitler, TBARS, ve aldehidlerin artışı izler. HDL kompozisyonundaki değişim, akışkanlık, moleküler düzen, elektrik yükü gibi fizikokimyasal özelliklerin etkilenmesi ile ilişkilidir. Lipid peroksidasyonunun, HDL' nin yapısındaki enzimlerin aktivitesini etkilediği rapor edilmiştir.(26)

HDL plazmada son derece düşük konsantrasyondaki lipid hidroperoksitlerin ana taşıyıcısıdır ve plazma peroksil radikallerine maruz kaldığında, HDL lipidleri LDL ye

göre bakıldığında ilk olarak okside olur. Apo A-I üzerindeki spesifik metiyonin rezidülerinin okside olduğu rapor edilmiştir.(27)

HDL'deki proteinlerin lipid ve antioksidanlara göre oksidasyona hassalığı oksidasyonun ilk evrelerinde yoktur. Buna ek olarak alfa tokoferolün HDL' deki apolipoproteinleri oksidasyondan koruyup korumadığı bilinmemektedir.(27)

2.4. Oksidan Sistemler ve Oksidatif Stres

Serbest radikaller üzerinde eşlenmemiş elektron taşıyan atom veya moleküllerdir. Biyolojik sistemlerde çoğunlukla aerobik metabolizmanın normal bir sonucu olarak ortaya çıkarlar. Serbest radikallerin başında reaktif oksijen türleri gelmektedir. Süperoksid ($O^{\cdot -}$) ve hidroksil radikali (OH^{\cdot}) en kuvvetli serbest radikaller olarak bilinirler.

Sağlıklı organizmalarda oksidan ve bunlara karşı koruyucu rol oynayan antioksidan sistemler arasında bir denge söz konusudur. Gelişmiş organizmalarda görülen bazı yaygın oksidan ve antioksidan moleküller tablo 3' de verilmiştir (28, 29) . Fizyolojik metabolizma ve patolojik durumlar serbest radikal oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Serbest radikal oluşumunun önemli bir kısmı hücredeki elektron transfer reaksiyonları sonucu meydana gelmektedir. Bu reaksiyonlar hem enzimatik hem de geçiş metal iyonlarının redoksu sonucu nonenzimatik olarak gerçekleşebilir. Ayrıca monosit, makrofaj ve endotel gibi fagositik hücreler ile lipooksijenaz, NADPH oksidaz, ksantin oksidaz, hemoglobin, gibi bazı oksidan enzim ve proteinler de serbest radikal oluştururlar. Bundan başka toksik bileşikler, ilaç oksidasyonları ve iyonize radyasyon, güneş ışığı, sigara pestisitler gibi çevresel ajanlar da serbest radikal oluşuma katkıda bulunurlar.

Serbest radikaller vücutta akciğer ve solunum sistemi, kalp ve kardiyovasküler sistem, karaciğer, pankreas, overler ve testisler, barsak ve immün sistem gibi geniş bir çeşitlilikte etki alanına sahiptir. Ateroskleroz, diabetes mellitus, kistik fibroz, infertilite, hepatit, immün yetmezlik ve Crohn hastalığı gibi pek çok hastalığın serbest radikaller ve okside edici ajanlarla ilişkili olduğu çeşitli araştırmalarla gösterilmiştir.

Çoğunlukla fizyolojik olarak meydana gelmelerine rağmen serbest radikaller, başta lipidler olmak üzere proteinler, DNA, karbonhidratlar ve diğer bazı moleküller üzerinde toksik etki gösterirler. Sonuçta antioksidan sistemlerin yetersiz kaldığı durumlarda vücut yapısal ve fonksiyonel olarak çeşitli patolojik oluşumlara maruz kalır (28,30).

Tablo 3: Bazı Oksidan ve Antioksidanlar

OKSİDAN	ANTIOKSİDAN
Reaktif oksijen türleri	İntraselüler Antioksidanlar
Süperoksit radikali (O [·])	Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)
Hidroksil radikali (·OH)	Glutatyon redüktaz
Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)	Katalaz
Azot dioksit (NO ₂)	Süperoksit dismutaz(SOD)
Peroksil radikali (ROO [·])	Membran Antioksidanları
Hipokloröz asit (HOCl)	Vit E (α tokoferol)
Bazı geçiş metal iyonları	Vit A (β karoten)
Cu ⁺¹ , Cu ⁺² , Fe ⁺²	Likopen
Serbest radikal kaynağı bazı enzimler	Koenzim Q
Monoamin oksidaz	Ekstraselüler Antioksidanlar
Ksantin oksidaz	Transferrin
Siklooksijenaz	Albumin
Serbest radikal kaynağı bazı proteinler	Serulaplazmin
Hemoglobin	Askorbik asit
Flavoproteinler	Glukoz
	PAF-AH
	PON

Serbest radikallerin lipidler üzerine etkisi daha çok kolesterol ve yağ asidi oksidasyonu ve lipid çapraz bağlarının oluşması şeklinde gerçekleşir (31). Proteinlerde ise bu etki daha çok amino asit bileşenlerine bağlıdır. Sistein, metiyonin, tirozin, histidin, triptofan gibi bazı amino asitler oksitlenmeye daya duyarlıdır ve serbest radikaller peptit bağı hidrolizi ve disülfid bağı oluşumuna yol açabilirler, karbonil türevleri oluştururlar ve böylece proteinlerin parçalanmaya karşı daha elverişli hale gelmelerine yol açarlar (32,33).

2.5. Hiperlipidemi ve Ateroskleroz

Kardiyovasküler hastalıkların altında yatan başlıca sebep aterosklerozdur. Ateroskleroz orta ve büyük arterlerin intima tabakasında gelişen, aterom denilen fibröz-yağlı plak oluşumu ile karakterize, kronik inflamatuvar bir hastalıktır (34, 35, 36). Ateroskleroz erken safhada asemptomatiktir. Hastalığa neden olan risk faktörleri hastalık başlamadan önce veya hastalığın belirli bir döneminde ortadan kaldırıldığında ateroskleroz gelişimi azaltılabilir veya hiç gelişmeyebilir. Hastalığın daha ileri safhasında kan damarları sertleşir, daralır ve semptomlar ortaya çıkmaya başlar (35). Genetik yatkınlık, hipertansiyon (34, 37, 38), dislipidemi (34, 35, 38), diyabet (35, 37, 38), obezite (34), sigara (34, 37, 38), bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, hiperhomosisteinemi (34, 35, 38), oksidatif stres (35) ve doymuş yağ ve kolesterol oranı yüksek, sebze, meyve ve tahıl oranı düşük diyet (34) ateroskleroza neden olan başlıca risk faktörleridir. Yaş ve cinsiyet gibi bireysel özelliklerin de aterosklerozda belirgin etkileri olduğu gösterilmiştir.

Ateroskleroz gelişiminde yer alan olayları açıklayan iki temel hipotez vardır;

1. Oksidatif modifikasyon hipotezi; İlk kez 1989 yılında Steinberg ve ark. (39) tarafından öne sürülen bu hipotezle LDL' nin oksidatif modifikasyonunun aterosklerozun başlangıç ve ilerleme safhasında anahtar rol oynadığına inanılmaktadır.

2. Hasara yanıt hipotezi; Bu hipoteze göre endotel disfonksiyonu aterogenezde ilk basamaktır (40). Ateroskleroza neden olan risk faktörlerinin hemen hepsi endotel disfonksiyonuna neden olabilir.

Hiperlipidemi kan lipid düzeylerinin normalin üzerinde olması ile karakterize bir durumdur. Serum kolesterolü yüksekliği ile ateroskleroz gelişimi arasında sürekli, dereceli ve kuvvetli bir ilişki olduğu gösterilmiştir.

2001'de yayınlanan NCEP ATP III (National Cholesterol Education Programme Adult Treatment Panel III) kriterlerine göre total kolesterolün <200 mg/dL olması normal >240 mg/dL olması yüksek olarak tanımlanmıştır. HDL kolesterolün erkeklerde <40 mg/dL, kadınlarda <50 mg/dL olması düşük, >60 mg/dL olması yüksek olarak değerlendirilmiştir.

2.6. HDL ve Ateroskleroz

Pek çok epidemiyolojik çalışma HDL'nin yüksek konsantrasyonları ile ateroskleroz gelişimi arasında ters bir ilişki olduğunu, HDL'nin koruyucu bir rol oynadığını ortaya koymaktadır. HDL'nin bu rolü ile ilgili çeşitli mekanizmalar ileri sürülmüştür. Bunların başında ters yönde kolesterol taşınımı gelmektedir. HDL arter duvarındaki endotel içi ve subendotelial hücrelerden kolesterolü alarak karaciğere taşır ve ekstrahepatik dokularda kolesterol birikmesini engeller. Diğer rolleri ise lipid taşınımı ile ilgili değildir. Örneğin endotel hücreleri tarafından platelet aktivite edici faktör sentezini inhibe eder, prokoagülan aktivitenin gelişimine karşı eritrositleri korur. Düz kas hücrelerinde epidermal büyüme faktörü tarafından uyarılan DNA sentezini azaltır (41, 42, 43). HDL aynı zamanda antitrombotiktir. Muhtemelen nitrik oksit yoluyla endotel fonksiyonu düzenler (44).

HDL'nin son zamanlarda üzerinde en çok durulan özelliklerinin başında antioksidan ve antiinflamatuvar rolleri gelmektedir. Bugün hala mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamış olmakla beraber HDL'nin bu iki özelliğinin lipid taşınımından bağımsız olarak ateroskleroz oluşumuna karşı en önemli koruyucu rolü teşkil ettiği düşünülmektedir (12).

HDL plazmada lipid hidroperoksitlerin başlıca taşıyıcısıdır. ApoA-I, HDL'nin ana proteini bu taşınımında önemli rol oynar. Bu protein aynı zamanda HDL'ye antioksidan özellik kazandıran bazı enzim ve proteinlerle de ilişkilidir. Bu enzimler ve proteinler lipid hidroperoksitlerin ve okside LDL fosfolipidlerinin yıkımı ile alakalıdır. Paraoksonaz (PON), platelet aktive edici faktör asetil hidrolaz (PAF AH), glutatyon peroksidaz (GSH), lesitin kolesterol açıl transferaz (LCAT) ve kolesterol ester transfer protein (CETP) HDL'nin antioksidan özelliği ilgili moleküllerdir (45,46). HDL'de ayrıca vitamin E, likopen gibi protein yapısında olmayan antioksidan moleküller de bulunmaktadır.

İnflamasyonun ateroskleroz gelişiminde önemli bir yeri olduğuna inanılmaktadır. HDL inflamasyona karşı çeşitli basamaklarda olaya katılır. Ayrıca okside LDL'ye cevap olarak sentezlenen mitojenik kemotaktik protein 1'in (MCP-1) inhibisyonu HDL'nin antioksidan elemanlarınca gerçekleştirilir. Tablo 4' de HDL' nin antiaterojenik etkilerinin bir özeti verilmiştir.

Tablo 4: HDL'nin Antiaterojenik Etkilerinin Özeti (2)

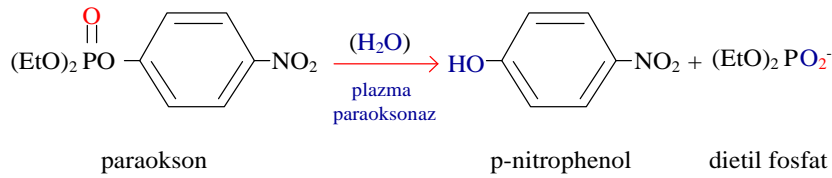
Koruyucu Etki	Moleküler Mekanizma	Aracılar
LDL Oksidasyonuna Karşı Koruma	-Geçiş metallerinin şelasyonu -Lipid hidroperoksitlerin taşınımı -Kısa zincirli mediatörlerin ve/veya okside lipidlerin degradasyonu	Apo AI, PON, PAF-AH, lipofilik antioksidanlar
Proaterojenik ajanlar tarafından oluşturulan inflamatuvar sinyalizasyonun modülasyonu	-ROS jenerasyonunun bloklanmasıyla NF- κ B aktivasyon ve sinyalizasyonunun inhibisyonu -TNF α tarafından oluşturulan sfingozin kinaz aktivasyonunun inhibisyonu -ox-LDL tarafından indüklenen EGRF sinyalizasyonu ve sonrasında MMP-2 upregülasyonunun inhibisyonu	Apo AI, PON, PAF-AH, biyoaktif lizosfingolipidler (S1P)
Toksik sinyalizasyonun inhibisyonu ve vasküler hücrelerin korunması	-Mitokondriyal bütünlüğün korunması ve sitokrom c serbestlenmesi ve kaspaz kaskadının aktivasyonunun inhibisyonu yoluyla apoptozisin inhibisyonu	Apo AI, PON, PAF-AH, lipofilik antioksidanlar, biyoaktif lizosfingolipidler (S1P, SPC)
Mitojenik etki	-Sitozolik kalsiyumun artışı -SR BI/RAS aracılıklı yol boyunca MAPK aktivasyonu	biyoaktif lizosfingolipidler (SPC)
Hücre göçüne etkisi	-S1P2 reseptörleri yoluyla düz kas hücrelerinin göçünün inhibisyonu -Okside lipid ve makrofaj göçünün degradasyonu -MMP'lerin üretiminin modülasyonu	Apo AI, biyoaktif lizosfingolipidler (S1P)

PON: Paraoksonaz; PAF AH: platelet aktive edici faktör asetilhidrolaz; S1P: Sfingozin 1 fosfat; SPC: Sfingozilfosforil kolin; SRBI: Scavenger reseptör TipB sınıf I; MMP: matriks metaloproteinaz; EGRF: Endotel growth releasing faktör ; ROS: reaktif oksijen substance;

2.6.1. Paraoksonaz (PON1)

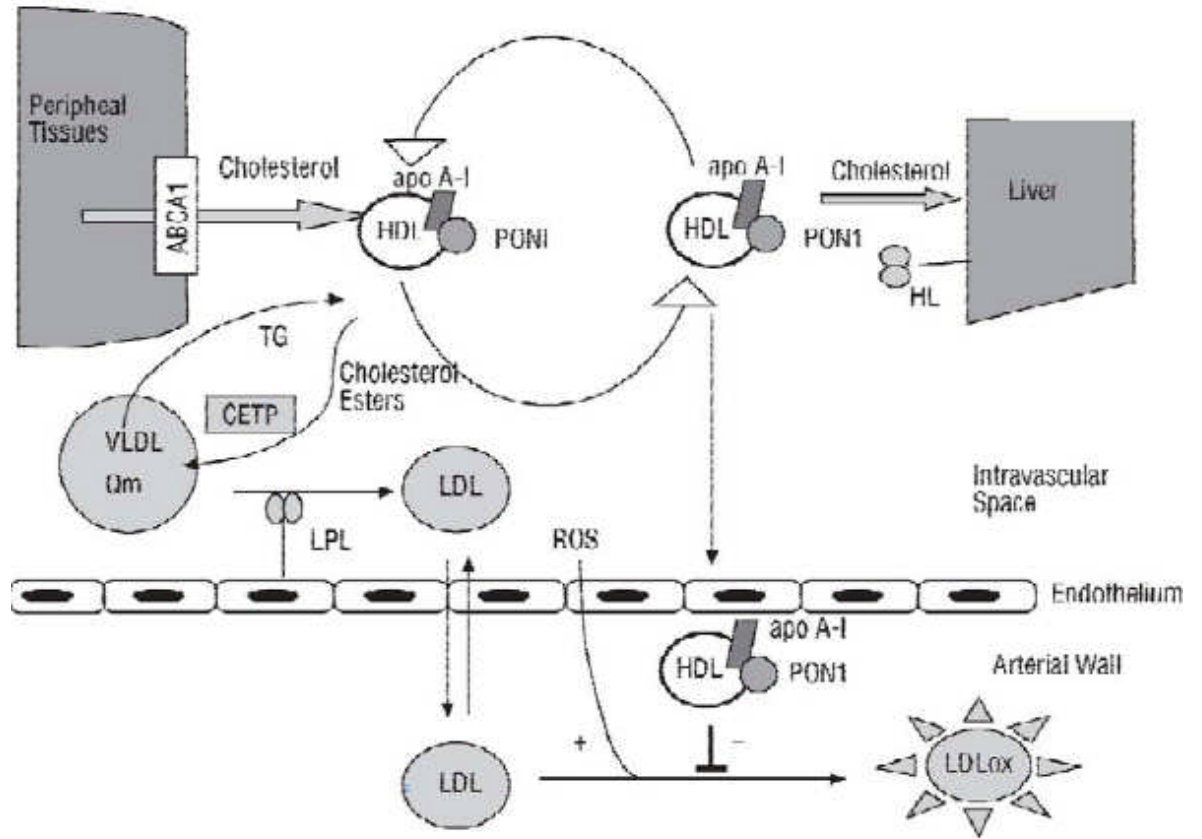
HDL'nin antioksidan enzimleri arasında en önemlilerinden biri paraoksonazdır. Adını memeli mikrozomlarda P450 sistemi tarafından paratiyonun biyotransformasyona uğratılması ile meydana gelen paraoksonu hidroliz edebilmesinden alan ve E.C. 3.1.8.1.olarak enzim sınıflamasına dahil edilen bu enzim ilk kez 1953 yılında Aldridge tarafından tanımlanmıştır. Önceleri organofosfat insektisidlerinin hidrolizinde görev yaptığı belirlenen bu enzimin daha sonra HDL'nin yapısına katıldığı ve apoA-I ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (47). Bu durum PON1'in HDL'nin antiaterosklerotik özelliğine katkıda bulunabileceği fikrini ortaya atmış ve gerçekten de PON 1'in önemli bir antioksidan enzim olduğunu gösteren çalışmalar yapılmıştır.

Paraoksonaz hem arilesteraz hemde paraoksonaz aktivitesi gösterir. İn vitro çalışmalarda paraoksonaz aktivitesi paraokson substratı üzerinde gösterilir. Paraokson stabil bir bileşik olup kolinesterazlara bağlanmak sureti ile onları güçlü bir şekilde inhibe eder. Paraokson bir grup arilesteraz ve/veya paraoksonaz enzimlerince hidrolize edilir. Bu enzimler plazma ve karaciğerde bulunur ve fosfoester anhidrid bağlarını kesmek sureti ile hidrolize eder. Ca^{+2} bağımlı olması bakımından diğer arilesteraz enzimlerinden farklılık gösterir (Şekil 6).



Şekil 6: PON1'in paraoksonu hidrolizi (paraoksonaz aktivitesi)

Paraoksonaz HDL'nin yapısında önemli bir antioksidan enzim olarak bulunmaktadır. PON ox-LDL'deki spesifik lipid peroksidleri hidrolize ederek LDL'yi aterojenik olmayan forma dönüştürür (48). LDL oksidasyonu sırasında okside fosfolipidler ve kolesterol esteri ile PON'un serbest sülfidril grupları arasında etkileşim olur. Bu sırada lizofosfotidilkolin gibi aterojenik ürünler de meydana gelebilir. Bu ürünler HDL ile makrofajlar arasında kolesterol akışı ve makrofaj hareketini uyarır (49). Düşük PON aktivitesinin ateroskleroz gelişiminde miyokardial infarktüste, koroner arter hastalığının ilerlemesinde önemli bir risk faktörü olduğunu belirtilmektedir (50). Şekil 7'de aterosklerotik plak oluşumunda PON' un antioksidan rolü görülmektedir (51).



Şekil 7: PON' un antioksidan rolü

2.7. Sert Kabuklu Meyveler

Epidemiyolojik çalışmalar ve ikincil tedavi çalışmaları kardiyovasküler hastalık riskinin azalması ile sebze, meyve ve sert kabuklu meyvelerin (fındık, fıstık, badem, ceviz gibi) tüketiminin ilişkili olduğunu göstermiştir (52). Sert kabuklu meyvelerin tüketimi ateroskleroz ve koroner arter hastalığı gelişiminin önlenmesi ve tedavisi için tavsiye edilen pek çok diyetle yer almaktadır. Sert kabuklu meyveler Akdeniz diyetinin önemli kısmını oluşturmaktadır (53).

Sert kabuklu meyveler besin değerleri yüksek, yağlı yiyeceklerdir. Pek çok sert kabuklu meyvenin kalorisinin yaklaşık %80' i yağdan gelir ve bu yüzde içinde doymamış yağ asitleri ağırlıktadır. Doymamış yağ asitlerinin büyük bir kısmını MUFA oluşturur, cevizde ise PUFA' nin miktarı daha fazladır. Buna ilaveten en iyi doğal E vitamini kaynağıdır. Protein içeriklerine bakıldığında ise yüksek arginin/lisin oranı görülmektedir. Arginin, endotelial fonksiyonu için gerekli olan nitrik oksit öncü molekülüdür. Sert kabuklu meyveler ayrıca magnezyum, bakır, lif ve fitosteroller yönünden oldukça zengindir (54) . Bazı sert kabuklu meyvelerin besin içeriği tablo 5' de görülmektedir (55, 56, 57)

Tablo 5: Bazı sert kabuklu meyvelerin 100 gramında bulunan yağ asidi, e vitamini, arginin metiyonin ve folik asit miktarları

	Fındık	Ceviz	Badem	Yer Fıstığı
Doymuş Yağ 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
A-linolenik asit (g)	0,15	9,1	0,4	0
A-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

Beslenme epidemiyolojisi alanında yapılan en iyi ve en geniş dört kohort çalışması koroner kalp hastalığı riskinin %30-50 oranında azalma sebebinin sert kabuklu meyvelerin tüketimi ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir (58). Sert kabuklu meyvelerin LDL

kolesterol düzeyini azaltması, içeriklerindeki E vitaminin gösterdiği antioksidan etki ve yapılarında bulunan argininden dolayı NO düzeylerini arttırıp endotel ve trombositler üzerindeki olumlu etkileri bu azalışın sebebi olarak gösterilmiştir (58).

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 % 25 azaldığı görülmüştür. Tüketim sıklığı haftada 5 ya da daha fazla olduğunda ise bu riskin % 50 oranında azaldığı belirtilmiştir. Sert kabuklu meyvelerin tüketimi sadece kalp hastalıklarına karşı koruyucu değil, aynı zamanda ömür uzunluğuna da katkıda bulunmaktadır (59) .

Yapılan pek çok çalışmada plazma kolesterol düzeyleri üzerine sert kabuklu meyvelerin (badem, ceviz, fındık gibi) tüketiminin etkileri değerlendirilmiştir (58) 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 düşüş görülmüştür. 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 (59) .

2.7.1. Fındık

Son yıllarda yapılan birçok araştırma sert kabuklu meyveler sınıfından olan fındık tüketiminin insan beslenmesi üzerinde olumlu etkilerinin olduğunu ortaya koymuştur (1).

Fındık bitkiler aleminde Fagales takımının Betulaceae familyasından Corylus cinsine aittir. Fındık yağ ve protein açısından değerli bir kaynaktır. Yenebilen 100 g iç fındık, 55-66 g yağ, 11-15 g protein, 12-17 g karbonhidrat, 8-10 g lif içerir ve yaklaşık 650 kcal. enerji sağlar (4). Fındık yağı bileşimi üzerine yapılan çalışmalarda bileşimce zeytinyağına benzediği ve tüm çeşitlerde de en fazla oleik asidin (18:1) bulunduğu ve bunu sırayla linoleik (18:2), palmitik (16:0), stearik (18:0) ve linolenik (18:3) asitlerin izlediği belirlenmiştir. Tablo 6' da fındığın 100 gramında bulunan yağ asitleri ve miktarları verilmiştir (5).

Tablo 6: Fındığın 100 gramında bulunan yağ asitleri ve miktarları (5).

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

Fındıkta bulunan protein miktarı bitkisel kaynaklı proteinler için önemli sayılmaktadır, yüksek miktarda arginin içerirler. Fındık ve fındık yağı E vitamininin en iyi doğal kaynağıdır. Fındık ve fındık yağının vücutta karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında düzenleyici rolü olan bazı B grubu vitaminler (B1, B2 ve özellikle B6 vitamini) için önemli bir kaynak olduğu saptanmıştır (1). Ayrıca kalsiyum, magnezyum, fosfor ve potasyum başta olmak üzere iyi bir mineral kaynağıdır. Tansiyonu dengelenmesinin yanı sıra sodyum bakımından düşük fakat mineraller bakımından zengin olan fındık ve fındık yağı, demir ve çinko için en iyi kaynaklardan biridir (1). Fındık ve fındık yağının bir önemli özelliği de fındıkta bulunan sterollerden beta-sterol'ün barsaktan kolesterolün emilimini azaltmasıdır (1, 5, 6). Fındıkta bulunan lif, kolesterol öncü moleküllerinin ve glukozun emilimini azaltarak kan glukozunun ve kolesterolün yükselmesini önlenmesinde yardımcı olur. Folik asit, B2 ve B6 vitaminleri koroner kalp hastalığı ve sinir sisteminin işlevinin bozulmasında risk faktörü olan homosistein düzeyinin yükselmesini önleyici etki yapar (6). Fındığın içerdiği yüksek miktardaki E vitamininin LDL oksidasyonunu önleyerek koroner kalp hastalığı riskini azaltıcı etkisi belirlenmiştir (6). Fındığın sağlıklı beslenme açısından uygun niteliklere sahip ve yüksek enerji sağlayan 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 (1, 5, 60).

Araştırmalar göstermiştir ki doymuş yağ oranının düşük ve MUFA oranının yüksek olduğu diyetler plazma lipid düzeylerinin kontrolünde etkili olmaktadır. Fındıkta yüksek oranda bulunan oleik asidin insanda kan şekerini düzenlediği, serum toplam kolesterol ve apo B düzeylerini azalttığı, apo AI düzeyini arttırdığı gösterilmiştir (5). Bu etkiler sonucunda düzenli fındık tüketiminin koroner kalp hastalığı riskini azaltacağı öngörülebilir (1). Türk Kardiyoloji Derneğinin 2002 yılında yayınladığı "Koroner Kalp Hastalığı-Korunma ve Tedavi Kılavuzu'nda" fındık, MUFA (oleik asit) ve PUFA (linoleik asit), B

ve E vitamininden zengin bir besin kaynağı olarak sağlıklı beslenme diyetinin bir parçası olarak yer almaktadır (1). 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 gözlenmiştir (61).

Yapılan çalışmalar fındık ve fındık yağının kardiyovasküler hastalıklardan korunmada ve tedavisinde büyük önem taşıdığını göstermektedir. Bu durum fındık ve fındık yağında bulunan PUFA'ndan linoleik asitin kolesterol düzeylerini düşürücü etkileri ile desteklenmektedir. Ancak PUFA'nin vücutta serbest radikal oksidasyonuna yatkın olması nedeni ile aşırı tüketiminden kaçınılması gerektiği unutulmamalıdır. Özetle doymuş yağ asidi yönünden fakir, MUFA yönünden zengin, PUFA miktarı yeterli ve antioksidan potansiyeli yüksek olan fındık ve fındık yağına günlük diyetle (yağdan gelen enerjinin %20'sini geçmeyecek şekilde) yer verilmesi, aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklardan korunmada ve tedavisinde yararlı olacaktır (4).

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

Otoanalizör	(ROCHE/HITACHI Modüler Sistem, DPP)
Nefolometre	(DADE BEHRING, BN II)
Ultrasantrifüj	(BECKMAN, Optima LE80K Ultracentrifuge)
Rotor	(BECKMAN, Type 90 Ti Rotor, sabit açılı)
Ultrasantrifüj tüpleri	(BECKMAN, Lot No:9.30-99, Polikarbonat, 10,4 mL)
Santrifüj	(EPPENDORF 5810)
Spektrofotometre	(SHIMADZU, UV-1601 UV/Visible Spectrophotometer)
Sıcaklık ayarlayıcısı	(SHIMADZU)
Diyaliz Torbası	(SIGMA, D 9777)
İnkübatör	(BIOLAB)
pH-metre	(HANNA INSTRUMENTS, HI 9321)
Vorteks	(NUVE, NM 110)
Manyetik Karıştırıcı	(IKAMAG RH)

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Albümin (Sığır serumundan, AppliChem, F-9252)

Bakır Sülfat Pentahidrat (MERCK)

Di Sodyum Hidrojen Fosfat Dihidrat (MERCK)

Etilendiamin Tetra Asetik Asit (Disodyum tuzu, CARLO ERBA)

Folin-Ciocalteu's Fenol Reaktifi (2N,SIGMA)

Sodyum Bromür (MERCK)

Sodyum Di Hidrojen Fosfat Monohidrat (MERCK)

Sodyum Hidroksit (MERCK)

Sodyum Bikarbonat (MERCK)

Sodyum Potasyum Tartarat (MERCK)

Sodyum Klorür (SIGMA-ALDRICH)

Sodyum Azidür (SIGMA)

Sodyum Hidrojen Karbonat (SIGMA-ALDRICH)

PON Aktivitesi Tayin Kiti (Rel Assay Diagnostic RL001)

3.2. Metod

3.2.1. Deneyin Planlanması ve Numunelerin Toplanması

Bu çalışma NCEP ATP III kriterlerine göre ilaç tedavisi gerektirmeyen hiperkolesterolemik gönüllü şahıslar 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 tespit edilerek hiperlipidemik olup olmadıkları belirlenmiştir. Koroner arter hastalığı, hipertansiyon, diabet, obezite ve başka sistemik hastalıkları olanlar ve düzenli ilaç kullananlar çalışma grubuna dahil edilmemiştir. Şahıslara, ölçülen vücut kitle indeksi, vücut ağırlığı ve yağ yüzdelere göre, ideal sınırlara gelebilmeleri için başlangıçtan itibaren bir ay boyunca kontrol diyeti uygulanmıştır. Takip eden ikinci bir aylık dönemde, diyetlerine enerji ihtiyacının % 20' sini karşılayacak şekilde fındık eklenmiştir. 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. Son dönemde ise eşdeğer kaloriye karşılık gelen fındıksız kontrol diyeti uygulanmıştır. 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.

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 gerçekleştirildi. Apolipoprotein AI (ApoAI), apolipoprotein B (ApoB) tayinleri nefolometre (DADE BEHRING, BN II) cihazı ile orijinal reaktifler kullanılarak monoklonal immünopresipitasyon prensibine dayanılarak yapıldı.

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

3.2.3. Lipoproteinlerin İzolasyonu

Lipoproteinlerin izolasyonu Slavovs ve arkadaşları (62) tarafından kullanılan kesikli dansite gradient ultrasantrifüj yöntemi ile polikarbonat ultrasantrifüj tüpleri (BECKMAN, Lot No:9.30-99, 10,4 mL) kullanılarak yapıldı. Dansite gradienti NaBr ile oluşturularak VLDL, LDL ve HDL izole edildi.

Lipoprotein İzolasyonunda Kullanılan Çözeltiler (63)

1. A (d=1,006 g/mL);

11,46 g NaCl , 0,372 g EDTA (disodyum tuzu), 0,13 g NaN₃ bir miktar deiyonize suda çözülerek deiyonize su ile 1 L'ye tamamlandı.

2. B (d=1,24 g/mL);

34,11 g NaBr çözelti A ile 100 mL'ye tamamlandı.

3. C (d=1,063 g/mL);

7,60 g NaBr çözelti A ile 100 mL'ye tamamlandı.

4. D (d=1,019 g/mL);

1,66 g NaBr çözelti A ile 100 mL'ye tamamlandı.

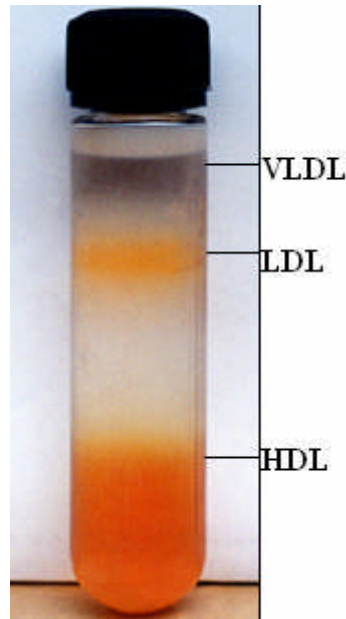
Hazırlanan çözeltilerin yoğunlukları densitometre (Anton Paer DMA 35 N) ile ölçülerek kontrol edildi.

Deneyin Yapılışı

1 mg/mL EDTA içeren tüplere alınarak 4°C' de 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilen kanlardan elde edilen plazmanın yoğunluğu katı NaBr ile 1,30 g/mL'ye ayarlandı. 3,5 mL plazmaya NaBr ilave edilerek ağırlığı 4,55g'a (3,5mL x 1,3 g/mL) getirildi ve üzerine farklı yoğunluktaki aşağıdaki çözeltiler insulin iğnesi kullanılarak sırası ile ilave edildi (62).

B (1,24 g/mL)	1,4 mL
C (1,063 g/mL)	1,4 mL
D (1,019 g/mL)	1,4 mL
A (1,006 g/mL)	1,9 mL
Deiyonize su	0,3 mL

Hazırlanan santrifüj tüpleri, tabakaların bozulmamasına özen gösterilerek Beckman 90 Ti sabit açılı ultrasantrifüj rotoruna yerleştirilerek, 4°C’de 50000 rpm’ de 3 saat santrifüj edildi. Şekil 8’ te görüldüğü gibi VLDL, LDL ve HDL tabakaları elde edildi. Elde edilen tabakalar pastör pipeti ile alındı. Buradan elde edilen HDL tabakası albumin de içerdiğinden dolayı saflaştırma amacıyla ikinci bir santrifüj işlemine tabi tutuldu. HDL ve LDL diyaliz edilip, protein düzeyleri belirlendi.



Şekil 8: Lipoprotein izolasyonu sonucu elde edilen tabakaların görünümü.

HDL' nin Saf Olarak Elde Edilmesi

Kullanılan Çözeltiler

1. d= 1,21 g/mL ;

B çözeltisinden 83,05 mL, C çözeltisinden 16,95 mL alınıp karıştırılarak 100 mL d= 1,21 g/mL' lik çözelti hazırlandı.

2. C (d=1,063 g/mL)

LDL ve VLDL uzaklaştırılmış plazmanın yoğunluğu NaBr kullanılarak 1,4 g/mL ye ayarlandı. 2 mL LDL ve VLDL' siz plazmanın ağırlığı 2,8 g' a getirildi. Yoğunluğu 1,21 ve 1,063 g/mL olan çözeltiler kullanılarak tabakalar oluşturuldu.(ref. 62'den değiştirilerek)

1,21 g/MI	1,0 mL
1,063 g/mL	1,3 mL

Hazırlanan santrifüj tüpleri, tabakaların bozulmamasına özen gösterilerek Beckman 90 Ti sabit açılı ultrasantrifüj rotoruna yerleştirilerek, 10°C'de 37000 rpm' de 17 saat santrifüj edildi. Santrifügasyon sonunda HDL saf olarak elde edildi. Elde edilen bu tabaka pastör pipeti ile alındı.

3.2.4. Lipoproteinlerin Diyalizi

HDL ve LDL'de diyaliz EDTA'yı ve diğer safsızlıkları uzaklaştırmak amacıyla yapıldı. Diyaliz işleminde selüloz membrandan yapılmış diyaliz torbası (Sigma, D 9777) kullanıldı. Yarı geçirgen bir zar olan diyaliz torbası EDTA ve küçük moleküllerin dışarı çıkmasına izin verirken tamponun da içeri girmesini sağlar. Bunun sonucu olarak da diyaliz sırasında membran yüzey alanı artar. Denge konsantrasyonuna erişildiğinde, çözünenlerin dağılımı her iki yönde de aynı olmaktadır (64).

Kullanılan Çözeltiler

1. 10 mM EDTA-10 mM PBS, pH 7,4;

4,36 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 1,86 g NaH_2PO_4 , 0,148 g Na_2EDTA bir miktar % 0,9'luk NaCl çözeltisinde çözüldü. pH'sı kontrol edildi ve son hacim % 0,9'luk NaCl çözeltisi ile 4 L'ye tamamlandı.

2. 10 mM PBS, pH 7,4;

EDTA hariç çözelti 1'deki gibi hazırlandı.

3. 100 mM NaHCO_3 -10 mM Na_2EDTA , pH 7,4;

8,4 g NaHCO_3 ve 3,722 g Na_2EDTA bir miktar deiyonize suda çözüldü. pH'sı HCl ile 7,0'a ayarlandı. Deiyonize su ile hacim 1 L'ye tamamlandı.

Diyaliz Torbalarının Hazırlanışı ve Diyalizin Yapılışı

Diyaliz torbaları yaklaşık 10-15 cm ebatlarda kesildi, 100 mM NaHCO_3 -10 mM Na_2EDTA (pH 7,4) çözeltisi içerisinde, 60°C'de 2 saat boyunca sürekli ve yavaşça karıştırılarak torbaların açılması sağlandı. 10 mM EDTA-10 mM PBS (pH 7,4) çözeltisi ile yıkandı aynı çözelti içinde 4°C'de saklandı.

Diyaliz torbalarına yerleştirilen LDL' ler önce 10 mM EDTA-10 mM PBS (pH 7,4) tamponu ile 12 saat, daha sonra 10 mM PBS (pH 7,4) tamponu ile yine 12 saat her 3-4 saatte bir tamponlar değiştirilerek, 4°C'de, karanlıkta ve sürekli karıştırılarak diyaliz edildi. İlk aşamada EDTA'lı tampon kullanılmasının nedeni diyaliz sırasında geçen uzun sürede meydana gelebilecek oksidasyona engel olmaktır.

3.2.5. Lipoproteinlerde Protein Tayini

İzole edilen HDL ve LDL' de protein tayini Lowry metodu (65) ile yapıldı. Bu metodun prensibi proteinin ilk önce alkali ortamda bakır iyonları ile muamele edilmesine ve daha sonra Folin-Ciocalteu's fenol reaktifinin (Fosfotungstik-fosfomolibdik asit) bakır ile muamele edilmiş proteinlerde yer alan tirozin ve triptofan amino asitleri tarafından

indirgenmesi esasına dayanır. Folin-Ciocalteu's fenol reaktifinin (Fosfotungstik-fosfomolibdik asit) protein ile reaksiyonu sonucu oluşan mavi rengin optik dansitesi spektrofotometrede 660 nm' de ölçülür.

Kullanılan Çözeltiler

1. Reaktif I : %2 Cu₂SO₄.5H₂O

2 g Cu₂SO₄.5H₂O bir miktar distile suda çözülüp hacmi distile su ile 100mL'ye tamamlandı.

2. Reaktif II: %2 Sodyum Potasyum Tartarat

2 g Sodyum potasyum tartarat bir miktar distile suda çözülüp hacmi distile su ile 100mL'ye tamamlandı.

3. Reaktif A: 0,1 N NaOH çözeltisinde %2 Na₂CO₃

2 g Na₂CO₃, 100mL 0,1 N NaOH çözeltisinde hazırlandı.

4. Reaktif B: Alkali Bakır Reaktifi

Reaktif I, Reaktif II, Reaktif A sırası ile 1:1:100 oranında karıştırıldı, taze hazırlandı.

5. Folin-Ciocalteu's Fenol Reaktifi

2 N Folin reaktifi 1:1 oranında distile su ile seyreltildi, taze hazırlandı.

6. Standartlar: Sığır Serum Albümini

0,02 mg/mL, 0,05 mg/mL, 0,1 mg/mL, 0,15 mg/mL, 0,2 mg/mL konsantrasyonlarında albümin standartları hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

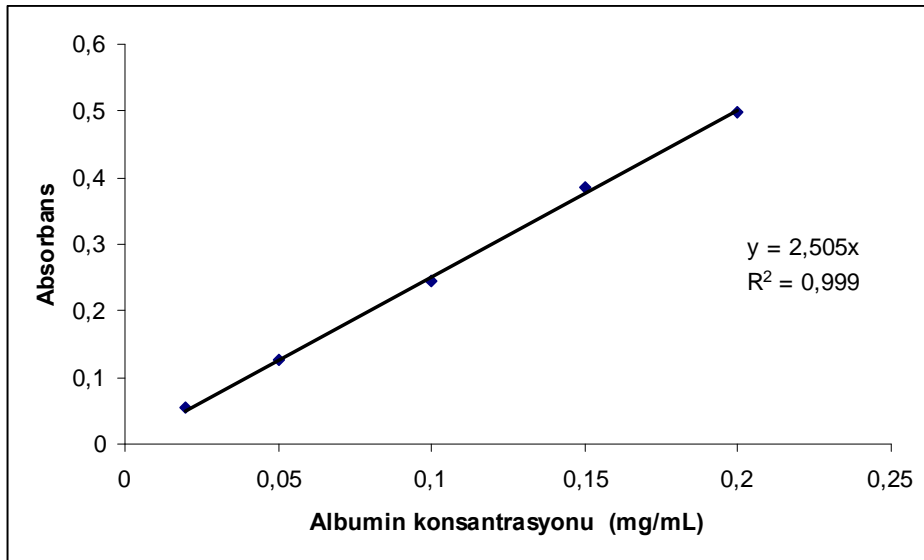
Lowry metodunun hassasiyeti 2-100 µg arasındadır. Bu nedenle numuneler 20 kat distile su ile seyreltilmiştir. Aşağıdaki tabloya göre pipetlemeler yapıp 660 nm' de absorbansları okunarak standart grafik yardımıyla sonuçlar bulunmuştur (Şekil 9).

	Kör (µL)	Standart (µL)	Numune (µL)
Distile Su	100	-	95
Standart	-	100	-
Numune	-	-	5
Reaktif B	500	500	500

Vorteksle karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 10 dk. bekletildi.

Folin reaktifi (1N)	50	50	50
---------------------	----	----	----

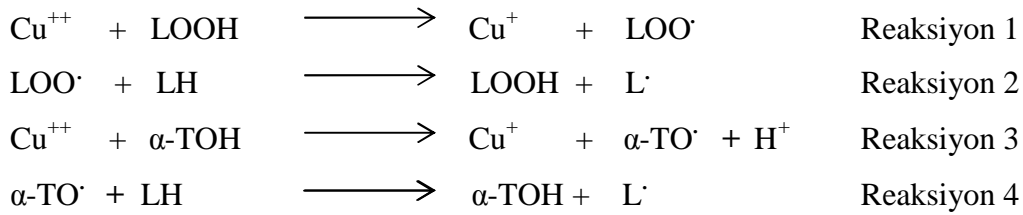
Vorteksle karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 30 dk. bekletildi.
660 nm' de absorbansları okundu.



Şekil 9: Protein Standart Grafiği.

3.2.6. LDL Oksidasyonu

LDL oksidasyonu Cu^{+2} ,nin LDL'ye bağlanarak LDL'de kimyasal, fizikokimyasal ve biyolojik değişiklikler meydana getirmesi esasına dayanmaktadır. Cu^{+2} *in vitro* ortamda ya numunede bulunan hidroperoksitlerle ya da α -tokoferol (α -TOH) ile etkileşerek lipid peroksidasyonunu başlatır. Cu^{+2} , nin lipid hidroperoksitlerle (LOOH) reaksiyonu sonucu Cu^+ ve lipid peroksil radikali (LOO^\cdot) meydana gelir (Reaksiyon 1). Burada oluşan LOO^\cdot diğer lipidlerle reaksiyona girerek lipid radikalinin (L^\cdot) oluşumuna yol açar (Reaksiyon2). Cu^{+2} , nin α -TOH ile reaksiyonu sonucu ise Cu^+ ve α -tokoferol radikali (α - TO^\cdot) oluşur (Reaksiyon 3). α - TO^\cdot daha sonra lipid peroksidasyonunu başlatabilir (Reaksiyon 4). Reaksiyon zincirleri bu şekilde devam eder (66).



LDL oksidasyonunda ilk olay LDL PUFA' larında hidroperoksit oluşumudur. Bu lipid hidroperoksitler konjuge dienlerdir ve 234 nm'de maksimum absorbans verirler. Bu dalga boyunda takiple çift bağlı PUFA' lerinin konjuge çift bağlı hidroperoksitlere dönüşümü belirlenebilir. 234 nm'de konjuge dien takibi LDL oksidasyon direncinin bir ölçüsüdür ve LDL oksidasyonunun başlangıcı olan gecikme fazı uzunluğunun (t-lag) belirleyicisidir (67).

Kullanılan Çözeltiler

1. 100 μM $\text{Cu}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

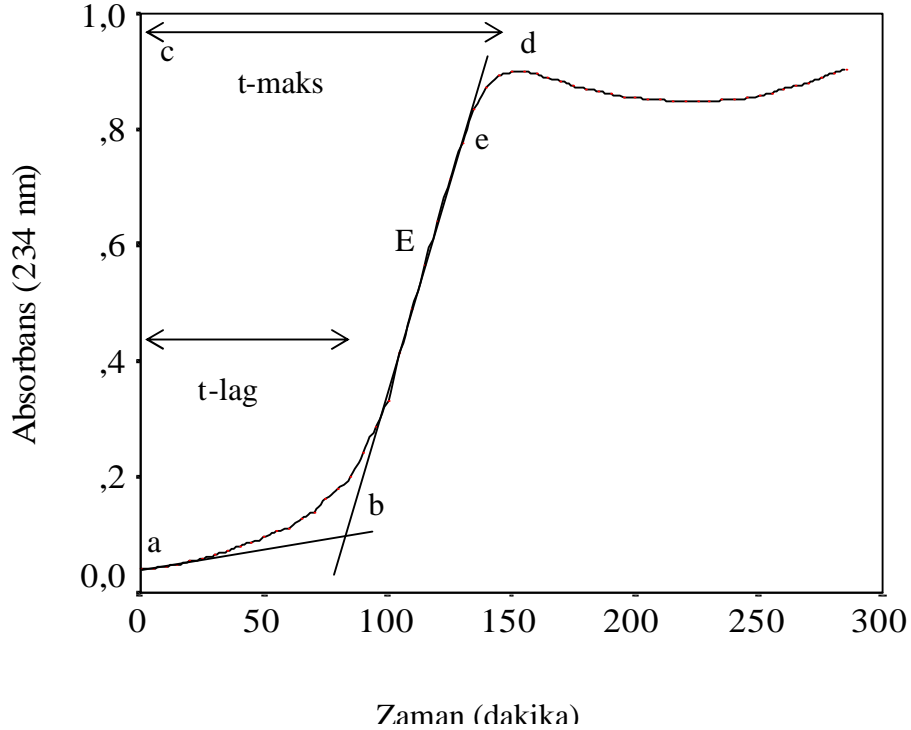
25 mg $\text{Cu}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 10 mL 10 mM PBS tamponunda (pH 7,4) çözülerek 10 mM $\text{Cu}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiden 100 μL alınıp 10 mL 10 mM PBS tamponunda (pH 7,4) çözülerek 100 μM $\text{Cu}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

50 µg LDL/mL : 1,67 µM Cu⁺² oranında 1mL' lik kuartz küvetlere aşağıdaki tabloya göre pipetlemeler yapıldı (67). 1000 µL 'de LDL protein miktarı son konsantrasyonu 50 µg olacak şekilde PBS (*) ve LDL (**) pipetlendi. Şekil 7' deki veriler göz önüne alınarak dien konjugasyon hızı (DKH) ve maksimum dien konsantrasyonu (MDK) hesaplandı (67, 68)

	Kör (µL)	LDL (µL)
10 mM PBS (pH 7,4)	984	*
100 µM CuSO ₄ .5H ₂ O	16.7	16.7
LDL	-	**

37 °C' de, 234 nm' de 270 dk. LDL oksidasyonu direnci takip edildi.



Şekil 10: Bakır ile LDL oksidasyonu kinetiği.

a : Oksidasyon başlangıcında ilk absorbans (A^0)

t-lag : Gecikme süresi, dakika (a-b noktaları arasında geçen zaman)

t-maks : Maksimum absorbansa ulaşma süresi, dakika (c-d noktaları arasında geçen zaman)

E : b-e noktaları arasındaki eğim= $(\Delta A/dk)$

Konjuge dienin molar absorbtivite katsayısı $\epsilon_{234} = 29\ 500 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$

ℓ : Işık yolunun uzunluğu, cm

Protein konsantrasyonu [prt]= 0,05 mg/mL (50 $\mu\text{g/mL}$)

DKH: Dien konjugasyon hızı, MDK: Maksimum dien konsantrasyonu

$$\text{DKH} = \frac{(\Delta A/dk) \times 10^6}{\epsilon_{234} \times \lambda \times [\text{prt}]} \quad (\text{nmol/dk/mg LDL protein})$$

$$\text{MDK} = \frac{(A_c - A_a) \times 10^6}{\epsilon_{234} \times \lambda \times [\text{prt}]} \quad (\text{nmol/mg LDL protein})$$

3.2.7. HDL Oksidasyonu

Oksidasyon ile HDL' nin lipid ve apolipoproteinlerinde yapısal değişimler olduğu belirtilmiştir (26) . Apo A-I oksidasyon sonucu diğer apolipoproteinlerle dimer, trimer ya da heteromerler oluşturur ve yüksek moleküler ağırlıkta agregatlar meydana gelir.

Oksidasyon yüzey ve çekirdek kısımlarının her ikisinde birden etkili olmaktadır. (26)

Deneyin Yapılışı

50 $\mu\text{g HDL/mL}$: 1,67 $\mu\text{M Cu}^{+2}$ oranında 1mL' lik kuartz küvetlere aşağıdaki tabloya göre pipetlemeler yapıldı (ref. 69' dan değiştirilerek). 1000 μL 'de HDL protein miktarı son konsantrasyonu 50 μg olacak şekilde PBS (*) ve LDL (**) pipetlendi.

	Kör (µL)	LDL (µL)
10 mM PBS (pH 7,4)	984	*
100 µM CuSO ₄ .5H ₂ O	16.7	16.7
LDL	-	**
37 °C' de, 234 nm' de 500 dk. HDL oksidasyonu direnci takip edildi.		

3.2.8. HDL Varlığında LDL Oksidasyonu

Çalışma grubunun 3 dönemine ait HDL' lerinin LDL oksidasyonu üzerine etkisini incelemek amacıyla HDL ve LDL aynı anda oksidasyona maruz bırakıldı. 3 farklı döneme ait HDL' ler ve plazma havuzundan elde edilen LDL kullanıldı.

Deneyin Yapılışı

100 µg HDL+ 50 µg LDL/mL : 1,67 µM Cu⁺² oranında 1mL' lik kuartz küvetlere aşağıdaki tabloya göre pipetlemeler yapıldı (ref. 69' dan değiştirilerek). 1000 µL 'de HDL protein miktarı son konsantrasyonu 100 µg, LDL protein miktarı son konsantrasyonu 50 µg olacak şekilde PBS (*), LDL (**), ve HDL (***) pipetlendi.

	Kör(µL)	LDL(µL)
10 mM PBS (pH 7,4)	984	*
100 µM CuSO ₄ .5H ₂ O	16,7	16,7
LDL	-	**
HDL	-	***
37 °C' de, 234 nm' de 500 dk. HDL oksidasyonu direnci takip edildi.		

3.2.9. PON Aktivitesinin Belirlenmesi

PON aktivitesi Erel O (70) metoduna göre enzimatik spektrofotometrik yöntemle çalışılmıştır. Ölçüm Paraoksonaz kiti (Lot: RL001 Gaziantep, Türkiye) kullanılarak yapıldı. PON aktivitesi U/L olarak değerlendirildi.

3.2.10. Lipid Elektroforezi

TITAN GEL Lipoprotein Kiti (Cat No:3045) ile agaroz jel elektroforezi yapılarak izole edilen HDL, VLDL ve LDL' nin saf olup olmadığı kontrol edildi.

3.3. İstatistiksel Analizler

Her üç döneme ait değerler aritmetik ortalama ve standart sapma ($X \pm SD$) olarak ifade edildi. Parametrelerin normal dağılıma uygunluğu "Kolmogorov-Simirnov" 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.

BULGULAR

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

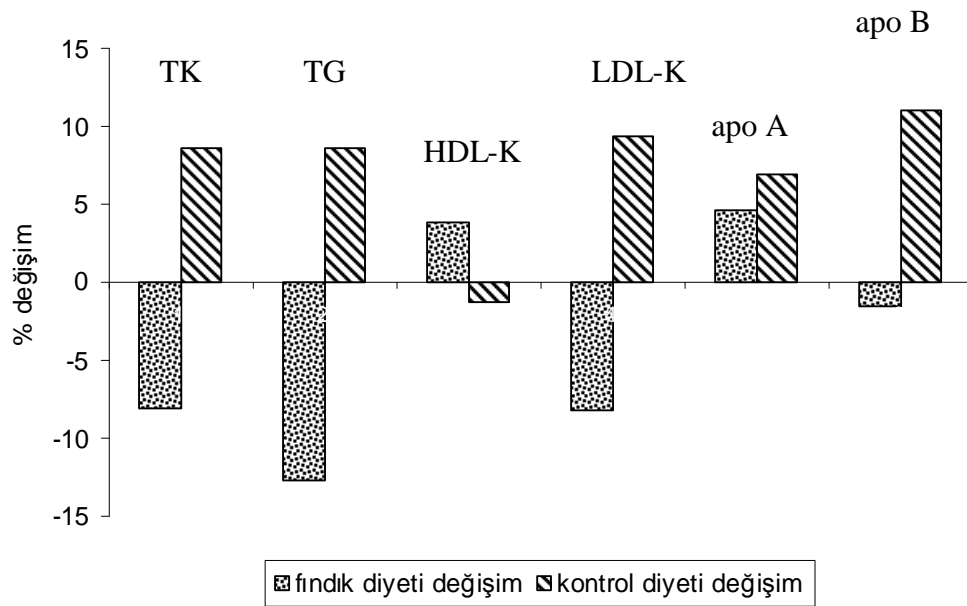
Çalışma grubuna ait demografik veriler tablo 7' de sunulmuştur. Çalışmada yer alan bireylerin vücut kitle indeksleri 60. gün ve 90. günde 30. güne göre anlamlı olarak azalmıştır. ($F_{kg} = 25,467$, $P_{kg} = 0,001$)($F_{BMI} = 22,946$, $P_{BMI} = 0,001$)

Tablo 7: 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

Tablo 8 'de görüldüğü üzere serum toplam kolesterol, TG ve LDL-K düzeylerinde 60. günde anlamlı bir azalış görülmüştür. Apo A-I düzeylerinde 60. ve 90. günlerde, apo B düzeyinde ise 90. günde anlamlı bir artış görülmüştür. Apo B düzeyinde 60. günde bir azalma görülmüş fakat istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. HDL-K ve PON aktivitesinde 60. günde gözlenen artış ve 90. günde gözlenen azalış anlamlı bulunmamıştır.

Şekil 11' de çalışma grubunun 60. gün ile 30. günler arası (fındık diyeti) ve 90. gün ile 60. günler (kontrol diyeti) yüzde değişimleri grafiksel olarak görülmektedir.



Şekil 11: Fındık ve kontrol diyetinde yüzde lipid ve lipoprotein değişimi

Tablo 8: Çalışma grubunun 3 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	0,00
TG (mg/dL)	205 ± 136	164 ± 116	145 ± 102 ^a	152 ± 90	5,182	0,039	-12,73 ± 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	0,00
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
PON (U/L)	302 ± 138	292 ± 136	294 ± 136	280 ± 135	2,281	0,334	0,6 ± 5	-6,9 ± 1,9	0,173

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.

Tablo 9: Çalışma grubunun LDL oksidasyon kapasitesi parametreleri.

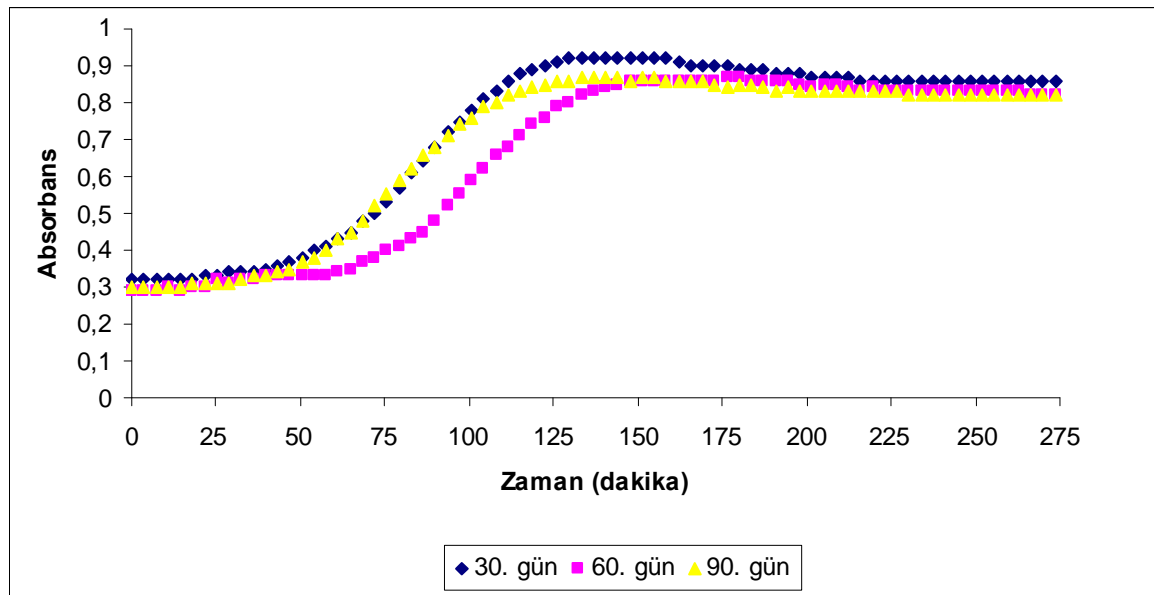
	30. Gün	60. Gün	90. Gün	P	F*
t-lag (dk.)	60 ± 9	70 ± 13 ^{a,b}	58 ± 12	0,002	14,143
DKH ^α	7 ± 2	7 ± 2	7 ± 3	0,445	0,617
MDK ^β	421 ± 133	438 ± 142	409 ± 104	0,601	0,286
t-max (dk.)	135 ± 13	159 ± 28 ^{a,b}	127 ± 19	0,01	18,620

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

^αnmol/dk/mg LDL protein, ^βnmol/mg LDL protein.

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

LDL oksidasyonunun başlangıcı olan gecikme fazı uzunluğu (t-lag) ve maksimum absorbansa ulaşmak için geçen süre (t-max) 60. günde 30. güne göre anlamlı derecede artarken, 90. günde 60. güne göre anlamlı olarak azalmıştır. Dien konjugasyon hızı 60. ve 90. günde 30. güne ve birbirlerine göre anlamlı bir değişim göstermemiştir. Maksimum dien konsantrasyonu 60. günde 30. güne göre artmış fakat bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. (Tablo 9). Ortalama absorbans değerleri alınarak çizilen bakır ile LDL oksidasyonu kinetiğini gösteren aşağıdaki grafikte 60. günde t-lag ve t-max’ daki uzama açıkça görülmektedir (Şekil 12).

**Şekil 12:** Bakır ile LDL oksidasyon kinetiği

Tablo 10: Çalışma grubunun HDL oksidasyon kapasitesi parametreleri.

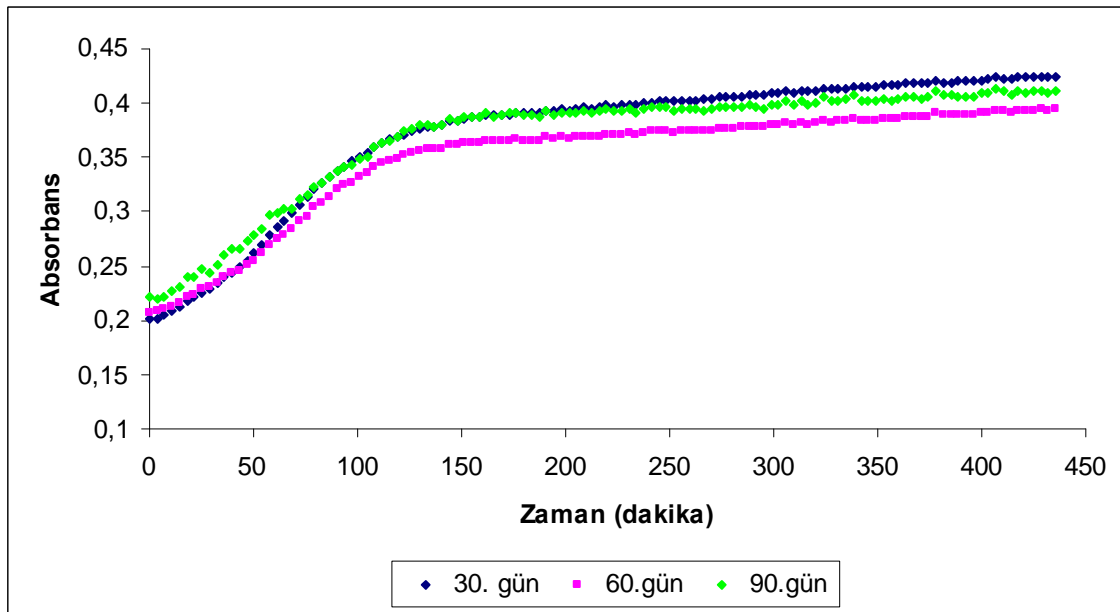
	30. Gün	60. Gün	90. Gün	P	F*
t-lag (dk.)	29 ± 18	28 ± 7	25 ± 8	0,394	0,776
DKH ^α	1,5 ± 0,8	1,3 ± 0,6	1,19 ± 0,6 ^a	0,003	12,669
MDK ^β	128 ± 20	118 ± 15	117 ± 18 ^a	0,036	5,399
t-max (dk.)	154 ± 46	152 ± 39	153 ± 44	0,661	0,202

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

^αnmol/dk/mg HDL protein, ^βnmol/mg HDL protein.

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

HDL oksidasyonunun başlangıcı olan gecikme fazı uzunluğu (t-lag) ve maksimum absorbansa ulaşmak için geçen sürede (t-max) anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Dien konjugasyon hızı ve maksimum dien konjugasyonu 90. günde 30. güne göre anlamlı olarak azalmıştır. (Tablo 10). Şekil 13’ de ortalama absorbans değerleri alınarak çizilen bakır ile HDL oksidasyonu kinetiğini gösteren grafik görülmektedir.

**Şekil 13:** Bakır ile HDL oksidasyon grafiği

Tablo 11: Çalışma grubunun HDL ve havuz LDL birlikte oksidasyon parametreleri.

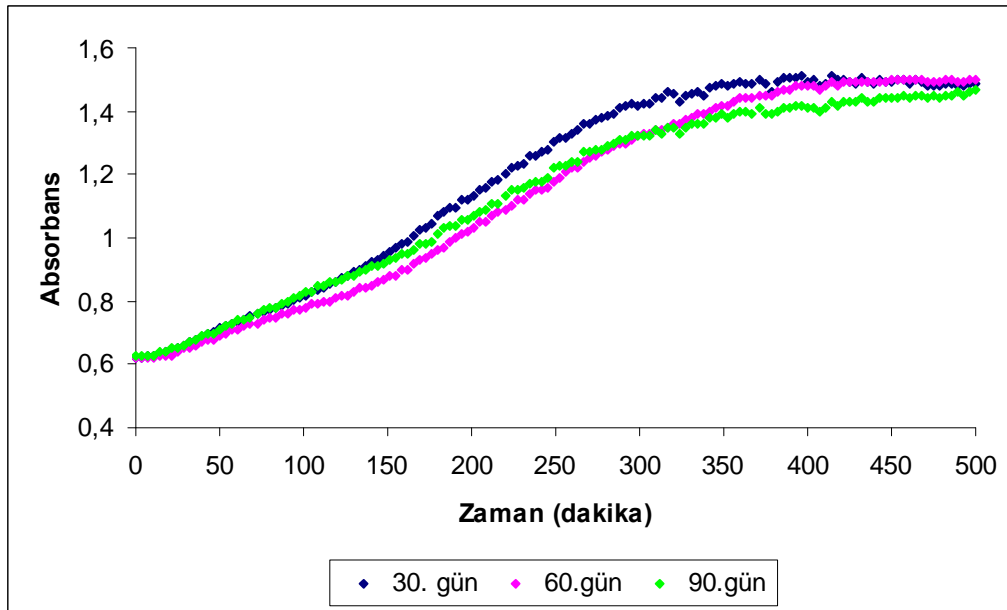
	30. Gün	60. Gün	90. Gün	P	F*
t-lag (dk.)	133 ± 37	174 ± 60 ^a	142 ± 44	0,043	4,970
DKH ^α	3,7 ± 1,7	3,6 ± 1,5	3,1 ± 1,9	0,2	1,806
MDK ^β	645 ± 80	641 ± 69	614 ± 115	0,178	2,011
t-max (dk.)	344 ± 81	394 ± 94 ^a	379 ± 105	0,061	4,225

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

^αnmol/dk/mg LDL protein, ^βnmol/mg LDL protein.

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

HDL+ LDL oksidasyonunda t-lag da 60.günde 30. güne göre anlamlı bir artış görülmektedir. t- max, DKH ve MDK değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. (tablo 11) HDL+ LDL oksidasyon kinetiğini gösteren grafik şekil 14’ de görülmektedir.

**Şekil 14:** HDL+ LDL' nin bakır ile birlikte oksidasyonu

4.2. Çalışma Grubunda 30. Gün, 60. Gün ve 90. Günde Parametreler Arası Korelasyonlar

4.2.1. 30. Gün Parametreleri Arasındaki Korelasyonlar

Serum toplam kolesterolü ile LDL-K ve apo B arasında güçlü pozitif korelasyon bulunmuştur (sırasıyla $r=,84$, $p=0,00$ ve $r=0,78$, $p=0,001$). TG ile HDL-K parametreleri arasında negatif korelasyon bulunmuştur ($r= -0,59$, $p=0,02$). LDL-K ile apo B arasında güçlü pozitif korelasyon görülürken, yine LDL-K ile LDL oksidasyon kapasitesi parametrelerinde t-lag arasında negatif korelasyon görülmüştür (Şekil 15). ($r=0,81$, $p=0,00$ ve $r= -0,62$, $p=0,01$) HDL oksidasyon kapasitesi parametrelerinden t-max ile t-lag arasında güçlü pozitif korelasyon, DKH arasında güçlü negatif korelasyon görülmüştür ($r= 0,68$, $p= 0,005$ ve $r=0,74$, $p= 0,001$). LDL oksidasyon kapasitesi parametrelerinden t-lag ile t-max arasında güçlü pozitif korelasyon, DKH arasında negatif korelasyon bulunmuştur ($r=0,73$, $p=0,002$ ve $r= -0,59$, $p=0,02$). DKH ile MDK arasında güçlü pozitif korelasyon görülmüştür. ($r= 0,89$, $p=0,00$) HDL+ LDL birlikte oksidasyon parametrelerinden t-lag ve t-max arasında da yine güçlü pozitif korelasyon görülmüştür ($r=0,80$, $p=0,00$).

4.2.2. 60. Gün Parametreleri Arasındaki Korelasyonlar

Serum toplam kolesterol ile LDL-K ve apo B arasında güçlü pozitif korelasyon bulunmuştur. ($r=0,82$, $r=0,88$, $p=0,00$) Yine serum toplam kolesterolü ile HDL+ LDL birlikte oksidasyon parametrelerinden t-lag arasında negatif korelasyon bulunmuştur (Şekil 16) ($r= -0,52$, $p=0,04$). TG ile HDL-K parametreleri arasında negatif korelasyon bulunmuştur ($r= -0,56$, $p=0,03$). HDL-K ile apo A ve LDL-K ile apo B arasında güçlü pozitif korelasyon görülmüştür (sırasıyla, $r= 0,75$, $p=0,001$ ve $r=0,88$, $p=0,00$). Apo A ile PON aktivitesi arasında pozitif korelasyon görülmüştür. ($r=0,50$, $p=0,05$) HDL oksidasyon parametrelerinden t-lag ile t-max arasında güçlü pozitif korelasyon bulunmuştur ($r=0,65$, $p=0,00$). DKH ile t-max arasında güçlü negatif korelasyon görülürken ($r= -0,79$, $p=0,00$), DKH ile MDK arasında güçlü pozitif korelasyon görülmüştür ($r=0,65$, $p=0,00$). LDL oksidasyon parametrelerinden t-lag ile t-max arasında güçlü pozitif korelasyon bulunmuştur ($r= 0,82$, $p=0,00$). DKH ile t-max arasında negatif, MDK arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ($r= -,69$, $p=0,05$ ve $r=0,62$, $p=0,01$). HDL+ LDL birlikte oksidasyon parametrelerinden t-lag ile t-max arasında güçlü

pozitif ($r=0,88$, $p=0,00$), DKH ile t-lag ve t-max arasında güçlü negatif korelasyon görülmüştür ($r= 0,68$, $p=0,00$).

4.2.3. 90. Gün Parametreleri Arasındaki Korelasyonlar

Serum toplam kolesterolü ile LDL-K ve apo B arasında güçlü pozitif korelasyon bulunmuştur ($r=0,77$, $r= 0,76$, $p= 0,001$). HDL-K TG ile güçlü negatif korelasyon, apo A ile pozitif korelasyon göstermiştir ($r=-0,74$, $p=0,002$, $r=0,52$, $p=0,05$). LDL-K ile apo B arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. HDL oksidasyon parametrelerinden t-max ile DKH arasında güçlü negatif korelasyon görülmüştür ($r= -0,88$, $p=0,00$). LDL oksidasyon parametrelerinden t-lag ile t-max ve DKH ile MDK arasında güçlü pozitif korelasyon, görülmüştür (sırasıyla $r=0,87$, $p=0,00$ ve $r=0,65$, $p=0,009$). HDL+ LDL birlikte oksidasyon parametrelerinden t-lag ve t-max arasında güçlü pozitif korelasyon görülmüştür ($r=0,85$, $p=0,00$). DKH ile t-lag ve t-max arasında güçlü negatif korelasyon görülmüştür (sırasıyla $r= -0,73$, $r= -0,86$, $p= 0,00$).

4.3. Çalışma Grubuna Ait Parametrelerin Yüzde Değişimleri Arasındaki Korelasyonlar

60.günde ve 90. günde elde edilen parametrelerin yüzde olarak ne kadar değişim gösterdiği ve farklı parametrelerde gözlenen değişimlerin birbirlerini nasıl etkilediğini tespit etmek için 30. gün ile 60. gün, 60. gün ile 90. gün parametrelerinin farklarının yüzdesi alınarak korelasyon yapılmıştır.

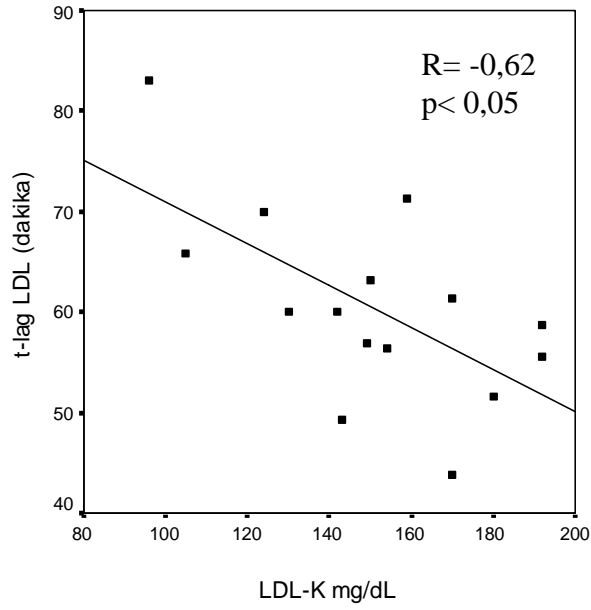
4.3.1. 30. Gün ve 60.Gün Yüzde Değişimleri Arasındaki Korelasyonlar

Serum toplam kolesterol ile LDL-K parametreleri arasında oldukça güçlü pozitif korelasyon görülürken ($r= 0,74$, $p=0,002$) apo B ile pozitif korelasyon görülmüştür ($r= 0,56$, $p<. 0,02$). TG ile apo A parametreleri arasında negatif korelasyon ($r=-0,58$, $p=0,02$), HDL-K ile apo A arasında pozitif korelasyon görülmüştür ($r= 0,55$, $p=0,03$). HDL oksidasyon kapasitesi parametrelerinden t-lag ile t-max arasında güçlü pozitif korelasyon ($r=0,75$, $p=0,001$), t-lag ve t-max ile DKH arasında negatif korelasyon bulunmuştur (sırasıyla $r=-0,63$, $p=0,01$, $r=-0,78$, $p=0,001$). LDL oksidasyon kapasitesi parametrelerinden t-lag ile t-max arasında güçlü pozitif korelasyon ($r=0,78$, $p= 0,001$) MDK ile t-max arasında pozitif korelasyon görülmüştür ($r=0,53$, $p=0,04$). HDL+LDL oksidasyon kapasitesi

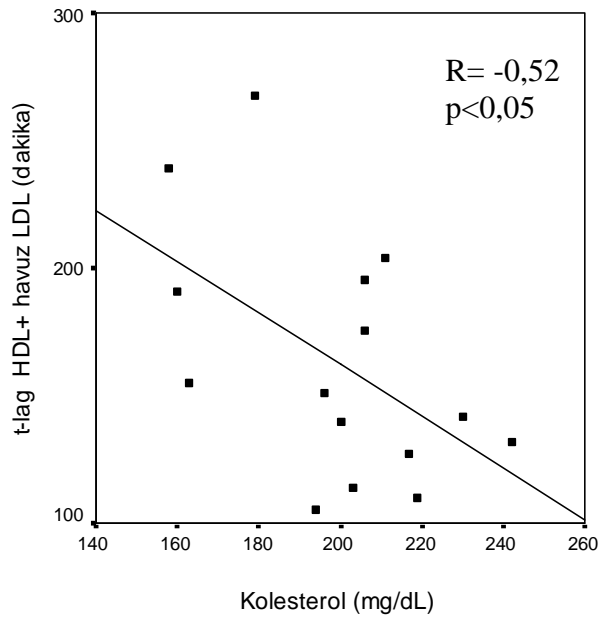
parametrelerinden olan t-lag ve t-max arasında güçlü pozitif korelasyon bulunmuştur ($r=0,97$, $p=0,000$).

4.3.2. 60. Gün ve 90.Gün Yüzde Değişimleri Arasındaki Korelasyonlar

Serum toplam kolesterolü ile LDL-K ve apo B parametreleri arasında güçlü pozitif korelasyon görülmüştür (sırasıyla, $r=0,75$, $p=0,001$ ve $r=0,74$, $p=0,002$). HDL-K ile apo A arasında ve LDL-K ile apo B arasında pozitif korelasyon görülmüştür (sırasıyla, $r=0,52$, $p=0,04$ ve $r=0,61$, $p=0,01$). HDL oksidasyon kapasitesi parametrelerinden t-max ile t-lag arasında pozitif, DKH arasında negatif korelasyon bulunmuştur ($r=0,52$, $p=0,04$ ve $r=-0,064$, $p=0,01$). LDL oksidasyon kapasitesi parametrelerinde t-lag ve t-max arasında ise oldukça kuvvetli pozitif korelasyon bulunmuştur ($r=0,85$, $p=0,00$).



Şekil 15: 30. gün LDL-K ve LDL oksidasyonu gecikme zamanı uzunluğu korelasyon grafiği



Şekil 16: 60.gün toplam kolesterol ile HDL+LDL birlikte oksidasyonu gecikme zamanı uzunluğu arasındaki korelasyon grafiği

5. TARTIŞMA

Sert kabuklu meyve tüketiminin plazma lipid profili ve koroner kalp hastalıkları, kardiyovasküler hastalıklar, MI, ateroskleroz ve diğer kronik rahatsızlıkların riski üzerine olumlu etkileri yapılan epidemiyolojik ve klinik çalışmalar ile ortaya konulmaya çalışılmıştır (58). Sert kabuklu meyveler sınıfından olan fındığın sağlıklı beslenme açısından uygun niteliklere sahip ve yüksek enerji sağlayan bir besin maddesi olmasının yanı sıra, yüksek miktardaki tekli doymamış yağ asidi (oleik asit) ve E vitamini içeriği nedeni ile kalp ve damar hastalıklarına karşı koruyucu etkiye sahip olması beklenmektedir.

Her gün düzenli fındık tüketiminin plazma lipid profili, plazma LDL oksidasyonu, HDL oksidasyonu ve fındık tüketen bireylerden elde edilen HDL' nin LDL oksidasyonu üzerine etkisini ortaya koymayı amaçladığımız bu çalışma NCEP ATP III kriterlerine göre ilaç sınırında olmayan hiperkolesterolemik 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 % 20' sini karşılayacak şekilde fındık eklenmiştir. Son dönemde ise eşdeğer kalorigen fındıksız kontrol diyeti uygulanmıştır. Fındığın normal öğünlerle alınan besinlerle etkileşimini azaltmak için günlük fındık alımını ikiye bölünmüş, birinci doz sabah ile öğle saatleri arasında, ikinci doz ise öğle ve akşam saatleri arasında alınmış, su dışında ilave içecek ve gıda alımına müsaade edilmemiştir. Böylece literatürde sert kabuklu meyvelerle yapılan çalışmalarda uygulanmış olan çalışma süresi, fındığın tüketim miktarı ve tüketim şekli standardize edilmeye çalışılmıştır

Fındığın yağlı bir yiyecek olması sebebiyle düzenli tüketiminin vücut ağırlığında artışa neden olabileceği düşünülebilir. Buna rağmen çalışma tamamlandığında vücut

ağırlığı ve vücut kitle indeksinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Elde ettiğimiz bu sonuç yapılan birçok çalışma ile desteklenmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar sert kabuklu meyve tüketim sıklığı ile vücut kitle indeksi arasında ters ilişki olduğunu göstermektedir. “Adventist Health Study” ve “Nurses’ Health Study” gibi on binlerce kişinin katıldığı çok geniş kohort çalışmalarında sert kabuklu meyve tüketimi ile vücut kitle indeksi arasında negatif ilişki olduğu rapor edilmiştir (71). 6.080 kişinin yer aldığı bir başka çalışmada ise (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis, MESA) sert kabuklu meyve ve tohum tüketim sıklığı ile vücut kitle indeksi arasında ters ilişki olduğu gösterilmiştir. Çalışmalar, diyetle fındığın diğer yiyecekler ile izokalorik olarak yer değiştirmesinin vücut ağırlığında bir artışa götürmeyeceği yönündedir. Bir çalışmada sert kabuklu meyve tüketen grupta vücut ağırlığında anlamlı bir azalma olduğu rapor edilmiştir. Sert kabuklu meyvelerin sık tüketiminin tokluk hissini artırması, yüksek miktardaki protein ve doymamış yağ asidi içeriği nedeni ile dinlenme halinde metabolik hızı artırması ve yetersiz sindirilmeleri nedeni ile fekal yağ kaybının artıp kullanılabilir enerjinin azalması kilo kaybının sebepleri olarak düşünülmektedir (71,72). Bunun yanında fındık tüketimi ile vücut kitle indeksinde anlamlı bir değişme olmadığını gösteren çalışmalar da vardır. Mercanlilgil ve ark.’nın yaptığı çalışmada hiperkolesterolemik bireylere bir ay boyunca kontrol diyeti uygulanmış, ikinci ayda diyetlerine günlük 40 g fındık eklenmiş ve vücut ağırlıklarında anlamlı bir değişim gözlenmemiştir (73). Durak ve ark.’nın yaptığı çalışmada sağlıklı bireylerin normal diyetlerine günde kilogram başına 1 g olacak şekilde 30 gün boyunca fındık ilave edilmiş ve vücut ağırlıklarının değişmediği gözlenmiştir (61). 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 kitle indekslerinin değişmediği saptanmıştır (53).

Diyetle aldığımız yağların plazma lipid düzeyleri ve lipoproteinlerin yağ asidi kompozisyonları üzerinde etkili olması ateroskleroz ve koroner arter hastalığı gelişiminde oldukça önemlidir. Doymuş yağ oranının düşük ve MUFA oranının yüksek olduğu diyetler plazma lipid düzeylerinin kontrolünde etkili olmaktadır. Fındıkta yüksek oranda bulunan MUFA ile zenginleştirilmiş beslenmenin plazma toplam kolesterol, trigliserid, LDL kolesterol ve HDL kolesterol düzeyleri üzerindeki olumlu etkilerini gösteren çalışmalar mevcuttur (5, 58, 74). Yaptığımız çalışmada serum toplam kolesterol düzeyleri 60. gün sonunda önemli ölçüde azalmıştır. (% 8,03, $p<0,05$) LDL-K (%8,1) ve TG (%12,7) düzeylerinde serum total kolesterol düzeyleri gibi önemli ölçüde azalma görülmüştür. Apo

B düzeyleri 60. günde önemli oranda değişmezken (% 1,53), 90. gün sonunda anlamlı olarak artmıştır (% 10,9, $p<0,05$). Ortalama apo B değeri HDL-K düzeylerinde belirgin bir değişiklik tespit edilmemiştir. Apo A-I düzeylerinde 60. günde (%4,6) ve 90. günde (%6,9) artış gözlenmiştir. ($p<0,05$). Hiperkolesterolemik bireylerde fındığın etkileri ile ilgili literatürde tek bir çalışmaya rastlanmıştır. Mercanliligil ve ark.'nın yaptığı bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlara benzer sonuçlar bulunmuştur. Mercanliligil ve ark. hiperkolesterolemik bireylerde fındığın serum toplam kolesterolü %5,2, LDL-K % 3,3 düşürdüğünü ve HDL-K ise %12,6 artırdığını gözlemlemişlerdir (73). Toplam kolesterol ve LDL-K konsantrasyonlarındaki her %1 azalmanın koroner kalp hastalığı insidansında %1,5 azalmaya, HDL-K de her 1mg/dL artışın ise %2-3 azalmaya sebep olacağı tahmin edilmektedir (73). Bizim çalışmamızda serum toplam kolesterolde % 8,03, LDL-K de %8,1 ve TG düzeylerinde %12,7 azalma görülmüştür. Edwards ve ark. yaptığı çalışmada orta dereceli hiperkolesterolemik bireylerde çam fıstığının serum lipid değerleri üzerine etkisi incelenmiştir. 4 erkek ve 6 kadından oluşan çalışma grubu 3' er hafta boyunca çam fıstığı ve kontrol diyetine tabi tutulmuştur. Şahıslara günlük enerji ihtiyaçlarının % 20' sini karşılayacak şekilde çam fıstığı verilmiş ve çalışma sonunda total kolesterolün ortalama 243 mg/dL' den 239 mg/dL' ye, LDL kolesterolün 180 mg/dL' den 158 mg/dL' ye düştüğü ve HDL kolesterolün ise 50 mg/dL' den 56 mg/dL' ye yükseldiği görülmüştür (75). Çalışmamızda Edwards ve arkadaşlarından farklı olarak HDL-K düzeylerinde belirgin bir değişiklik bulunamamıştır. Ros ve ark. hiperkolesterolemik bireylere enerjinin %32' sini oluşturan MUFA yerine cevizin yer aldığı "Akdeniz Diyeti" benzeri bir diyet uygulamışlar ve toplam kolesterol ve LDL kolesterol düzeylerinin azaldığını bulmuşlardır. Azalan kolesterol düzeyi ile artan alfa-linolenik asit ve γ -tokoferol arasında korelasyon tespit etmişlerdir. Bu bulgu sert kabuklu meyvelerin kolesterolü düşürmelerinin yanında kalp hastalıklarından korunmada etkili olmalarının diğer bir sebebini açıklamaktadır (76). Almario ve ark. hiperlipidemik şahıslarda cevizin plazma yağ asitleri ve lipoproteinler üzerine etkisini incelemiştir. Çalışmaya katılanlara sırasıyla habitüel diyet, habitüel diyet ve ceviz, düşük yağlı diyet, düşük yağlı diyet ve ceviz diyetleri uygulanmıştır. Plazma trigliserit konsantrasyonu tüm diyetler boyunca aynı kalırken, plazma total kolesterol ve LDL kolesterol düşük yağlı diyet ve cevizin birlikte verildiği diyetle azalmıştır. Plazma apo B düzeyinin ceviz tüketiminden etkilenmediği bildirilmiştir. Habitüel diyetle ceviz eklenmesi ile HDL kolesterol konsantrasyonunun azaldığı apolipoprotein A' nın ise arttığı gözlemlenmiştir (8). Spiller ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada badem, zeytinyağı ve tereyağı diyeti karşılaştırılmıştır. Total kolesterol ve LDL kolesterol düzeylerindeki

azalmanın badem grubunda diğer gruplara göre anlamlı olarak farklı olduğu bulunmuştur (78). Chisholm ve ark. yaptıkları çalışmada sert kabuklu meyve diyeti ile kanola yağı diyetini karşılaştırmışlar ve plazma lipid profili üzerine benzer şekilde etkileri olduğunu bulmuşlardır. Çalışma sonunda her iki diyetle de toplam ve LDL kolesterolün düştüğünü gözlemlemişlerdir (79).

Sert kabuklu meyvelerin normolipidemik bireylerde lipid profili üzerine etkilerini gösteren çalışmalar da vardır. Anabilim dalımızda yapılan çalışmada, fıındığın normolipidemik bireylerde serum total kolesterol ve apo B düzeylerini önemli ölçüde düşürdüğü, apo A-I düzeyini ise anlamlı olarak arttırdığı bulunmuştur. Yine bu çalışmada LDL-K ve TG düzeylerinde azalma gözlenmiş fakat istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. HDL-K düzeyinde ise belirgin bir değişiklik tespit edilmemiştir (80). Durak ve ark. sağlıklı bireylerde fıındığın toplam kolesterolü %6, LDL kolesterolü %19 düşürdüğü, HDL kolesterolü %7, trigliseridi %25 yükselttiğini gözlemişlerdir (61). Koçyiğit ve ark. sağlıklı normolipidemik bireylerde çam fııstığı tüketiminin toplam kolesterol düzeyini, toplam kolesterol/HDL kolesterol ve LDL kolesterol/ HDL kolesterol oranlarını önemli derecede azalttığını, HDL kolesterol düzeyini önemli derecede arttırdığını gözlemlemişlerdir. Trigliserid ve LDL kolesterol düzeylerinin de azaldığını fakat bu azalışı istatistiksel olarak anlamlı bulmadıklarını rapor etmişlerdir (53). Alper ve Mattes sağlıklı yetişkinler üzerinde yaptıkları çalışmada düzenli yer fııstığı tüketiminin serum trigliserid düzeyini düşürdüğünü, bunun yanı sıra toplam kolesterol, LDL kolesterol ve HDL kolesterol düzeylerini de değiştirmedığını bulmuşlardır (77). Berry ve ark. yaptıkları çalışmada badem, zeytin yağı ve avokado içeren MUFA yönünden zengin, ceviz, safran ve soya içeren PUFA yönünden zengin ve karbonhidrat yönünden zengin 3 farklı tipte diyeti karşılaştırmışlardır. MUFA ve PUFA yönünden zengin diyetin HDL kolesterol düzeylerini değiştirmezken, total kolesterol ve LDL kolesterol düzeylerini %10-20 oranında düşürdüğünü, bu iki diyeti karbonhidrat yönünden zengin diyetle karşılaştırdıklarında ise MUFA yönünden zengin diyetin total kolesterol ve LDL kolesterol düzeylerini düşürdüğünü göstermişlerdir (58).

LDL oksidasyonunun aterogeneizde önemli bir risk faktörü olduğu, oksidasyon sonucu LDL' nin lipid ve apoprotein içeriğinde değişimler meydana geldiği belirtilmiştir (2). Erken aterosklerotik lezyon olarak bilinen yağlı çizgilenme, LDL' nin subendotelial alanda okside olması ve makrofajlar tarafından alınarak köpük hücrelere dönüşmesiyle oluşur. Bu durumda LDL oksidasyonunun engellenmesi ateroskleroz riskinin azalması için önemli bir etken olmaktadır. Konjuge dien takibi LDL oksidasyonunu belirlemek için

kullanılan yaygın yöntemlerden bir tanesidir. Gecikme fazı uzunluğu (t-lag) olarak adlandırılan LDL oksidasyonu başlayana kadar geçen sürenin uzun olması LDL' nin oksidasyona dayanıklı olduğunu gösterir. Yağ asitlerinin yapısındaki çift bağ sayısının azalması ve artan E vitamini miktarı t-lag' ın uzamasına neden olan faktörlerdendir. Sert kabuklu meyvelerin LDL oksidasyonu üzerine etkilerini gösteren çalışmalar yapılmıştır (81, 82). Hargrove ve ark. sağlıklı bireylerde yaptıkları çalışmada yerfıstığı diyetinin LDL oksidasyonu üzerine etkilerini incelemişler ve gecikme fazı uzunluğunun arttığını bulmuşlardır (83, 84). Ceviz ekstraktları kullanılarak yapılan bir çalışmada ise, cevizde yer alan polifenoliklerin in vitro koşullarda LDL oksidasyonunu inhibe ettiğini bulmuşlardır (81). Fındık yağının konjuge dien oluşumuna etkisi hayvanlar üzerinde araştırılmıştır (7,85). İnsanlar üzerinde fındığın konjuge dien oluşumuna etkisini gösteren sadece bir çalışma vardır (80). Anabilim dalımızda yapılan ve doktora tezi olarak sunulan bu çalışmada normolipidemik bireylerde fındığın aterojenik ve antiaterojenik parametreler üzerine etkileri incelenmiş, fındık diyetinin LDL oksidasyonunu azalttığı, gecikme fazı uzunluğunu artırdığı bulunmuştur. Yaptığımız çalışma sonucu elde ettiğimiz bulgular bu çalışma ile benzerlik göstermektedir. Fındık tüketimi ile birlikte LDL oksidasyonunda gecikme fazı uzunluğu anlamlı olarak artmıştır (%18.8). Benzer şekilde maksimum absorbansa ulaşmak için geçen sürede (t-max) de anlamlı bir artış gözlenmiştir. Dien konjugasyon hızı ve maksimum dien konsantrasyonunda ise anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Fındık tüketimi ile beraber t-lag değerinin uzaması bize LDL' nin oksidasyona direnç kazandığını gösterir. Bu sonuç fındık tüketimi ile birlikte LDL' de, önemli bir antioksidan olan E vitamini miktarı artışı ve yağ asidi kompozisyonunun değişmesi ile açıklanabilir. Fındığın yağ içeriğinin büyük bir yüzdesinin tekli doymamış yağ asitlerinden oluşması (MUFA) ve tüketimi ile LDL' nin yağ asidi içeriğini değiştirip MUFA miktarını arttırarak oksidasyona duyarlılığını azaltmaktadır. Çalışmamızda LDL' de vitamin E içeriği ve yağ asidi kompozisyonu teknik aksaklıklar sebebi ile tayin edilememiştir. Devam eden proje kapsamında her iki parametre de ölçülerek değerlendirilecektir. Fakat literatürde yer alan çalışmalar LDL' de meydana gelen bu değişimleri kanıtlamamıza yardımcı olabilir. Anabilim dalımızda fındık ile ilgili daha önce yapılan çalışmada fındık tüketimi ile LDL' de E vitamini miktarının arttığı gösterilmiştir (80). Jenkins ve ark.' nın hiperlipidemik bireyler üzerinde yaptıkları çalışmada LDL oksidasyonunun belirleyicisi olan konjuge dien miktarının badem tüketimi ile azaldığı tespit edilmiştir. Araştırmacılar sert kabuklu meyvelerin protein ve diğer bileşenlerinin kardiyoprotektif etkilerine yardımcı olduğunu, bunun yanında günlük 73 g badem

tüketiminin her gün 18 mg E vitamini almamızı sağladığını ve tüm bunlara ilave olarak MUFA alımının artması ile LDL' nin oksidasyona duyarlılığının azaldığını, sonuçta bademin LDL oksidasyonunu azaltan pek çok etkisinin olduğunu savunmuşlardır (57). Hiperkolesterolemik bireyler üzerinde yapılan başka bir çalışmada, enerjinin %32' sini oluşturan MUFA yerine cevizin yer aldığı "Akdeniz Diyeti" benzeri bir diyet uygulamışlar ve bu diyetin istatistiksel olarak anlamlı bulmasalar da t-lag değerini düşürdüğünü gözlemişlerdir. Temel diyetle t-lag değerini $50,6 \pm 14,1$ dk. olarak bulurken, cevizin yer aldığı diyetle $40,1 \pm 15,1$ dk. olarak bulmuşlardır (75). Ceviz sert kabuklu meyveler içinde PUFA miktarı (39,1 g/100 g) en yüksek meyvedir. Dolayısıyla diyetle alınan PUFA miktarını arttırması ile LDL oksidasyonuna neden olabileceği düşünülebilir. Zambon ve ark. cevizle benzer bir çalışma yapmışlar ve t-lag değerinin değişmediğini gözlemişlerdir (86).

Sert kabuklu meyvelerin HDL-K düzeyi üzerine etkisinin incelendiği çalışmalar (8, 56, 80, 82) olmakla beraber HDL' nin oksidasyonu üzerine olan etkilerini gösteren bir çalışma yoktur. Yaptığımız çalışmada HDL oksidasyon kapasitesi parametreleri olan dien konjugasyon hızı ve maksimum dien konsantrasyonunun fındık tüketimi ile anlamlı olarak azaldığı, gecikme fazı uzunluğunun (t-lag) ve maksimum absorbansa ulaşmak için geçen sürenin (t-max) ise belirgin olarak değişmediği gözlenmiştir. Alfa tokoferolün HDL' deki apolipoproteinleri oksidasyondan koruyup korumadığı bilinmemekle beraber koruyucu etkisini yapısındaki lipidler üzerinde gösterdiği düşünülmektedir (27).

Ateroskleroz gelişiminde LDL oksidasyonunun önemli rol oynadığı bilinmektedir. LDL' nin yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu açığa çıkan malondialdehit ve 4-hidroksinonenal gibi bileşiklerin apo B deki lisin residülerini modifiye edebileceği, bunun sonucunda apo B' nin reseptörleri tarafından tanınmayacağı bildirilmiştir (87). Sonuç olarak ox-LDL makrofajlarla alınarak köpük hücrelerin ve nihayetinde aterosklerozun ilk evresi olan yağlı çizgilenmenin oluşmasına neden olmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar HDL' nin plazma düzeyleri ile kardiyovasküler hastalık riski arasında kuvvetli bir ilişki olduğunu göstermektedir (88). Bu ilişki HDL' nin antiaterojenik (89) ve antioksidan (2) özelliklerinden kaynaklanmaktadır. HDL' nin yapısında bulunan, PON, PAF-AH, ve LCAT gibi enzimler HDL' ye antioksidan özellik kazandırmakta ve LDL oksidasyonunu inhibe etmesini sağlamaktadır (2). Ayrıca HDL' nin ana apoproteini olan apo A-I' in de yapısındaki spesifik metiyonin residüleri ile (met 112, met 148) antioksidan özelliklerine katkıda bulunduğu bildirilmiştir (2, 26). HDL' nin LDL oksidasyonunu engellediği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (69, 90). Brites ve ark. LDL'

yi HDL' li ve HDL' siz ortamda okside etmiş ve HDL' nin LDL oksidasyonunu inhibe ettiğini göstermişlerdir (90). Aynı şekilde Hasselwander ve ark. HDL' nin LDL oksidasyonunu inhibe ettiğini, HDL varlığında ve HDL' siz ortamda okside ettikleri LDL' de MDA düzeylerini ölçerek göstermişlerdir (69). Fakat diyet ile değişime uğramış HDL' nin LDL oksidasyonu üzerine etkisini gösteren bir çalışma yoktur. Yaptığımız çalışma fındığın, HDL' nin LDL oksidasyonu üzerine koruyucu özelliğini nasıl etkilediği ve mekanizmasını gösteren ilk çalışmadır. Beklediğimiz gibi fındık tüketimi HDL' nin LDL üzerindeki koruyucu etkisini artırmıştır. Havuz plazmadan elde edilen LDL, çalışma grubumuzdaki bireylerden her üç dönemde elde edilen HDL varlığında okside edildiğinde gecikme zamanı uzunluğu en yüksek olan dönemin 60. gün olduğu gözlenmiştir. DKH, MDK ve t-max değerlerinde ise anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Fındık diyeti ile HDL' nin LDL' yi oksidasyondan koruma kapasitesinin artmış olması, HDL' nin kimyasal yapısında meydana gelen değişimlerden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Özellikle E vitamini miktarının ve oksidan enzimlerin aktivitesinin artışı HDL' de meydana gelebilecek olan başlıca değişimlerdir. Çalışma sonunda elde edilen bulgulara göre, fındık tüketimi ile serum HDL-K miktarında anlamlı bir değişim gözlenmezken, 60. gün sonunda elde edilen HDL' nin LDL oksidasyonu gecikme fazında önemli bir artışa sebep olması bu düşüncemizi kuvvetlendirmektedir. HDL yapısındaki E vitamini miktarı ve antioksidan enzimlerden biri olan PON aktivitesi ölçümü çalışma kapsamında olmasına karşın, bazı teknik problemlerden dolayı gerçekleştirilememiştir. Fakat bu ölçümler devam eden proje kapsamında yapılacaktır. HDL-K plazma düzeyi ile kardiyovasküler hastalık riski arasında ters bir ilişki olduğu bilinmektedir. Buna ek olarak HDL' nin kalitesinin de anti-aterojenik etkilerine katkıda bulunduğu belirtilmiştir (91). Bu da elde ettiğimiz bulgular doğrultusunda ortaya koyduğumuz fikri destekler niteliktedir. PON, HDL' nin koroner arter hastalıklarına karşı koruyucu rolünde ana rolü oynayan enzimdir. Yaptığımız çalışmada serum PON aktivitesinde 60. gün sonunda bir artış gözlenirse de bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. HDL ile ilişkili olan apo A-I ve PON aktivitesinin 60. gün değerlerinde ise pozitif korelasyon bulunmuştur.

Yapılan bütün bu çalışmalar fındık ve yağ asitleri kompozisyonu bakımından zeytinyağı ve kanola yağına yaklaşık değerlerde olan fındık yağının kardiyovasküler hastalıklardan korunmada önem taşıdığını göstermektedir. Fındık tüketiminin HDL ve LDL yapısında meydana getirdiği değişiklikler ve LDL oksidasyonu üzerine olumlu etkileri, ateroskleroz gelişimde LDL oksidasyonunun önemli rolü olması sebebiyle değerlidir.

5.1. Çalışmanın Dezavantajları

Üniversitemizin BAP destekleme kapsamında olan bu projede yer alan bazı parametreler teknik aksaklıklar nedeniyle mevcut tez süresince yetiştirilemediğinden, örneğin HPLC sistemiyle E vitamini analizleri ve GC-MS sistemiyle yağ asidi analizleri gibi, sonuçların yorumları kısmı eksik kalmıştır. Ayrıca, çalışmaya katılan 21 kişinin bu tez kapsamında ancak 15 kişisi değerlendirme aşamasına getirilebilmiştir. Tüm bireylerin bütün analizleri çalışılıp değerlendirildiğinde sonuçlar tekrar değerlendirilecektir.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

Çalışma grubunu oluşturan 15 kişinin fındık ve kontrol diyeti sonrası elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

Çalışmaya katılan bireylerin vücut kitle indekslerinde fındık diyeti sonrası azalma gözlenmiştir.

Serum toplam kolesterol, TG ve LDL-K düzeylerinde 60. günde anlamlı bir azalış görülmüştür. Apo A-I düzeylerinde 60. ve 90. günlerde, apo B düzeyinde ise 90. günde anlamlı bir artış görülmüştür. Apo B düzeyinde 60. günde bir azalma görülmüş fakat istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. HDL-K ve PON aktivitesinde 60. günde gözlenen artış ve 90. günde gözlenen azalış anlamlı bulunmamıştır.

LDL oksidasyonu t-lag ve t-max değerlerinde 60. gün sonunda anlamlı bir artış, 90. gün sonunda ise anlamlı bir azalış görülmüştür. DKH ve MDK değerlerinde belirgin bir değişim görülmemiştir.

HDL oksidasyonu t-lag ve t-max değerlerinde anlamlı bir değişim görülmezken, DKH ve MDK değerleri 90. günde 30. güne göre anlamlı olarak azalmıştır.

HDL ve havuz LDL' nin birlikte oksidasyonu sonucu elde edilen t-lag değerinin 60. günde anlamlı olarak arttığı bulunmuştur. t-max, DKH ve MDK değerlerinde ise anlamlı bir değişim görülmemiştir.

6.2. Öneriler

Normolipidemik bireylerde olduğu gibi ilaç kullanımı gerektirmeyen hiperkolesterolemik bireylerin de her gün belirli miktar fındık (enerji ihtiyacının % 20' sini geçmeyecek şekilde) tüketmelerinin faydalı olacağı inancındayız.

Bunun yanında devam etmekte olan proje kapsamında bu çalışmada eksik kalan HDL ve LDL' de E vitamini düzeyi yağ asidi kompozisyonu ve HDL' de PON aktivitesinin belirlenmesi ile daha kesin bir değerlendirme yapılabileceği düşünülmektedir.

7. ÖZET

FINDIK TÜKETEN HİPERKOLESTEROLEMİK BİREYLERDEN ELDE EDİLEN HDL' NİN LDL OKSİDASYONU ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

HDL ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıkların gelişimine karşı önemli rol oynar ve yüksek HDL plazma düzeyleri ile kardiyovasküler hastalık insidansı arasında ters bir ilişki vardır. Bu ilişki HDL' nin ters yönde kolesterol taşıma ve LDL oksidasyonunu inhibe etme özelliklerinden kaynaklanmaktadır. HDL ile ilişkili enzimler olan PON, PAF-AH ve LCAT gibi enzimler HDL' ye antioksidan özellik kazandırmaktadır. HDL' nin kalitesi de antiaterojenik özelliklerine katkıda bulunmaktadır. LDL oksidasyonu ateroskleroz gelişiminde önemli rol oynamaktadır. LDL' nin yağ asidi kompozisyonu diyetle alınan yağ asitleri ile değişebilir, PUFA içeriğinin azaltılıp, MUFA içeriğinin artırılması LDL oksidasyonunu azaltabilir. Fındığın hiperkolesterolemik bireylerde plazma lipidleri, lipoproteinleri, serum PON aktivitesi, LDL ve HDL oksidasyonu üzerine etkileri ve bu bireylerden elde edilen HDL' nin LDL oksidasyonu üzerine etkisini göstermeyi amaçladık. Çalışma grubu 13 erkek ve 2 kadından oluşmaktadır. Kan örnekleri başlangıçta, 30. günde, 60. günde ve 90. günde toplanmıştır. Çalışmamızda lipoproteinlerin oksidasyona duyarlılığı konjuge dien takibi ile belirlenmiştir. Serum TK, TG ve LDL-K düzeyleri 60. günde anlamlı olarak azalmıştır. Apo A-I 60. günde anlamlı olarak artarken, HDL-K ve apo B düzeylerinde anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. LDL ve HDL+ LDL oksidasyonlarının t-lag değerlerinde 60. günde anlamlı bir artış bulunmuş, HDL oksidasyonu t-lag değerinde ise belirgin bir değişiklik görülmemiştir.

Sonuç olarak, hiperkolesterolemik bireylerde fındık tüketimeinin yararlı etkilerinin sadece plazma lipid düzeyleri üzerine değil, aynı zamanda lipoproteinler, özellikle de LDL ve oksidasyon basamakları üzerine olduğu söylenebilir. Bu değişimler, aterosklerotik basamakların gelişiminin engellenmesine karşı önemli bir rol oynayabilir.

Anahtar kelimeler: Fındık, hiperkolesterolemi, ateroskleroz, HDL, LDL oksidasyonu,

8. SUMMARY

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF HDL ISOLATED FROM HYPERCHOLESTEROLEMIC SUBJECTS CONSUMED HAZELNUT ON LDL OXIDATION

Human high density lipoproteins (HDLs) play an important role against development of atherosclerosis and cardiovascular diseases and high plasma levels of HDL are inversely correlated with the incidence of these pathologies. This correlation is related to the ability of HDL to promote reverse cholesterol transport and inhibitory against LDL oxidation. HDL-associated enzymes such as PON, PAF-AH and LCAT involved in antioxidant function of HDL, also the quality of HDLs contribute to their antiatherogenic effects. LDL oxidation plays an important role in the development of atherosclerosis. LDL susceptibility to oxidation is affected mainly by its chemical composition including α -tocopherol and double bonds in fatty acids. We aimed to determine the effects of hazelnut consumption by diet on plasma lipids, lipoproteins, serum PON activity and lipoproteins susceptibility to oxidation 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 and 90th of the study. Lipoprotein susceptibility to oxidation was determined by measuring the conjugated diene kinetics. Serum TC, TG and LDL-C levels decreased at the end of 60th day. While apo A-I increased on 60th day, HDL-C and apo B levels did not show significant change. It was found that t-lag both in LDL and in HDL+LDL were increased at 60th day. No change was observed in HDL oxidation period.

It can be concluded that hazelnut consumption in hypercholesterolemic subjects had beneficial effects not only plasma lipid levels, also lipoproteins, especially LDL, oxidation processes. These changes may play important roles to reduce the development of atherosclerotic process.

Keywords: Hazelnut, hypercholesterolemia, atherosclerosis, HDL, LDL oxidation.

9. KAYNAKLAR

1. Pehlivanoglu, S., “Kalp ve Damar Hastalıklarından Korunmada Fındığın Etkisi”, 3. Milli Fındık Şurası Tebliğler Kitabı, Uğur Eğitim Hizmetleri ve Yayıncılık, Ocak., s.584-586, 2006.
2. Salvayre, N., Dousset, N., Ferretti, G., Bacchetti, T., Curatola, G., Salvayre, R., “Antioxidant and cytoprotective properties of high-density lipoproteins in vascular cells”, *Free Radical Biology & Medicine* ., 41: 1031-1040, 2006.
3. Canbek, E., Güncel Hiperlipidemi, Turgut yayıncılık ve tic. A.Ş., s.76-96, 2000.
4. Bayram, F., Şahan, S., Kurtoğlu, S., Karadeniz, T., “Sağlık ve beslenme gözüyle fındık”, 3. Milli Fındık Şurası Tebliğler Kitabı, Uğur Eğitim Hizmetleri ve Yayıncılık, Ocak., s.590-595, 2006.
5. Yağmur, C. ve Özer, A., “Fındığın insan beslenmesi ve sağlığındaki önemi”, 3. Milli Fındık Şurası Tebliğler Kitabı, Uğur Eğitim Hizmetleri ve Yayıncılık, Ocak., s.602-607,2006.
6. Baysal, A., “Fındığın beslenme ve sağlık yönünden önemi”, 3. Milli Fındık Şurası Tebliğler Kitabı, Uğur Eğitim Hizmetleri ve Yayıncılık, Ocak., 587-588, 2006.
7. Balkan, J., Hatipoğlu, A., Aykaç-Toker, G., Uysal, M., “Influence on Hazelnut Oil Administration on Peroxidation Status of Erythrocytes and Apolipoprotein B 100-Containing Lipoproteins in Rabbits Fed on a High Cholesterol Diet”, *J. Agric. Food Chem.*, 51: 3905-3909, 2003.

8. Almario, R., Wong, R., Karakas, K., Vonghavaravat, V., “Effects of walnut consumption on plasma fatty acids and lipoproteins in combined hyperlipidemia” *Am J Clin Nutr.*, 74:72–9, 2001.
9. Nelson, D.L., Cox, M.M., Lehninger Principles of Biochemistry, 4th ed., W.H. Freeman and Company, New York., pp.821-825 , 2005.
10. Yamaguchi, Y., Kunitomo, M., Haginaka, J., “Assay methods of modified lipoproteins in plasma”, *Journal of Chromatography B.*, 781: 313-330, 2002.
11. Hevonoja, T., Pentikainen, M.O., Hyvonen, M.T., Kovanen, P.T., Ala-Korpela, M., “Structure of low density lipoprotein (LDL) particles: Basis for understanding molecular changes in modified LDL”, *Biochimica et Biophysica Acta.*, 1488: 189-210, 2000.
12. Barter, P., Kastelein, J., Nunn, A., Hobbs, R., Forum, F., Board, E., “High density lipoproteins (HDLs) and atherosclerosis; the unanswered questions” *Atherosclerosis.*, 168:195-211,2003.
13. Eckardstein, A., Nofer, J.R., Assmann,G., “High density lipoproteins and atherosclerosis: Role of cholesterol efflux and reverse cholesterol transport” *Journal of The American Heart Association.*, 21:13-27,2001
14. Mahley, W., Huang, Y., Weisgraben, K., “ Putting cholesterol in its place: apoE and reverse cholesterol transport” *Journal of Clinical Investigation .*, 116: 1226-1229,2006.
15. Aviram, M.: Malondialdehit affects the physico-chemical and biological characteristics of oxidized low density lipoprotein. *Atherosclerosis.*, 34:141-143, 1990.
16. Gate, M., Paul, J., Nguye, BG., Tew, K. D., Tagiero, H. : “Oxidative stress induced in pathologies: The role of antioxidants” *Biomed&Pharmacother.*, 53: 169-80, 1999.

17. Lynch, S.M., Frei, B., "Reduction of copper, but not iron by human low density lipoprotein (LDL): Implications for metal ion-dependent oxidative modification of LDL", *J. Biol. Chem.*, 270: 5158-5163, 1995.
18. Mukuddem-petersen, J., Oosthuizen,W., Jerling,J.C., "A systematic Review of the effects of nuts on blood lipid profiles in humans" *J.Nutr.*, 135: 2082-2089, 2005.
19. Sevanian,A., Ursini,F., "Lipid peroxidation in membrane and low density lipoproteins: similarities and difference" *Free Rad.Biol.Med.*, 29:306-311,2000.
20. Esterbauer, H., Wa,G., Puhl, H., " Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis" *Br.Med.Bul.*,49:566-576,1993.
21. Yamaguchi, Y., Kunitomo, M., Haginaka, J., "Assay methods of modified lipoproteins in plasma", *Journal of Chromatography B.*, 781: 313-330, 2002.
22. Havab, M., Aranthamaiah, M., Beddy, S., Lenxon, J., " The oxidation hypothesis of atherosclerosis: the role of oxidized phospholipids and HDL" *Journal of Lipid Research.*, 45:993-1007,2004.
23. Behrendt, D. And Ganz, P., "Endothelial Function: From Vascular Biology to Clinical Applications", *Am. J. Cardiol.*, 90 (suppl.): 40-48, 2002.
24. Matsuoka, H., "Endothelial dysfunction associated with oxidative stres in human" , *Am. J. Cardiol.*, 54 (suppl. 2): 65-72, 2001.
25. Plack, P.H. and Garbutt, L.D., "Stres, inflammation and cardiovascular disease" , *Journal of Psychosomatic Research.*, 52: 1-23, 2002.
26. Ferretti, G., Bacchetti, T., Negre-Salvayre, A., Salvayre, R., Dousset, N., Curatola, G., "Structural modifications of HDL and functional consequences" *Atherosclerosis* .,184: 1-7, 2006.

27. Garner, B., Witting, P.K., Waldeck, R., Christison, J.K., Raftery, M., “ Oxidation of High Density Lipoproteins, ” *The Journal of Biological Chemistry.*, 13: 6080-6087,1998.
28. Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., “The importance of free radicals and catalytic metal ions in human diseases ” *Molec Aspects Med.*, 8: 89-93, 1985.
29. Kohen, R., “Skin antioxidants: Their role in aging and oxidative stress-new approaches for their evaluation” *Biomed&Pharmacother.*, 53 :181-92,1999.
30. Gate, M., Paul, J., Nguye, B. G., Tew, K. D., Tagiero, H. “Oxidative stress induced in pathologies: The role of antioxidants ” *Biomed&Pharmacother.*, 53: 169-180, 1999.
31. Farber, J.L, Kyle, M.E, Coleman, J.B., “ Biology of disease. Mechanism of cell injury by activated oxygen species ” *Lab. Invest.*, 62: 670-679,1990.
32. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., “ The importance of free radicals and catalytic metal ions in human diseases ” *Molec .Aspects Med.*, 8:89-93,1985.
33. Knight, J.A., “ Free radicals, antioxidants aging and disease”, *AACC Press, Washington DC.*, 1-61,1999.
34. Scott, J., “Pathophysiology and biochemistry of cardiovascular disease”, *Current Opinion in Genetics and Development.*, 14: 271-279, 2004.
35. Wu, J.T. and Wu, L.L., “Linking inflammation and atherogenesis: Soluble markers identified for the detection of risk factors and for early risk assessment”, *Clinica Chimica Acta.*, 376: 74-80, 2006.

36. Neuzil, J., Weber, C., Kontush, A., “The role of vitamin E in atherogenesis: linking the chemical, biological and clinical aspects of the disease”, *Atherosclerosis.*, 157: 257-283, 2001.
37. Greaves, D.R. and Channon, K.M., “Inflammation and immune responses in atherosclerosis”, *Trends in Immunology.*, 23: 535-541, 2002.
38. Kaperonis, E.A., Liapis, C.D., Kakisis, J.D., Dimitroulis, D., Papavassiliou, V.G., “Inflammation and Atherosclerosis”, *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, 31: 386-393, 2006.
39. Steinberg, D., Parthasarathy, S., Carew, T.E., Khoo, J.C., Witztum, J.L., “Beyond cholesterol: Modification of of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity”, *New Engl. J. Med.*, 320: 915-922, 1989.
40. Ross, R., “ The pathogenesis of athersclerosis: a perspective for the 1990s”, *Nature*, 362: 801-809, 1993.
41. Miller, M., Seidler, A., Kwiterovich, P.O., “ Long term predictors of subsequent cardiovascular events with coronary artery disease and desirable levels of plasma total cholesterol ” *Circulation.*, 86: 1165-70,1992.
42. Pekkanen , J., Linn, S., Heiss, G., Suchidran, C.M., Leon, A., Rifkind, B.M., “ Ten-year mortality from cardiovascular disease in relation to cholesterol level among men with and without preexisting cardiovascular disease ” *J.Med. New Engl.*, 322: 1700-7, 1990.
43. Pennacchio, L.a., Oliver, M., Hubacck, J.A., Cohen, J.C., Cox,DR., Fruchart, J.C., “ An apolipoprotein influencing triglicerides in humans and mice revealed by comparative sequencing ” *Science .*, 294:169-73,1990.
44. Pattnaik, N.M., Zilversmith, D.B., “Interaction of cholesteryl ester exchange protein with human plasma lipoproteins and phospholipid vesicles” *J.Biol. Chem.*, 254:2782-6,1979.

45. Gordon, D.J., Probstfield J.L., Gaarison, R.J., Neaton, J.D., Castelli, Wp., Knoke, J.D., “ High density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies.” *Circulation.*, 79:8-15 ,1989.
46. Austin, M.A., “ Plasma triglyseride and coronary heart disease.” *Arteioscler Thromb.*, 260: 1917-21,1991.
47. Primo -Parmo SL., Sorenson RC., Teiber J., La Du BN.: “The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family”, *Genomics .*, 33:498-507, 1996.
48. Onat, A., “ Risk factor and cardiovascular disease in Turkey” *Atherosclerosis*, 156: 1-10,2001.
49. Rosenblat, M., Vaya, J., Shih, D., Aviram, M., “ Paraoxonase 1 (PON 1) enhances HDL-mediated macrophage cholesterol efflux via the ABCA1 transporter in association with increased HDL binding to the cells: a possible role for lysophosphosphatidylcholine.” *Atherosclerosis.*, 179:69-77.2005.
50. Mackness, M.I., Walker, C.H.,Carlson, L.A., “ Low a-esterase activity in serum of patients with fish-eye disease.” *Clin.Chem.*, 33:587-588,1987.
51. Tomas, M., Laterre, G., Serti, M., Marrugat, S., “The antioxidant function of high density lipoproteins: A new paradigim atherosclerosis.” *Rev.Esp.Cardio.*, 57-557-69, 2004.
52. Jenkins, D.J.A., Popovich, D.G., Kendall, C.W.C., Vidgen, E., Tariq, N., Ransom, T.P.P., Wolever, T.M.S., Vuksan, V., Mehling, C.C., Boctor, D.L., Bolognesi, C., Huang, J., Patten, R., “Effect of a Diet High in Vegetables, Fruit and Nuts on Serum Lipids”, *Metabolism.*, vol. 46, no. 5, May, 530-537, 1997.
53. Koçyiğit, A., Koylu, A.A., Keleş, H., “Effects of pistachio nuts consumption on plasma lipid profile and oxidative status in healthy volunteers”, *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases.*, 16: 202-209, 2006.

54. 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., 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.
55. Lorigeril, M. and Salen, P., “Alpha-linolenic acid and coronary heart disease”, *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, 14: 162-169, 2004.
56. 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., 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.
57. Hu, F.B., “Plant-based foods and prevention of cardiovascular disease: an overview”, *Am. J. Clin. Nutr.*, 78 (suppl.): 544S-551S, 2003.
58. Fraser, G.E., “Nut Consumption, Lipids and Risk of a Coronary Event”, *Clin. Cardiol.*, 22 (Suppl. III): III-11-III15, 1999.
59. Mukuddem-Petersen, J., Oosthuizen, W., Jerling, J.C., “ A Systematic Review of the Effects of Nuts on Blood Lipid Profiles in Humans ” *J. Nutr.*, 135: 2082–2089, 2005
60. Açkurt, F., “Fındığın beslenme ve sağlık açısından değerlendirilmesi”, 3. Milli Fındık Şurası Tebliğler Kitabı, Uğur Eğitim Hizmetleri ve Yayıncılık, Ocak, 2006, s.596-601.
61. Durak, İ., Köksal, İ., Kaçmaz, M., Büyükköçak, S., Çimen, B.M.Y., Öztürk, H.S., “Hazelnut supplementation enhances plasma antioxidant potential and lowers plasma cholesterol levels”, *Clinica Chimica Acta.*, 284:113-115, 1999.
62. Sclavons, M. M., Cordonnier, C. M., Maillieux, P. M., Heller, F. R., Dessager, J. P., Harvent, C.M., “Fast separation of the tree main plasma lipoprotein classes by

ultracentrifugation using vertical rotor and multiple discontinuous density gradient”, *Clin. Chim. Acta.*, 153:125-135, 1985.

63. Mills, G.L., Lane, P.A., Weech, P. K., A guide to lipoprotein technique. In Burton, R. H. and Knippenberg, P. H.(Eds), *Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology*. Elsevier, Netherlands, p.73,1989.

64. Stoscheck, C. M. Quantitation of protein. In Duetscher, M. P.(Ed.), *Guide to protein purification*. In Alberson, J. N. and Simon, M. I.(Eds.), *Methods in Enzymology*, Vol. 192, Academic Press, California, 1990, pp.72-74.

65. Lowry, O. H., Rosebrough, N. L., Farr, A. L., Randel, R. I., “Protein measurement with folin phenol reagent”, *J. Biol. Chem.*, 193:265-275, 1951.

66. Proudfoot, J. M., Croft, K. D., Puddey, I. A., Beilin, L. J., “The role of copper reduction by α -tocopherol in low density lipoprotein oxidation”, *Free Rad. Biol. Med.*, 23:720-728, 1997.

67. Puhl, H., Waeg, G., Esterbauer, H., “Methods to determine oxidation of low density lipoproteins”, *Methods in Enzymology*, 233:425-440, 1995.

68. Kleinveld, H. A., Naber, A. H. J., Stalenhoef, A. F. H., Democker, P. M., “Oxidation resistance, oxidation rate and extent of oxidation of human low density lipoprotein depend on the ratio of oleic acid content to linoleic acid content: Studies in Vitamin E deficient subjects”, *Free Rad. Biol. Med.*, 15:273-280, 1993.

69. Haselwander, O., McEneny, J., McMaster, D., Fogarty, D.G., Nicholls, D.P., Maxwell, A.P., Young, I.S., “ HDL composition and HDL antioxidant capacity in patients on regular haemodialysis ” *Atherosclerosis.*, 143: 125-133, 1999.

70. Yıldız, A., Gur, M., Yılmaz, R., Demirbağ, R., Polat, M., Selek, S., Çelik, H., Erel, O., “ Association of paraoxanase activity and coronary blood flow” *Atherosclerosis*, 197: 257-263, 2008.

71. Sabate, J., “ Nut consumption and body weight ” *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78 (suppl) ,2003.
72. Jiang, R., Jacobs, D.R., Mayer-Davis, E., Szklo, M., Herrington, D., Jenny, N.S., Kronmal, R., Barr, R.G., “Nut and Seed Consumption and Inflammatory Markers in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis”, *American Journal of Epidemiology*, 163: 222-231, 2006.
73. Mercanligil, SM., Arslan, P., Alasalvar, C., Okut, E., Akgül, E., Pınar, A., Geyik, PÖ., Tokgözoğlu, L., Shahidi, F., “ Effects of Hazelnut-enriched diet on plasma cholesterol and lipoprotein profiles in hypercholesterolemic adults men” *European journal of Clinical Nutrition* , 1-9, 2006.
74. Morgan, W.A. and Clayshulte, B.J., “Pecans Lower Low Density Lipoprotein Cholesterol in People with Normal Lipid Levels”, *J. Am. Diet Assoc.*, 100: 312-318, 2000.
75. Edwards, K., Kwaw, I., Matud, J., Kurtz, I., “Effect of Pistachio Nuts on Serum Lipid Levels in Patients with Moderate Hypercholesterolemia” *Journal of American College of Nutrition*, 18: 229-232, 1999
76. Ros, E., Nunez, I., Perez-Heras, A., Serra, M., Gilabert, R., Casals, E., Deulofeu, R., “A Walnut Diet Improves Endothelial Function in Hypercholesterolemic Subjects”, *Circulation*, 109: 1609-1614, 2004.
77. Alper, C.M. and Mattes, R.D., “Peanut Consumption Improves Indices of Cardiovascular Disease Risk in Healthy Adults”, *Journal of the American College of Nutrition*, vol. 22, no. 2, 133-141, 2003.
78. Spiller, A., Jenkins, A., Bruce , B., Gates, E., Cragen, N., “ Nut and plasma lipids: An almond -based diet lowers LDL-C while preserving HDL-C ” *Journal of American Collage of Nutrition* , 17: 289-290,1998.

79. Crisholm, A., Auley K.Mc., Mann, j., Williams, S., Skeaff, M., “ Cholesterol lowering effects of nuts compared with a Canola oil enriched cereal of simiral fat composition” *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 15:284-292,2005.
80. Balaban, F., “Normolipidemik bireylerde fındık tüketiminin aterojenik ve antiaterojenik parametreler üzerine etkileri ” KTÜ Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tez Çalışması, 2006.
81. Anderson, K.J., Teuber, S.S., Gobeille, A., Cremin, P., waterhouse, A.L., Stinberg, F.M., “Walnut polyphenolics inhibit in vitro human plasma and LDL oxidation” *J.Nutr*, 131:2837-2842,2001.
82. Ros, E., Nunez, I., Perez-Heras, A., Serra, M., Gilabert, R., Casals, M., Deulofeu, R., “A walnut diet improves endothelial function in hypercholesterolemic subjects” *Circulation*, 109: 1609-1619, 2004.
83. Lapointe, a., Couillard, C., Lemieux, S., “ Effects of dietary factors on oxidation of low density lipoprotein particles” *Journal of Nutritional Biochemistry*, 17: 645-658, 2006.
84. Hargrove RL., Etherton TD., Pearson TA., Harrison EH., Kris-Etherton PM.“Low fat and high monounsaturated fat diets decrease human lowdensity lipoprotein oxidative susceptibility in vitro” *Journal of Nutritional Biochemistry* , 131:1758– 1763, 2001
85. Hatipoğlu, A., Kanbağlı, Ö., Balkan, J., Küçük, M., Çevikbaş, U., Aykaç-Toker, G., Berkkan, H., Uysal, M., “Hazelnut Oil Administration Reduces Aortic Cholesterol Accumulation and Lipid Peroxides in the Plasma, Liver, and Aorta of Rabbits Fed a High-cholesterol Diet”, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 68 (10): 2050-2057, 2004.
86. Zambon, D., Sabate, J., Munoz, S., Campero, B., Casals, E., Merios, M., Laguna, J.C., Ros, E., “Substituting Walnuts for Monounsaturated Fat Improves the Serum Lipid Profile of Hypercholesterolemic Men and Women”, *Ann. Intern. Med.*, 132: 538-546, 2000.

87. Steinberg, D., Parthasararathy, S., Carew, T.E., Khoo, J.C., Witztum, J.L., “ Beyond cholesterol: modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity ” *J. Med New Engl.* , 320: 915-24,1989.
88. Miller, N.E., “ Associations of high density lipoprotein subclasses and apolipoproteins with ischemic heart disease and coronary atherosclerosis” *J. Am. Heart* ,113:589-97,1987.
89. Stein , O., Stein, Y., “ Atheroprotective mechanism of HDL” *Atherosclerosis* , 144: 285-301, 1999.
90. Brites, F., Zago, V., Verona, J., Muzzio, M.L., Wikinnski, R., Schreier, L., “HDL capacity to inhibit LDL oxidation in well-trained triathletes” *Life Sciences*, 78:3074-3081,2006.
91. Norata, G.D., Pirillo, A., Catapano, A.L., “Modified HDL: Biological and physiopathological consequences” *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 16:371-386, 2006.

ÖZGEÇMİŞ

Buket Akcan 1982 yılında Manisa' da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini tamamladıktan sonra 2000 yılında Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü' nde öğrenime başladı ve 2004 yılında mezun oldu. 2005 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı' nda yüksek lisans öğrenimine başladı. Halen aynı enstitüde yüksek lisans öğrenimine devam etmekte olup araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır.