

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	iv
KISALTMALAR	vi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Ateroskleroz	3
2.1.1. Aterosklerozun Gelişimi	5
2.1.2. Endotel ve Fonksiyonları	7
2.1.3. Endotel Disfonksiyonu ve Ateroskleroz	7
2.2. Lipoproteinler ve Genel Özellikleri	10
2.2.1. Şilomikronlar	10
2.2.2. Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein	10
2.2.3. Orta Yoğunluklu Lipoprotein	10
2.2.4. Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein	10
2.2.5. Lipoprotein (a)	11
2.2.6. Düşük Yoğunluklu Lipoprotein	11
2.3. LDL Oksidasyonu	12
2.3.1. LDL Oksidasyonunun Mekanizması	13
2.3.2. LDL Oksidasyonunu Etkileyen Faktörler	14
2.3.3. Okside LDL Antikoru	15
2.3.4. Okside LDL ve Ateroskleroz	15
2.4. LDL Alt Grupları	16
2.4.1. Küçük-yoğun LDL'nin Ateroskleroz ile İlişkisi ve Oksidasyona Duyarlılığı	18
2.5. Ateroskleroz Gelişiminin Önlenmesinde ve Tedavisinde Diyet	19

2.5.1. Ateroskleroz ve E vitamini	22
2.5.2. Sert Kabuklu Meyveler	24
2.5.3. Fındık	27
3. MATERYAL ve METOD	29
3.1. Materyal	29
3.1.1. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler	29
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	30
3.2. Metod	31
3.2.1. Deneyin Planlanması ve Numunelerin Toplanması	31
3.2.2. Otoanalizörlerde Tayin Edilen Parametreler	32
3.2.3. Lipoproteinlerin İzolasyonu	32
3.2.4. LDL' nin Diyalizi	34
3.2.5. LDL' de Protein Tayini	35
3.2.6. LDL Oksidasyonu	37
3.2.7. Lipid Elektroforezi	39
3.2.8. LDL Alt Gruplarının Belirlenmesi	39
3.2.9. LDL' de TBARS Tayini	44
3.2.10. LDL' de α - tokoferol Miktar Tayini	45
3.2.11. Okside LDL Antikoru Tayini	47
3.2.12. Plazma Lipid Hidroperoksit Tayini	48
3.2.13. Serumda Nitrit ve Nitrat Tayini	50
3.2.13.1. Nitrit Tayini	51
3.2.13.2. Nitrat Tayini	52
3.2.14. Toplam Antioksidan Kapasite Tayini	53
3.2.15. Serumda sVCAM-1 Tayini	54
3.2.16. Sitratlı Plazmada PAI-1 Tayini	55
3.2.17. Plazmada ET-1 Tayini	56
3.3. İstatistiksel Analizler	57
4. BULGULAR	58
4.1. Çalışma Grubunun Demografik Verileri ve Başlangıç, 15. Gün ve 30. Güne Ait Parametrelerin Ortalama Değerleri	58
4.2. Çalışma Grubuna Ait Parametrelerin Yüzde Değişimleri Arasındaki Korelasyonlar	67

4.2.1. Başlangıç ve 15. Gün Yüzde Değişimleri Arasındaki Korelasyonlar	67
4.2.2. Başlangıç ve 30. Gün Yüzde Değişimleri Arasındaki Korelasyonlar	68
4.2.3. 15. Gün ve 30. Gün Yüzde Değişimleri Arasındaki Korelasyonlar	69
4.3. Çalışma Grubunda Başlangıç, 15. Gün ve 30. Günde Parametreler Arası Korelasyonlar	85
4.3.1. Başlangıç Parametreleri Arasındaki Korelasyonlar	85
4.3.2. 15. Gün Parametreleri Arasındaki Korelasyonlar	86
4.3.3. 30. Gün Parametreleri Arasındaki Korelasyonlar	87
5. TARTIŞMA	89
5.1. Çalışmanın Dezavantajları	101
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	102
6.1. Sonuçlar	102
6.2. Öneriler	103
7. ÖZET	104
8. SUMMARY	106
9. KAYNAKLAR	108
ÖZGEÇMİŞ	

ÖNSÖZ

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmada bilgi ve deneyimlerini aktaran, her konuda bana yardımcı olmaya çalışan 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 Yrd.Doç.Dr. Birgül Vanizor Kural' a ve Sayın Yrd.Doç.Dr. Ahmet Alver' e,

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Sayın Prof.Dr. Murat Ertürk' e, Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyelerinden Sayın Yrd.Doç.Dr. Murat Küçük ve Arş.Gör. Ahmet Yaşar' a, Kardiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Sayın Doç.Dr. Cihan Örem' e, Öğr.Gör. Zafer Yücesan' a,

Çalışma grubunda yer alan gönüllülere,

Projede kullanılan fındıkların temini için Trabzon Ticaret Borsası' na, Murat Taşkın ve Sebahattin Aslantürk' e

Biyokimya Rutin Laboratuvarı personeline ve anabilim dalındaki tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Hayatımın her alanında bana destek olan ve hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan aileme en içten dileklerle teşekkür ederim.

Fulya Balaban

Bu tez K.T.Ü. Araştırma Fonu tarafından 2001.114.001.15 no' lu proje ile desteklenmiştir.

KISALTMALAR

A°	: Sıfırıncı dakikadaki absorbands
α -TOH	: Alfa-tokoferol
DKH	: Dien konjugasyon hızı
ET-1	: Endotelin-1
eNOS	: Endotel nitrik oksit sentaz
ICAM-1	: İntraselüler adezyon molekülü
LHP	: Lipid hidroperoksit
MDA	: Malondialdehit
MDK	: Maksimum dien konsantrasyonu
mmLDL	: Hafif modifiye LDL
MUFA	: Tekli doymamış yağ asidi
NO	: Nitrik oksit
oLAB	: Okside LDL antikoru
ox-LDL	: Okside LDL
PAI-1	: Plazminojen aktivatör inhibitörü-1
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asidi
TBARS	: Tiyobarbitürik asit reaktif ürünler
t-lag	: Gecikme süresi
t-max	: Maksimum absorbansa ulaşma süresi
VCAM-1	: Vasküler hücre adezyon molekülü

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kardiyovasküler hastalıklar ve buna bağılı ölümler günümüzde özellikle gelişmiş ülkelerde en önemli sağık problemidir (52). Kardiyovasküler hastalıkların Avrupa Birliğı ülkelerinde yılda 1,5 milyon insanın ölümüne neden olduğı tespit edilmiştir. Ülkemizde de durum farklı değildir, kardiyovasküler hastalıklar ölüm sebeplerinin başında yer almaktadır. Kardiyovasküler hastalıkların altında yatan başlıca sebep aterosklerozdur.

Ateroskleroz orta ve büyük arterlerin intima tabakasında gelişen, “aterom” denilen fibröz-yağılı plak oluşumu ile karakterize, kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Endotel disfonksiyonu, lipid ve lipoprotein düzeylerindeki değışimler ve LDL yapısında meydana gelen oksidasyon aterosklerozun patogeneğinde oldukça önemlidir. LDL molekülleri farklı büyüklükte ve yoğunlukta, farklı fizikokimyasal kompozisyona, metabolik davranışa ve aterojenik potansiyele sahip heterojen partiküllerdir. Küçük-yoğun LDL partiküllerinin LDL molekülleri arasında baskın olması NCEP ATP III tarafından kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörü olarak kabul edilmiştir. Küçük-yoğun LDL partikülleri kolayca okside olurlar ve makrofajlar tarafından hızlıca alınırlar. Genetik yatkınlık, yaş, hipertansiyon, dislipidemi, diabet, 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.

Diyet hem korunma hem de tedavi stratejilerinin ayrılmaz bir parçasıdır, ilaç tedavisine başlansa bile diyet sürdürülmeli ve yaşam boyu devam eden bir alışkanlık haline getirilmelidir (48). Diyetle aldığımız yağların plazma lipid düzeylerini ve lipoproteinlerin yağ asidi kompozisyonlarını değıştirmesi ateroskleroz ve koroner arter hastalığı gelişiminde oldukça önemlidir. LDL yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) içeriğinin azaltılıp, tekli doymamış yağ asidi (MUFA) içeriğinin artırılması LDL oksidasyonunu azaltır. Diyette doymuş ve *trans*-yağların yerine, hidrojenize edilmemiş,

doymamış yağların tercih edilmesi, balık, balık yağı ve bitkisel kaynaklı omega-3 yağ asitlerinin tüketiminin arttırılması, günlük diyet içerisinde meyve, sebze, sert kabuklu meyvelerin (fındık, fıstık, badem, ceviz gibi) ve tam tahıl oranının arttırılması, rafine edilmiş tahıl tüketiminin (örneğin beyaz ekmek) azaltılması kalp ve damar hastalığı yönünden sağlıklı beslenmenin ana öğeleridir (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 sınıfından olan fındığın doymuş yağ asidi yönünden fakir, MUFA (özellikle oleik asit) yönünden zengin, PUFA miktarı yeterli ve antioksidan (E vitamini) potansiyeli yüksek olması sebebi ile günlük diyetle (yağdan gelen enerjinin %20' sini geçmeyecek şekilde) fındık ve fındık yağına yer verilmesinin, aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklardan korunmada ve tedavisinde yararlı olacağı öne sürülmüştür (71).

Kardiyovasküler hastalık oranının yüksek olduğu ülkemiz dünya fındık üretiminin büyük bir kısmını karşılmasına rağmen tüketimi fazla değildir. Dünya fındık üretiminin %74' ü ve fındık ihracatının %87' si ülkemiz tarafından karşılanmaktayken iç tüketimimiz üretimimizin %8-10' u kadardır (72). 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 (73, 75), fındık yağının hayvanlar üzerine etkisini gösteren çalışmalar da mevcuttur (76, 77). Fakat fındığın insanlarda aterogenezin patogenezinde oldukça önemli olan LDL oksidasyonu, endotel fonksiyonları, LDL alt grupları ve LDL partikül büyüklüğü üzerine etkisini gösteren herhangi bir çalışma mevcut değildir.

Yaptığımız bu çalışma ile her gün düzenli fındık tüketiminin total kolesterol, trigliserid, LDL kolesterol ve HDL kolesterol düzeylerine olan etkisi yanında plazma antioksidan potansiyeli, E vitamini, endotel fonksiyonları, LDL oksidasyonu ve LDL alt gruplarına olan etkilerini araştırarak aterogenezdeki etki mekanizmasını ve ateroskleroz gelişiminin önlenmesinde fındığın önemini göstermeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ateroskleroz

Kalp krizi, aterosklerotik serebral iskemiye bağlı felç ve kalp yetmezliği gibi kardiyovasküler hastalıklar batı toplumlarında başlıca ölüm sebebidir. Kardiyovasküler hastalıklar Avrupa birliği ülkelerinde yılda 1,5 milyon insanın ölümüne neden olmaktadır. 8 erkekten 1' i bu hastalıklar nedeni ile 65 yaşından önce ölmektedir (1). Kardiyovasküler hastalıklar tüm dünyada en önemli sağlık problemi olmaya devam etmektedir (2). Ülkemizde de durum farklı değildir, kardiyovasküler hastalıklar ölüm sebeplerinin başında yer almaktadır. 1990 yılından bu yana yürütölen TEKHARF çalışmasının 14 yıllık izlem verilerine göre Türkiye' de yaklaşık 2,8 milyon kişide koroner kalp hastalığı bulunduğu tahmin edilmektedir. Ayrıca koroner kalp hastalığının ölkemizde yıllık mortalitesi erkeklerde binde 5, kadınlarda binde 3,2 olarak bulunmuştur. Koroner hasta sayısının yılda 140 bin civarında arttığı düşünölmektedir (3).

Kardiyovasküler hastalıkların altında yatan başlıca sebep aterosklerozdur (1, 2). Ateroskleroz Amerika Birleşik Devletlerinde en yaygın ölüm nedenidir. 2003 yılında ateroskleroz olduğu tespit edilen 11 milyon Amerikalının dışında, 1,5 milyon' u kalp krizi ve 750 bin' i felç geçirmiştir. 500 bin' i ise geçirdikleri kalp krizi ve felç sonucunda gelişen komplikasyonlar sebebi ile ölmüştür (4).

Ateroskleroz orta ve büyük arterlerin intima tabakasında gelişen, "aterom" denilen fibröz-yağlı plak oluşumu ile karakterize, kronik inflamatuvar bir hastalıktır (2, 5, 6, 7, 8, 9). Ateroskleroz gelişimi uzun yıllar alan kronik bir süreçtir (2, 5). 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 (5). Genetik yatkınlık, yaş, hipertansiyon (1, 2, 7),

dislipidemi (2, 5, 7), diabet (1, 5, 7), obezite, yaş (2), sigara (1, 2, 7), bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, hiperhomosisteinemi (2, 5, 7), oksidatif stres (5) ve doymuş yağ ve kolesterol oranı yüksek, sebze, meyve ve tahıl oranı düşük diyet (2) ateroskleroza neden olan başlıca risk faktörleridir.

Ateroskleroz gelişiminde yer alan olayları açıklayan iki temel hipotez vardır;

1. Oksidatif modifikasyon hipotezi; İlk kez 1989 yılında Steinberg ve ark. tarafından öne sürülen bu hipotezle LDL' nin oksidatif modifikasyonunun aterosklerozun başlangıç ve ilerleme safhasında anahtar rol oynadığına inanılmaktadır (10).

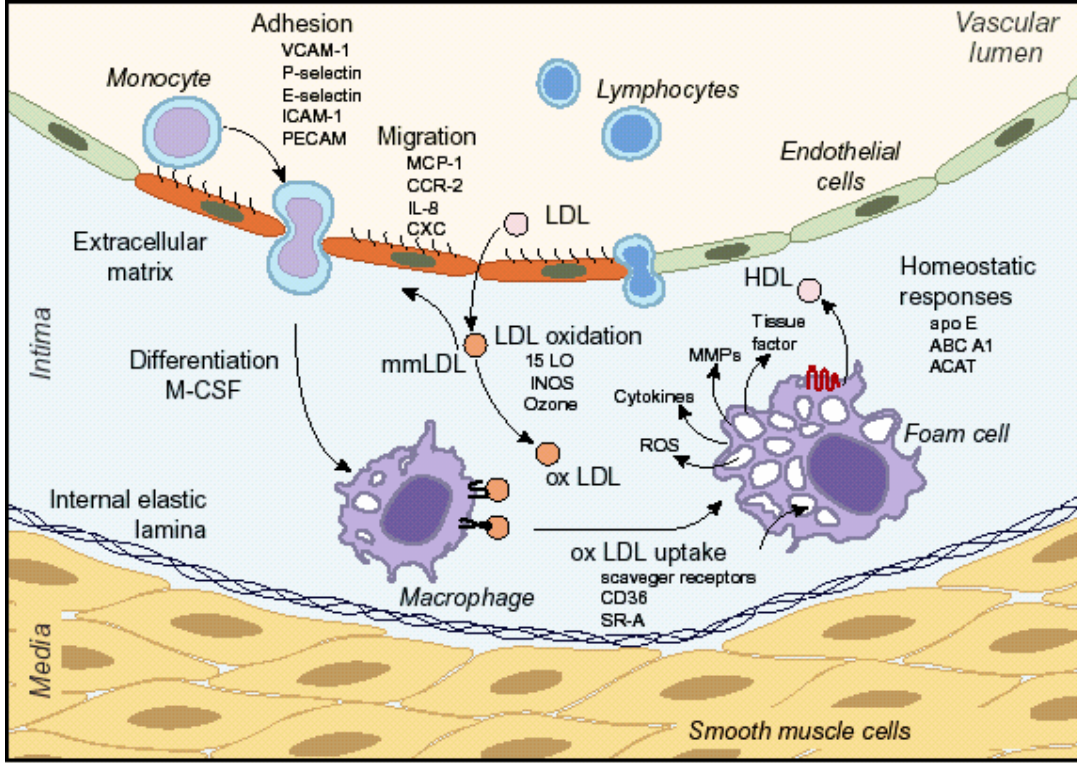
2. Hasara yanıt hipotezi; Bu hipoteze göre endotel disfonksiyonu aterogenezde ilk basamaktır (11). Ateroskleroza neden olan risk faktörlerinin hemen hepsi endotel disfonksiyonuna neden olabilir.

Aterosklerotik lezyon gelişimi oksidatif modifikasyon hipotezi ile açıklanabilir fakat bu hipotez ateroskleroza başlatan en önemli risk faktörünün okside LDL (ox-LDL) olduğunu desteklemez. Ox-LDL' nin aterogenezdeki en önemli rolünün subendotelyal alanda makrofaj ve düz kas hücreleri ile ilişkisi olduğu ileri sürülmüştür (12).

Shin ve ark.' larının karaciğer okside LDL (LOX-1) reseptörünün kalıntı lipoproteinler tarafından aktive olduğunu keşfetmesi ile yeni bir oksidatif modifikasyon hipotezi ortaya atılmıştır; bu hipoteze göre endotel disfonksiyonunun ve aterosklerozun başlama sebebi, endotel hücrelerinde bulunan LOX-1 reseptörü için başlıca ligandın plazmadaki ox-LDL' nin değil, kalıntı lipoproteinlerin olmasıdır (12).

2.1.1. Aterosklerozun Gelişimi

Aterosklerozun başlangıç ve ilerleme safhasında yer alan olaylar ve moleküller şekil 1' de gösterilmiştir. Endotel disfonksiyonu ile indüklenen sitokinler (IL-1, IFN- γ , TNF- β , Anjiotensin II) ve kemokinler (MCP-1, IL-8, IFN- γ) adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırır (2, 5). Adezyon molekülleri (P- ve E-selektinler, VCAM, ICAM) monosit ve T-hücreleri üzerinde bulunan glikokonjugatlar ve integrinler için reseptör görevini üstlenir (7). Lökositlerin adezyon moleküllerine tutunması, lökositlerin kan akımının dışına çıkmasına ve endotel hücre yüzeyi boyunca yuvarlanmasına neden olur (2). Lökositler arter duvarına tutunduktan sonra bazı kemoatraktan moleküllerin yardımı ile intima tabakasına göç etmeye başlar. Monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) monositlerin intima tabakasına göçünden sorumludur. Diğer T-hücre sınıfı kemoatraktan lenfositlerin göçüne yardımcı olur (7). İntimada monositler, makrofaj koloni sitümüle edici faktör (M-CSF) etkisi ile makrofajlara dönüşür ve modifikasyona uğrayan lipoproteinler için çöpçü reseptör ekspresyonunu başlatırlar (7). LDL kaveola içinde endotel hücrelerinden intimaya taşınır ve matriks proteoglikanları ile etkileşimi sonucu subendotelyal alanda kalır. Süperoksit anyon, hidrojen peroksit, lipid peroksit, peroksinitrit ve ozon gibi reaktif oksijen türleri intimada kalan LDL' nin oksidasyonuna neden olur (2). Ox-LDL adezyon moleküllerinin, proinflamatuvar sitokinlerin ve inflamasyonda yer alan diğer araçların makrofaj ve endotel hücrelerinde ekspresyonunu artırır. Ox-LDL makrofajlar tarafından alınarak köpük hücre oluşumuna neden olur (7). Makrofaj köpük hücrelerini ve T-hücrelerini içeren bu lezyon aterosklerozun ilk lezyonudur ve “yağsı-çizgi” adını alır. Oluşan yağsı-çizgilerde doğal damar duvarı hücreleri ve T-hücreleri aktive olarak sitokinlerin, fibrojenik araçların ve büyüme faktörlerinin ekspresyonunu sağlar. Salgılanan bu moleküller düz kas hücrelerinin proliferasyonuna ve göçüne neden olur, etraflarında ekstrasellüler matriksin yapılanması ile “aterom plak” denen aterosklerozun ileri lezyonu oluşur (7). Oluşan aterom plağı köpük hücrelerinin parçalanması sonucu açığa çıkan hidrolitik enzimlerin etkisi ile yırtılır. Yırtılmış aterom plağı üzerinde koagülasyon sisteminin devreye girmesi ile tromboz gelişir ve meydana gelen tromboz damar tıkanıklığına neden olur (2, 7).



Şekil 1: Ateroskleroz gelişiminde yer alan olaylar ve moleküller (ref. 2' den alınmıştır).
 CCR-2: Kemokin (CC motif) reseptörü-2, CXC: Kemokin (CXC motif), PECAM: Platelet endotel hücre adezyon molekülü, M-CSF: Makrofaj koloni stimüle edici faktör, mmLDL: Hafif okside LDL, 15-LO: 15 lipooksijenaz, INOS: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz, ROS: Reaktif oksijen türleri, MMPs: Matriks metalloproteinazlar, ACAT: Kolesterol açıl transferaz.

2.1.2. Endotel ve Fonksiyonları

Endotel, kan ve damar düz kasları arasında yerleşmiş, mezoderm kaynaklı, tek katlı yassı epitel dokudur. Endotel çeşitli fiziksel ve çevresel uyarılara cevap veren, kompleks, dinamik bir organdır (13, 14). Sağlıklı bir endotel pek çok biyolojik fonksiyona sahiptir; damar tonusunu ve yapısını korur, intravasküler hemostazı ve geçirgenliği düzenler, trombogenez ve fibrinolizden sorumludur, trombosit aktivasyonunu ve inhibisyonunu sağlar (15, 16). Ayrıca lökosit adezyonunu ve göçünü, vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu ve göçünü inhibe eder, immün ve inflamatuvar reaksiyonlarda aktif olarak yer alır (16). Endotel bütün bu biyolojik fonksiyonları düzenleyen pek çok vazoaktif molekül salgılar. Endotelden salınan moleküller ve fonksiyonları tablo 1’ de verilmiştir.

2.1.3. Endotel Disfonksiyonu ve Ateroskleroz

Vasküler endotelin fonksiyonel bütünlüğünün bozulması lezyon başlangıcından plak ruptürüne kadar aterosklerozun bütün safhalarında oldukça önemlidir (17). Aterosklerozun anjiyografik bulguları olmasa bile endotel disfonksiyonunun aterosklerozun en erken işareti olduğu gösterilmiştir (7). Normal vasküler yapının ve fonksiyonlarının devamı için endotelden salınan vazoaktif moleküller arasında bir denge olmalıdır. Endotel disfonksiyonu vazoaktif moleküller arasındaki dengenin bozulması sonucunda meydana gelir (16).

Endotel disfonksiyonu ile hemodinamik strese cevap olarak vazodilatasyonu sağlayan nitrik oksit (NO) salınımı azalırken, anjiyotensini dönüştüren enzim (ACE) ve endotelin-1 (ET-1) seviyeleri artar (14). Endotel disfonksiyonu belirteçleri arasında NO seviyesi en sık gözlenen parametredir, azalan NO seviyesi kan damarlarının dilatasyonunda bir bozukluk olduğunu gösterir (5). NO’ in meydana gelmesini sağlayan fizyolojik uyarılarla etkileşen veya agonistlerin bağlandığı, arter duvarında yer alan membran reseptörlerinin bozulması, L-arginin konsantrasyonunun azalması veya L-arginin kullanımının bozulması, eNOS enziminin konsantrasyonunun veya aktivitesinin azalması, serbest radikal miktarının artması, NO üretiminin azalmasına ve yıkımının artmasına sebep olabilir (13, 17).

Plazma ET-1 seviyesi koroner endotel disfonksiyonu olan ve aterosklerozun erken safhasında olan hastalarda, hiperlipidemi ve sigara içimi gibi ateroskleroza neden olan risk faktörlerine sahip şahıslarda yüksektir (18). Vasküler düz kas hücrelerinin özellikle

aterogenezde intimaya göç edenlerin ET-1 ürettiği tespit edilmiştir. Vasküler düz kas hücre kültürlerinde, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve TGF- β_1 gibi bazı büyüme faktörlerinin ve arginin vazopressin gibi bazı damar daraltıcıların hücrelerden ET-1 salgılanmasına neden olduğu bulunmuştur. Plazma ET-1 seviyesinin artması ve plazma ET-1 seviyesinin oluşan aterosklerotik lezyonun derecesi ile pozitif ilişki göstermesi, aterosklerozda yer alan bazı moleküllerin damar ET-1 üretimini uyarması ile açıklanabilir (15). Buna ilaveten ET-1 oluşumunun artması diğer damar daraltıcı hormonların aktivitesini artırır. Bu hormonlarla bağlantılı büyüme faktörleri matriks modifikasyonuna ve damarın patolojik olarak yeniden yapılanmasına neden olur. Matriks metalloproteinazlar (MMP) damarın yeniden yapılanması sırasında meydana gelen doku yıkımı ile aktive olurlar. Aterosklerotik plak ruptürünün ve plağın stabil olmamasının MMP' larla ilgili olduğu gösterilmiştir (14).

Miyokard infarktüs (MI) geçirmiş ve koroner aterosklerozu olan hastalarda plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1) seviyelerinin arttığı bulunmuştur (19). PAI-1 sentezinin artması fibrinolizi azaltır ve tromboz riskini artırır. Normalde PAI-1, inaktif t-PA-PAI-1 kompleksi oluşturarak doku plazminojen aktivatörü (t-PA) konsantrasyonunu düzenler (19).

Adezyon moleküllerinin gereğinden fazla veya ara sıra kronik ekspresyonu zamanla damar duvarının hücreleri tutma kapasitesini artırır ve patolojik sayıda makrofaj ve lenfosit birikimine neden olur. Adezyon moleküllerinin, özellikle ICAM-1 ve VCAM-1, kanda çözünebilir formda dolaştığı bulunmuştur (19). Kan dolaşımında adezyon moleküllerinin bulunması sadece endotel disfonksiyonunu göstermez aynı zamanda ateroskleroz oluşumunu gösteren erken işarettir (5). Adezyon moleküllerinin özellikle VCAM-1' in ateroskleroz gelişiminde önemli olduğunun kanıtı ateroskleroz plağında bulunan lezyonel düz kas hücrelerinin fazla miktarda VCAM-1 salgıladığı bulgusudur (19).

Aterosklerozu neden olan bütün risk faktörleri endotel disfonksiyonuna neden olabilir. Dislipidemi bu risk faktörlerinden bir tanesidir. Dislipidemi hiperkolesterolemi, hipertrigliseridemi ve hiperlipoproteinemi gibi anormal lipid profili ile karakterizedir.

Tablo 1: Endotelden salınan bazı vazoaaktif moleküller ve fonksiyonları.

Molekül	Fonksiyonu	İlgili Referans
Nitrik Oksit (NO)	Vazodilatasyonu sağlar Vasküler düz kas hücre proliferasyonunu inhibe eder Trombosit agregasyonunu inhibe eder Endotele lökosit adezyonunu önler	13, 15, 16,17
Prostasiklin (PGI ₂)	Vazodilatasyonu sağlar Trombosit agregasyonunu inhibe eder	13, 15, 16
Endotel kökenli hiperpolarize edici faktörler	Vazodilatasyonu sağlar	13, 15, 16
Endotelin-1 (ET-1)	Vazokontraksiyonu sağlar Vasküler düz kas hücre proliferasyonunu indükler Trombosit agregasyonunu artırır	13, 15, 16, 18
Anjiotensin-II (Ang-II)	Vazokontraksiyonu sağlar Vasküler düz kas hücre hipertrofisini artırır Vasküler düz kas lipooksijenaz aktivitesini artırır	7, 14, 15, 16,
Anjiotensini Dönüştüren Enzim (ACE)	Vazokontraksiyonu sağlar Vasküler düz kas hücre proliferasyonunu indükler	13, 15
Tromboksan A ₂	Vazokontraksiyonu sağlar Vasküler düz kas hücre proliferasyonunu indükler Trombosit agregasyonunu artırır	13, 15, 16
Doku Plazminojen Aktivatörü (t-PA)	Fibrinolizde görevlidir	13
Trombomodülin	Koagülasyonu inhibe eder	20
Plazminojen Aktivatör İnhibitörü-1 (PAI-1)	Fibrinolizi inhibe eder	20
Von Willebrand Faktörü (vWF)	Koagülasyonda görev alır	20
Adezyon Molekülleri (İntegrinler, Selektinler, ICAM-1, VCAM-1)	İmmün cevap Lökosit göçünün düzenlenmesi Dolaşımdaki lökositlerin hasarlı endotele tutunması	5
Büyüme Faktörleri (PDGF, VEGF, bFGF gibi)		20

2.2. Lipoproteinler ve Genel Özellikleri

Lipoproteinler plazmadaki kolesterol, trigliserid, ester kolesterol ve fosfolipidleri taşırlar. Elektroforetik hareketliliklerine, yoğunluklarına, lipid ve apolipoprotein içeriklerine göre lipoproteinler 6 sınıfa ayrılmıştır; şilomikron (ŞM), çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL), düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), orta yoğunluklu lipoprotein (IDL), yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ve lipoprotein (a) [Lp (a)]. Genel bir lipoprotein molekülünün yapısı, dışta bulunan fosfolipid tabakası arasına yerleşmiş serbest kolesterol ve bu tabakayı çevreleyen apolipoproteinlerden ibarettir. Küresel yapının çekirdeğinde ise apolar lipidler yani trigliserid ve ester kolesterol bulunur.

2.2.1. Şilomikron

Çapı en büyük, yoğunluğu en az ve trigliserid içeriği en fazla lipoproteindir. Şilomikronlar diyet ile alınan trigliseridleri barsaklardan dokulara taşırlar. Trigliseridlerin lipoprotein lipaz ile hidrolizi sonucu oluşan şilomikron kalıntıları ester kolesterol yönünden zengindir, trigliserid içeriği azalmıştır. Şilomikron kalıntıları lenfatik sistem ile kana verilir ve ardından karaciğere gelerek katabolize edilir. Barsaklarda sentezlenen şilomikronlar 12 saatlik açlıktan sonra dolaşımda bulunmazlar.

2.2.2. Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (VLDL)

Diyetle alınan fazla miktardaki karbohidrat ve yağ asitleri karaciğerde trigliseridlere dönüşür ve VLDL şeklinde dolaşıma verilir. Karaciğerden sistemik dolaşıma verilen VLDL kas ve adipoz dokuya taşınır. Lipoprotein lipazın apoC-II ile aktivasyonu sonucu VLDL trigliseridleri serbest yağ asitlerine parçalanır. Serbest yağ asitleri adipositlerde trigliseridlere dönüşürken, miyositlerde okside olurlar.

2.2.3. Orta Yoğunluklu Lipoprotein (IDL)

Karaciğerden dolaşıma verilen VLDL' de bulunan trigliseridlerin hidrolizi ile IDL (VLDL kalıntıları) oluşur. Pek çok VLDL kalıntısı dolaşımdan hepatositlerle uzaklaştırılır.

2.2.4. Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (HDL)

Yapısında az miktarda kolesterol bulunan, proteince zengin lipoproteinlerdir. Protein içeriğinin yaklaşık %70' ini apo AI, %20' sini apo AII oluşturur. Ters yönde

kolesterol taşınımından sorumludur. Ekstrahepatik dokulardan aldığı kolesterol yapısında bulunan lesitin kolesterol açıl transferaz (LCAT) enzimi ile esterleştirilir. Ateroskleroza karşı koruyucu role sahiptir.

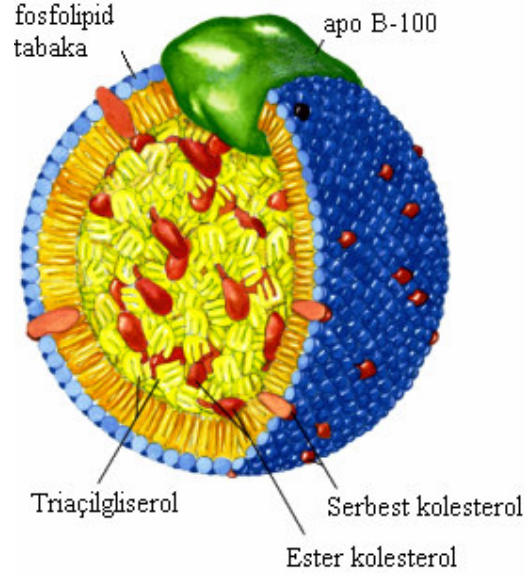
2.2.5. Lipoprotein (a)

Yapısında 514 kD ağırlığında yüksek glikolize bir protein olan apo (a) ve apo B-100 bulunur. Lipid bileşimi bakımından LDL' ye benzer. Aterojenik bir protein olup intimada aterosklerotik plak oluşumunda rolü olduğu bilinmektedir. Tekrarlayan ve plazminojen ile homoloji gösteren kringle benzeri yan zincire sahiptir. Bu yan zincir endotelial plazminojen reseptörüne bağlanmak için yarışır ve tromboz oluşumuna neden olabilir (13, 21).

2.2.6. Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (LDL)

Dolaşımdaki başlıca kolesterol taşıyıcı moleküldür. Plazmadaki kolesterolün yaklaşık %70' i LDL tarafından taşınır. Eser miktarda apo E dışında protein içeriğinin %95' ini apo B-100 oluşturur. LDL' nin hemen hemen tümü VLDL' nin lipolizi sonucunda oluşur. LDL partiküllerinin yoğunluğu 1,019g/mL ile 1,063 g/mL arasında değişmektedir. Düşük yoğunluklu lipoproteinler farklı büyüklükte ve yoğunlukta, farklı yapı ve fizikokimyasal kompozisyona sahip heterojen partiküllerdir (22). LDL partiküllerinin çapı ortalama 22 nm' dir. Molekülün çekirdek kısmı yaklaşık 170 trigliserid ve 1600 ester kolesterol molekülü içerirken, çekirdek etrafındaki tabaka ise yaklaşık 700 fosfolipid molekülü ve bir tek apo B-100 molekülü içerir. Bunlara ilaveten 3' te 1' i çekirdekte, 3' te 2' si yüzeyde olmak üzere yaklaşık 600 serbest kolesterol molekülü yer alır. Molekülün başlıca fosfolipid bileşenleri fosfotidil kolin (\cong 450 molekül/LDL) ve sfingomyelindir (\cong 185 molekül/LDL). Ayrıca LDL partikülleri lizo-fosfotidil kolin (\cong 80 molekül/LDL), fosfotidil etanolamin (\cong 10 molekül/LDL), diaçilgliserol (\cong 7 molekül/LDL), seramid (\cong 2 molekül/LDL) ve fosfoinozitol moleküllerini de içerir (22).

Lipidlerin yanında LDL α -tokoferol (\cong 6-7 molekül/LDL) gibi lipofilik antioksidanları da yapısında bulundurur. α -tokoferol yanında eser miktarda γ -tokoferol, karotenoid, oksikarotenoid ve ubikinol-10 içerir. LDL partikülleri dinamiktir, yapıları ve fiziksel özellikleri sahip oldukları lipidlerin ve apo B-100' ün konformasyonuna bağlıdır (22). LDL molekülünün yapısı şekil 2' de gösterilmiştir.



Şekil 2: Düşük yoğunluklu lipoprotein' in yapısı (ref. 21' den alınmıştır).

Apo B-100, 4536 amino asit içeren, büyük, monomerik bir proteindir. LDL' nin yapısal bütünlüğünün korunmasında ve diğer moleküllerle etkileşimlerinin kontrolünde görev alır. Apo B-100' de birkaç fonksiyonel domain belirlenmiştir. LDL reseptörüne 3359. ve 3369. amino asitler arasında yer alan bölge üzerinden bağlanır. Molekülün N-terminaline lipoprotein lipazın bağlandığı düşünülmektedir. Pozitif yüklü lizin ve arginin amino asitlerinin glikozaminoglikanlarla etkileştiği bilinmektedir, dolayısıyla lizin ve arginin matriks-LDL etkileşimlerini kontrol eder (22).

Yapısında farklı lipid sınıfından 1300 çeşit PUFA bulundurması ve antioksidanları ile oranının 1/165 olması LDL' yi oksidasyona duyarlı yapmaktadır (23).

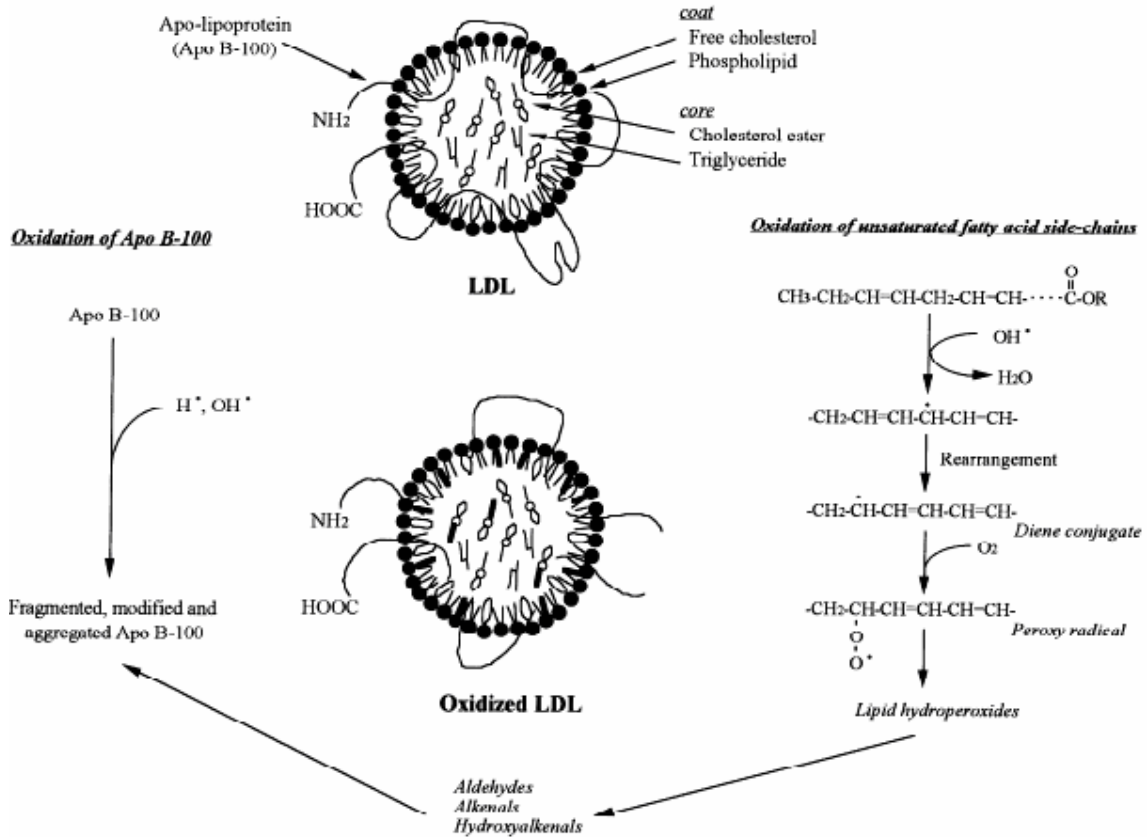
2.3. LDL Oksidasyonu

LDL' nin subendotelyal alanda serbest radikallerin, süperoksit anyon, peroksinitrit, tiyol gibi reaktif oksijen türlerinin ve lipooksijenaz enzimlerinin etkisi ile oksitlenmesi sonucu okside LDL (ox-LDL) oluşur. Plazmanın yüksek antioksidan kapasitesi nedeni ile LDL' nin oksidasyonu genelde subendotelyal alanda olur. Dolaşımdaki ox-LDL seviyesi çok düşüktür, retikuloendotelyal sistem hücrelerince hızlı bir şekilde ortamdaki uzaklaştırılır (24, 25). LDL oksidasyona uğradığında antioksidanları kaybolur, fosfatidil kolin ve ester kolesterol içeriği azalır, lizofosfatidil kolin ve oksisterol içeriği ise artar.

PUFA' ların bir kısmı veya çoğu kaybolur, hidroksi ve hidroperoksi-PUFA içeriği artar. Konjuge dien miktarı yüksektir. Malondialdehit, hekzanal, 4-hidroksinonenal ve diğer aldehitleri artar. Apo B yapısı ve fosfolipid tekli tabakası konformasyonel değişime uğrar. Apo B'deki serbest amino grupları kısmen kaybolur ve apo B daha küçük peptidlere parçalanır. Elektroforetik mobilitesi, dansitesi ve heterojenitesi artar.

2.3.1. LDL Oksidasyonunun Mekanizması

Fosfolipid ve ester kolesterol gibi fazla sayıda PUFA içeren lipidlerin peroksidasyonu LDL oksidasyonunun başlangıcında yer alır. PUFA' ların peroksidasyonu sonucu sırası ile konjuge dienler, peroksi radikalleri ve ardından hidroperoksitler oluşur. LDL yapısında bulunan apo B-100' de oksidasyona uğrayarak küçük peptidlere parçalanır. Daha sonra hidroperoksitler malondialdehit, 4-hidroksinonenal ve hekzanal gibi aldehit bileşikleri oluşturur. Bu aldehit bileşikleri apo B-100' deki lizin amino asitinin ε-amino grubu ile etkileşerek Schiff bazı oluşturur ve LDL' nin negatif yükünü artırır (Şekil 3, 26).



Şekil 3: LDL' nin oksidasyon mekanizması (ref. 26' dan alınmıştır).

2.3.2. LDL Oksidasyonunu Etkileyen Faktörler

Lipidlerin ve lipoproteinlerin oksidasyonları sahip oldukları çift bağlar üzerinden gerçekleşir. Molekülün yapısında yer alan çift bağ sayısı ne kadar fazla ise oksitlenme miktarı ve olasılığı o kadar yüksek olur. Bu nedenle çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA), tekli doymamış yağ asitlerine (MUFA) oranı LDL' nin oksidasyonunda etkilidir. Tekli doymamış yağ asitlerince zengin LDL oksidasyona daha az eğilimlidir. Deneysel çalışmalarla LDL'nin oleik asit içeriğinin artırılması ile oksidasyona duyarlılığının azaldığı belirlenmiştir (27). LDL' de bulunan çoklu doymamış yağ asitleri, oksidasyona karşı çok duyarlıdır. Bu şekilde ketonlar, aldehitler ve alkollerin de dahil olduğu yağ asidi türevleri oluşur. Son derece reaktif olan bu türevlerin lizin amino asitleri ile kovalent modifikasyonları sonucu apo B-100 asetil LDL reseptörlerince tanınan bir modifiye protein haline dönüşür. Lesitinin 2 nolu karbona bağlı yağ asidi çıkarıldığı zaman son derece reaktif bir lipid olan lizolesitin meydana gelir. Lizolesitin dolaşımdaki monositler için güçlü kemoatraktandır ve bu işlevi arter duvarında da sürdürebilir. Ayrıca göç etmelerini engelleyip lezyon içerisinde tutarak makrofajların mobilitesini inhibe edebilir (28, 29).

LDL' nin antioksidan miktarının fazla olması oksidasyona direncini artırır. Düşük konsantrasyonda vitamin E düz kas ve endotel hücrelerinde LDL oksidasyonunu önleyebilmektedir. Vitamin E'nin koruyucu etkisi, sadece endotel ve düz kas hücrelerinde değil, monosit-makrofaj hücrelerinde de tespit edilmiştir (30). Cu^{+2} nin indirgenmesi sırasında meydana gelen $\alpha\text{-TO}^{\bullet}$ (tokoferol radikali) hidrofobik olduğundan LDL' den uzaklaşamaz. Diğer antioksidanların bulunmadığı durumlarda LDL oksidasyonu etkinleşir. Güçlü bir radikal toplayıcı olan koenzim Q (CoQ₁₀H₂), $\alpha\text{-TO}^{\bullet}$ ne etki ederek onu uzaklaştırmaktadır. Koenzim Q' nun sadece vitamin E' nin prooksidan aktivitesini önlemekle kalmadığı, aynı zamanda lipoprotein oksidasyona direncini de arttırdığı bildirilmiştir (31, 32).

Glikozaminoglikanlar da LDL oksidasyonunda etkili olmaktadır. LDL glikasyonu oksidasyonu artırır (33).

Bazı LDL tipleri oksidasyona daha yatkındır. Küçük-yoğun LDL partükülleri kolayca okside olurlar ve makrofajlar tarafından hızlıca alınır (13).

2.3.3. Okside LDL Antikoru (oLAB)

Okside LDL seviyesini *in vivo* şartlarda belirlemek çok zordur. Çünkü LDL oksidasyonu genellikle subendotelyal alanda gelişir ve meydana gelen ox-LDL makrofajlarca hızlı bir şekilde toplanarak köpük hücre oluşumuna katılır. Ox-LDL' ye karşı oluşan otoantikolar, direkt oksidasyonu gösteren parametrelerden biri olarak kullanılmaktadır (34, 35). Lipoproteinlerde meydana gelen değişiklikler, özellikle LDL oksidasyonu humoral immün cevaba ve otoantikor üretimine neden olur. Otoantikolar aterosklerotik lezyondaki ox-LDL'yi tanıyabilmektedir. Arter duvarından geçip lezyondaki ox-LDL' ye bağlanıp bağlanmadıkları ve bu otoantikoların oluşmasına yol açan antijenler tam olarak bilinmemektedir (36). Aterosklerotik lezyonda ox-LDL birikimi, otoantikor oluşumunu teşvik etmektedir. Otoantikoların fazla olması da lipid peroksidasyonunun yüksekliği ile yakından ilişkilidir (37).

2.3.4. Okside LDL ve Ateroskleroz

Hafif okside LDL (mm-LDL) tarafından endotelin fonksiyonel bütünlüğünün bozulması aterogenezi başlatan faktörlerden biri olarak düşünülmektedir (13). Endotel hücre kültürü ile yapılan çalışmalarda kültür ortamına hafif okside LDL ilave edildiğinde MCP-1, ELAM, M-CSF ve G-CSF gibi moleküllerin üretiminin uyarıldığı görülmüştür. Carpenter ve ark. hafif okside LDL' nin makrofaj ve düz kas hücre ölümünü indüklediğini bulmuşlardır (38).

Okside LDL' nin endotel tarafından salgılanan ve aterogenezde rolü olduğu tespit edilen pek çok vazoaktif molekül üzerinde de etkili olduğu bulunmuştur. Okside LDL endotel hücreleri tarafından NO üretimini azaltırken, NO yıkımını da arttırabilir (17). Ayrıca nitrik oksit sentaz, guanilat siklaz ve siklooksijenaz gibi enzimlerin aktivitesini inhibe eder (16). Bunun yanında ET-1 gen ekspresyonunu ve üretimini arttırır (13, 18).

Okside LDL' nin sitokinlerin ve adezyon moleküllerinin özellikle VCAM-1' in ekspresyonunu arttırdığı gözlenmiştir (16, 19). Hidroksil radikalleri gibi ox-LDL de vasküler hücreler için sitotoksik etki göstererek doku hasarını tetikleyen lizozomal enzimlerin ve lipidlerin salınımında etkili olabilir (16). Ayrıca endotel hücrelerde PAI-1 seviyesini, hem endotel hücrelerde hem de makrofajlarda doku faktörü seviyesini yükselterek koagülasyona eğilimi arttırır (19).

2.4. LDL Alt Grupları

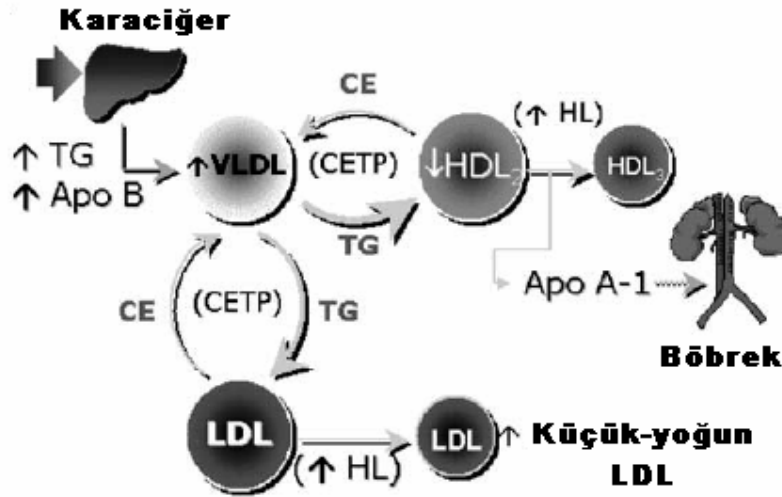
LDL molekülleri farklı büyüklükte ve yoğunlukta, farklı fizikokimyasal kompozisyona, metabolik davranışa ve aterojenik potansiyele sahip heterojen partiküllerdir (26, 39, 40). Ultrasantrifügasyon ve gradient jel elektroforezi ile farklı VLDL, IDL ve LDL alt grupları tespit edilmiştir (41). LDL, gradient jel elektroforezi ile partikül çapına göre, ultrasantrifüj ile yoğunluğuna göre gruplandırılır. Stalenhoef ve ark. dansite gradient ultrasantrifüj yöntemi ile LDL' yi 5 alt gruba ayırmışlardır; LDL-1 (d= 1,030-1,033 g/mL), LDL-2 (d= 1,033-1,040 g/mL), LDL-3 (d= 1,040-1,045 g/mL), LDL-4 (d= 1,045-1,049 g/mL) ve LDL-5 (d= 1,049-1,054 g/mL) (42). Halle ve ark. ise yine aynı yöntemle LDL' yi 6 alt gruba ayırmışlardır; LDL-1 (d= 1,019-1,031 g/mL), LDL-2 (d= 1,031-1,034 g/mL), LDL-3 (d= 1,034-1,037 g/mL), LDL-4 (d= 1,037-1,040 g/mL), LDL-5 (d= 1,040-1,044 g/mL), LDL-6 (d= 1,044-1,063 g/mL) (43). Bazı araştırmacılar ise normal ve orta derecede hiperlipidemik şahıslarda LDL-1 (d= 1,025-1,034 g/mL), LDL-2 (d= 1,034-1,044 g/mL) ve LDL-3 (d= 1,044-1,060 g/mL) olmak üzere 3 farklı LDL alt grubu tespit etmişler ve ciddi hipertrigliseridemik şahıslarda çok küçük ve yoğun olan (LDL-4) dördüncü bir alt grup daha bulmuşlardır (41).

Austin ve Krauss “küçük-yoğun LDL” ve “büyük-hafif LDL” olmak üzere iki farklı LDL fenotipi tanımlamıştır (26). Bu fenotipler “büyük-hafif LDL” baskın olduğunda “Tip A”, “küçük-yoğun LDL” baskın olduğunda ise “Tip B” olarak isimlendirilir (40). LDL alt grup fenotipleri gradient jel elektroforezi sonucu elde edilen partikül çapı esas alınarak tespit edilmiştir; LDL partikül çapı $258,4 \text{ \AA}$ ya da daha fazla ise “Tip A”, partikül çapı $258,4 \text{ \AA}$ dan az ise “Tip B” olarak değerlendirilir (40). LDL' nin yoğunluğu arttıkça çekirdek trigliseridce zenginleşir. McNamara ve ark. LDL büyüklüğü azaldıkça apo B' nin büyüklüğünün de azaldığını, 24 \AA dan 16 \AA a düştüğünü bulmuşlardır. Sialik asit ve nötral karbohidrat miktarının da değiştiği saptanmıştır (41). Küçük-yoğun LDL' nin prevalansı yetişkin erkeklerde %30-35, 20 yaşından küçük erkeklerde ve menopoz öncesi kadınlarda %5-10 ve menopoz sonrası kadınlarda %15-25 olarak bulunmuştur. Ayrıca genetik ve çevresel faktörlerin küçük-yoğun LDL ekspresyonunu etkilediği tespit edilmiştir (39, 40).

LDL' nin heterojenliği ile ilgili yapılan en erken çalışmalar küçük-yoğun LDL' nin baskın olduğu şahıslarda, büyük-hafif LDL' nin baskın olduğu şahıslara göre plazma trigliserid seviyesinin daha yüksek olduğu bulunmuştur (41). Plazma trigliserid düzeyi ile LDL büyüklüğü arasındaki ilişki ilk kez Austin ve ark. tarafından keşfedilmiştir. “Tip A”

fenotipi düşük plazma trigliserid düzeylerinde ($<0,5$ mmol/L \cong 44 mg/dL) görülürken, “Tip B” fenotipi trigliserid düzeyi 2 mmol/L’ yi (\cong 200 mg/dL) aşan şahıslarda görülmüştür (41). LDL büyüklüğü ile plazma HDL kolesterol seviyesi arasında pozitif korelasyon, plazma trigliserid seviyesi arasında negatif korelasyon bulunmuştur (39, 40). Austin ve ark. “Tip B” fenotipinin trigliserid seviyesi yüksekliğinin yanında yüksek apo B ve IDL kolesterol seviyesi ve düşük apo AI ve HDL kolesterol seviyesi ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır (41).

Küçük-yoğun LDL’ nin çoğunlukla hipertrigliseridemi durumunda olduğu gözlenmiştir. Küçük-yoğun LDL oluşumu şekil 4’ te özetlenmiştir. Kolesterol ester transfer proteini (CETP) HDL ve LDL’ den ester kolesterolü alıp VLDL’ ye verirken karşılığında HDL ve LDL’ ye trigliserid verir. Sonuçta ester kolesterol bakımından zengin VLDL ve küçük ve trigliserid yönünden zengin HDL ve LDL oluşur. Oluşan bu küçük lipoproteinler hepatik lipaz enzimi için oldukça iyi substrattırlar. Artan hepatik lipaz aktivitesinin küçük-yoğun LDL oluşumu ile ilişkili olduğu ve dolayısıyla aterojeniteyi arttırdığı saptanmıştır (40, 44).



Şekil 4: Küçük-yoğun LDL oluşumu (ref. 44’ ten değiştirilerek alınmıştır).

2.4.1. Küçük-yoğun LDL'nin Ateroskleroz ile İlişkisi ve Oksidasyona Duyarlılığı

Küçük-yoğun LDL partiküllerinin LDL molekülleri arasında baskın olması NCEP ATP III tarafından kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörü olarak kabul edilmiştir (39). Küçük-yoğun LDL' nin koroner arter hastalığı riskini yaklaşık 3 kat arttırdığı ileri sürülmüştür (39, 40, 43). Québec kardiyovasküler çalışması tarafından yayınlanan son rapor küçük-yoğun LDL' nin koroner kalp hastalığının güçlü ve bağımsız bir göstergesi olduğunu desteklemektedir (45). Koba ve ark. ise sadece LDL partikül büyüklüğünün değil küçük-yoğun LDL miktarının da koroner kalp hastalığı gelişiminde önemli rol oynadığını öne sürmüşlerdir (45).

Küçük-yoğun LDL' nin aterojenik özellik göstermesi birkaç sebebe bağlanmıştır. Küçük-yoğun LDL, büyük-hafif LDL' ye göre arteriyal dokular tarafından daha kolay alınır ve dolayısıyla subendotelyal alana daha fazla geçer. Bunun yanında proteoglikanlar ile etkileşiminin arttığı ve reseptör aracılı alınımının azaldığı görülmüştür. Ayrıca plazma yarılanma ömrünün uzun olması, antioksidan miktarının azalması ve oksidasyona duyarlılığının artması bu sebepler arasında sayılabilir (39, 40, 44, 45).

Azalan serbest kolesterol ve artan PUFA içeriği ile ilişkili olarak yüzey fosfolipid tabakasının özelliklerinin değişmesi, antioksidan içeriğinin azalması ve muhtemelen hidroperoksitlerin artması küçük-yoğun LDL' nin oksidasyona duyarlılığının artmasına yardımcı olabilir (39, 40, 44, 45, 46). Tribble ve ark. LDL alt gruplarının oksidasyona duyarlılıklarının farklı olmasını metabolik öncü moleküllerinin farklılığına bağlamışlardır (46). Yapılan çalışmalarda LDL partikül büyüklüğü ile LDL oksidasyonunun gecikme fazı arasında pozitif ilişkili olduğu, bunun yanında malondialdehit ile muamele edildiklerinde küçük-yoğun LDL' de meydana gelen değişimin normal LDL' de meydana gelen değişimden daha fazla olduğu bulunmuştur. Bu çalışmalar küçük-yoğun LDL' nin oksidasyon seviyesinin normal LDL' den daha fazla olduğunu göstermektedir. Hidaka ve ark. yaptıkları çalışmada oksidasyon reaksiyonlarının küçük-yoğun LDL oluşumunda yer aldığı sonucuna varmışlardır (47).

2.5. Ateroskleroz Gelişiminin Önlenmesinde ve Tedavisinde Diyet

Daha önce belirtildiği gibi dislipidemi ateroskleroza neden olan önemli risk faktörlerinden bir tanesidir. Dislipidemi tipi ve ağırlığı belirlenip, ikincil dislipidemi (başka hastalıklara, ilaçlara ya da davranışsal etmenlere bağlı olarak gelişen dislipidemi) sebepleri araştırılıp tedavi edildikten sonra, diyet ile diğer yaşam tarzına ilişkin önlemlere başvurulmalıdır. Bu önlemler her zaman lipid düzenleyici tedavide ilk adımı oluşturur. Kilo kontrolü, sigarayı bırakma, daha az alkol tüketimi ve fiziksel aktiviteyi artırma ile birlikte diyet lipid düzeylerini istenilen değere getirmek için kullanılır. Bundan sonraki yaklaşım yaşam tarzına ilişkin önlemlere ilave olarak ilaç tedavisidir. Ağır birincil hiperkolesterolemisi bulunan ya da trigliserid düzeyi 900 mg/dL' nin (10mmol/L) üzerinde olanlarda, tedavinin en başında diyetle birlikte lipid düşürücü ilaçlara başlanabilir. Statinler (atorvastatin, simvastatin, lovastatin, pravastatin gibi), fibratlar (gemfibrozil, fenofibrat ve klofibrat gibi), safra asidi bağlayanlar (kolestiramin ve kolestipol gibi) ve nikotinik asit (niasin gibi) kullanımdaki etki mekanizmaları farklı lipid düşürücü ilaçlardır (48).

Diyet, hem korunma hem de tedavi stratejilerinin ayrılmaz bir parçasıdır, çünkü birçok hasta için tek başına diyet lipid seviyelerinde yeterli bir düşme sağlaması anlamına gelmektedir. Birçok kişi diyetle kolesterol düzeyini %10 ya da daha fazla düşürebilmektedir. Hastanın lipid düzeyleri diyete yanıt vermezse, gıdalarla alınan doymuş yağ içeriği daha da azaltılıp, toplam kalori alımınının %7' sinin altına, kolesterol tüketimi de günde 200 mg' ın altına indirilmelidir (NCEP Step II diyeti). İlaç tedavisine başlansa bile diyet sürdürülmeli ve yaşam boyu devam eden bir alışkanlık haline getirilmelidir (48).

Yetişkinler için kabul edilebilir makrobesin dağılım oranlarına (AMDR) göre alınması gereken günlük kalori miktarının %45-65' i karbohidratlardan, %10-35' i proteinden, %20-35' i yağdan gelmelidir (49). Yağların da %7-10' unu PUFA, %10-15' ini MUFA, %6-10' unu doymuş yağ asitleri oluşturmalıdır. 2001 yılında NCEP kardiyovasküler hastalık riskini azaltmak için “tedavi edici hayat tarzı değişikliği” yaklaşımını önermiştir. Bu yaklaşıma göre kalorinin %25-35' i yağdan gelmeli, bu yüzde içinde doymuş yağ asitlerinin ve trans yağ asitlerinin oranı toplam kalorinin %7' si olmalı, toplam kalorinin %20' den fazlası tekli doymamış yağ asitleri ve %10' undan fazlası çoklu doymamış yağ asitleri tarafından karşılanmalıdır (50).

Diyetin ateroskleroz ve koroner arter hastalığı gelişimi üzerine etkisi kısmen diyetdeki yağların plazma LDL kolesterol düzeyi üzerindeki etkileri aracılığı ile gerçekleşir. Diyetdeki doymuş yağ asitleri LDL kolesterolü yükseltirken, PUFA ve MUFA'

lar LDL kolesterolü düşürmektedir. Ek olarak diyetteki lifler ve karbonhidratlar koruyucu faktörler olarak rol oynarlar (51).

Kalp ve damar hastalığı yönünden sağlıklı beslenmenin ana öğeleri 3 temel başlıkta toplanabilir; a. diyetle doymuş ve *trans*-yağların yerine, hidrojenize edilmemiş, doymamış yağların tercih edilmesi, b. balık, balık yağı ve bitkisel kaynaklı omega-3 yağ asitlerinin tüketiminin artırılması, c. günlük diyet içerisinde meyve, sebze, sert kabuklu meyvelerin (fındık, fıstık, badem, ceviz gibi) ve tam tahıl oranının artırılması, rafine edilmiş tahıl tüketiminin (örneğin beyaz ekmek) azaltılması. Bu tanımlamanın en iyi örneklerinden biri “Akdeniz Diyeti” olarak tanımlanan beslenme tarzıdır (52).

Yedi ülkede yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular kardiyovasküler hastalık risk oranı düşüklüğünün, özellikle MUFA yönünden zengin zeytinyağı ağırlıklı “Akdeniz Diyeti” ile ilişkili olduğunu öne sürmektedir. Benzer şekilde epidemiyolojik çalışmalar diyetle n-3 PUFA (balık yağı) alınımının ateroskleroz gibi kardiyovasküler hastalıkların insidansını azalttığını göstermiştir. Roche ve ark.’nın yaptığı çalışmada postprandiyal plazma trigliserid seviyeleri 8 hafta boyunca MUFA içeriği yüksek, doymuş yağ içeriği düşük diyet ve MUFA içeriği düşük, doymuş yağ içeriği yüksek diyet uygulanan iki farklı grupta ölçülmüştür. MUFA içeriği yüksek diyetle beslenenlerde trigliserid seviyeleri açlık değerlerine daha erken dönmüştür. Sağlıklı normolipidemik şahıslarda MUFA ve PUFA yönünden zengin diyet plazma total kolesterol ve LDL kolesterol düzeylerini düşürmüş, HDL kolesterol düzeylerini yükseltmiştir. Kolesterol düzeylerini düşüren başlıca MUFA kaynağı zeytinyağıdır, fakat kanola (kolza) yağı, sert kabuklu meyveler (örneğin fındık, fıstık, badem gibi) ve ürünleri de aynı etkiye sahiptir. Genç, sağlıklı normolipidemik bireylerde yüksek MUFA ya da yüksek karbonhidrat, düşük yağ içerikli diyetlerin CETP konsantrasyonunu düşürdüğü tespit edilmiştir. n-3 PUFA plazma total kolesterol, LDL kolesterol ve HDL kolesterol seviyeleri üzerine MUFA’ dan daha az etkili olmasına rağmen, her iki diyetle trigliserid seviyesini azaltır, HDL/LDL kolesterol oranını artırır ve total kolesterol/HDL kolesterol oranını azaltır, dolayısıyla ateroskleroz ve koroner arter hastalığı riskini azaltır (53).

Bu bağlamda pek çok araştırmacı zeytinyağı bakımından zengin diyetle beslenen bireylerden elde edilen LDL’ nin, PUFA yönünden zengin, karbonhidrat yönünden zengin ve diğer temel diyetlerle beslenen bireylerden elde edilen LDL’ ye göre oksidasyona daha az duyarlı olduğunu rapor etmişlerdir. Zeytinyağının LDL oksidasyonu üzerindeki faydalı etkisinin yüksek oleik asit içeriğinden, PUFA’ nin azlığından ve ayrıca yapısında flavanoidleri ve fenolik bileşikleri bulundurmasından kaynaklandığı ileri sürülmektedir

(53). LDL' nin oksidasyona duyarlılığı, antioksidan kapasitesi ve yağ asidi içeriği gibi temel iki faktörden etkilenir. Yapısında bulunan PUFA içeriğinin azaltılıp, MUFA içeriğinin artırılması LDL oksidasyonunu azaltır. Tsimikas ve ark. oleik asit (18:1) içeriği artırılmış LDL' nin, linoleik asit (18:2) ve araşidonik asit (20:4) içeriği azaltılmış LDL' ye göre proinflatuar mmLDL' ye daha az dönüştüğünü ileri sürmüşlerdir (54). De la Cruz ve ark. zeytinyağı içeren bir diyetin kalp, aort ve trombositlerde lipid peroksidasyonunu azalttığını rapor etmişlerdir (53).

HDL kolesterol düzeyini artırması, LDL kolesterol düzeyini azaltması (53, 54), LDL oksidasyonunu azaltması, hücresel oksidatif stresi azaltması, tromboz ve aterosklerotik plak oluşumunu azaltması MUFA' nin ateroskleroz üzerindeki koruyucu etkileridir. LDL' yi oksidasyona duyarlı hale getirmesine rağmen n-3 PUFA ise HDL kolesterol düzeyini artırır, HDL/LDL kolesterol oranını artırır, vasküler düz kas hücre proliferasyonunu azaltır ve tromboz ve aterosklerotik plak oluşumunu azaltır. Bu bulgular zeytinyağı ve balık yağı yönünden zengin "Akdeniz Diyeti"nin birçok yararlı etkisini göstermektedir (53).

Esas olarak deniz balıklarından sağlanan omega 3 yağ asitlerinin plazma trigliserid düzeyini düşürdüğü gösterilmiştir. Alfa-linolenik asit (18:3, n-3), eikosapentaenoik asit (20:5, n-3) ve dokosaheksaenoik asit (22:6, n-3) omega-3 yağ asitlerindedir. Diyetle alınan n-3 PUFA' lar özellikle eikosapentaenoik asit (20:5, n-3) ve dokosaheksaenoik asit (22:6, n-3) balık, midye ve deniz memelilerinde bol miktarda bulunur. Bu yağ asitleri normal büyüme ve gelişim için gereklidir. Ayrıca lipid seviyelerinin düzenlenmesinde, kardiyovasküler ve immünolojik fonksiyonlar üzerinde yararlı etkileri vardır (55). Dokosaheksaenoik asit hücre membranlarında fosfolipidlerin hayati bileşenidir, özellikle beyin ve retinada. n-3 yağ asitlerinin diğer bir önemi koroner arter hastalığı, dislipidemi, tip 2 diyabet ve hipertansiyon gibi bazı hastalıkların önlenmesinde ve gelişiminde rol oynamalarıdır. Diyete eklendiklerinde bu yağ asitleri hücre membranlarının fosfolipid kompozisyonunu, eikosanoid sentezini ve fonksiyonunu değiştirebilir, ayrıca transkripsiyon faktör aktivitesini düzenleyebilir. Hipertrigliseridemi, yüksek LDL kolesterol ve düşük HDL kolesterol düzeylerinin koroner kalp hastalıkları için önemli risk faktörleri olduklarını daha önce belirtmiştik. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalar göstermiştir ki balık yağı takviyesi ve eikosapentaenoik asit ve dokosaheksaenoik asitçe zengin balık yağı içeren diyetler plazma trigliserid ve VLDL kolesterol düzeylerini, özellikle postprandiyal seviyelerini düşürmede etkilidir. VLDL sentezinin azalması ve katabolik yıkımının artması bu düşüşün sebebi olabilir. Bunun yanında PUFA bakımından

zengin diyetle beslenen insanlarda yağ asidi oksidasyon oranının daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Epidemiyolojik bulgulara dayanılarak diyetle n-3 yağ asidi alınımının kardiyovasküler hastalık riskini azalttığı söylenebilir (55). Balık yağının lipid düşürücü etkileri hiperlipidemik bireylerde normolipidemik bireylere göre daha güçlüdür.

Koroner arter hastalığının ikincil korunması alanında gerçekleştirilmiş iki farklı çalışma vurgulanmaya değerdir. Her iki çalışmada da diyetdeki yağ asidi kompozisyonunun değiştirilmesi miyokard infarktüsü geçirmiş hastaların toplam mortalitesinde anlamlı bir azalmaya yol açmıştır. Bu çalışmalardan ilkinde gruptaki hastalara günde 0,3 g, kontrol grubundakilere ise günde 0,1 g “eikosapentaenoik asit” almalarını sağlayacak ölçüde yağlı balık yemeleri önerilmiştir. Bu diyetle miyokard infarktüsünden sonraki iki yıl içinde toplam mortalitede %29’ luk bir azalma saptanmıştır. İkinci çalışmada ise miyokard infarktüs geçiren hastalar ya Akdeniz’ e özgü alfa-linoleik asitten zengin bir diyetle ve ya bilinen post-infarktüs diyeti ile beslenmişlerdir. Çalışmanın sürdüğü 5 yıl boyunca alfa-linoleik asitten zengin diyetle beslenenlerde toplam mortalitede %70, kardiyak mortalitede %76 ve koroner olaylarda %73’ lük bir azalma saptanmıştır (51).

n-3 yağ asitleri Tip IIb veya tip IV hipertrigliseridemi olan hastalarda hepatik ve intestinal apo B salınımını ve sentezini baskılar, buna ilaveten trigliserid yönünden zengin lipoproteinlerin metabolizmasını postprandiyal trigliserid, kolesterol, apo B-48 düzeylerini değiştirerek ve LDL partikül büyüklüğünü artırarak etkiler. Zhengling ve ark. koroner kalp hastalığı riskinin arttığı orta yaşlı ve yaşlı insanlarda yaptıkları çalışmada doymuş yağ ve kolesterol bakımından sınırlandırılmış, yüksek balık yağı içeren diyetin VLDL ve HDL alt gruplarını etkilediğini, lipoprotein alt gruplarını az aterojenik fenotipe kaydırıldığını göstermişlerdir (55).

2.5.1. Ateroskleroz ve E vitamini

E vitamini doğal olarak bulunan en önemli antioksidanlardan biridir. E vitamini plazmada esas olarak LDL ile taşınır ve diğer dokularda olduğu gibi plazma E vitamininin %90 gibi büyük bir kısmını α -tokoferol oluşturur (56). Vitamin takviyesi almayan bir şahısta bir tek LDL molekülü yaklaşık 6-7 α -tokoferol molekülü ve eser miktarda da γ -tokoferol içerir (22, 57).

Kanıtlar göstermiştir ki makrofaj, lenfosit, endotel hücreleri ve düz kas hücreleri gibi hücreler tarafından hem de metal iyonları tarafından LDL’ nin oksidasyonu E vitamini takviyesi ile baskılanabilir. LDL, E vitamini ile zenginleştirildiğinde ex-vivo oksidasyona

karşı korunduğu gözlenmiştir. Ayrıca düz kas hücre proliferasyonunu önler ve trombosit adezyonunu inhibe eder, bu etkileri ile kardiyovasküler hastalık riskini azaltabilir. İnsan endotel hücre kültürüne E vitamini ilave edildiğinde VCAM-1 sentezinin azaldığı tespit edilmiştir (57).

Kardiyovasküler hastalıklar ve E vitamini ile ilgili pek çok çalışma mevcuttur. Mosca ve ark. tarafından yapılan çalışmada kardiyovasküler hastalığı olan şahıslara 6 hafta ve 12 hafta boyunca günde 800 IU E vitamini, 1000 mg C vitamini ve 24 mg beta-karoten olacak şekilde kompleks vitamin verildiğinde LDL oksidasyonu gecikme fazının arttığı bulunmuştur. Dozlar yarıya düşürüldüğünde de yine aynı sonuç elde edilmiştir (58).

Cambridge Kalp Antioksidan Çalışması (CHAOS) ile koroner ateroskerozu olan 2002 hastadan 546 hastaya günlük 800 IU, 254 hastaya günlük 400IU doğal E vitamini 1,4 yıl boyunca verilmiş ve E vitamininin ölümcül olmayan miyokard infarktüs riskini plasebo grubuna göre %77 azalttığı gözlenmiştir (6, 58).

Knekt ve ark. yaşları 30-69 arasında değişen 5133 kişide 14 yıl süre ile E vitamini ve diğer beslenme faktörlerinin günlük diyetle alınımının ölümcül koroner arter hastalığı gelişimine etkisini araştırmışlardır. Olgular E vitamini alınımına göre gruplara ayrıldıklarında, E vitamini alınımının en fazla olduğu grupta koroner arter hastalığı riski en düşük bulunmuştur (59).

Başka bir çalışmada ise koroner arter lezyonlarının gelişimi anjiyografik olarak izlenmiş 100IU/gün ve üzerinde E vitamini takviyesi alanlarda almayanlara göre lezyon gelişiminde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanmıştır. Aynı populasyonun daha uzun izlemi sonucunda ise erken ateroskleroz ile E vitamini arasında güçlü bir ters ilişki tespit edilmiştir (59).

2.5.2. 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 (60). Sert kabuklu meyvelerin tüketimi ateroskleroz ve koroner arter hastalığı gelişiminin önlenmesi ve tedavisi için tavsiye edilen pek çok diyetle yer almaktadır.

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. Ayrıca magnezyum, potasyum, arginin, folik asit, bakır ve lif yönünden oldukça zengindirler (61, 62). Tablo 2' de bazı sert kabuklu meyvelerin 100 gramında bulunan yağ asidi, E vitamini, arginin, metiyonin ve folik asit miktarları verilmiştir (63, 64, 65). Arginin NO'in öncü molekülü, metiyonin vaskülo-toksik özellik gösteren homosisteinin öncü molekülü olması, folik asit ise homosisteinin metiyonine dönüşümü ve miktarı azaldığı zaman tetrahidrobiopterin geri dönüşümünde yer alarak nitrik oksit sentaz disfonksiyonuna neden olması ile oldukça önemlidir. Tablodan görüldüğü üzere bazı sert kabuklu meyve türleri yüksek arginin içermelerinin yanında balık ve kırmızı ete göre oldukça az metiyonin içerirler (63).

Tablo 2: Bazı sert kabuklu meyvelerin 100 gramında bulunan yağ asidi, e vitamini, arginin metiyonin ve folik asit miktarları (63, 64, 65).

	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
α-linolenik asit (g)	0,15	9,1	0,4	0
α- tokoferol (mg)	15,03	1,8	25,87	8,33
γ- tokoferol (mg)	0	28,48	0,89	0
Arginin (mg)	2211	2278	2495	3085
Metiyonin (mg)	221	236	227	317
Folik asit (ug)	113	100	70	173

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 (61). 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 (61).

Koroner arter hastalığı risk oranı ve sert kabuklu meyvelerin sık tüketimi ile ilgili yapılan ilk epidemiyolojik çalışma 6 yıl süren “Adventist Health Study” dir. Haftada 1’ den az, haftada 1-4 ve haftada 5 veya daha fazla olmak üzere haftalık sert kabuklu meyve tüketim sıklığına göre 3 farklı grup oluşturulmuştur. Yaş, cinsiyet, sigara kullanımı, fiziksel aktivite, ağırlık ve yüksek kan basıncına göre düzenlemeler yapıldıktan sonra relatif risk oranları belirlenmiştir. Ölümcül olmayan miyokard infarktüsü için bu oranlar tüketim sıklığına göre sırası ile 1,0, 0,74 ve 0,52, ölümcül koroner arter hastalığı için ise yine tüketim sıklığına göre 1,0, 0,73 ve 0,62 olarak bulunmuştur (62). Başka bir çalışmada ise (Nurses’ Health Study) haftada 5 veya daha fazla sert kabuklu meyve tüketen kadınlarda koroner arter hastalığı relatif risk oranı, nadiren (ayda bir veya hiç tüketmeyen) tüketen kadınlara göre daha düşük bulunmuştur (62).

Yapılan pek çok çalışmada plazma kolesterol düzeyleri üzerine sert kabuklu meyvelerin (badem, ceviz, fındık gibi) tüketiminin etkileri değerlendirilmiştir (61). Günlük 84-100 g sert kabuklu meyve tüketiminin serum total kolesterol düzeyini %10-20 azalttığı gözlenmiştir (66). İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda diyetle yer alan geleneksel yağların yerine badem ve ceviz tüketildiğinde LDL kolesterol düzeyinin %8-12 oranında azaldığı tespit edilmiştir (61). LDL kolesterolün yanında pek çok metabolik çalışma sert kabuklu meyve içeriği yüksek diyetlerin total kolesterol/HDL kolesterol oranını da düşürdüğünü göstermiştir (62). Lipid seviyeleri üzerine olan olumlu etkilerinin yanında, NO düzeyleri üzerindeki etkileri incelenmiş ve çoğu sert kabuklu meyvenin NO sentezinin öncü molekülü olan arginin bakımından zengin olduğu görülmüştür. Sert kabuklu meyvelerin tüketiminin arginin miktarını dolayısıyla NO miktarını arttıracığı ve bu sebeple anti-aterojenik oldukları ileri sürülmüştür (62).

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 (61). Bir başka çalışmada ise Morgan ve Clayshulte normolipidemik bireylerde 8 hafta boyunca günlük 68 g pecan (özellikle oleik asit bakımından zengin güney Amerika' ya özgü bir tür sert kabuklu meyve) tüketiminin LDL kolesterolü düşürdüğünü, HDL kolesterol düzeylerinin ise etkilenmediğini bulmuşlardır (67). Koçyiğit ve ark. sağlıklı normolipidemik bireylerde çam fıstığı tüketiminin plazma lipid profili ve oksidatif durumu üzerine olan etkilerini incelemiştir. Bireyler aldıkları günlük kalori miktarının %20' sini oluşturacak şekilde 3 hafta boyunca çam fıstığı tüketmişlerdir. Üç hafta sonunda total kolesterol ve MDA düzeylerinin, total kolesterol/HDL kolesterol ve LDL kolesterol/ HDL kolesterol oranlarının önemli derecede azaldığını, HDL kolesterol, toplam antioksidan potansiyel düzeylerinin ve toplam antioksidan potansiyel/MDA oranının önemli derecede arttığını gözlemlemişlerdir. Ayrıca trigliserid ve LDL kolesterol düzeylerinin de azaldığını fakat bu azalışı istatistiksel olarak anlamlı bulmadıklarını rapor etmişlerdir (64). Yer fıstığı ile sağlıklı yetişkinler üzerine yapılan bir çalışmada ise magnezyum, folik asit, alfa-tokoferol, bakır, arginin ve lif düzeylerinin arttığı, trigliserid düzeyinin azaldığı gözlenmiştir. Bu etkileri ile yer fıstığı tüketiminin kardiyovasküler hastalık riskini azaltacağı ileri sürülmüştür (68).

Sert kabuklu meyve tüketiminin hiperkolesterolemik bireylerde de lipid profili üzerine etkili olduğu pek çok çalışma ile gösterilmiştir. Ros ve ark. hiperkolesterolemik bireylere enerjinin %32' sini oluşturan MUFA yerine cevizin yer aldığı "Akdeniz Diyeti" benzeri bir diyet uygulamışlar ve vazodilasyonun daha da arttığını, VCAM-1' in ise daha da azaldığını, bununla beraber 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 (69). Zambon ve ark. cevizle benzer bir çalışma yapmışlar ve total ve LDL kolesterolün daha da azaldığını gözlemişlerdir (70).

2.5.3. Fındık

Son yıllarda yapılan birçok araştırma sert kabuklu meyveler sınıfından olan fındık tüketiminin insan beslenmesi üzerinde olumlu etkilerinin olduğunu ortaya koymuştur (52).

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 (71). 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 3' te fındığın 100 gramında bulunan yağ asitleri ve miktarları verilmiştir (72).

Tablo 3: Fındığın 100 gramında bulunan yağ asitleri ve miktarları (72).

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. Her gün sadece 25-30 g fındık günlük E vitamini ihtiyacının tamamını karşılamaktadır. 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 (52). 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 (52). Fındık ve fındık yağının bir önemli özelliği de fındıkta bulunan sterollerden beta-sterol' ün bağırsaktan kolesterolün emilimini azaltmasıdır (52, 72, 73). Fındıkta bulunan lif, kolesterol öncü moleküllerinin ve glukozun emilimini azaltarak kan glukozunun ve kolesterolün yükselmesinin 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 (73). Fındığın içerdiği yüksek miktardaki E vitaminin LDL oksidasyonunu önleyerek koroner kalp hastalığı riskini azaltıcı etkisi belirlenmiştir (73). Fındığın sağlıklı beslenme açısından uygun niteliklere sahip ve yüksek enerji sağlayan bir besin maddesi olmasının yanında 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 (52, 72, 74).

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 (72). Bu etkiler sonucunda düzenli fındık tüketiminin koroner kalp hastalığı riskini azaltacağı öngörülebilir (52). 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 (52). 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 (75). Tavşanlar üzerinde yapılan bir çalışmada fındık yağının hiperkolesterolemik diyetle beslenen tavşanlarda plazma ve eritrosit MDA ve konjuge dien miktarlarını düşürdüğü saptanmıştır (76). Tavşanlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada fındık yağının hiperkolesterolemik diyetle beslenen tavşanlarda aort toplam kolesterol, MDA ve konjuge dien düzeylerini düşürdüğü saptanmıştır (77).

Sözü edilen bu çalışmalar fındık ve fındık yağının kardiyovasküler hastalıklardan korunmada ve tedavisinde büyük önem taşıdığını göstermektedir. Bu durum fındık ve fındık yağında bulunan PUFA’nden 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 (71).

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)
Mikrosantrifüj	(BECKMAN COULTER, Microfuge 18 Centrifuge)
Spektrofotometre	(SHIMADZU, UV-1601 UV/Visible Spectrophotometer)
Spektrofotometre	(BECKMAN COULTER, DU 530 UV/Visible Spectrophotometer)
Sıcaklık ayarlayıcısı	(SHIMADZU)
Elisa Okuyucusu	(ANTHOS READER 2001)
HPLC	(AGILENT 1100)
HPLC Kolonu	(ZORBAX ECLIPSE XDB-C18)
Diyaliz Torbası	(SIGMA, D 9777)
LIPOPRINT Sistemi	(QUANTIMETRIX, 48-9150)

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Albümin (Sığır serumundan, AppliChem, F-9252)
Alfa-Tokoferol (%98, LANCASTER)
Asetonitril (HPLC saflığında, MERCK)
Bakır Sülfat Pentahidrat (MERCK)
 β -Nikotinamid adenindinükleotid fosfat (Tetrasodyum tuzu, redükte form, 30316, SERVA)
Çinko Sülfat (MERCK)
Etanol (HPLC saflığında, MERCK)
Etilendiamin Tetra Asetik Asit (Disodyum tuzu, CARLO ERBA)
Flavin Adenin Dinükleotid (21490, SERVA)
Folin-Ciocalteu's Fenol rektifi (2N, SIGMA)
Fosforik Asit (%85, MERCK)
Glutasyon Peroksidaz (200U, SIGMA)
Glutasyon Redüktaz (300U/mg protein, G 4751, SIGMA)
Glutasyon (Redükte form, G 4251, SIGMA)
Hegzan (HPLC saflığında, MERCK)
Laktat Dehidrogenaz (Tavşan Kasından, ROCHE)
Metanol (HPLC saflığında, MERCK)
N-Naftiletildiamin (N 9125, SIGMA)
Nitrat Redüktaz (Aspergillus türünden, BOEHRINGER MANNHEIM GmbH-GERMANY)
Potasyum nitrit (MERCK)
Sodyum Bromür (MERCK)
Sodyum Di Hidrojen Fosfat (MERCK)
Sodyum Hidroksit (MERCK)
Sodyum bikarbonat (MERCK)
Sodyum Karbonat (MERCK)
Sodyum nitrat (MERCK)
Sodyum piruvat (P 8574, SIGMA)
Sodyum potasyum tartarat (MERCK)
Sülfanilamid (SIGMA)
1,1,3,3-tetrametoksipropan (SIGMA)
2-tiobarbütirik asit (SIGMA)
Tris (hidroksimetil)-aminometan (MERCK)
Troloks (56510, FLUKA)
Toplam Antioksidan Kapasite Tayin Kiti (ABBOTT)
İnsan Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1 Tayin Kiti
(Immunoassay, R&D Systems, DVC00)
İnsan Endotelin-1 Tayin Kiti (Enzim Immunoassay, BIOMEDICA, BI-20052)
İnsan Plazminojen Aktivatör İnhibitör Tip-1 Tayin Kiti
(IMUBIND, Plasma PAI-1 ELISA, AMERICAN DIAGNOSTICA INC., 822)
İnsan Okside LDL Otoantikör Tayin Kiti (Enzim Immunoassay, BIOMEDICA, BI-20032)
Lipoprint Sistem LDL Alt Grupları Tayin Kiti (Quantimetrix, 48-7002)

3.2. Metod

3.2.1. Deneyin Planlanması ve Numunelerin Toplanması

Bu çalışma sağlıklı normolipidemik gönüllü şahıslar üzerinde yapılmıştır. Çalışmada yaşları 20 ile 38 arasında değişen 13 bayan, 8 bay toplam 21 kişi yer almıştır. Çalışma grubunu oluşturacak kişilerin çalışmaya başlanmadan önce lipid profilleri tespit edilerek normolipidemik olup olmadıkları belirlenmiştir. Koroner arter hastalığı, hipertansiyon, diabet, obezite ve başka sistemik hastalıkları olanlar ve ilaç, sigara ve alkol kullananlar çalışma grubuna dahil edilmemiştir. Çalışma grubuna literatür bilgilerine dayanılarak günde kilogram başına bir gram (1g/kg/gün) olacak şekilde bir ay boyunca naturel (işlenmemiş) fındık yedirilmiştir. Yenmesi gereken günlük fındık miktarının yarısı sabah saat 10.00-11.00 arasında, yarısı da öğleden sonra saat 15.00-16.00 arasında olmak üzere ikiye bölünerek yenmiştir. Şahısların günlük diyetlerine müdahale edilmemiş, fındık diyetine başlamadan önceki beslenme şekilleri fındık diyetine başladıktan sonraki bir aylık periyot boyunca aynen devam etmiştir. Bireylerden fındık diyetinin başlangıcından 1 gün önce, 15.günde ve 30.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 – 20 °C'de saklanmıştır.

3.2.2. Otoanalizörlerde Tayin Edilen Parametreler

Serum total kolesterol (TK), trigliserid (TG), HDL-kolesterol (HDL-K), LDL-kolesterol (LDL-K), alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST), glukoz, kan üre azotu (BUN), kreatinin ve bilirubin tayinleri ROCHE/HITACHI Modüler Sistem otoanalizöründe Roche kitleri kullanılarak gerçekleştirildi. Apolipoprotein AI (ApoAI), apolipoprotein B (ApoB), Lp(a) tayinleri nefolometre (DADE BEHRING, BN II) cihazı ile monoklonal immünopresipitasyon prensibine dayanılarak yapılmıştır.

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

3.2.3. Lipoproteinlerin İzolasyonu

Lipoproteinlerin izolasyonu Slavovs ve arkadaşları (78) 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 (79)

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.

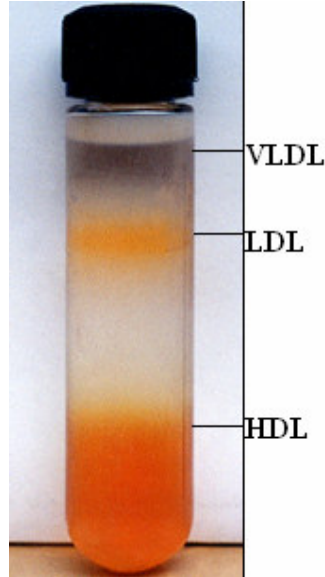
Hazırlanan çözeltilerin yoğunlukları densitometre (Anton Paer DMA 35 N) ile ölçülerek kontrol edildi.

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 insulini iğnesi kullanılarak sırası ile ilave edildi (78).

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 5’ te görüldüğü gibi VLDL, LDL ve HDL tabakaları elde edildi. Elde edilen tabakalar pastör pipeti ile alındı, LDL diyaliz edilip, protein tayini, TK ve TG düzeyleri belirlendi.



Şekil 5. Lipoprotein izolasyonu sonucu elde edilen tabakaların görünümü.

3.2.4. LDL'nin Diyalizi

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 ta diyaliz sırasında membran yüzey alanı artar. Denge konsantrasyonuna erişildiğinde, çözünenlerin dağılımı her iki yönde de aynı olmaktadır (80).

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 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. LDL' de Protein Tayini

İzole edilen LDL' de protein tayini Lowry metodu (81) 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.

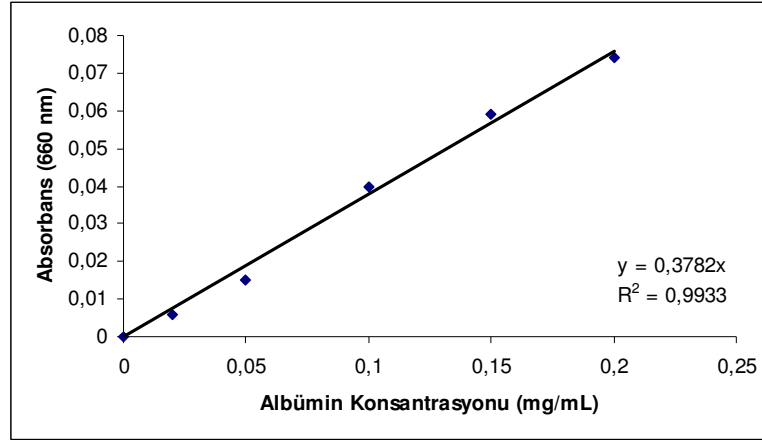
6. Standartlar: Sığır Serum Albümini

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 LDL 20 kat distile su ile seyreltilmiştir. Aşağıdaki tabloya göre pipetlemeler yapıp 660 nm’ de absorbansları okunarak standart grafik yardımıyla sonuçlar bulunmuştur (Şekil 6).

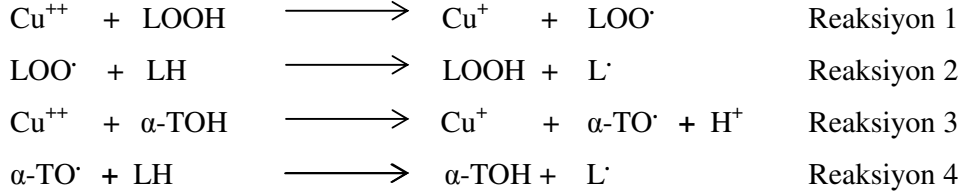
	Kör (µL)	Standart (µL)	Numune (µL)
Distile Su	100	-	95
Standart	-	100	-
Numune	-	-	5
Reaktif B	500	500	500
Vorteksle karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 10 dk. bekletildi.			
Folin reaktifi (1N)	50	50	50
Vorteksle karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 30 dk. bekletildi.			
660 nm’ de absorbansları okundu.			



Şekil 6: 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 (82).



LDL oksidasyonunda ilk olay LDL PUFA'larında hidroperoksit oluşumudur. Bu lipid hidroperoksitler konjuge dienlerdir ve 234 nm'de maksimum absorbanans verirler. Bu dalga boyunda takiple çift bağlı PUFA'ların 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 (83).

Kullanılan Çözeltiler

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

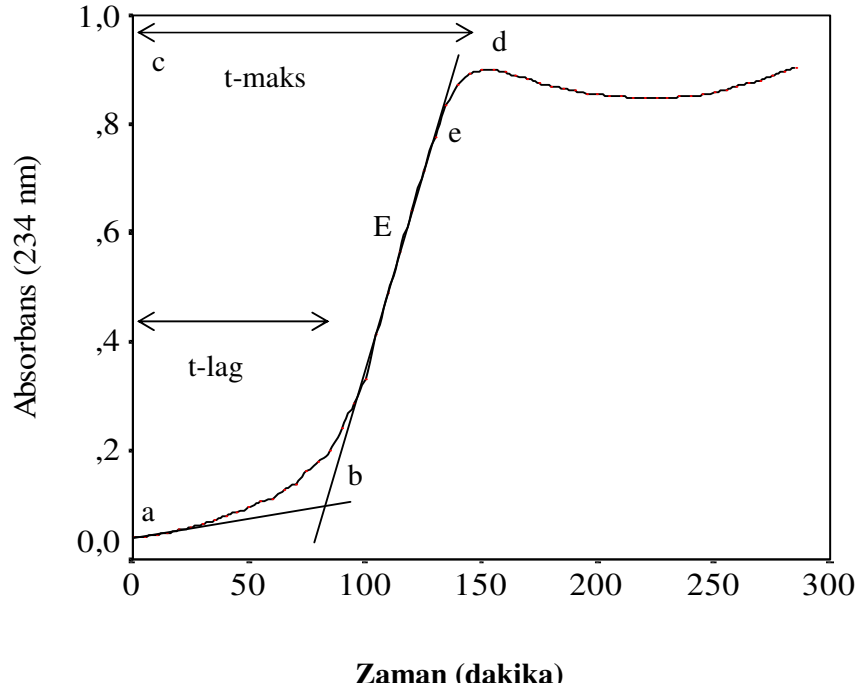
25 mg $\text{Cu}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 10 mL 10 mM PBS tamponunda (pH 7,4) çözülerek 10 mM $\text{Cu}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiden 100 μL alınıp 20 mL 10 mM PBS tamponunda (pH 7,4) çözülerek 100 μM $\text{Cu}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

50 µg LDL/mL : 1,67 µM Cu⁺² oranında 1mL' lik kuartz küvetlere aşağıdaki tabloya göre pipetlemeler yapıldı (83). 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 (83, 84, %CV_{t-lag}=4,2, %CV_{t-max}=4,3, %CV_{DKH}=3,4, %CV_{MDK}=2).

	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 7. 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 $\epsilon_{234} = 29\ 500\ \text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$
 λ : Işık yolunun uzunluğu, cm
Protein konsantrasyonu [prt]= 0,05 mg/mL (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$)
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. 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.

3.2.8. LDL Alt Gruplarının Belirlenmesi

Lipoproteinler ve lipoprotein alt grupları LIPOPRINT sistemi (Quantimetrix 48-9150) ve Lipoprint sistem LDL alt grupları tayin kiti (Quantimetrix 48-7002) kullanılarak belirlenmiştir. LIPOPRINT sistemi ilk ve tek FDA onaylı, LDL alt gruplarında kolesterol tayini için kullanılan, kullanıma hazır reaktifleri, hardware ve software donanımı ile bütün bir sistemdir. Bu sistem her bir lipoprotein alt grubundaki kolesterol düzeyini 1 mg/dL sınırına kadar ölçerek yüksek aterositeniteye sahip küçük-yoğun LDL ve IDL alt gruplarının tayinini sağlar. Kolesterol miktarı tayinine ek olarak partiküllerin tanecik büyüklüğü ve yoğunluğu da belirlenmektedir. Ayrıca bu sistemle kabul edilmiş metodlarla uyumlu

lipoprotein profil sınıflandırması yapılmaktadır. LIPOPRINT sistemi jel gradienti kullanılmadan, lineer poliakrilamid jel elektroforezi yöntemi ile çalışan bir sistemdir.

Lipoprint Sistem Bileşenleri

1. Bilgisayar; Lipoware Analiz Programı içermektedir.
2. Renkli yazıcı
3. Dijital tarayıcı
4. Elektroforez çemberi
5. Güç kaynağı
6. Jel tüpleri için rak
7. Fotopolimerizasyon için ışık kaynağı

LDL Alt Grupları Tayin Kiti Bileşenleri

1. Jel tüpleri; lineer poliakrilamid jel (yığıma jeli ve ayırma jeli) ile dolu cam tüpler.
2. Yükleme jeli; akrilamid, N, N-metilenbisakrilamid, lipofilik boya, tampon.
3. Tampon; tris (hidroksimetil) aminometan, borik asit.

Deneyin Çalışma Prensibi

Yükleme jeli bileşeni olan lipofilik boya her bir lipoproteindeki kolesterol miktarı ile doğru orantılı olarak bağlanır ve daha sonra boyanan lipoproteinlere elektroforez işlemi uygulanır. Elektroforezin ilk aşamasında, lipoprotein partikülleri yükleme ve yığıma jeli yardımı ile tek bir bantta yoğunlaşır. Sonraki aşamada ise lipoprotein partikülleri ayırma jeline partikül büyüklüklerine göre en büyükten en küçüğe doğru hareket ederek bantlar oluştururlar. Jelde en hızlı HDL, arkasından da sırası ile küçük-yoğun LDL, büyük- az yoğun LDL, esas olarak IDL' den oluşan orta bantlar ve son olarak ta VLDL ilerler. Eğer numunede şilomikron varsa yığıma jelinin üst kısmında görünür ya da yükleme jeline kalır. Elektroforez tamamlandıktan sonra farklı yoğunluklarda boyanan lipoprotein alt grupları (bantlar), başlangıç referans noktası olarak VLDL ($VLDL=0$) ve ileri referans noktası olarak HDL ($HDL=1$) alınarak relatif mobilitelerine (R_f) göre belirlenir (Şekil 8). Her bir lipoprotein için bant alanı belirlenir ve otoanalizörde ölçülen total kolesterol miktarı ile çarpılarak her bir banttaki kolesterol miktarı mg/dL olarak bulunur. Bütün bu

hesaplama işlemleri elektroforez tamamlandıktan sonra, jel tüpleri dijital tarayıcıda tarandıktan sonra Lipoware analiz programı kullanılarak yapılmaktadır.

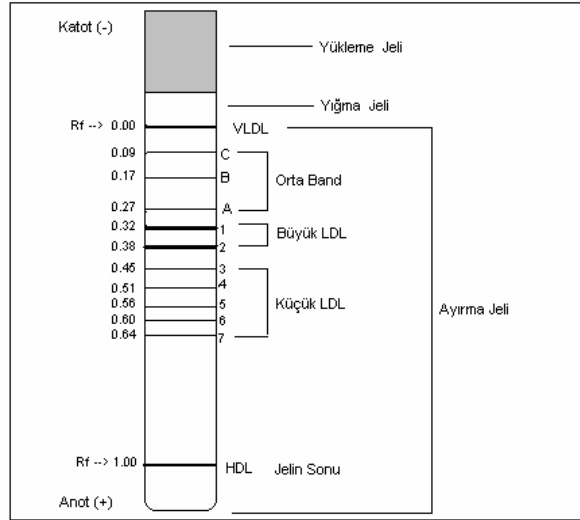
Deneyin Yapılışı

Analiz için 12 saatlik açlık sonrası elde edilen serum ya da plazma kullanılmalıdır.

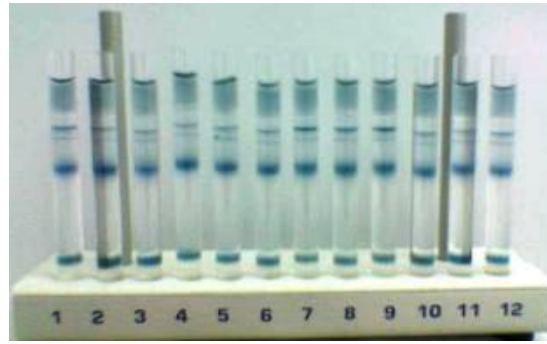
1. 25 µL serum ya da plazma jel tüpüne pipetlenir.
2. 200 µL yükleme jeli pipetlenir ve tüpler alt-üst edilerek karışması sağlanır.
3. Tüpler 35 dk. boyunca ışığa maruz bırakılarak jelin polimerize olması sağlanır.
4. Süre bitiminde tüp başına 3mA voltaj olacak şekilde 1 saat elektroforez işlemi uygulanır. Elektroforez sonrası jel tüplerinde bantların görünümü Şekil 9' da görülmektedir.
5. Jel tüpleri dijital tarayıcıda taranır.
6. Taranan tüpler Lipoware analiz programı ile değerlendirilir.

Sonuçların Değerlendirilmesi

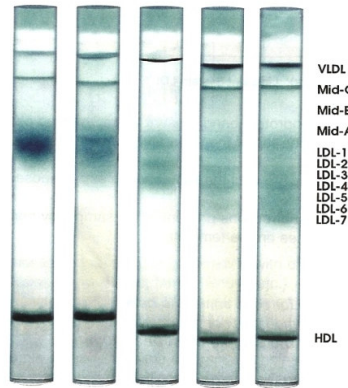
LIPOPRINT sistem ile lipoproteinler 12 alt grupta sınıflandırılabilir: VLDL, orta bantlar C, B, A; IDL, kalıntı lipoproteinler ve lipoprotein (a), LDL alt grupları, HDL. LIPOPRINT sistem ile LDL en fazla 7 alt gruba ayrılır, LDL alt grupları en büyük partikülleri içeren LDL-1' den, en küçük partikülleri içeren LDL-7' ye kadar gruplandırılabilir. Lipoprotein alt grup profilleri, ortalama LDL partikül büyüklükleri esas alınarak "Tip A" (normal) ve "Tip B" (anormal) olarak sınıflandırılmıştır. Ağırlıklı olarak büyük ve az yoğun LDL alt gruplarına (LDL-1 ve LDL-2) sahip bireyler "Tip A", küçük ve yoğun LDL alt gruplarına sahip bireyler "Tip B" olarak nitelendirilir (39, 40, 44, 85). Normal bir lipoprotein profili (Tip A) VLDL, orta bantlar C, B ve A, LDL ve HDL bantlarına sahiptir, homojen LDL dağılımı (LDL-1 ve LDL-2) gösterir (Şekil 10 ve 11). Anormal bir lipoprotein profilinde (Tip B) ise heterojen LDL dağılımı görülür, yukarıdaki bantlara ek olarak LDL-3' ten LDL-7' ye kadar beş farklı LDL alt grubu görülebilir (Şekil 10 ve 12).



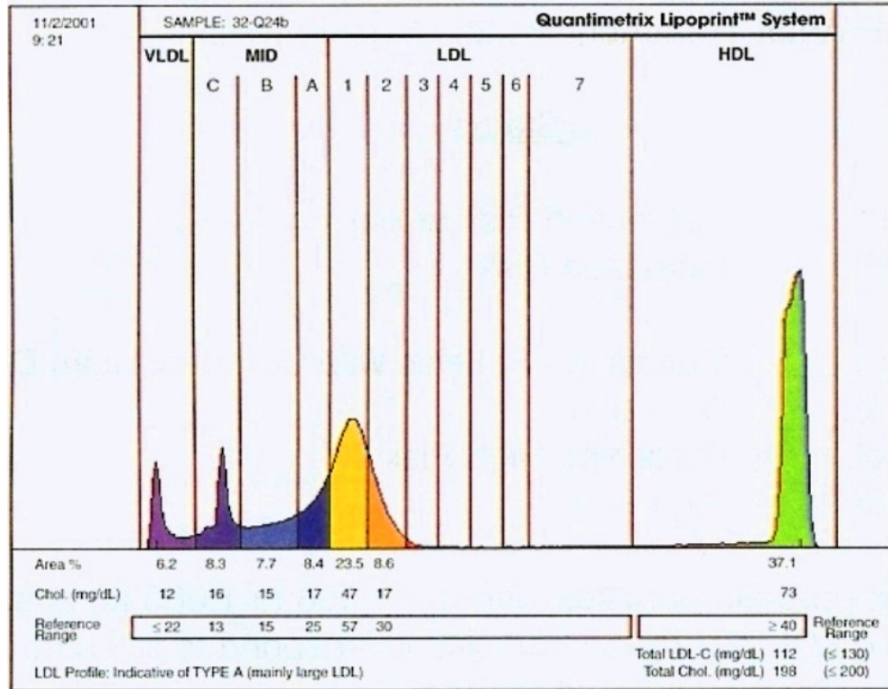
Şekil 8: Lipoprint jel tüpünün ve lipoprotein bantlarının şematik görünümü, bantların relatif mobilite değerleri.



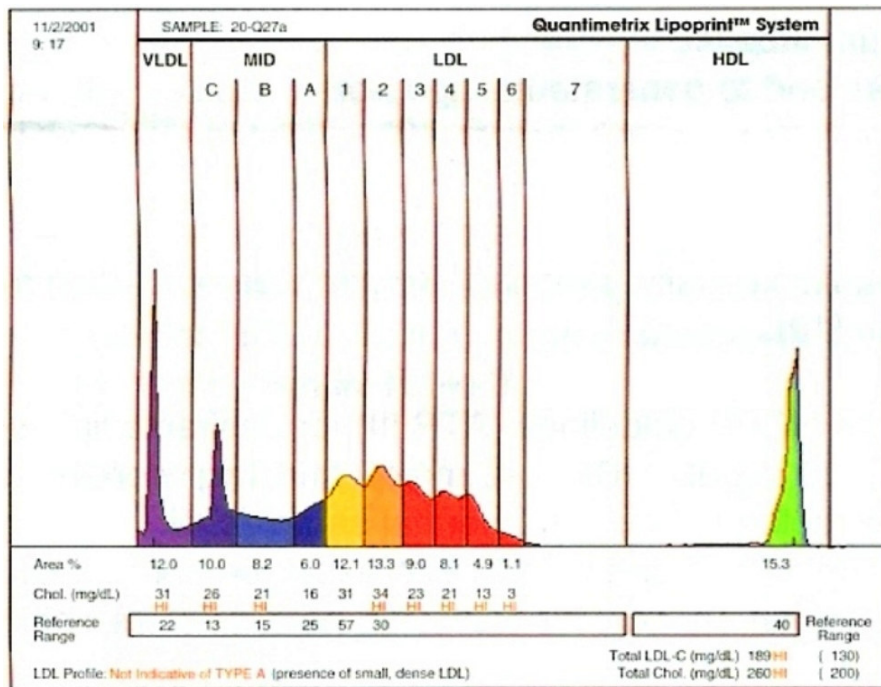
Şekil 9: Elektroforez sonrası jel tüplerinde bantların görünümü.



Şekil 10: Beş farklı bireyin lipoprotein alt grup dağılımları, en solda homojen LDL dağılımı, en sağda oldukça heterojen LDL dağılımı görülmektedir.



Şekil 11: Normal lipoprotein profili.



Şekil 12: Anormal lipoprotein profili.

3.2.9. LDL’de TBARS Tayini

LDL’ de TBARS miktarı, lipid peroksidasyon ürünü olan MDA’ nın asidik ortamda tiyobarbitürik asitle ısıtılması sonucu meydana gelen pembe renkli kompleksin optik dansitometresi ölçülerek bulundu (86).

Kullanılan Çözeltiler

1. % 1 TCA

1 g TCA bir miktar deiyonize suda çözülerek 100 mL’ ye deiyonize su ile tamamlandı.

2. % 1 TBA

1 g TBA bir miktar deiyonize suda ısıtılarak çözülerek 100 mL’ ye deiyonize su ile tamamlandı.

3. Standartlar

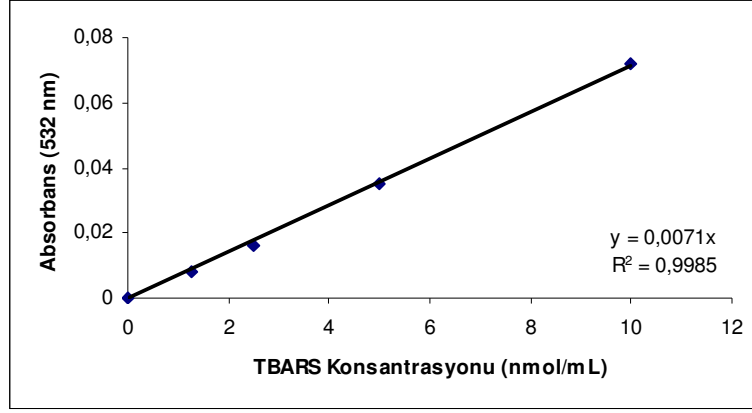
1 mmol 1,1,3,3- tetrametoksipropan 100 mL 0,01 M HCL asit çözeltisinde 50°C’ de 1 saat bekletildi, bu bileşiğin hidrolizi sonucu MDA çözeltisi elde edildi. Elde edilen çözelti kullanılarak konsantrasyonları 1,25, 2,5, 5 ve 10 nmol/mL olan dört farklı standart hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

Aşağıdaki tabloya göre pipetlemeler yapıldıktan sonra tüpler 95°C’ de 45 dk. ısıtılıp soğutuldu ve ardından 3000 rpm’ de 20 dk. santrifüj edilerek elde edilen süpernatantın optik dansitesi 532 nm’ de okundu. Standart grafik yardımı ile TBARS miktarları belirlendi (Şekil 13).

	Kör (mL)	Standart (mL)	Numune (mL)
10 mM PBS	0,1	-	0,1-a
Standart	-	0,1	-
LDL	-	-	a*
TCA	1	1	1
TBA	1	1	1

* 250 µg/mL LDL olacak şekilde hesaplama yapılarak LDL ilave edildi.



Şekil 13: TBARS standart grafiği.

3.2.10. LDL' de α -tokoferol Miktar Tayini

LDL' de bulunan α -tokoferol miktarı HPLC ile tayin edildi. Pussinen ve arkadaşlarının (87) yapmış oldukları çalışmada kullandıkları yöntem ile LDL' ye ön işlem uygulanarak vitamin E ekstrakte edildi. Daha sonra numuneler Zorbax Eclipse XDB-C18 (15cm x 4,6mm, 5 μ m) kolonu ile mobil faz olarak metanol : acetonitril (99:1) kullanılarak, 1 mL/dk. akış hızıyla ve UV dedektör ile 292 nm' de analiz edildi (56). Standart olarak alfa-tokoferol kullanılarak hazırlanan standart grafik yardımı ile sonuçlar hesaplanarak, vitamin E miktarı μ g/mg LDL protein olarak belirlendi (Şekil 14, %CV=2).

Kullanılan Çözeltiler

1. Etanol
2. Hegzan
3. Metanol
4. Asetonitril
5. Standartlar

Çözücü olarak etanol kullanılarak 50, 100, 250, 500 ve 1000 μ g/mL konsantrasyonlarında alfa-tokoferol standartları hazırlandı.

Analiz için kullanılan bütün çözeltiler HPLC saflığındadır.

Numune Ekstraksiyonu

1. 100 µL diyaliz işlemi uygulanmamış LDL, 100 µL deiyonize su, 100 µL etanol 1,5 mL' lik mikrosantrifüj tüpüne koyularak 30 saniye boyunca vorteskendi.
2. Üzerine 200 µL hegzan ilave edilip 30 saniye boyunca tekrar vorteskendi.
3. 13 000 rpm' de 5 dk. santrifüj edildi.
4. Santrifüj sonrası üstte kalan fazın tamamı başka bir mikrosantrifüj tüpüne alınıp hegzan azot gazı ile uçuruldu.
5. Hegzanı uçurulan mikrosantrifüj tüpüne 150 µL etanol eklenip yeniden çözüldükten sonra örnek hacmi 20 µL olacak şekilde kolona yüklendi.

HPLC Koşulları

Kolon: Zorbax Eclipse XDB-C18 (15cm x 4,6mm, 5µm)

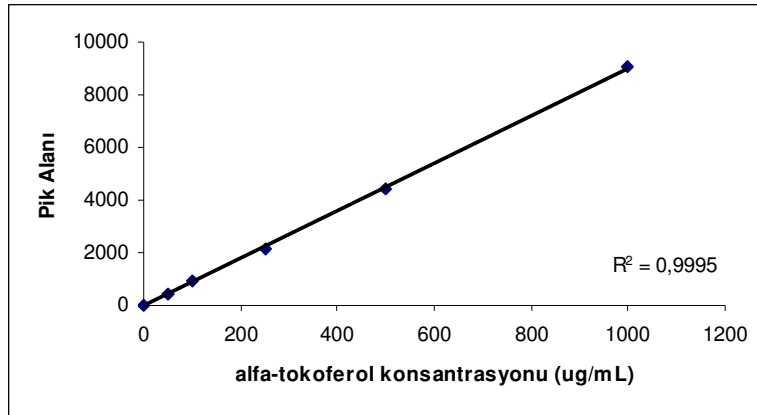
Mobil faz: Metanol : Acetonitril (99:1)

Akış hızı: 1 mL/dk.

Dedektör: UV dedektör, 292 nm.

Analiz zamanı: 11 dk.

Enjeksiyon Hacmi: 20 µL



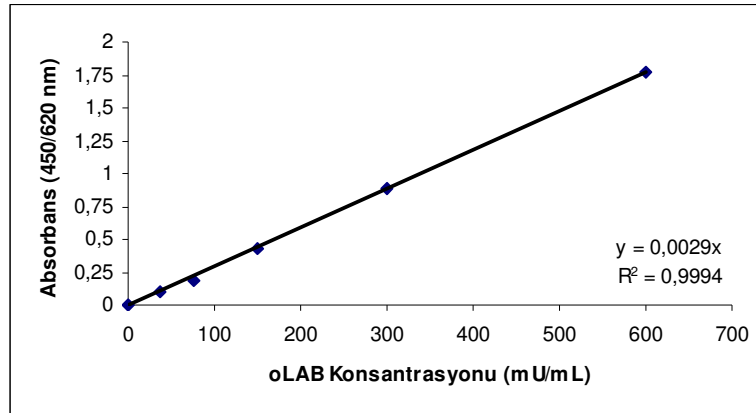
Şekil 14: Alfa-tokoferol standart grafiği.

3.2.11. Okside LDL Antikoru (oLAB) Tayini

oLAB tayini ELISA yöntemi ile oLAB kiti (BIOMEDICA, Cat No:BI-20032) kullanılarak yapılmıştır. Mikro kuyucuklar okside LDL ile kaplıdır. Eğer serumda antikor varsa antijenine özgül olarak bağlanır. Peroksidazla konjuge olmuş monoklonal anti-insan IgG antikoru ortama ilave edildikten sonra substratın (tetrametil benzidin, TMB) ortama ilave edilmesi ile oluşan rengin optik dansitesi numunedeki antikorun konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Optik dansiteler ELISA okuyucusu tarafından okunur.

Deneyin Yapılışı

1. Okside LDL kaplı mikro kuyucuklara 200 µL assay tamponu pipetlendikten sonra 1:5 oranında seyreltilen standart, kontrol ve numunelerden 20 'şer µL ilave edildi. Üzeri örtülerek 37C^o'de 90 dk. bekletildi.
2. Yıkama tamponu ile 4 kez yıkanıp, bütün kuyucuklara 100 µL HRP işaretli konjugat eklendi. Üzeri örtülerek oda sıcaklığında 30 dk. bekletildi.
3. Yıkama tamponu ile 4 kez yıkandıktan sonra bütün kuyucuklara 100 µL substrat (tetrametil benzidin, TMB) eklendi. Karanlıkta, oda sıcaklığında 15 dk. bekletildi.
4. Reaksiyonu durdurmak için 50 µL H₂SO₄ çözeltisi ilave edildi.
5. Elisa okuyucusunda 620 nm referans dalga boyu olarak seçilerek 450 nm' de optik dansiteleri okundu. Standart grafik yardımı ile oLAB miktarları mU/mL cinsinden belirlendi (Şekil 15).



Şekil 15: oLAB standart grafiği.

3.2.12. Plazma Lipid Hidroperoksit (LHP) Tayini

Ruiz ve arkadaşlarının (88) metoduna göre glutasyon peroksidaz aracılığı ile NADPH oksidasyonu sonucu meydana gelen NADPH' daki değişim spektrofotometrik olarak takip edilerek LHP tayini yapıldı (%CV=4,4).

Kullanılan Çözeltiler

1. 0,2 mM EDTA / 124 mM Tris-HCl (pH 7,6)

1,502 g Tris ve 7,44 mg EDTA, yaklaşık 90 mL deiyonize su ile çözüldü. pH'sı 1 N HCl ile 7,6'ya ayarlandı ve deiyonize su ile 100 mL'ye tamamlandı.

2. 4,25 mM GSH

6,53 mg glutasyon 5 mL çözelti 1'de çözüldü.

3. 2 mM NADPH

16,67 mg NADPH 10 mL çözelti 1'de çözüldü.

4. 10 kU/L Glutasyon Redüktaz

220 µL GR (500 U/2,2 mL) alınıp 5 mL çözelti 1'de çözüldü.

5. 16 kU/L Glutasyon Peroksidaz

160 µL glutasyon peroksidaz (200 U/mL) alınıp 2 mL çözelti 1'de çözüldü.

6. 65 g/L Albumin (BSA)

0,325 g BSA 5 mL izotonik NaCl çözeltisinde çözüldü. Bu çözelti standartları hazırlamada kullanıldı. Standartları hazırlarken BSA kullanılmasının amacı numune ile benzerliği sağlamaktır.

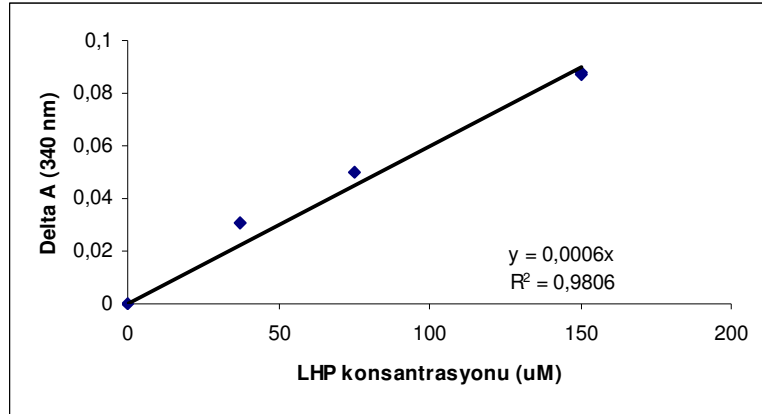
7. Standartlar

%70 t-bütilhidroperoksitten çözücü olarak çözelti 6 kullanılarak 300 µM, 150 µM, 75 µM ve 37,5 µM'lık standartlar hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

Pipetlemeler aşağıdaki tabloya göre yapıldıktan sonra tüm numunelerde, standartlarda ve körde $\Delta A = A_1 - A_2$ bulundu. Daha sonra standart grafik çizilerek numunedeki LHP miktarı belirlendi (Şekil 16).

	Kör (µL)	Numune (µL)
Numune ve Standartlar	-	200
Çözelti 1	900	700
Oda sıcaklığında 5 dk. bekletildi.		
NADPH	50	50
GSHP-x	10	10
GSH	100	100
33 °C' de 15 dk. inkübasyona bırakıldı.		
340 nm' de absorbans (A_1) takibi yapıldı.		
GR	10	10
33 °C' de 15 dk. inkübasyona bırakıldı.		
340 nm' de absorbans (A_2) takibi yapıldı.		



Şekil 16: LHP standart grafiği.

3.2.13. Serumda Nitrit ve Nitrat Tayini

Serumda nitrit miktarı Griess reaksiyonu ile belirlenirken, nitrat miktarı nitrat redüktaz enzimi ile nitrite dönüştükten sonra elde edilen toplam nitrit ve nitrat miktarından Griess reaksiyonu ile bulunan nitrit miktarı çıkarılarak bulunur (89).

Kullanılan Çözeltiler

1. ZnSO₄ (%30)

5,34 g ZnSO₄.7H₂O bir miktar distile suda çözülerek 10 mL' ye distile su ile tamamlandı.

2. 20 mM Tris-HCl (pH 7,4)

0,048 g tris bir miktar distile suda çözülerek pH HCl asit ile 7,4' e ayarlandıktan sonra 20 mL' ye distile su ile tamamlandı.

3. Fosforik asit (25 g/dL)

%85' lik fosforik asitten 146 µL alınıp 10 mL' ye distile su ile tamamlandı.

4. 1 mM FAD

4,15 mg FAD 5 mL çözelti 2' de çözüldü.

5. 10 mM NADPH

8,334 mg NADPH 1 mL çözelti 2' de çözüldü.

6. LDH (10 mg/2mL)

7. Nitrat Redüktaz (20 U/2mL)

20 U enzim 2 mL çözelti 2' de çözüldü.

8. 0,5 M Sodyum Piruvat

55 mg sodyum piruvat 1 mL distile suda çözüldü.

9. Griess Reaktifi

(1 g/L sülfanilamid, 0,1 g/L N-naftiletilediamin, 25 g/L fosforik asit)

0,05 g sülfanilamid, 0,005 g N-naftiletilediamin bir miktar distile suda çözülerek 49 mL' ye distile su ile tamamlandı ve %85' lik fosforik asitten 731 µL eklendi.

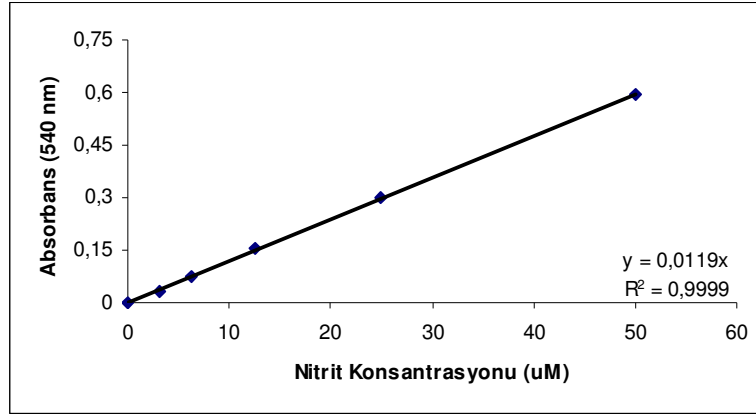
10. Standartlar

3,13, 6,25, 12,5, 25 ve 50 µM nitrit standartları NaNO₂ kullanılarak, 6,25, 12,5, 25, 50 ve 100 µM nitrat standartları KNO₃ kullanılarak hazırlandı.

3.2.13.1. Nitrit Tayini

Deneyin Yapılışı

1. 100 µL serum üzerine 300 µL distile su eklenerek 1:4 oranında seyreltildi.
2. 20 µL ZnSO₄ (%30) eklendikten sonra vortekslendi.
3. 13 000 rpm' de 5 dk. santrifüj edildi.
4. Süpernatant kısmından 100 µL alınıp mikro kuyucuklara pipetlendi. Kör olarak 25g/dL fosforik asit kullanıldı. Kör, standartlar ve numuneler mikro kuyucuklara pipetlendikten sonra bütün kuyucuklara 100 µL taze hazırlanan Griess reaktifi pipetlendi.
5. Oda sıcaklığında 10 dk. bekletildikten sonra 540 nm' de optik dansiteleri okundu. Şekil 17' deki standart grafik kullanılarak nitrit miktarları belirlendi.

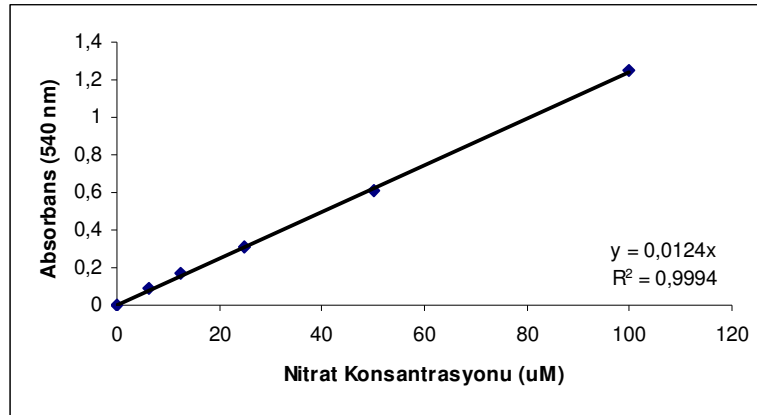


Şekil 17: Nitrit standart grafiği.

3.2.13.2. Nitrat Tayini

Deneyin Yapılışı

1. 100 µL serum üzerine 300 µL distile su eklenerek 1:4 oranında seyreltildi.
2. NADPH son konsantrasyonu 50 µM, FAD son konsantrasyonu 5 µM, nitrat redüktaz son konsantrasyonu 200 U/L olacak şekilde hazırlanan stok çözeltilerden sırası ile 2 µL, 2 µL ve 8 µL ilave edildi. Daha sonra 37 C° de 20 dk. bekletildi.
3. Sodyum piruvat son konsantrasyonu 10 mM, LDH son konsantrasyonu 10 mg/L olacak şekilde hazırlanan stok çözeltilerden sırası ile 8 µL ve 0,8 µL ilave edilerek 37 C° de 5 dk. bekletildi.
4. 20 µL ZnSO₄ (%30) eklendikten sonra vortekslendi.
5. 13 000 rpm' de 5 dk. santrifüj edildi.
6. Süpernatant kısmından 100 µL alınıp mikro kuyucuklara pipetlendi. Kör olarak 25g/dL fosforik asit kullanıldı. Kör, standartlar ve numuneler mikro kuyucuklara pipetlendikten sonra bütün kuyucuklara 100 µL taze hazırlanan Griess reaktifi pipetlendi.
7. Oda sıcaklığında 10 dk. bekletildikten sonra 540 nm' de optik dansiteleri okundu. Standart grafik kullanılarak toplam nitrit ve nitrat miktarları belirlendi (Şekil 18).



Şekil 18: Nitrat standart grafiği.

3.2.14. Toplam Antioksidan Kapasite Tayini

Serumda toplam antioksidan kapasite miktarı Erel, Ö., (90) tarafından geliştirilen toplam antioksidan kapasite tayin kiti (ABBOTT) kullanılarak belirlenmiştir. Kit prensibi şöyledir; standardize edilmiş çözeltide bulunan Fe^{++} -*o*-dianizidin kompleksi H_2O_2 ile tepkimeye girer ve $OH\cdot$ oluşur. $OH\cdot$ düşük pH' da indirgenmiş renksiz *o*-dianizidin molekülünü sarı-kahverengi renkli dianizidil radikaline yükseltir. Renk oluşumu dianizidil radikalleri arasında meydana gelen oksidasyon reaksiyonları ile artar. Numunede bulunan antioksidanlar oksidasyon reaksiyonlarını ve dolayısıyla renk oluşumunu baskılar ve bu inhibisyon spektrofotometrede takip edilir.

Kullanılan Çözeltiler

1. Reaktif 1

75 mM Clark ve Lubs çözeltisinde (pH 1,8), 10mM *o*-dianizidin ve 45 μ M Fe^{+++} dan oluşur.

2. Reaktif 2

Clark ve Lubs çözeltisinde, 7,5 mM H_2O_2 ' ten oluşur.

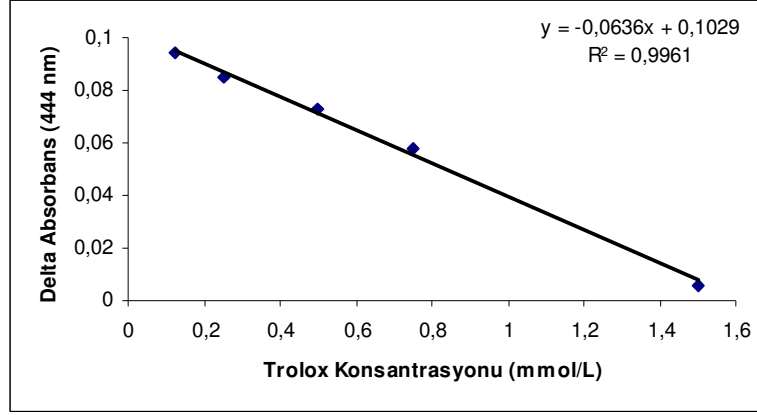
3. Standartlar

Toplam antioksidan kapasite miktarı tayininde standart olarak Trolox kullanılmıştır. 0,125, 0,25, 0,5, 0,75, 1 ve 1,5 mmol/L' lik standartlar hazırlanmıştır.

Deneyin Yapılışı

1. Mikro kuyucuklara 200 μ L reaktif 1 pipetlendikten sonra standart ve numunelerden 5'şer μ L ilave edildi. ELISA okuyucusunda 444 nm' de optik dansiteleri okundu.
2. Bütün kuyucuklara 5 μ L reaktif 2 eklendi ve 3-4 dk. sonra 444 nm' de optik dansiteleri tekrar okundu.

Birinci okumadan elde edilen absorbanstan ikinci okumada elde edilen absorbanlar çıkarılıp delta absorban bulunduktan sonra çizilen standart grafik yardımı ile serum toplam antioksidan kapasite miktarları bulundu (Şekil 19).



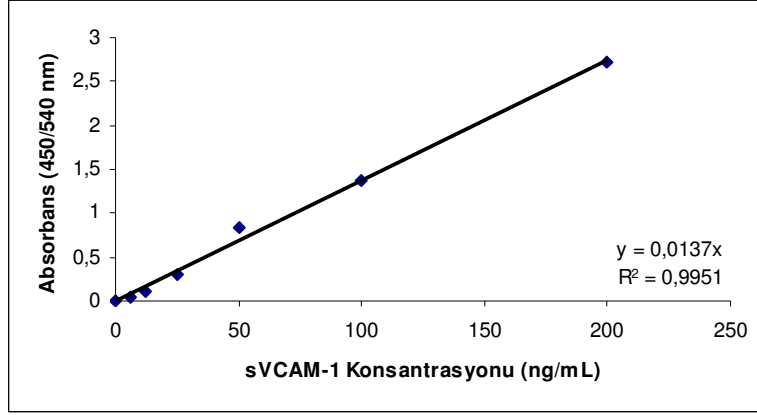
Şekil 19: Toplam antioksidan kapasite standart grafiği.

3.2.15. Serumda sVCAM-1 Tayini

sVCAM-1 miktarı sandviç ELISA yöntemi ile sVCAM-1 kiti (R&D Systems, DVC00) kullanılarak belirlenmiştir. Mikro kuyucuklar sVCAM-1'e spesifik monoklonal antikor ile kaplıdır. Serumda bulunan sVCAM-1 mikro kuyucuklara gömülü antikorla, sonradan ilave edilen enzimle işaretli monoklonal antikor arasına bağlanır. Substrat çözeltisi ortama eklendikten sonra sVCAM-1 miktarı ile doğru orantılı olarak oluşan rengin şiddeti ELISA okuyucusu tarafından okunur.

Deneyin Yapılışı

1. Mikro kuyucuklara 100 µL sVCAM-1 konjugatı pipetlendikten sonra 1:20 oranında seyreltilen numunelerden 100 µL ilave edildi. Üzeri örtülerek oda sıcaklığında 90 dk. bekletildi.
2. Yıkama tamponu ile 4 kez yıkanıp, bütün kuyucuklara 100 µL substrat çözeltisi eklendi. Üzeri örtülerek oda sıcaklığında ve karanlıkta 20 dk. bekletildi.
3. Reaksiyonu durdurmak için 50 µL H₂SO₄ çözeltisi ilave edildi.
4. Elisa okuyucusunda 540 nm referans dalga boyu olarak seçilerek 450 nm' de optik dansiteleri okundu. Standart grafik yardımı ile sVCAM-1 miktarları ng/mL cinsinden belirlendi (Şekil 20).



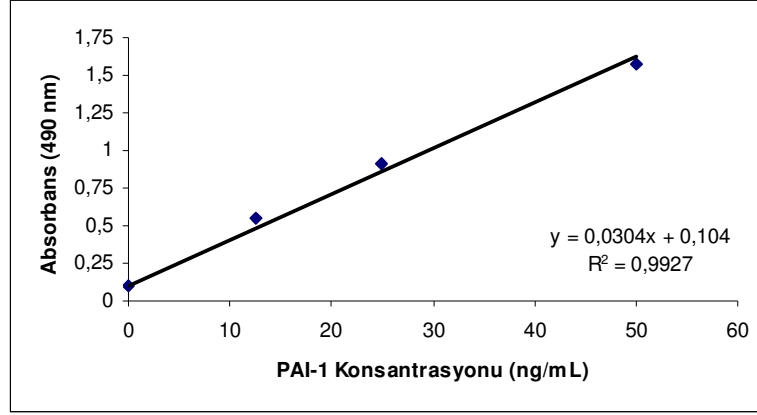
Şekil 20: sVCAM-1 standart grafiği.

3.2.16. Sitratlı Plazmada PAI-1 Tayini

PAI-1 miktarı ELISA yöntemi ile PAI-1 kiti (AMERICAN DIAGNOSTICA INC., 822) kullanılarak belirlenmiştir. Mikro kuyucuklar PAI-1'e spesifik monoklonal antikor ile kaplıdır. Numunede bulunan PAI-1 mikro kuyucuklara gömülü antikorla, sonradan ilave edilen peroksidazla konjuge olmuş keçi poliklonal antikoruna bağlanır. Substrat çözeltisi (o-fenilendiamin, OPD) ortama eklendikten sonra PAI-1 miktarı ile doğru orantılı olarak oluşan rengin şiddeti ELISA okuyucusu tarafından okunur.

Deneyin Yapılışı

1. Mikro kuyucuklara 50 µL PET (PBS-EDTA-Tween 20) tamponu pipetlendikten sonra 20 µL numune ve standart ilave edildi. Üzeri örtülerek oda sıcaklığında orbital çalkalayıcıda (500-600 rpm) 60 dk. inkübasyona bırakıldı.
2. Bütün kuyucuklara 50 µL antikor konjugatı eklendi. Üzeri örtülerek oda sıcaklığında orbital çalkalayıcıda (500-600 rpm) 60 dk. inkübasyona bırakıldı.
3. Yıkama tamponu ile 4 kez yıkayıp, bütün kuyucuklara 200 µL substrat çözeltisi eklendi. Üzeri örtülerek oda sıcaklığında orbital çalkalayıcıda (500-600 rpm) 12 dk. inkübasyona bırakıldı.
4. Reaksiyonu durdurmak için 50 µL H₂SO₄ çözeltisi ilave edildi.
5. Elisa okuyucusunda 490 nm' de optik dansiteleri okundu. Standart grafik yardımı ile PAI-1 miktarları ng/mL cinsinden belirlendi (Şekil 21).



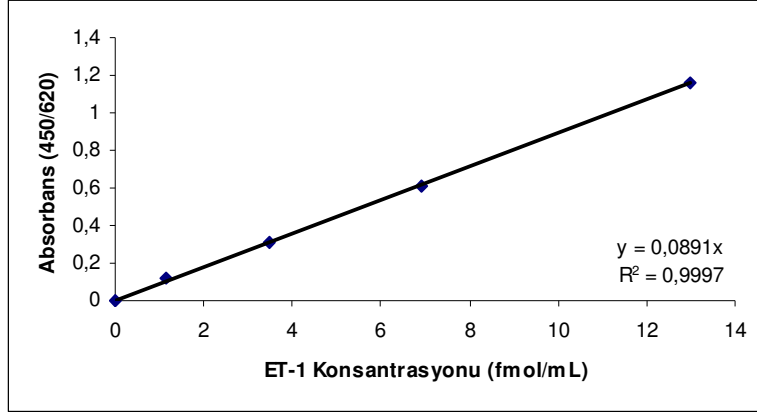
Şekil 21: PAI-1 standart grafiği.

3.2.17. Plazmada ET-1 Tayini

ET-1 tayini ELISA yöntemi ile ET-1 kiti (BIOMEDICA, Cat No:BI-20052) kullanılarak yapılmıştır. Mikro kuyucuklar poliklonal anti-endotelin antikoru ile kaplıdır. Numunede bulunan ET-1 mikro kuyucuklara gömülü antijenine bağlanır. Daha sonra ortama dedektör antikoru (monoklonal fare anti-endotelin antikoru) ve ardından peroksidazla konjuge olmuş anti-fare IgG antikoru ilave edilir. Substrat çözeltisi (TMB) ortama eklendikten sonra ET-1 miktarı ile doğru orantılı olarak oluşan rengin şiddeti ELISA okuyucusu tarafından okunur.

Deneyin Yapılışı

1. Mikro kuyucuklara 200 µL standart, kontrol ve numuneler pipetlendikten sonra 50 µL monoklonal fare anti-endotelin antikoru ilave edildi. Üzeri örtülerek oda sıcaklığında 16-24 saat bekletildi.
2. Yıkama tamponu ile 5 kez yıkayıp, bütün kuyucuklara 200 µL HRP işaretli konjugat eklendi. Üzeri örtülerek 37 C° de, çalkalayıcıda 60 dk. bekletildi.
3. Yıkama tamponu ile 5 kez yıkandıktan sonra bütün kuyucuklara 200 µL substrat eklendi. Karanlıkta, oda sıcaklığında 30 dk. bekletildi.
4. Reaksiyonu durdurmak için 50 µL H₂SO₄ çözeltisi ilave edildi.
5. Elisa okuyucusunda 620 nm referans dalga boyu olarak seçilerek 450 nm' de optik dansiteleri okundu. Standart grafik yardımı ile ET-1 miktarları fmol/mL cinsinden belirlendi (Şekil 22).



Şekil 22: ET-1 standart grafiği.

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. Normal dağılıma uymayan parametrelere önce “Friedman” testi uygulandı, anlamlı bulunan parametreler için “Wilcoxon” testi yapıldı. Grup içi parametreler arasındaki ilişki ve yüzde değişimler arasındaki ilişki “Pearson” veya “Spearman” korelasyon testi kullanılarak incelendi. $p \leq 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. “Tekrarlı ölçümlerde tek yönlü varyans analizi” yapılarak değerlendirilen parametreler için “F” değerleri, “Friedman” testi uygulanan parametreler için “ χ^2 ” değerleri verilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Çalışma Grubunun Demografik Verileri ve Başlangıç, 15.Gün ve 30.Güne Ait Parametrelerin Ortalama Değerleri

Çalışma grubuna ait demografik veriler tablo 4' te sunulmuştur. Çalışmada yer alan bireylerin vücut kitle indeksleri başlangıç değerleri ile karşılaştırıldığında herhangi bir değişim gözlenmemiştir (F=2,07, p=0,17).

Tablo 4: Çalışma grubuna ait demografik veriler.

	Yaş (yıl)	Cinsiyet (K/E)	Vücut Kitle İndeksi (kg/m ²)		
			Başlangıç	15.gün	30.gün
n=21	28 ± 5	13/8	23,89 ± 3,52	23,94 ± 3,49	23,98 ± 3,48

Çalışma grubuna ait rutin biyokimya parametreleri tablo 5' te görülmektedir. ALT, AST, BUN, glukoz, bilirübin, protein, kreatinin ve ürik asit değerlerinde başlangıç, 15. gün ve 30. gün numunelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Albümin değerlerinde ise başlangıç değerlerine göre sadece 15. gündeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Tablo 6' da görüldüğü üzere serum total kolesterol ve apo B düzeylerinde 30. günde istatistiksel olarak anlamlı bir azalış gözlenmiştir. Apo AI düzeylerinde 15. günde istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilirken, 30. günde gözlenen artış anlamlı bulunmamıştır. Apo B/apo AI oranları hem 15. hem de 30. günde başlangıç değerlerine göre anlamlı derecede azalmıştır. LDL-K ve TG düzeylerinde bir azalma görülse de istatistiksel olarak anlamlı değildir. HDL-K ve Lp(a) düzeylerinde belirgin bir değişiklik tespit edilmemiştir. LDL' nin lipid analizinde LDL-TK ve LDL-TG düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır.

Lipoprotein ve LDL alt gruplarının ortalama değerleri ve anlamlılıkları tablo 7' de verilmiştir. Lipoprotein alt gruplarından VLDL, üç IDL alt grubu (IDL-C,-B,-A) ve yedi LDL alt grubu (LDL-1,-2,-3,-4,-5,-6,-7) ve bunların toplamını ifade eden toplam LDL, LDL partükül büyüklüğü ve HDL tek bir sistem üzerinde (Lipoprint Sistem) analiz edilmiştir. Dolaşımdaki trigliseridin büyük bir kısmını taşıyan VLDL giderek artan bir azalma göstermiş, 30. günde tespit edilen azalış başlangıç değerine göre anlamlı bulunmuştur. Orta yoğunluklu lipoprotein alt gruplarından sadece IDL-C' de anlamlı bir azalış gözlenmiştir. LDL alt gruplarına bakıldığında LDL-4 çalışma grubundaki bireylerin çok azında tespit edilirken, LDL-5, LDL-6 ve LDL-7 hiç tespit edilmemiş ve LDL-4 değerlerinde gözlenen değişimler anlamsız bulunmuştur. Toplam LDL' nin büyük bir kısmını oluşturan LDL-1 ve LDL-2 değerlerinde anlamlı azalmalar saptanmıştır. LDL-1 hem 15. hem de 30. günde anlamlı derecede azalırken, LDL-2 sadece 30. günde anlamlı derecede azalmıştır. Tüm LDL alt gruplarını içeren toplam LDL miktarında da anlamlı bir azalış gözlenmiştir. LDL partükül büyüklüğü her üç dönemde de değişmeden kalmıştır. Toplam kolesterol, lipoproteinler ve LDL alt gruplarındaki kolesterol değerleri için NCEP ATP III kriterlerine göre referans aralıkları tablo 8' de mg/dL cinsinden verilmiştir (103).

Tablo 5: Çalışma grubunun 3 döneme ait rutin biyokimya parametreleri.

	Başlangıç	15. Gün	30. Gün	P	F*	χ^2**
Albümin (g/dL)	4,41 ± 0,38	4,74 ± 0,32 ^a	4,53 ± 0,39	0,01	5,60	-
ALT (U/L)	18,2 ± 12,9	18,9 ± 12,9	18,1 ± 15,4	0,45	-	1,61
AST (U/L)	19,3 ± 5,7	18,2 ± 4,9	18,9 ± 7,5	0,52	0,67	-
Kreatinin (mg/dL)	0,73 ± 0,17	0,73 ± 0,14	0,75 ± 0,12	0,48	0,52	-
Glukoz (mg/dL)	81,8 ± 6,6	83,0 ± 6,1	83,2 ± 6,2	0,74	0,30	-
Bilirübin (mg/dL)	0,86 ± 0,30	0,80 ± 0,37	0,79 ± 0,24	0,43	0,89	-
Protein (g/dL)	7,54 ± 0,45	7,40 ± 0,42	7,45 ± 0,37	0,44	0,87	-
Ürik asit (mg/dL)	4,32 ± 1,01	4,50 ± 1,23	4,46 ± 1,50	0,55	0,62	-
BUN (mg/dL)	12,7 ± 3,5	11,5 ± 4,3	11,7 ± 3,4	0,31	1,26	-

p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, a; başlangıç ve 30. güne göre anlamlıdır.

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

**“Friedman analizi” ne göre “p” ve “ χ^2 ” değerleri.

Tablo 6: Çalışma grubunun 3 döneme ait serum ve lipoprotein lipid parametreleri.

	Başlangıç	15. Gün	30. Gün	P	F*	χ^{2**}
TK (mg/dL)	162 ± 23	152 ± 28	148 ± 24 ^a	0,001	11,89	-
TG (mg/dL)	89 ± 59	86 ± 52	81 ± 46	0,29	-	2,48
HDL-K (mg/dL)	54 ± 12	55 ± 12	55 ± 12	0,65	0,45	-
LDL-K (mg/dL)	105 ± 25	100 ± 31	102 ± 28	0,46	0,81	-
TK (mg/mg LDL protein)	0,81 ± 0,14	0,82 ± 0,17	0,85 ± 0,20	0,50	0,73	-
TG (mg/mg LDL protein)	0,189 ± 0,04	0,192 ± 0,06	0,190 ± 0,05	0,98	0,02	-
Apo AI (mg/dL)	135 ± 18	149 ± 25 ^a	141 ± 21	0,01	5,83	-
Apo B (mg/dL)	78 ± 20	73 ± 19	71 ± 18 ^a	0,02	4,74	-
Apo B/Apo AI	0,59 ± 0,20	0,50 ± 0,15 ^a	0,52 ± 0,17 ^a	0,01	8,55	-
Lp(a) (mg/dL)	22 ± 18	21 ± 18	22 ± 20	0,10	-	4,67

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

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

**“Friedman analizi” ne göre “p” ve “ χ^2 ” değerleri.

Tablo 7: Çalışma grubunda 3 döneme ait lipoprotein ve LDL alt gruplarındaki kolesterol değerleri ve LDL partükül büyüklüğü.

	Başlangıç	15. Gün	30. Gün	P	F*	χ^{2**}
VLDL (mg/dL)	21,81 ± 7,85	20,05 ± 7,15	19,62 ± 6,79 ^a	0,02	6,78	-
IDL-C (mg/dL)	11,76 ± 4,55	10,38 ± 4,19	10,33 ± 3,90 ^a	0,01	8,00	-
IDL-B (mg/dL)	12,29 ± 3,42	12,62 ± 9,14	11,67 ± 3,14	0,32	1,04	-
IDL-A (mg/dL)	14,52 ± 3,44	13,71 ± 8,27	14,95 ± 4,69	0,65	0,21	-
LDL-1 (mg/dL)	33,52 ± 9,93	27,81 ± 10,47 ^a	30,00 ± 10,31 ^a	0,03	5,39	-
LDL-2 (mg/dL)	15,14 ± 7,55	13,71 ± 8,67	12,76 ± 7,01 ^a	0,01	7,76	-
LDL-3 (mg/dL)	2,67 ± 1,46	2,86 ± 2,10	2,48 ± 1,79	0,51	0,46	-
LDL-4 (mg/dL)	0,29 ± 0,56	0,48 ± 0,81	0,24 ± 0,62	0,74	-	0,60
Toplam LDL (mg/dL)	90 ± 26	83 ± 26	83 ± 24 ^a	0,04	4,95	-
LDL partükül büyüklüğü (A°)	271 ± 1,7	270 ± 2,6	271 ± 2,4	0,77	0,09	-
HDL (mg/dL)	53 ± 9	52 ± 8	51 ± 9	0,11	2,89	-

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

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

**“Friedman analizi” ne göre “p” ve “ χ^2 ” değerleri.

Tablo 8: NCEP ATP III kriterlerine göre lipoproteinler ve LDL alt gruplarındaki kolesterol değerleri için mg/dL cinsinden referans aralıkları (103).

VLDL	Orta bantlar			LDL alt grupları			Toplam LDL	HDL	TK
	IDL-C	IDL-B	IDL-A	LDL-1	LDL-2	LDL-3			
4,7 - 22,1	10,9-22,1	5,3 - 14,9	8,1 - 25,1	25,4-56,8	0,7 - 28,6	0 - 3,6	62,5 - 128,8	40 - 79,4	131,2-200

Tablo 9: Çalışma grubunun 3 döneme ait LDL oksidasyon kapasitesi parametreleri.

	Başlangıç	15. Gün	30. Gün	P	F*	χ^{2**}
t-lag (dk.)	54,6 ± 12	60 ± 15 ^a	65 ± 18 ^a	0,001	15,61	-
DKH ^a	10,3 ± 2,9	10,0 ± 3,6	10,3 ± 2,8	0,98	0,001	-
MDK ^b	385 ± 109	375 ± 114	374 ± 99	0,41	-	1,81
t-max (dk.)	104 ± 21	114 ± 29	116 ± 33 ^a	0,05	4,23	-

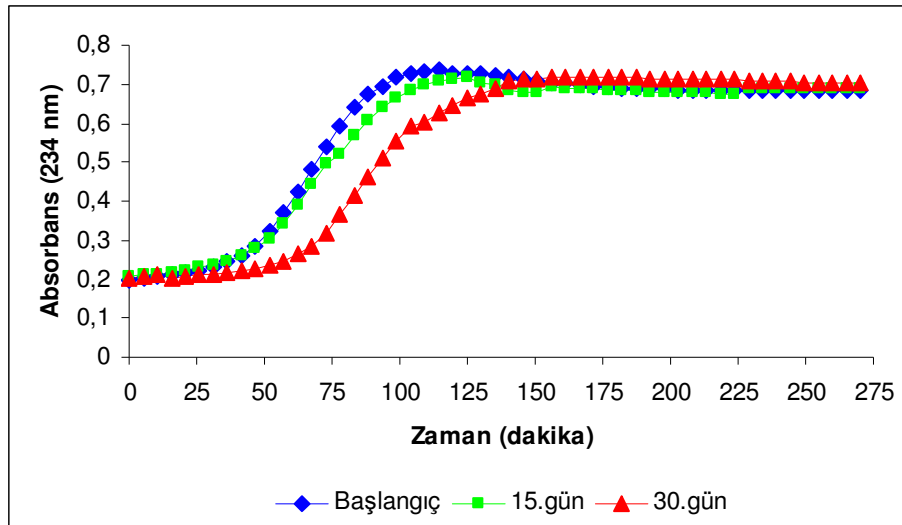
p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, a; başlangıç değerine göre anlamlıdır.

^anmol/dk/mg LDL protein, ^bnmol/mg LDL protein.

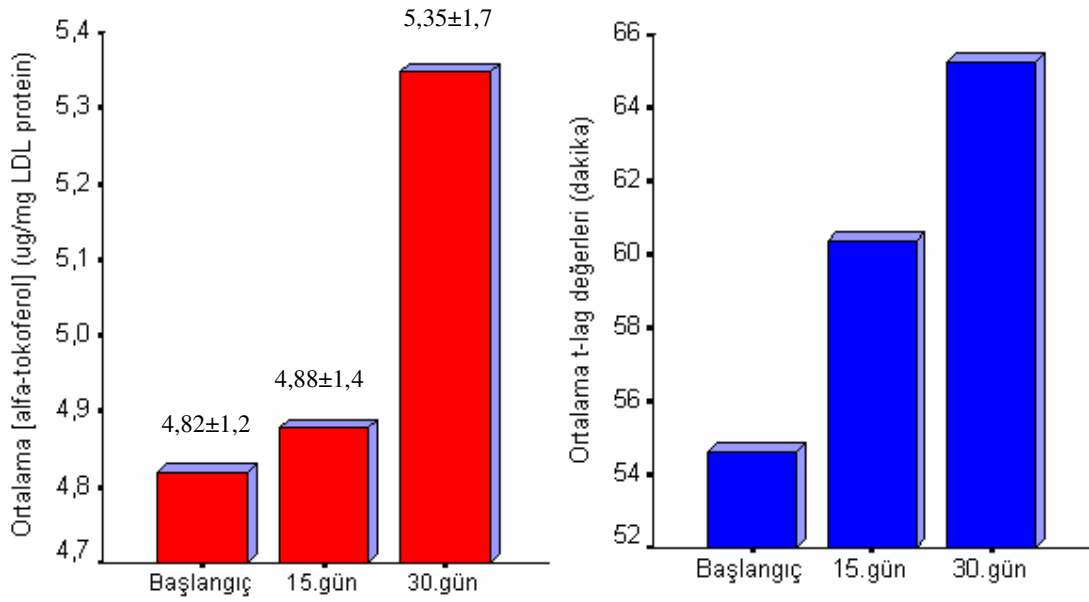
*“Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi” ne göre “p” ve “F” değerleri.

**“Friedman analizi” ne göre “p” ve “ χ^2 ” değerleri.

LDL oksidasyonunun başlangıcı olan gecikme fazı uzunluğu (t-lag) 15. ve 30. günde başlangıç değerlerine göre anlamlı derecede artmıştır. Maksimum absorbansa ulaşmak için geçen süre başlangıç değerlerine göre 30. günde anlamlı derecede artmıştır. Dien konjugasyon hızı ve maksimum dien konsantrasyonu 15. günde ve 30. günde başlangıç değerlerine ve birbirlerine göre anlamlı bir değişim göstermemiştir (Tablo 9). Ortalama absorbans değerleri alınarak çizilen bakır ile LDL oksidasyonu kinetiğini gösteren aşağıdaki grafikte 30. günde t-lag ve t-max’ daki uzama açıkça görülmektedir (Şekil 23).



Şekil 23: Bakır ile LDL oksidasyon kinetiği.



Şekil 24: LDL' de ölçülen α -tokoferol miktarları ve t-lag değerleri.

Şekil 24' te görüldüğü üzere LDL' de ölçtüğümüz α -tokoferol miktarları, t-lag değerleri gibi artış trendi göstermiştir. Fakat sadece 30. günde gözlenen artış başlangıç ve 15. güne göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (sırasıyla $p=0,017$ ve $p=0,049$). Başlangıç ve 15. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir ($p=0,74$).

Tablo 10: Çalışma grubunun 3 dönemdeki LDL ve oxLDL' ye ait TBARS değerleri.

	Başlangıç	15. Gün	30. Gün	P	F
TBARS-LDL (nmol/mg LDL protein)	24,58 ± 5,42	25,93 ± 8,44	26,48 ± 6,87	0,26	1,32
TBARS-oxLDL (nmol/mg LDL protein)	65,01 ± 11,84	63,29 ± 17,68	62,60± 13,97	0,54	0,39

TBARS miktarları doğal LDL' de ve Cu^{+2} ile 24 saat inkübasyona bırakılarak okside olan LDL' de belirlenmiştir. Hem doğal LDL' de hem de okside LDL' de belirlenen TBARS miktarlarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir (Tablo 10).

Tablo 11: Çalışma grubunun 3 döneme ait LHP, TAS ve oLAB değerleri.

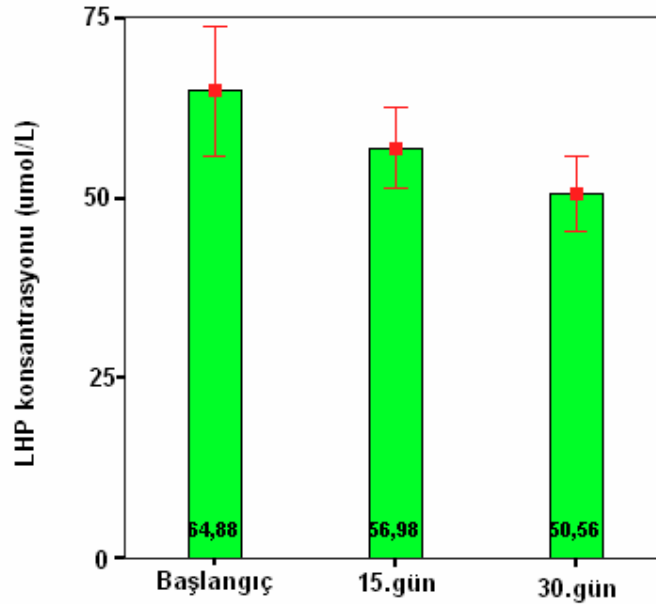
	Başlangıç	15. Gün	30. Gün	P	F*	χ^{2**}
LHP ($\mu\text{mol/L}$)	65,5 \pm 20,2	56,9 \pm 12,5	50,5 \pm 11,4 ^a	0,002	12,24	-
TAS (mmol/L)	0,69 \pm 0,18	0,67 \pm 0,22	0,63 \pm 0,33	0,37	0,85	-
oLAB (mU/mL)	1762 \pm 1469	1719 \pm 1437	1829 \pm 1586	0,98	-	0,02

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

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

**“Friedman analizi” ne göre “p” ve “ χ^2 ” değerleri.

Plazma LHP düzeyleri karşılaştırıldığında 30. günde gözlenen azalış anlamlıdır. Her ne kadar 15. günde de bir azalış tespit edilse de istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 25). TAS ve oLAB değerleri tablodan da görüldüğü üzere büyük ölçüde değişmemiştir (Tablo 11).



Şekil 25: Plazma lipid hidroperoksit (LHP) konsantrasyonları.

Tablo 12: Çalışma grubunun 3 döneme ait endotel hücre kaynaklı biyokimyasal parametreleri.

	Başlangıç	15. Gün	30. Gün	P	F*
sVCAM-1 (ng/mL)	915 ± 310	947 ± 454	914 ± 373	0,998	0,001
PAI-1 (ng/mL)	40,46 ± 10,7	40,91 ± 10,6	45,18 ± 11,3	0,11	2,82
ET-1 (fmol/mL)	5,47 ± 3,93	8,11 ± 6,06 ^a	8,51 ± 5,03 ^a	0,001	19,04
Nitrit&Nitrat (µmol/L)	11,59 ± 4,01	12,40 ± 3,45	12,40 ± 4,34	0,58	0,31
Nitrit (µmol /L)	2,63 ± 1,90	3,63 ± 3,15	5,47 ± 5,16 ^a	0,03	5,23
Nitrat (µmol /L)	8,96 ± 4,36	8,78 ± 4,70	6,93 ± 3,74	0,17	2,05

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

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

Endotel fonksiyon parametrelerinden biri olan nitrik oksit düzeyini yansıtan nitrit ve nitrat miktarlarına bakıldığında nitrit miktarı 30. günde anlamlı derecede artarken, nitrat miktarında ne 15. günde ne de 30. günde değişim gözlenmemiştir. Toplam nitrit ve nitrat miktarı da değişmemiştir. ET-1 düzeyi ise hem 15. hem de 30. günde artış göstermiş, sVCAM-1 ve PAI-1 düzeyleri anlamlı oranda değişmemiştir (Tablo 12).

4.2. Çalışma Grubuna Ait Parametrelerin Yüzde Değişimleri Arasındaki Korelasyonlar

15.günde ve 30. günde elde edilen parametrelerin başlangıç değerlerine göre yüzde olarak ne kadar değişim gösterdiği ve farklı parametrelerde gözlenen değişimlerin birbirlerini nasıl etkilediğini tespit etmek için başlangıç ile 15.gün, başlangıç ile 30.gün, 15.gün ile 30. gün parametrelerinin farklarının yüzdesi alınarak korelasyon yapılmıştır.

4.2.1. Başlangıç ve 15. Gün Yüzde Değişimleri Arasındaki Korelasyonlar

LDL oksidasyon kapasitesi parametrelerinden t-lag ve t-max arasında oldukça güçlü pozitif korelasyon gözlenmiştir ($r=0,95$, $p<0,001$). t-lag, DKH ve apo B/apo A1 oranı ile negatif (sırasıyla $r=-0,53$ ve $r=-0,56$, $p<0,05$), ve t-max, apo B ve apo B/apo A1 oranı ile yine negatif (sırasıyla $r=-0,48$, $p<0,05$ ve $r=-0,60$, $p<0,01$) korelasyon göstermiştir. DKH ve t-max arasında negatif korelasyon ($r=-0,60$, $p<0,01$), DKH ile MDK ve LDL-TG arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (sırasıyla $r=0,61$, $p<0,01$ ve $r=0,47$, $p<0,05$). MDK' nun negatif korelasyon gösterdiği parametreler vardır fakat istatistiksel olarak anlamlı değildir, istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon gösterdiği parametreler ise şunlardır; LDL-TG ($r=0,45$, $p<0,05$), LDL-TK ($r=0,53$, $p<0,05$), IDL-A ($r=0,57$, $p<0,01$), LDL-3 ($r=0,48$, $p<0,05$). TK beklenildiği gibi LDL-K ($r=0,90$, $p<0,01$), LDL-TK ($r=0,53$, $p<0,05$), apo B ($r=0,87$, $p<0,01$), apo B/apo A1 ($r=0,47$, $p<0,05$) ile pozitif korelasyon göstermiştir. Bunlara ilaveten TK lipoprotein alt gruplarından LDL-1 ($r=0,43$, $p<0,05$), LDL-3 ($r=0,49$, $p<0,05$) ve 7 LDL alt grubunun toplamı olan toplam LDL ($r=0,56$, $p<0,01$) ile de pozitif korelasyon göstermiştir. LDL-K ile LDL-TK ($r=0,65$, $p<0,01$), apo B ($r=0,81$, $p<0,01$), toplam nitrit ve nitrat ($r=0,47$, $p<0,05$) ve lipoprotein alt gruplarından LDL-1 ($r=0,45$, $p<0,05$), LDL-3 ($r=0,49$, $p<0,05$) ve toplam LDL ($r=0,57$, $p<0,01$) ile pozitif korelasyon göstermiştir, LDL-1 ve LDL-3 için korelasyon grafikleri şekil 26' da verilmiştir. Direk kimyasal yöntem ile tayini yapılan HDL kolesterol ve Lipoprint sistemde tayini yapılan HDL kolesterol arasında, sırasıyla HDL-K ve HDL olarak gösterilmiştir, pozitif korelasyon tespit edilmiştir ($r=0,49$, $p<0,05$). Ayrıca HDL-K ve HDL, apo A1 ile pozitif (sırasıyla $r=0,72$, $p<0,001$ ve $r=0,47$, $p<0,05$), serumda ve LDL' de ölçülen TG değerleri ile negatif korelasyon göstermiştir (sırasıyla $r=-0,56$, $p<0,01$) ve ($r=-0,50$, $p<0,05$). TG ile apo A1 arasında negatif ($r=-0,44$, $p<0,05$), LDL-TG ($r=0,61$, $p<0,01$) ve VLDL ($r=0,52$, $p<0,05$) arasında pozitif korelasyon gözlenmiştir. Apo

B, apo B/apo A1 ($r=0,67$, $p<0,01$), toplam nitrit ve nitrat ($r=0,44$, $p<0,05$) ve lipoprotein alt gruplarından LDL-1 ($r=0,47$, $p<0,05$), LDL-2 ($r=0,58$, $p<0,01$), LDL-3 ($r=0,68$, $p<0,01$) ve toplam LDL ($r=0,50$, $p<0,05$) ile pozitif korelasyon göstermiştir. Apo B ile lipoprotein alt grupları arasındaki korelasyon grafikleri şekil 27' de verilmiştir. apo B/apo A1 oranı ile LDL partükül büyüklüğü arasında negatif ($r=-0,48$, $p<0,05$, şekil 31.a), oLAB arasında pozitif ($r=0,45$, $p<0,05$) korelasyon bulunmuştur. VLDL ile orta bantlar (IDL-C, IDL-B ve IDL-A, sırasıyla $r=0,75$, $r=0,73$ ve $r=0,73$, $p<0,001$) ve toplam LDL ($r=0,48$, $p<0,05$) arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. IDL-C, IDL-B ($r=0,87$, $p<0,01$) ve IDL-A ($r=0,79$, $p<0,01$) birbirleri ve toplam LDL ($p<0,01$) ile pozitif korelasyon göstermiştir. IDL-C ve IDL-B, LDL partükül büyüklüğü ile pozitif korelasyon gösterirken (sırasıyla $r=0,44$ ve $r=0,53$, $p<0,05$), IDL-B, LDL-1 ile negatif korelasyon göstermiştir ($r=-0,47$, $p<0,05$). LDL-1, LDL-2 ($r=0,62$, $p<0,01$) ve LDL-3 ($r=0,60$, $p<0,01$) birbirleriyle ve LDL-1 toplam LDL ($r=0,43$, $p<0,05$) ile pozitif, LDL-2 ve LDL-3 LDL partükül büyüklüğü ile negatif korelasyon göstermiştir (şekil 32). oLAB ile LDL partükül büyüklüğü arasında negatif ($r=-0,51$, $p<0,05$), LHP arasında pozitif korelasyon ($r=0,52$, $p<0,05$) saptanmıştır, oLAB için korelasyon grafikleri şekil 37.a, 37.b ve 37.c' de verilmiştir. Toplam nitrit ve nitrat, alfa-tokoferol ($r=0,53$, $p<0,05$, şekil 39.a) ve nitrat ($r=0,75$, $p<0,001$) ile pozitif korelasyon gösterirken, nitrit ve nitrat aralarında negatif korelasyon göstermiştir ($r=-0,48$, $p<0,05$).

4.2.2. Başlangıç ve 30. Gün Yüzde Değişimleri Arasındaki Korelasyonlar

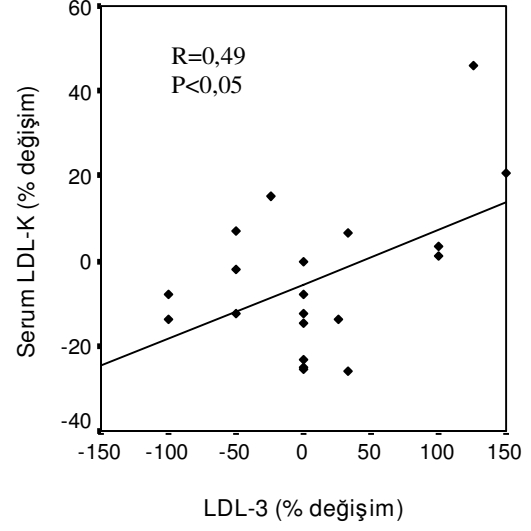
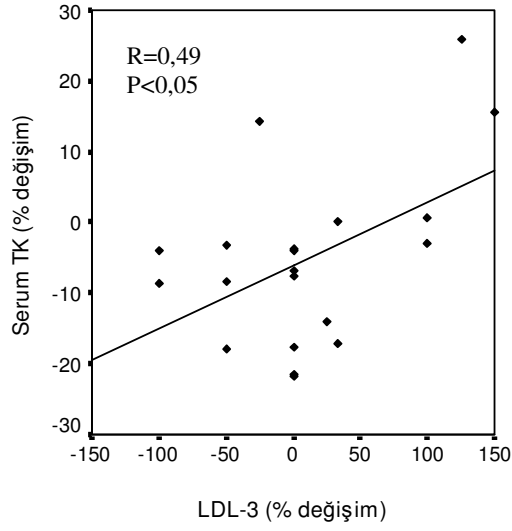
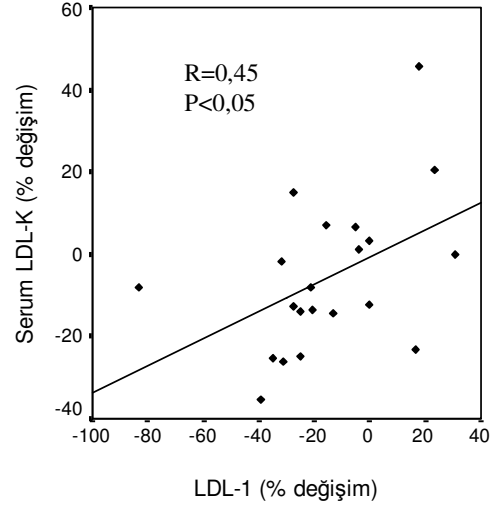
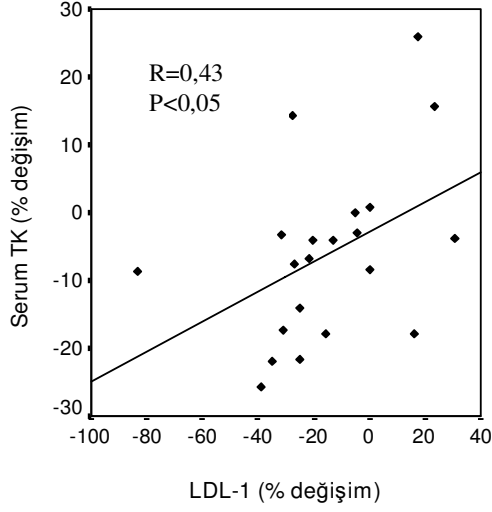
LDL oksidasyon kapasitesi parametrelerinden t-lag ve t-max birbirleri ile oldukça güçlü pozitif korelasyon gösterirken ($r=0,97$, $p<0,001$), her iki parametre LDL-TK ile yine pozitif korelasyon göstermiştir (sırasıyla $r=0,44$ ve $r=0,50$, $p<0,05$). DKH ve MDK arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ($r=0,62$, $p<0,01$). TK ile apo B arasında pozitif ($r=0,68$, $p<0,01$), TAS arasında negatif korelasyon tespit edilmiştir ($r=-0,52$, $p<0,05$). LDL-K, LDL-2 ($r=0,46$, $p<0,05$), LDL-3 ($r=0,48$, $p<0,05$) ve ET-1 ($r=0,49$, $p<0,05$) ile pozitif, LDL partükül büyüklüğü ile negatif korelasyon göstermiştir ($r=-0,45$, $p<0,05$, şekil 30.a). HDL-K ile apo A1 ve LDL partükül büyüklüğü arasında pozitif (sırasıyla $r=0,67$, $p<0,001$ ve $r=0,47$, $p<0,05$, şekil 30.b), bunun yanında apo A1 ile LDL partükül büyüklüğü arasında pozitif ($r=0,46$, $p<0,05$), HDL-K ile TG ($r=-0,64$, $p<0,01$), apo B/apo A1 ($r=-0,60$, $p<0,01$) ve LDL-3 ($r=-0,55$, $p<0,05$) değerleri arasında negatif korelasyon gözlenmiştir. Şekil 28 ve 29' da LDL-2 ve LDL-3 için korelasyon grafikleri verilmiştir. TG ile apo A1

($r=-0,53$, $p<0,05$), LDL-TK ($r=-0,53$, $p<0,05$), IDL-A ($r=-0,51$, $p<0,05$) ve LDL partükül büyüklüğü ($r=-0,56$, $p<0,05$) arasında negatif, TG ile LDL-2 ($r=0,51$, $p<0,05$) ve PAI-1 ($r=0,50$, $p<0,05$) arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. apo B/apo A1 oranı, apo AI ile negatif ($r=-0,75$, $p<0,001$), apo B ile pozitif korelasyon göstermiştir ($r=0,70$, $p<0,001$). apo B, apo B/apo AI ($r=0,70$, $p<0,001$), LDL-2 ($r=0,56$, $p<0,05$) ve LDL-3 ($r=0,50$, $p<0,05$) arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. IDL-C, LDL-1 ($r=0,61$, $p<0,01$) ve LDL-2 ($r=0,44$, $p<0,05$) ile pozitif korelasyon, IDL-B, IDL-A ile pozitif ($r=0,74$, $p<0,001$), alfa-tokoferol ile negatif ($r=-0,45$, $p<0,05$), IDL-A, LDL-2 ile negatif korelasyon göstermiştir ($r=-0,59$, $p<0,01$). LDL-1 ve LDL-4 arasında negatif ($r=-0,46$, $p<0,05$), LDL-1, LDL partükül büyüklüğü ($r=0,45$, $p<0,05$) ve oLAB ($r=0,48$, $p<0,05$) arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. LDL-2 ve LDL-3 aralarında pozitif korelasyon göstermiştir ($r=0,76$, $p<0,001$). Toplam LDL, IDL-C ($r=0,51$, $p<0,05$), IDL-B ($r=0,72$, $p<0,05$), IDL-A ($r=0,49$, $p<0,05$), LDL-1 ($r=0,57$, $p<0,01$) ve oLAB ($r=0,56$, $p<0,05$, şekil 38.a) arasında pozitif korelasyon gözlenmiştir. LDL partükül büyüklüğü ile LDL-2 ($r=-0,61$, $p<0,01$), LDL-3 ($r=-0,68$, $p<0,01$) ve LDL-4 ($r=-0,54$, $p<0,05$) arasında negatif, HDL ($r=0,47$, $p<0,05$) arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir, LDL partükül büyüklüğü için korelasyon grafikleri şekil 31.b, 31.c ve 33' te verilmiştir. Toplam nitrit ve nitrat ile alfa-tokoferol arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ($r=0,56$, $p<0,05$, şekil 39.b).

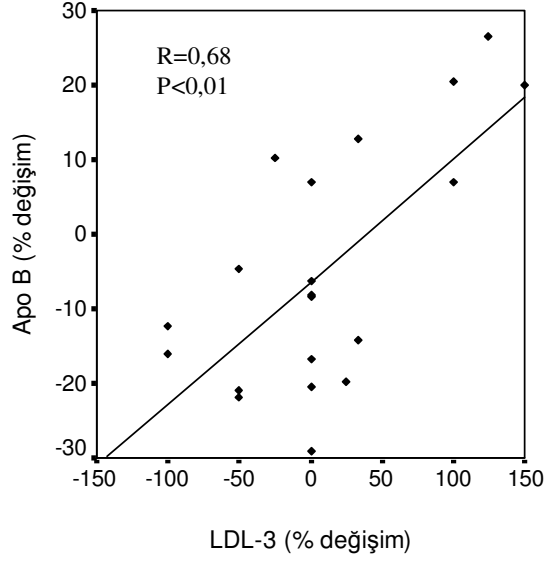
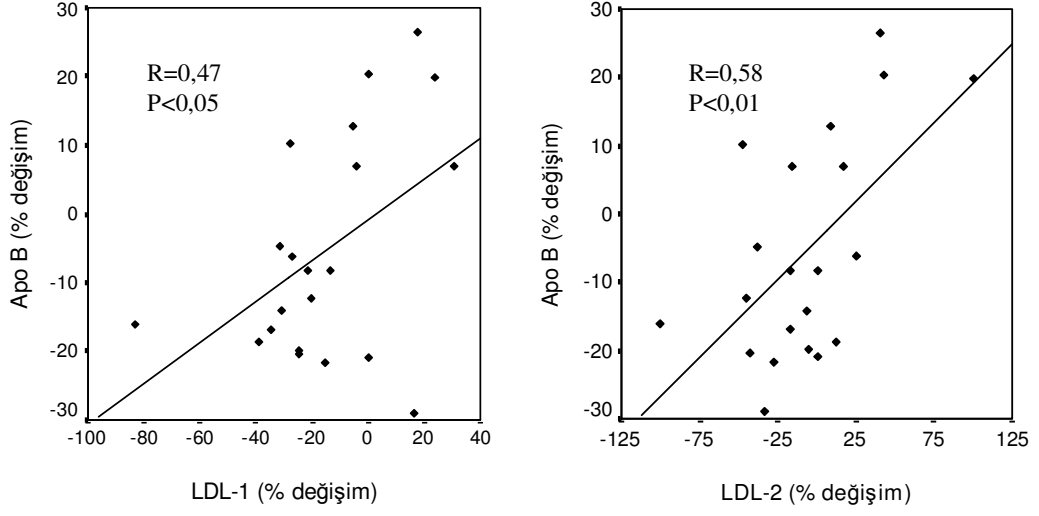
4.2.3. 15. Gün ve 30. Gün Yüzde Değişimleri Arasındaki Korelasyonlar

LDL oksidasyon kapasitesi parametreleri birbirleri ile oldukça anlamlı korelasyonlar göstermiştir. t-lag ve t-max ($r=0,91$, $p<0,001$), DKH ve MDK arasında oldukça güçlü pozitif korelasyon ($r=0,98$, $p<0,001$), t-lag ve t-max ile DKH ($r=-0,53$, $p<0,05$ ve $r=-0,64$, $p<0,01$) ve MDK ($r=-0,53$, $p<0,05$ ve $r=-0,62$, $p<0,01$) arasında negatif korelasyon tespit edilmiştir. LDL-TG, DKH ($r=0,46$, $p<0,05$), MDK ($r=0,45$, $p<0,05$) ve IDL-A ($r=0,44$, $p<0,01$) ile pozitif korelasyon göstermiştir. VLDL, IDL-A ve PAI-1 değerleri, DKH (sırasıyla $r=0,62$, $p<0,01$, $r=0,96$, $p<0,01$ ve $r=0,49$, $p<0,05$) ve MDK (sırasıyla $r=0,59$, $p<0,01$, $r=0,96$, $p<0,01$ ve $r=0,51$, $p<0,05$) ile pozitif, t-max ile VLDL ve IDL-A negatif korelasyon gösterirken (sırasıyla $r=-0,43$, $p<0,05$ ve $r=-0,63$, $p<0,01$, şekil 35), t-lag ile IDL-A ($r=-0,50$, $p<0,05$) ve PAI-1 ($r=-0,44$, $p<0,05$) değerleri negatif korelasyon göstermiştir (şekil R14). Beklenildiği gibi TK ve LDL-K ile apo B (sırasıyla $r=0,86$, $p<0,01$ ve $r=0,44$, $p<0,05$) ve apo B/apo A1 (sırasıyla $r=0,66$, $p<0,01$ ve $r=0,45$, $p<0,05$) oranı arasında pozitif korelasyon, TK ve toplam LDL arasında yine pozitif

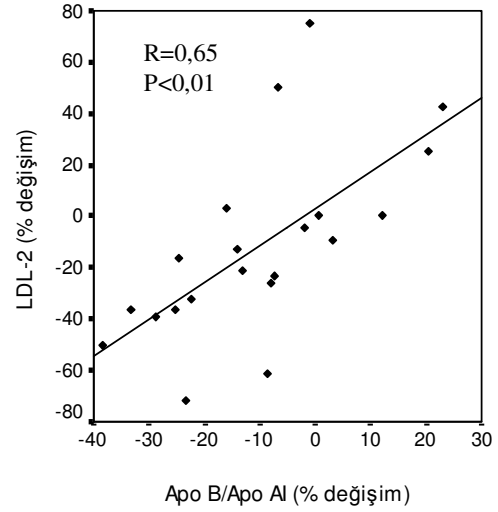
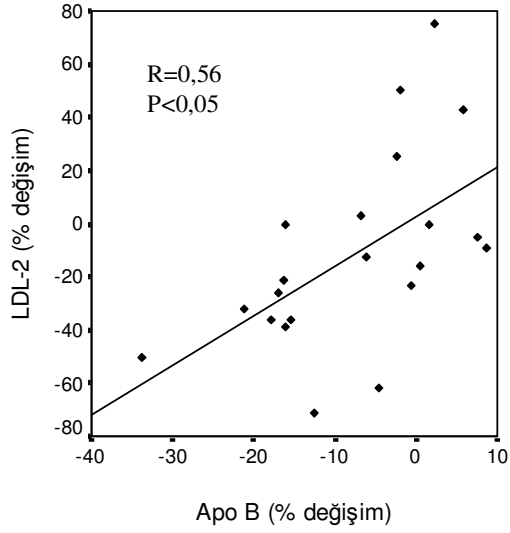
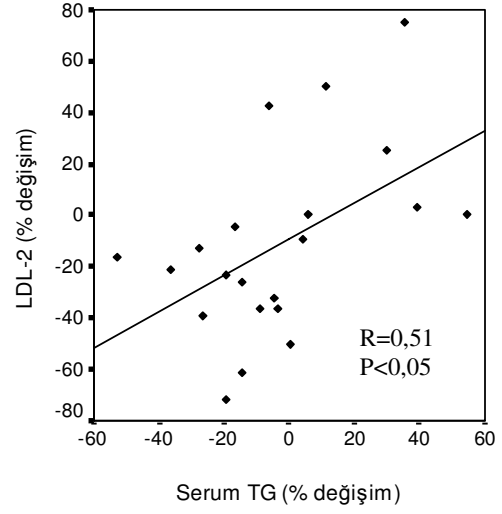
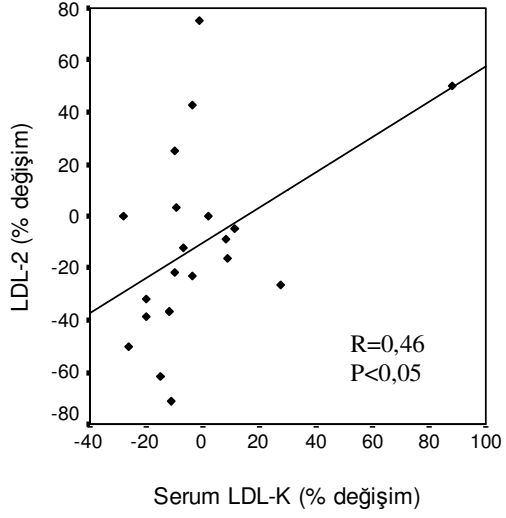
korelasyon ($r=0,54$, $p<0,05$), TK ve nitrit arasında ise negatif korelasyon saptanmıştır ($r=-0,44$, $p<0,05$). HDL-K apo A1 ile pozitif korelasyon ($r=0,58$, $p<0,01$), IDL-C ile negatif korelasyon göstermiştir ($r=-0,43$, $p<0,05$). LDL alt gruplarından LDL-2, LDL-K ile pozitif ($r=0,52$, $p<0,05$), HDL-K ile negatif korelasyon gösterirken ($r=-0,48$, $p<0,05$), LDL partükül büyüklüğü, LDL-K ile negatif ($r=-0,49$, $p<0,05$), HDL-K ile pozitif korelasyon göstermiştir ($r=0,44$, $p<0,05$) (şekil 30.c ve 30.d). TG ve VLDL arasında, LDL-TG ve IDL-A arasında pozitif korelasyon gözlenmiştir (sırasıyla $r=0,59$, $p<0,01$ ve $r=0,44$, $p<0,05$). VLDL ile IDL-C ($r=0,74$, $p<0,01$) ve IDL-A ($r=0,68$, $p<0,01$) arasında, IDL-C ile IDL-B ($r=0,52$, $p<0,05$), LDL-2 ($r=0,61$, $p<0,01$) ve LDL-3 ($r=0,47$, $p<0,05$) arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Ayrıca IDL-B, oLAB ($r=0,48$, $p<0,05$) ve ET-1 ($r=0,54$, $p<0,05$) ile pozitif, PAI-1 ($r=-0,53$, $p<0,05$) ile negatif korelasyon göstermiştir. Toplam LDL, apo B ($r=0,51$, $p<0,05$), IDL-C ($r=0,57$, $p<0,01$), IDL-B ($r=0,74$, $p<0,01$) ve LDL-3 ($r=0,59$, $p<0,01$) ile pozitif korelasyon göstermiştir. LDL partükül büyüklüğü ile LDL-1, LDL-2 ve LDL-3 arasında negatif korelasyon saptanmıştır (sırasıyla $r=-0,53$, $p<0,05$, $r=-0,65$, $p<0,01$ ve $r=-0,53$, $p<0,05$, şekil 34). ET-1 ile oLAB ($r=0,73$, $p<0,01$, şekil 38.b) ve LHP ($r=0,46$, $p<0,05$, şekil 38.c) arasında pozitif, oLAB ve LHP arasında pozitif ($r=-0,55$, $p<0,05$, şekil 37.d), oLAB ve alfa-tokoferol arasında negatif korelasyon bulunmuştur ($r=0,74$, $p<0,01$, şekil 39.c).



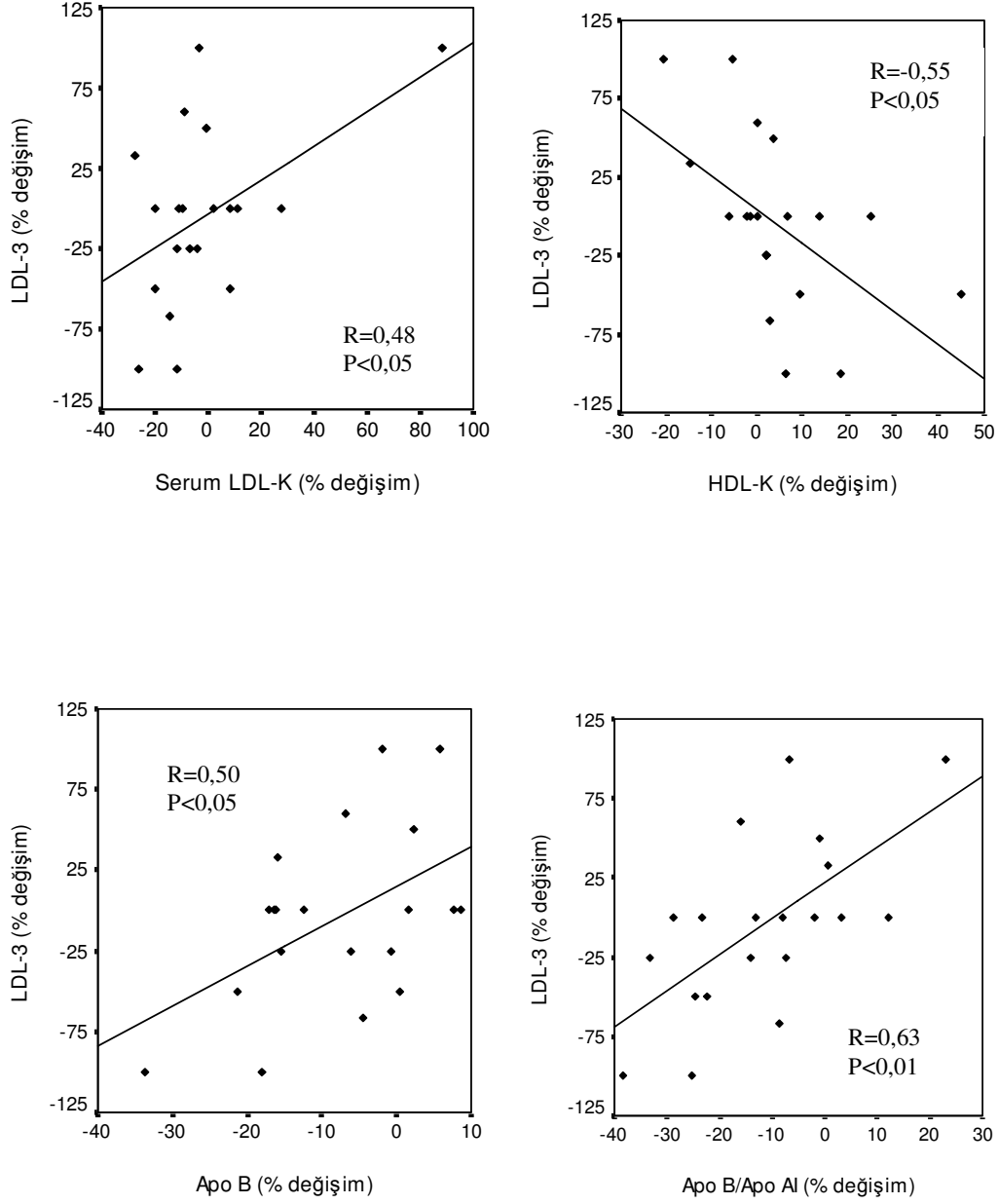
Şekil 26: Başlangıç ve 15. gün TK, LDL-K, LDL-1 ve LDL-3 yüzde değişimleri arasındaki korelasyon grafikleri.



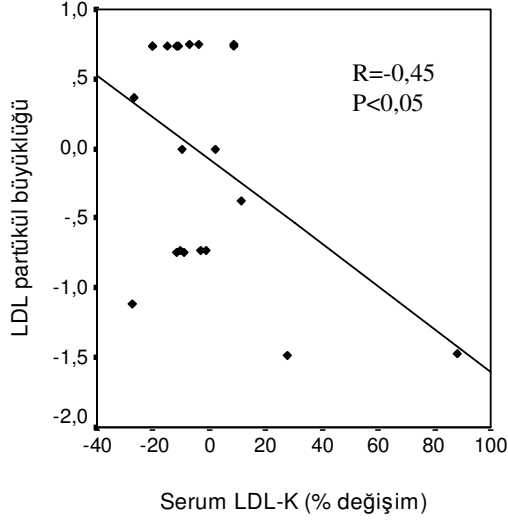
Şekil 27: Başlangıç ve 15. gün apo B, LDL-1, LDL-2 ve LDL-3 yüzde değişimleri arasındaki korelasyon grafikleri.



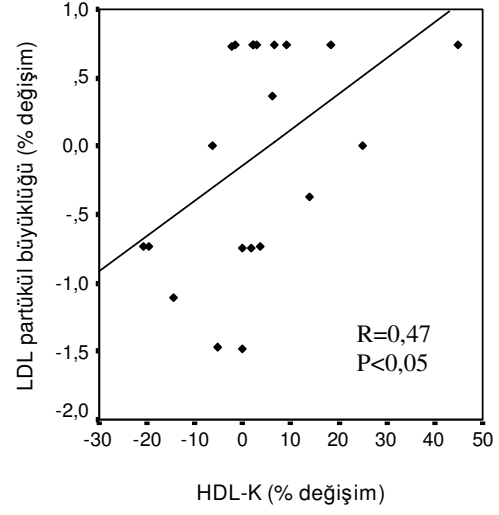
Şekil 28: Başlangıç ve 30. gün LDL-2, LDL-K, TG, apo B ve apo B/apo AI yüzde değişimleri arasındaki korelasyon grafikleri.



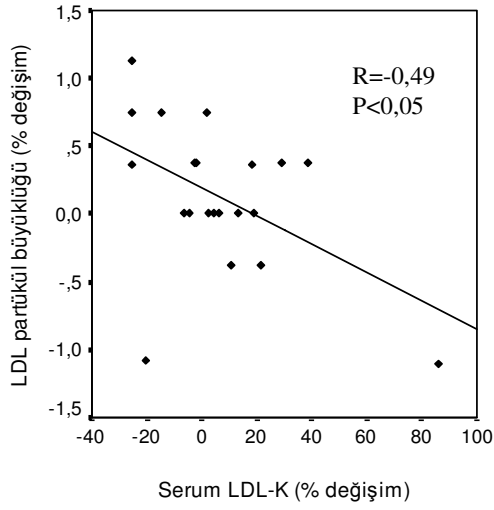
Şekil 29: Başlangıç ve 30. gn LDL-3, LDL-K, HDL-K, apo B ve apo B/apo AI yzde değişimleri arasındaki korelasyon grafikleri.



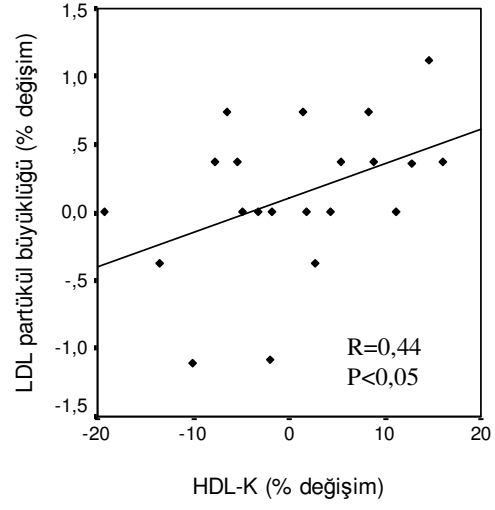
a



b

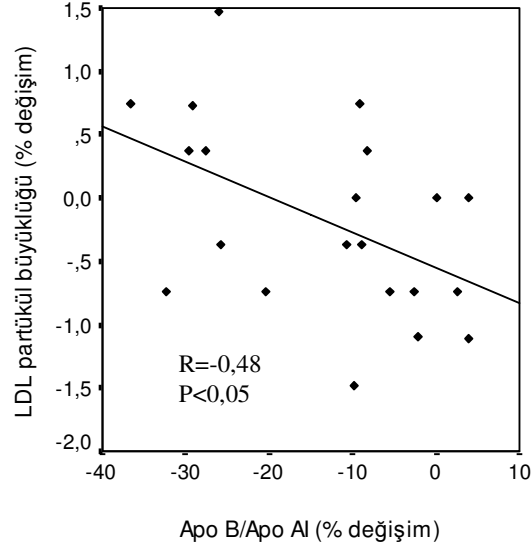


c

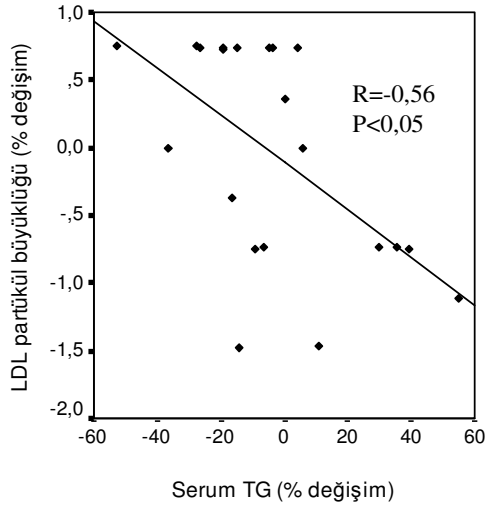


d

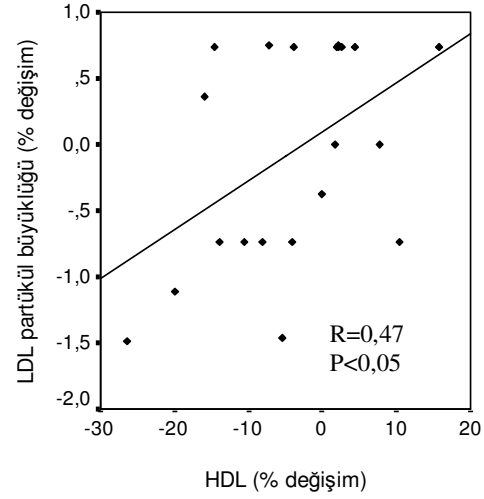
Şekil 30: **a, b;** başlangıç ve 30. gün LDL partükül büyüklüğü, LDL-K, HDL-K, **c, d;** 15. ve 30. gün LDL partükül büyüklüğü, LDL-K, HDL-K yüzde değişimleri arasındaki korelasyon grafikleri.



a

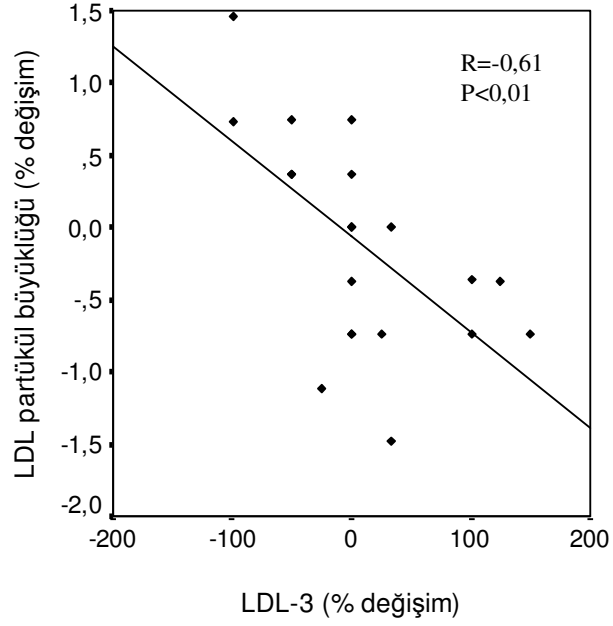
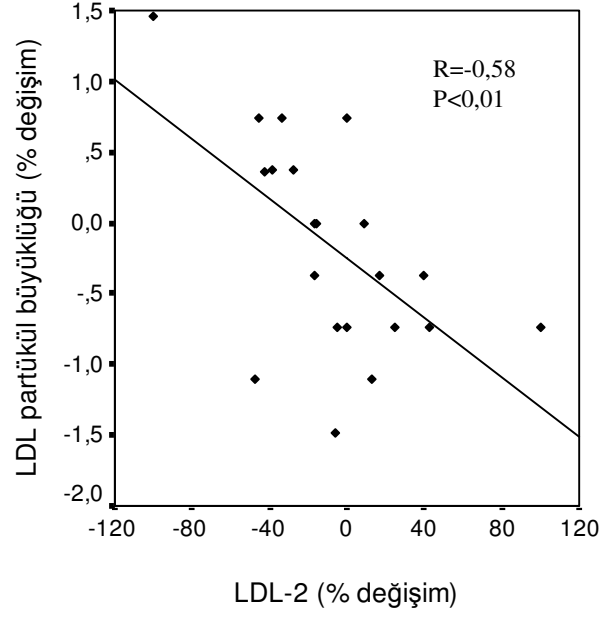


b

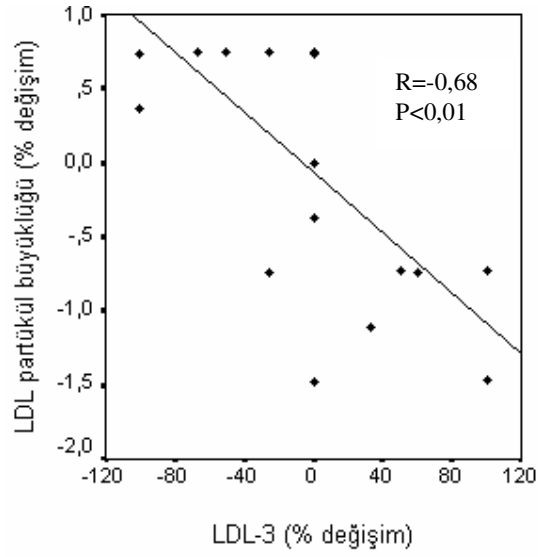
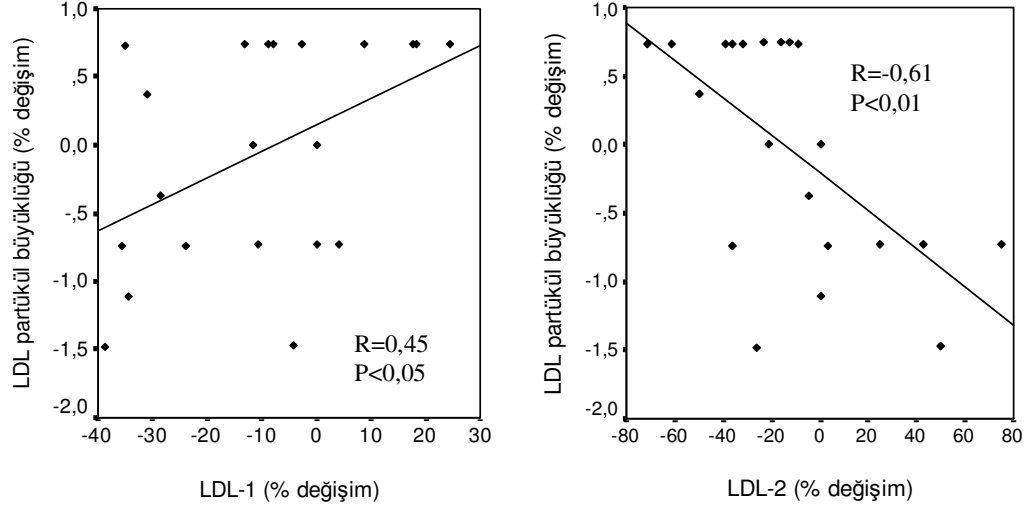


c

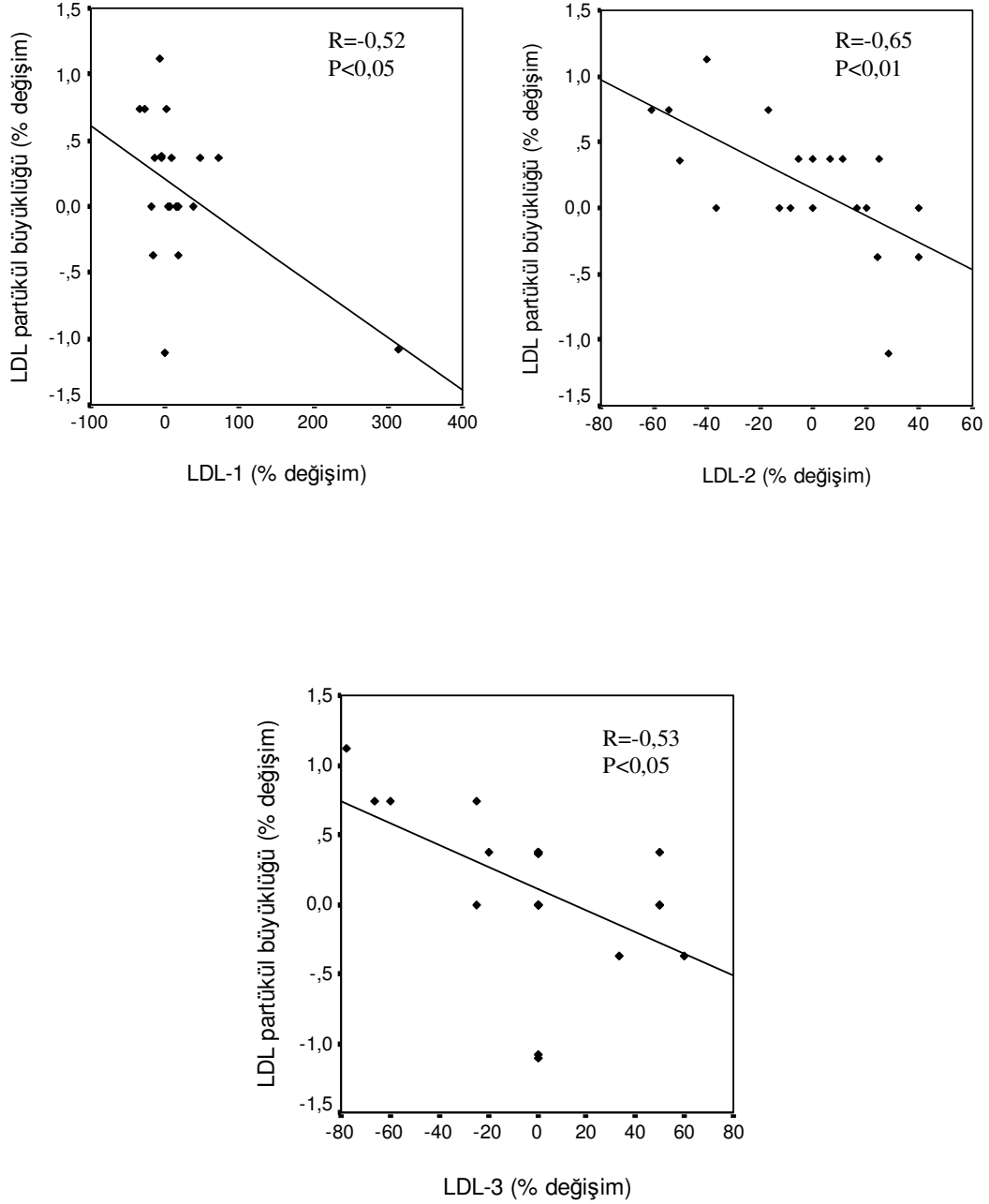
Şekil 31: **a;** başlangıç ve 15. gün LDL partükül büyüklüğü, apo B/apo AI, **b, c;** başlangıç ve 30. gün LDL partükül büyüklüğü, TG, HDL yüzde değişimleri arasındaki korelasyon grafikleri.



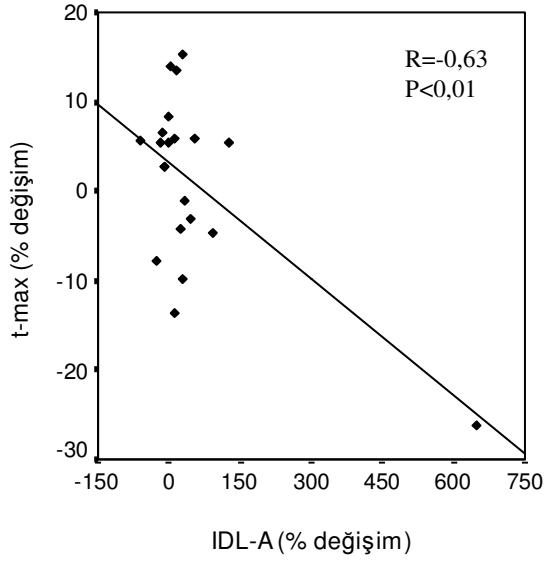
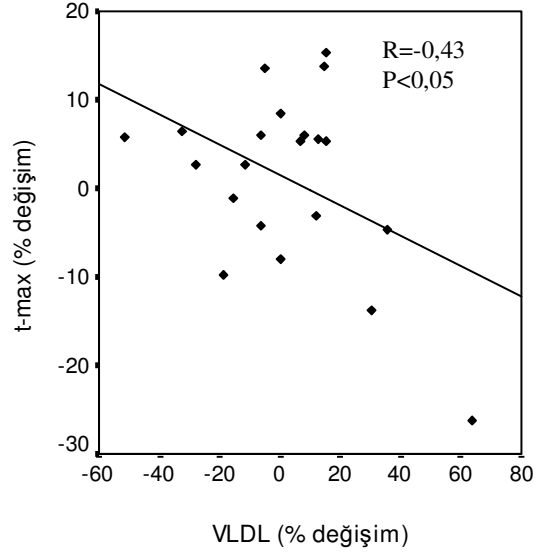
Şekil 32: Başlangıç ve 15. gün LDL partükül büyüklüğü, LDL-1, LDL-3 yüzde değişimleri arasındaki korelasyon grafikleri.



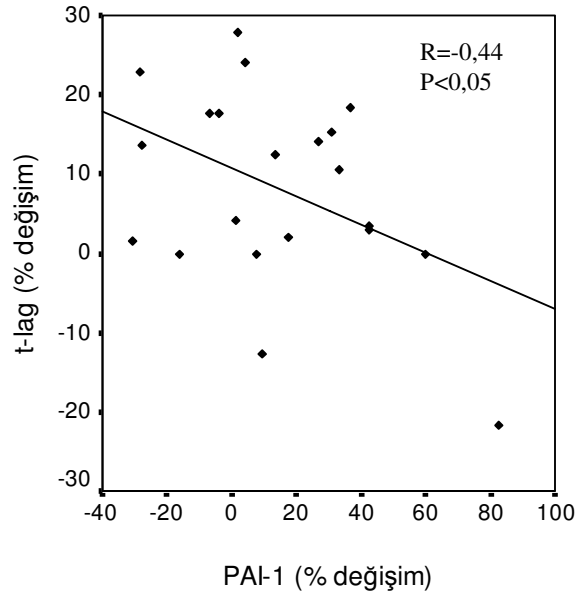
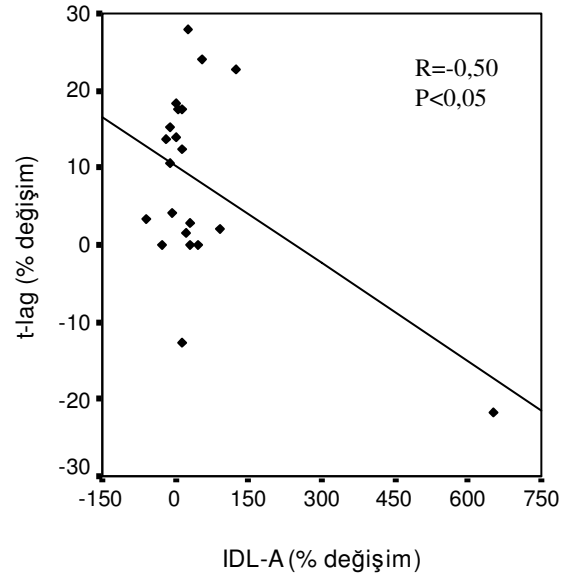
Şekil 33: Başlangıç ve 30. gün LDL partükül büyüklüğü, LDL-1, LDL-2, LDL-3 yüzde değişimleri arasındaki korelasyon grafikleri.



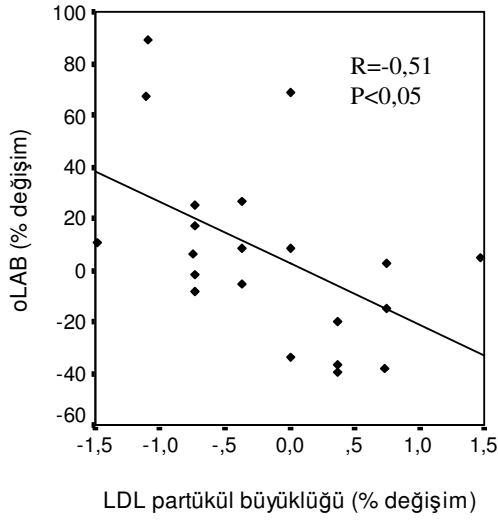
Şekil 34: 15. ve 30. gün LDL partükül büyüklüğü, LDL-1, LDL-2, LDL-3 yüzde değişimleri arasındaki korelasyon grafikleri.



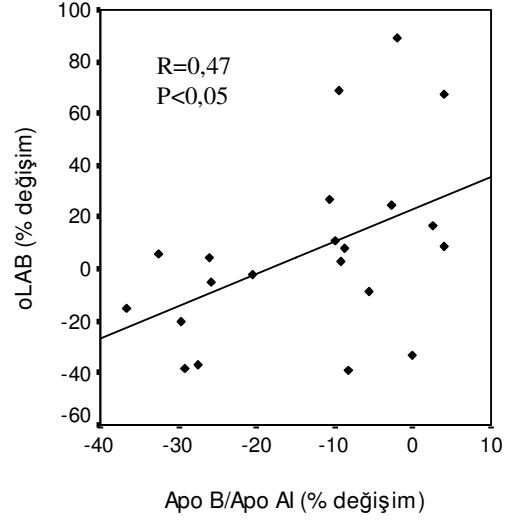
Şekil 35: 15. ve 30. gün VLDL, IDL-A ve t-max yüzde değişimleri arasındaki korelasyon grafikleri.



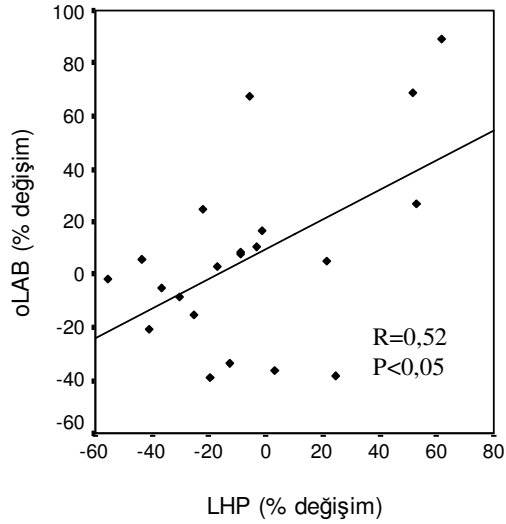
Şekil 36: 15. ve 30. gün IDL-A, PAI-1 ve t-lag yüzde değişimleri arasındaki korelasyon grafikleri.



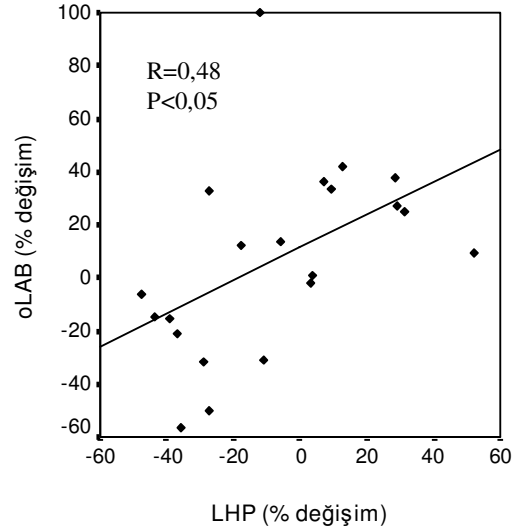
a



b

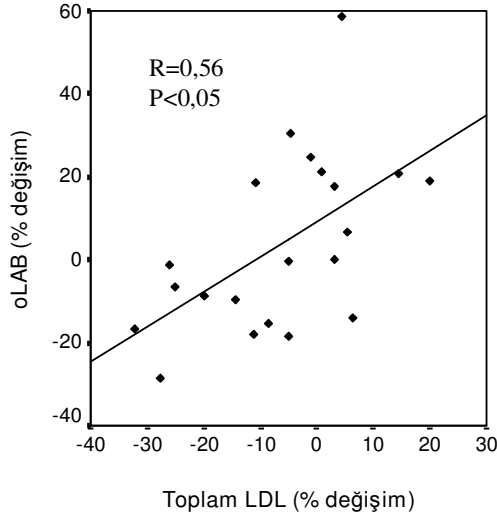


c

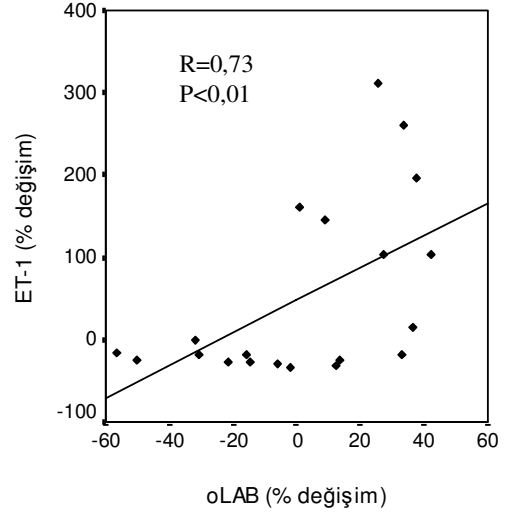


d

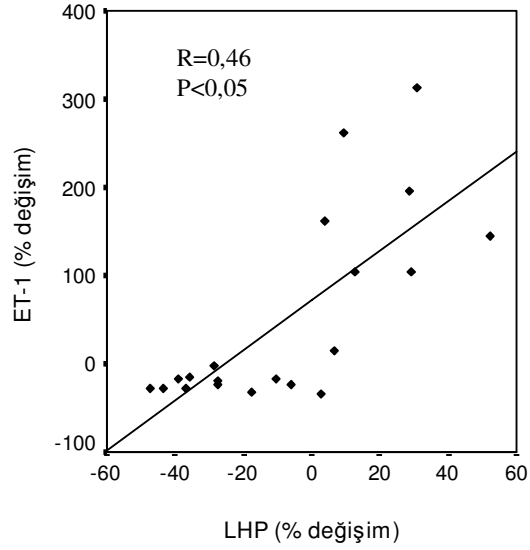
Şekil 37: a, b, c; başlangıç ve 15. gün oLAB, LDL partükül büyüklüğü, apo B/apo AI, LHP, d; 15. ve 30. gün oLAB ve LHP yüzde değişimleri arasındaki korelasyon grafikleri.



a

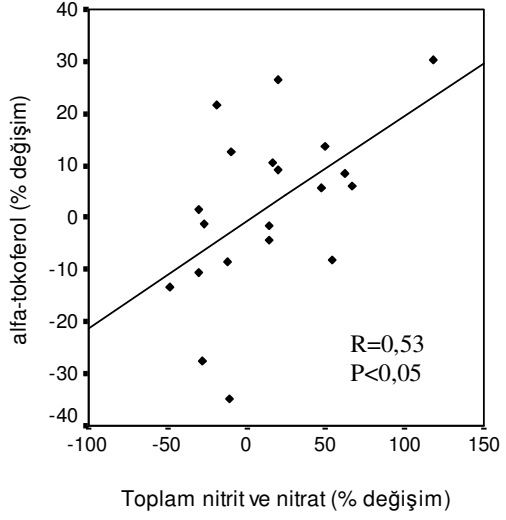


b

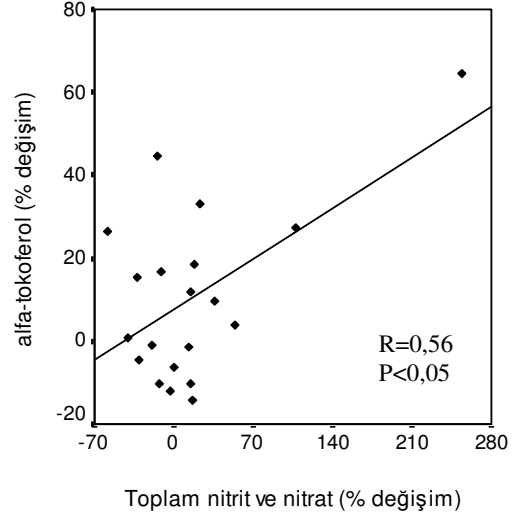


c

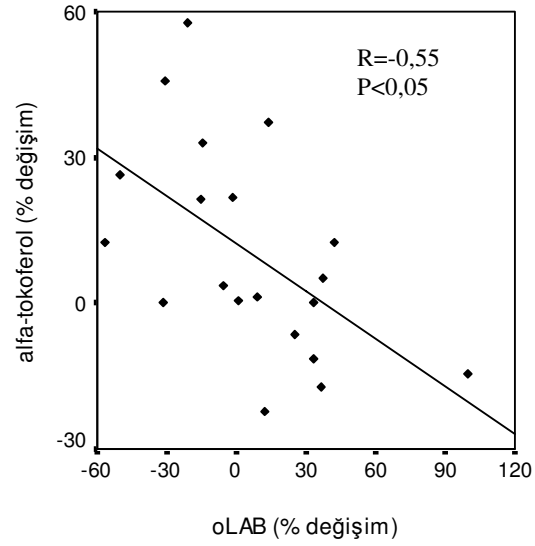
Şekil 38: **a;** başlangıç ve 30. gün oLAB ve toplam LDL, **b, c;** 15. ve 30. gün ET-1, oLAB ve LHP yüzde değişimleri arasındaki korelasyon grafikleri.



a



b



c

Şekil 39: a; başlangıç ve 15. gün alfa-tokoferol ve toplam nitrit ve nitrat, b; başlangıç ve 30. gün alfa-tokoferol ve toplam nitrit ve nitrat, c; 15. ve 30. gün alfa-tokoferol ve oLAB yüzde değişimleri arasındaki korelasyon grafikleri.

4.3. Çalışma Grubunda Başlangıç, 15. Gün ve 30. Günde Parametreler Arası Korelasyonlar

4.3.1. Başlangıç Parametreleri Arasındaki Korelasyonlar

Başlangıç parametreleri arasındaki korelasyonlar incelendiğinde t-lag ile t-max arasında pozitif ($r=0,75$, $p<0,01$), t-lag ile DKH ve MDK arasında negatif korelasyon saptanmıştır (sırasıyla $r=-0,79$, $p<0,01$ ve $r=-0,63$, $p<0,01$). t-lag hem otoanalizörde hem de Lipoprint sistemde tayini yapılan HDL ile pozitif korelasyon göstermiştir (sırasıyla $r=0,62$, $p<0,01$ ve $r=0,45$, $p<0,05$). t-lag ile LDL-TK ($r=-0,49$, $p<0,05$), LDL-TG ($r=-0,65$, $p<0,01$), LDL-K ($r=-0,48$, $p<0,05$), apo B ($r=-0,46$, $p<0,05$), apo B/apo A1 ($r=-0,47$, $p<0,05$), LDL-1 ($r=-0,45$, $p<0,05$), LDL-2 ($r=-0,49$, $p<0,05$), LDL-3 ($r=-0,46$, $p<0,05$) arasında ise negatif korelasyon tespit edilmiştir. t-max, DKH ($r=-0,88$, $p<0,01$)ve LDL-TG ($r=-0,47$, $p<0,05$) ile negatif, MDK, LDL-TG ($r=0,56$, $p<0,01$)ve LDL-TK ($r=0,90$, $p<0,01$) ile pozitif korelasyon göstermiştir. TK, TG ($r=-0,63$, $p<0,01$), LDL-K ($r=-0,93$, $p<0,01$), apo B ($r=-0,90$, $p<0,01$), apo B/apo A1 ($r=-0,74$, $p<0,01$) arasında pozitif, LDL-K ile HDL-K arasında negatif korelasyon gözlenmiştir ($r=-0,58$, $p<0,01$). Otoanalizör ile ve Lipoprint sistem ile tayini yapılan HDL arasında pozitif korelasyon tespit edilmiş ($r=0,87$, $p<0,01$) ve her iki parametre apo A1 ile pozitif korelasyon göstermiştir ($r=0,78$, $p<0,01$). Apo A1 ile apo B/apo A1 arasında ($r=-0,70$, $p<0,01$) ve HDL-K ile apo B ($r=-0,68$, $p<0,01$), apo B/apo A1 ($r=-0,78$, $p<0,01$), LDL-1 ($r=-0,50$, $p<0,05$) ve LDL-2 ($r=-0,54$, $p<0,05$) arasında negatif korelasyon saptanmıştır.

Lipoprotein alt gruplarına baktığımızda apo B ve apo B/apo A1 ile VLDL ($r=0,76$ ve $r=0,60$, $p<0,01$), IDL-C ($r=0,56$, $p<0,05$ ve $r=0,57$, $p<0,01$), LDL-1 ($r=0,82$ ve $r=0,67$, $p<0,01$), LDL-2 ($r=0,79$ ve $r=0,75$, $p<0,01$) ve LDL-3 ($r=0,59$, $p<0,01$) arasında pozitif, HDL arasında negatif korelasyon bulunmuştur ($r=-0,46$, $p<0,05$ ve $r=-0,62$, $p<0,01$). LDL-TG, IDL-C ($r=0,54$, $p<0,05$), IDL-B ($r=0,48$, $p<0,05$), LDL-2 ($r=0,52$, $p<0,05$)ve LDL-3 ($r=0,51$, $p<0,05$) ile pozitif, TG, VLDL ($r=0,81$, $p<0,01$) ve LDL-2 ($r=0,57$, $p<0,01$) ile pozitif korelasyon göstermiştir. VLDL ile IDL-C ($r=0,53$, $p<0,05$), LDL-1 ($r=0,62$, $p<0,01$), LDL-2 ($r=0,69$, $p<0,01$), LDL-3 ($r=0,49$, $p<0,05$) arasında, IDL-C ile IDL-B ($r=0,85$, $p<0,01$), IDL-A ($r=0,52$, $p<0,05$), LDL-1 ($r=0,65$, $p<0,01$), LDL-2 ($r=0,81$, $p<0,01$), LDL-3 ($r=0,61$, $p<0,01$) arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Toplam LDL, VLDL ($r=0,65$, $p<0,01$), IDL-C ($r=0,87$, $p<0,01$), IDL-B ($r=0,78$, $p<0,01$), IDL-A ($r=0,76$, $p<0,01$), LDL-1 ($r=0,93$, $p<0,01$), LDL-2 ($r=0,87$, $p<0,01$), LDL-3 ($r=0,68$,

$p < 0,01$), TK ($r=0,74$, $p < 0,01$), LDL-K ($r=0,82$, $p < 0,01$), LDL-TG ($r=0,46$, $p < 0,05$), apo B ($r=0,79$, $p < 0,01$), apo B/apo A1 ($r=0,70$, $p < 0,01$) ile pozitif, t-lag ($r=-0,50$, $p < 0,05$) ve LDL partükül büyüklüğü ($r=-0,45$, $p < 0,05$) ile negatif korelasyon göstermiştir. LDL-3 ile DKH arasında pozitif ($r=0,46$, $p < 0,05$), oLAB ile TK ($r=0,58$, $p < 0,01$), TG ($r=0,48$, $p < 0,05$), apo B ($r=0,47$, $p < 0,05$), VLDL ($r=0,61$, $p < 0,01$), LDL-1 ($r=0,62$, $p < 0,01$), LDL-2 ($r=0,46$, $p < 0,05$), LDL-4 ($r=0,56$, $p < 0,05$) ve toplam LDL ($r=0,57$, $p < 0,01$) arasında pozitif korelasyon gözlenmiştir. LDL partükül büyüklüğü ile TG ($r=-0,50$, $p < 0,05$), apo B ($r=-0,45$, $p < 0,05$), apo B/apo A1 ($r=-0,51$, $p < 0,05$), IDL-C ($r=-0,55$, $p < 0,05$), LDL-2 ($r=-0,73$, $p < 0,01$), LDL-3 ($r=-0,87$, $p < 0,01$) ve LDL-4 ($r=-0,48$, $p < 0,05$) negatif korelasyon göstermiştir.

4.3.2. 15. Gün Parametreleri Arasındaki Korelasyonlar

15. gün LDL oksidasyon kapasitesi parametrelerinin birbirleri ve diğer tüm parametreler ile korelasyonları incelendiğinde t-lag ile t-max ($r=0,83$, $p < 0,01$) ve HDL ($r=0,52$, $p < 0,05$) arasında pozitif korelasyon, DKH ($r=-0,77$, $p < 0,01$), MDK ($r=-0,73$, $p < 0,01$), LDL-TK ($r=-0,49$, $p < 0,05$), LDL-TG ($r=-0,45$, $p < 0,05$), apo B/apo A1 ($r=-0,50$, $p < 0,05$) arasında ise negatif korelasyon tespit edilmiştir. t-max ve DKH ($r=-0,84$, $p < 0,01$) arasında negatif korelasyon saptanırken, MDK, LDL-TK ($r=0,76$, $p < 0,01$), apo B/apo A1 ($r=0,58$, $p < 0,01$), VLDL ($r=0,52$, $p < 0,05$), IDL-C ($r=0,46$, $p < 0,05$), LDL-2 ($r=0,47$, $p < 0,05$) ve LDL-3 ($r=0,62$, $p < 0,01$) ile pozitif korelasyon göstermiştir. TK, TG ($r=0,57$, $p < 0,01$), LDL-TK ($r=0,69$, $p < 0,01$), LDL-TG ($r=0,57$, $p < 0,01$), LDL-K ($r=0,93$, $p < 0,01$), apo B ($r=0,90$, $p < 0,01$) ve apo B/apo A1 ($r=0,58$, $p < 0,01$) arasında pozitif, HDL-K, LDL-TG ($r=-0,49$, $p < 0,05$) ve TG ($r=-0,55$, $p < 0,05$), arasında negatif korelasyon gözlenmiştir. Otoanalizör ile ve Lipoprint sistem ile tayini yapılan HDL arasında pozitif korelasyon tespit edilmiş ($r=0,88$, $p < 0,01$) ve her iki parametre apo A1 ile pozitif korelasyon gösterirken ($r=0,82$ ve $r=0,77$, $p < 0,01$), beklenildiği gibi hem apo A1 ($r=-0,55$, $p < 0,05$) hem de HDL-K ($r=-0,68$, $p < 0,01$) ve HDL ($r=-0,64$, $p < 0,01$), apo B/apo A1 ile negatif korelasyon göstermiştir.

Lipoprotein alt gruplarına baktığımızda LDL-K ve LDL-TK, VLDL ($r=0,71$, $p < 0,01$ ve $r=0,52$, $p < 0,05$), IDL-C ($r=0,48$ ve $r=0,53$, $p < 0,05$), LDL-1 ($r=0,65$, $p < 0,01$ ve $r=0,52$, $p < 0,05$), LDL-2 ($r=0,66$ ve $r=0,62$, $p < 0,01$) ve LDL-3 ($r=0,56$, $p < 0,05$ ve $r=0,66$, $p < 0,01$) ile pozitif korelasyona sahiptir. Apo B ve TK ile VLDL ($r=0,70$, $p < 0,01$ ve $r=0,55$, $p < 0,05$), LDL-1 ($r=0,56$, $p < 0,05$ ve $r=0,61$, $p < 0,01$), LDL-2 ($r=0,77$ ve $r=0,68$, $p < 0,01$) ve

LDL-3 ($r=0,69$ ve $r=0,64$, $p<0,01$) arasında pozitif, apo B/apo A1 ile VLDL ($r=0,76$, $p<0,01$), IDL-C ($r=0,50$, $p<0,05$), LDL-2 ($r=0,70$, $p<0,01$) ve LDL-3 ($r=0,66$, $p<0,01$) arasında pozitif, apo B/apo A1 ve VLDL ile HDL ($r=-0,64$, $p<0,01$ ve $r=-0,49$, $p<0,05$) arasında negatif korelasyon bulunmuştur. VLDL, IDL-C ($r=0,72$, $p<0,01$), IDL-B ($r=0,45$, $p<0,05$), IDL-A ($r=0,53$, $p<0,05$), LDL-2 ($r=0,52$, $p<0,05$) ve LDL-3 ($r=0,48$, $p<0,05$) arasında pozitif korelasyon gözlenmiştir. Toplam LDL, VLDL ($r=0,72$, $p<0,01$), IDL-C ($r=0,79$, $p<0,01$), IDL-B ($r=0,52$, $p<0,05$), IDL-A ($r=0,61$, $p<0,01$), LDL-1 ($r=0,68$, $p<0,01$), LDL-2 ($r=0,60$, $p<0,01$), LDL-3 ($r=0,56$, $p<0,05$), TK ($r=0,65$, $p<0,01$), TG ($r=0,45$, $p<0,05$), LDL-K ($r=0,74$, $p<0,01$), LDL-TK ($r=0,57$, $p<0,01$), apo B ($r=0,69$, $p<0,01$), apo B/apo A1 ($r=0,58$, $p<0,01$) ile pozitif korelasyon göstermiştir. Alfa-tokoferol ile HDL-K ($r=0,47$, $p<0,05$) ve apo A1 ($r=0,66$, $p<0,01$) arasında pozitif, PAI-1 ile MDK ($r=0,60$, $p<0,01$), TK ($r=0,45$, $p<0,05$), TG ($r=0,44$, $p<0,05$), LDL-K ($r=0,45$, $p<0,05$), apo B ($r=0,49$, $p<0,05$), apo B/apo A1 ($r=0,62$, $p<0,01$), VLDL ($r=0,45$, $p<0,05$), LDL-2 ($r=0,63$, $p<0,01$) ve LDL-3 ($r=0,46$, $p<0,05$) arasında pozitif, PAI-1 ile t-lag ($r=-0,54$, $p<0,05$) arasında negatif korelasyon saptanmıştır. oLAB TK ($r=0,69$, $p<0,01$), LDL-TK ($r=0,55$, $p<0,05$), LDL-K ($r=0,69$, $p<0,01$), apo B ($r=0,62$, $p<0,01$), apo B/apo A1 ($r=0,46$, $p<0,05$), VLDL ($r=0,54$, $p<0,05$), IDL-C ($r=0,48$, $p<0,05$), LDL-1 ($r=0,66$, $p<0,01$), LDL-2 ($r=0,57$, $p<0,01$), LDL-3 ($r=0,58$, $p<0,01$) ve toplam LDL ($r=0,71$, $p<0,01$) ile pozitif korelasyona sahiptir. LDL partüklü büyüklüğü ile t-lag ($r=0,46$, $p<0,05$) ve TAS ($r=0,45$, $p<0,05$) pozitif, MDK ($r=-0,51$, $p<0,05$), LDL-2 ($r=-0,61$, $p<0,01$), LDL-3 ($r=-0,74$, $p<0,01$) ve LDL-4 ($r=-0,50$, $p<0,05$) negatif korelasyon göstermiştir.

4.3.3. 30. Gün Parametreleri Arasındaki Korelasyonlar

LDL oksidasyon kapasitesi parametrelerinden t-lag ile HDL-K ($r=0,59$, $p<0,01$), HDL ($r=0,68$, $p<0,01$) ve apo A1 ($r=0,46$, $p<0,05$) arasında pozitif korelasyon, t-lag ile DKH ($r=-0,67$, $p<0,01$) ve LDL-2 ($r=-0,57$, $p<0,01$) arasında ise negatif korelasyon tespit edilmiştir. t-max ve DKH ($r=-0,74$, $p<0,01$) arasında negatif korelasyon saptanırken, t-max ve HDL-K ($r=0,54$, $p<0,05$) arasında pozitif korelasyon vardır. MDK, LDL-TK ($r=0,73$, $p<0,01$), LDL-K ($r=0,46$, $p<0,05$), apo B ($r=0,54$, $p<0,05$), apo B/apo A1 ($r=0,64$, $p<0,01$), IDL-C ($r=0,55$, $p<0,05$), LDL-2 ($r=0,57$, $p<0,01$) ve LDL-3 ($r=0,54$, $p<0,05$) ile pozitif, HDL-K ($r=-0,50$, $p<0,05$) ve apo A1 ($r=-0,58$, $p<0,01$) ile negatif korelasyon göstermiştir. TK, TG ($r=0,47$, $p<0,05$), LDL-K ($r=0,61$, $p<0,01$), apo B ($r=0,85$, $p<0,01$), apo B/apo A1 ($r=0,58$, $p<0,01$) arasında pozitif, LDL-K ile hem LDL-TK ($r=0,48$, $p<0,05$) hem de LDL-

TG ($r=0,55$, $p<0,01$) arasında, ayrıca apo B ile LDL-TK ($r=0,53$, $p<0,05$) arasında yine pozitif korelasyon saptanmıştır. Otoanalizör ile ve Lipoprint sistem ile tayini yapılan HDL arasında pozitif korelasyon tespit edilmiş ($r=0,92$, $p<0,01$) ve her iki parametre apo A1 ile pozitif korelasyon gösterirken ($r=0,89$ ve $r=0,71$, $p<0,01$), beklenildiği gibi hem apo A1 ($r=-0,69$, $p<0,01$) hem de HDL-K ($r=-0,73$, $p<0,01$), apo B/apo A1 ile negatif korelasyon göstermiştir. Ayrıca HDL-K apo B ($r=-0,45$, $p<0,05$), VLDL ($r=-0,45$, $p<0,05$), LDL-2 ($r=-0,51$, $p<0,05$) ve LDL-3 ($r=-0,46$, $p<0,05$) ile yine negatif korelasyon göstermiştir.

Lipoprotein alt gruplarına baktığımızda VLDL ($r=0,81$ ve $r=0,74$, $p<0,01$), IDL-C ($r=0,69$ ve $r=0,57$, $p<0,01$), LDL-1 ($r=0,73$, $p<0,01$ ve $r=0,48$, $p<0,05$), LDL-2 ($r=0,86$ ve $r=0,80$, $p<0,01$) ve LDL-3 ($r=0,62$ ve $r=0,67$, $p<0,01$) hem apo B hem de apo B/apo A1 ile pozitif korelasyona sahiptir. Apo B/apo A1 ile HDL ($r=-0,65$, $p<0,05$) arasında negatif korelasyon bulunmuştur. LDL-K ve LDL-TK ile LDL-1 ($r=0,51$ ve $r=0,46$, $p<0,05$), LDL-2 ($r=0,65$, $p<0,01$ ve $r=0,52$, $p<0,05$) ve LDL-3 ($r=0,52$ ve $r=0,47$, $p<0,05$) arasında pozitif, IDL-C, IDL-B ($r=0,74$, $p<0,01$), IDL-A ($r=0,45$, $p<0,05$), LDL-1 ($r=0,76$, $p<0,01$) ve LDL-2 ($r=0,69$, $p<0,01$) arasında yine pozitif korelasyon gözlenmiştir. Toplam LDL, VLDL ($r=0,61$, $p<0,01$), IDL-C ($r=0,83$, $p<0,01$), IDL-B ($r=0,74$, $p<0,01$), IDL-A ($r=0,65$, $p<0,01$), LDL-1 ($r=0,90$, $p<0,01$), LDL-2 ($r=0,71$, $p<0,01$), LDL-3 ($r=0,49$, $p<0,05$), TK ($r=0,68$, $p<0,01$), LDL-K ($r=0,48$, $p<0,05$), LDL-TK ($r=0,52$, $p<0,05$), apo B ($r=0,79$, $p<0,01$), apo B/apo A1 ($r=0,59$, $p<0,01$) ile pozitif korelasyon göstermiştir. PAI-1 ile MDK ($r=0,56$, $p<0,05$), apo B ($r=0,55$, $p<0,05$), apo B/apo A1 ($r=0,61$, $p<0,01$), LDL-2 ($r=0,55$, $p<0,05$) arasında pozitif, PAI-1 ile t-lag ($r=-0,48$, $p<0,05$), HDL-K ($r=-0,49$, $p<0,05$), HDL ($r=-0,54$, $p<0,05$) ve apo A1 ($r=-0,50$, $p<0,05$) arasında negatif korelasyon saptanmıştır. oLAB TK ($r=0,72$, $p<0,01$), apo B ($r=0,56$, $p<0,05$), IDL-A ($r=0,49$, $p<0,05$), LDL-1 ($r=0,59$, $p<0,01$), toplam LDL ($r=0,54$, $p<0,05$) ve LHP ($r=0,46$, $p<0,05$) ile pozitif korelasyona sahiptir. LDL partükül büyüklüğü ile t-lag ($r=0,50$, $p<0,05$), HDL-K ($r=0,43$, $p<0,05$) ve apo AI ($r=0,49$, $p<0,05$) pozitif, LDL-2 ($r=-0,50$, $p<0,05$), LDL-3 ($r=-0,75$, $p<0,01$) ve LDL-4 ($r=-0,60$, $p<0,01$) negatif korelasyon göstermiştir.

5. TARTIŞMA

Sert kabuklu meyvelerin kardiyovasküler hastalıkların gelişimi ve kardiyovasküler hastalıklara bağlı olarak gelişen olay ve ölümlerin önlenmesi üzerine olan olumlu etkileri yapılan pek çok epidemiyolojik ve ikincil tedavi çalışmaları ile ortaya konulmaya çalışılmıştır (60, 61, 62, 91). 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 antioksidan potansiyeli, E vitamini, endotel fonksiyonları, LDL oksidasyonu ve LDL alt gruplarına olan etkilerini, dolayısıyla aterogenezdeki etki mekanizmasını ve ateroskleroz gelişiminin önlenmesindeki önemini ortaya koymayı amaçladığımız iki aşamalı olarak planlanan ve ilk aşamayı oluşturan bu çalışma sağlıklı normolipidemik gönüllü şahıslar üzerinde yapılmıştır. Tez kapsamı dışında olan ikinci aşamada ise fındığın hiperkolesterolemik bireyler üzerindeki etkisi araştırılacaktır. Çalışmaya yaşları 20 ile 38 arasında değişen 13 bayan, 8 bay toplam 21 kişi katılmıştır. Kişilerin anemnezlerinde fındık alerjilerinin olmamasına dikkat edilmiş ve çalışmaya katılımlarında gönüllülük esas alınmıştır. Kişilerin çalışma süresince normal diyet içeriklerini değiştirmemeleri ve günlük fındık tüketimine dikkat etmeleri gerektiği önemle belirtilmiştir. Şahısların normal diyetlerine literatür bilgilerine dayanılarak günde kilogram başına bir gram (1g/kg/gün) olacak şekilde bir ay boyunca fındık eklenmiştir. Fındığın normal öğünlerle alınan besinlerle etkileşimini azaltmak için günlük fındık alınımı ikiye bölünmüş, birinci doz sabah ile öğle saatleri arasında, ikinci doz ise öğle ve akşam saatleri arasında alınmış, su dışında ilave içecek ve gıda alınımına müsaade edilmemiştir. Fındığın bireylerin günlük diyetlerine kalori

ihtiyaçlarının yaklaşık %10-20 kadarı bir ek kalori sağlamasına rağmen bireylerde kilo artışı yapmadığı, çalışma tamamlandığında vücut kitle indekslerinin değişmediği gözlenmiştir. Ortalama vücut ağırlıkları başlangıçta $64,52 \pm 11,5$ kg, 15. günde $64,64 \pm 11,38$ kg ve 30. günde $64,73 \pm 11,35$ kg olarak tespit edilmiştir. Dolayısıyla vücut kitle indeksleri de (kg/m^2) değişiklik göstermemiştir. Ortalama vücut kitle indeksleri başlangıçta $23,89 \pm 3,52$ kg/m^2 , 15. günde $23,94 \pm 3,49$ kg/m^2 ve 30. günde $23,98 \pm 3,48$ kg/m^2 olarak belirlenmiştir ($p>0,05$). Elde ettiğimiz bu bulgu pek çok araştırma tarafından desteklenmektedir. 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 (75). 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 (64). Hiperkolesterolemik bireylerde de vücut ağırlığı ve vücut kitle indeksinin sert kabuklu meyve tüketimi ile değişmediği gözlenmiştir. Yapılan çalışmalar badem (92) ve cevizin (69, 70) hiperkolesterolemik bireylerin vücut ağırlıklarını etkilemediğini ortaya koymuştur. Bunlara ilaveten 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 (93). 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 (91). Sert kabuklu meyvelerin sık tüketiminin tokluk hissini arttırması, yüksek miktardaki protein ve doymamış yağ asidi içeriği nedeni ile dinlenme halinde metabolik hızı arttırması ve yetersiz sindirilmeleri nedeni ile fekal yağ kaybının artıp kullanılabilir enerjinin azalması kilo kaybının sebepleri olarak düşünülmektedir (91, 93).

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 (61, 67, 72). Yaptığımız çalışmada serum toplam kolesterol düzeyleri 30. gün

sonunda önemli ölçüde azalmıştır (%8,6). Ortalama toplam kolesterol değeri başlangıçta 162 ± 23 mg/dL iken 30. gün sonunda 148 ± 24 mg/dL olarak tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Ortalama apo B düzeyleri aynen toplam kolesterol gibi önemli ölçüde azalmış, başlangıçta 78 ± 20 mg/dL iken 30. gün sonunda 71 ± 18 mg/dL' ye düşmüştür (%7,7, $p < 0,05$). Ortalama apo AI değeri başlangıçta 135 ± 18 mg/dL olarak bulunmuş, 15. günde önemli ölçüde artarak 149 ± 25 mg/dL' ye yükselmiş (%10, $p < 0,05$), 30. günde ise 141 ± 21 mg/dL olarak tespit edilmiştir. Apo B/apo AI oranları $0,59 \pm 0,2$ olan başlangıç değerine göre 15. günde $0,50 \pm 0,2$ ' ye 30. günde ise $0,50 \pm 0,2$ ' ye düşmüştür (sırasıyla %13,5 ve %10,2 düşüş göstermiştir, $p < 0,05$). LDL-K (15.günde; %5,7 ve 30.günde; %2) ve TG (30.günde; %3,4) düzeylerinde bir azalma görülse de istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. HDL-K ve Lp(a) düzeylerinde belirgin bir değişiklik tespit edilmemiştir. LDL' nin lipid analizinde LDL-TK ve LDL-TG düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır. Elde ettiğimiz bulgular Durak ve ark.' nın yaptığı çalışmanın sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Durak ve ark. sağlıklı bireylerde bulunduğu toplam kolesterolü %6, LDL kolesterolü %19 düşürdüğü, HDL kolesterolü %7, trigliseridi %25 ve toplam antioksidan potansiyeli %20 yükselttiğini gözlemişlerdir (75). Durak ve ark.' nın çalışmasından farklı olarak çalışmamızda TG, HDL-K ve LDL-K düzeylerinde istatistiksel anlamda değişiklik gözlenmemesine rağmen HDL' de bulunan temel proteinlerden apo AI miktarının arttığını ve LDL' de bulunan apo B miktarının önemli düzeyde azaldığını tespit ettik. Morgan ve Clayshulte normolipidemik bireylerde 8 hafta boyunca günlük 68 g pecan (oleik asit bakımından zengin bir tür sert kabuklu meyve) tüketiminin LDL kolesterolü 4. hafta sonunda %10, 8. hafta sonunda ise %6, yine total kolesterolü 4. hafta sonunda %5, 8. hafta sonunda ise %4 düşürdüğünü, HDL kolesterol düzeylerinin ise etkilenmediğini bulmuşlardır (67). Bizim çalışmamızda ise fındık 4. hafta sonunda toplam kolesterolü %8,6 oranında düşürmüştür. Koçyiğit ve ark. sağlıklı normolipidemik bireylerde çam fıstığı tüketiminin toplam kolesterol ve MDA düzeylerini, total kolesterol/HDL kolesterol ve LDL kolesterol/ HDL kolesterol oranlarını önemli derecede azalttığını, HDL kolesterol, toplam antioksidan potansiyel düzeylerini ve toplam antioksidan potansiyel/MDA oranını önemli derecede arttırdığını gözlemlemişlerdir. Bunun yanında yaptığımız çalışma ile benzer olarak trigliserid ve LDL kolesterol düzeylerinin de azaldığını fakat bu azalış istatistiksel olarak anlamlı bulmadıklarını rapor etmişlerdir (64). Bir başka çalışmada ise lipid düşürücü diyetle eklenen günlük 30 g sert kabuklu meyve ile 15 g kolza yağı içeren tahılın lipid düzeylerine etkisi karşılaştırılmıştır. Her iki diyetle de toplam kolesterol ve LDL kolesterolün düştüğü gözlenmiştir. Yağ asitleri üzerine olan etkilerini

incelediklerinde sert kabuklu meyve diyetinin linoleik ve araşidonik asit miktarını, kolza yağı içeren tahıl diyetinin ise alfa-linolenik asit miktarını arttırdığını tespit etmişlerdir. Sert kabuklu meyve diyetinin stearik asit miktarını, kolza yağı içeren tahıl diyetinin ise palmitik asit miktarını önemli ölçüde azalttığını saptamışlardır. Fakat her iki diyetin plazma trigliserid yağ asidi kompozisyonlarının benzer olduğunu bulmuşlar ve yağ asidi kompozisyonunun sert kabuklu meyvelerin faydalı etkilerinden sorumlu başlıca faktör olduğu sonucuna varmışlardır (95). Alper ve Mattes sağlıklı yetişkinler üzerinde yaptıkları çalışmada düzenli yer fıstığı tüketiminin serum trigliserid düzeyini düşürdüğünü, bunun yanı sıra toplam kolesterol, LDL kolesterol ve HDL kolesterol düzeylerini değiştirmediğini bulmuşlardır (68). Doymuş yağ asidi alımını azaltmadan sadece MUFA ve PUFA miktarının artırılması ile serum trigliserid miktarının azaldığını gözlemişlerdir. Fakat normolipidemik bireylerde doymuş yağ asidi miktarı azaltılmadan MUFA' daki hafif artışın toplam kolesterol ve LDL kolesterol düzeyini düşürmek için yeterli olmadığını düşünmüşlerdir (68). Yaptığımız çalışmada LDL kolesterol ve HDL kolesterol miktarlarında anlamlı değişiklikler bulmamamıza rağmen apo B ve apo B/apo AI miktarları önemli ölçüde azalmış, apo AI miktarı ise artmıştır. "Üçüncü Milli Fındık Şurası" nda tebliğ edilen makalelerin birinde fındıkta yüksek oranda bulunan MUFA' nin LDL kolesterol düzeyini %26,2, apo B düzeyini ise %7,5 azalttığı ve apo AI düzeyini %28 arttırdığından bahsedilmektedir (71). Jenkins ve ark. yeşil yapraklı sebze, meyve ve sert kabuklu meyve bakımından zengin bir diyetle yaptıkları çalışmada apo B ve apo B/apo AI miktarları ile beraber apo AI miktarının da azaldığını saptamışlardır (60). Aynı araştırmacılar 2001 yılında yaptıkları başka bir çalışmada ise lif bakımından zengin diyetle (55 g/kcal) günlük yaklaşık 67 g badem eklemişler ve yine apo B, apo AI ve apo B/apo AI miktarlarının azaldığını gözlemişlerdir (66). Sert kabuklu meyve tüketiminin hiperkolesterolemik bireylerde de lipid profili üzerine etkili olduğu pek çok çalışma ile gösterilmiştir. 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 (69). Zambon ve ark. cevizle benzer bir çalışma yapmışlar ve toplam kolesterol, LDL kolesterol, VLDL kolesterol, trigliserid, apo B, apo AI ve Lp (a) düzeylerinin daha da azaldığını

gözlemişlerdir (70). Hiperlipidemik bireyler üzerinde badem ile yapılan başka bir çalışmada toplam kolesterol ve LDL kolesterol miktarlarının düştüğü tespit edilmiştir (92).

Diyetin LDL partikül büyüklüğü, lipoprotein ve LDL alt grupları üzerine olan etkisini gösteren çalışmalar mevcuttur (95, 96, 97), fakat fındığın LDL partikül büyüklüğünü, lipoprotein ve LDL alt gruplarını nasıl etkilediğine dair henüz bir çalışma yapılmamıştır. Çalışmamız bu alanda yapılan ilk çalışmadır. Çalışma sonucunda elde ettiğimiz lipoprotein ve LDL alt gruplarında yer alan kolesterol miktarlarına baktığımızda bütün değerlerin tablo 8’ de verilen NCEP ATP III kriterlerine göre belirlenmiş kolesterol referans aralıkları içinde olduğu görülmüştür. Çalışma grubunda yer alan bireylerin normolipidemik oldukları düşünülürse bu beklenen bir sonuçtur. VLDL kolesterol giderek artan bir azalma göstermiş, 30. günde tespit edilen azalış başlangıç değerine göre anlamlı bulunmuştur. Orta yoğunluklu lipoprotein alt gruplarından sadece partükül büyüklüğü en fazla olan IDL-C’ de anlamlı bir azalış gözlenmiştir. Aslında üç IDL alt grubundaki (IDL-C, IDL-B ve IDL-A) kolesterol değerlerine baktığımızda partükül büyüklüğü azaldıkça kolesterol miktarının artması dikkat çekicidir. Lipoprotein alt gruplarını belirlemek için kullandığımız “Lipoprint Sistem” ile LDL, partükül büyüklüğüne göre en fazla 7 alt gruba ayrılır, LDL alt grupları en büyük partükülleri içeren LDL-1’ den, en küçük partükülleri içeren LDL-7’ ye kadar gruplandırılabilir. Şekil 8’ de görüldüğü üzere LDL-1 ve LDL-2 büyük-LDL, LDL-3, LDL-4, LDL-5, LDL-6 ve LDL-7 küçük-LDL olarak belirlenmiştir. LDL alt gruplarına bakıldığında toplam LDL’ nin büyük bir kısmını oluşturan LDL-1 ve LDL-2 değerlerinde anlamlı azalmalar saptanmıştır. LDL-1 hem 15. hem de 30. günde anlamlı derecede azalırken, LDL-2 sadece 30. günde anlamlı derecede azalmıştır. Tüm IDL ve LDL alt gruplarını içeren toplam LDL miktarında da anlamlı bir azalış gözlenmiştir. Plazma kolesterolünün yaklaşık %70’ e yakını LDL ile taşınır. LDL-1, LDL-2 ve toplam LDL kolesterol miktarının azalması demek aynı zamanda plazma kolesterolünün azalması demektir. Bulduğumuz sonuçlar bu bağlamda birbirini desteklemektedir. TK, VLDL, IDL-C, LDL-1, LDL-2 ve toplam LDL kolesterol miktarları 30. günde önemli düzeyde azalmıştır. IDL alt gruplarının tersine, LDL-1’ den LDL-4’ e doğru partükül büyüklüğü azaldıkça kolesterol miktarının da azalması dikkat çekicidir, en fazla kolesterol yoğunluğu en az ve en büyük partükül olan LDL-1’ de bulunmuştur. LDL’ nin yoğunluğu arttıkça çekirdeğin trigliseridce zenginleştiğinden söz edilmiştir (41). LDL-4 çalışma grubundaki bireylerin çok azında tespit edilirken, LDL-5, LDL-6 ve LDL-7 hiç tespit edilmemiş ve LDL-4 değerlerinde gözlenen değişimler anlamsız bulunmuştur. Bu beklediğimiz bir sonuçtur çünkü LDL alt grupları ile ilgili yapılan çalışmalarda küçük-

yoğun LDL' nin çoğunlukla hipertrigliseridemi durumunda olduğu gözlenmiştir. Bizim çalışma grubumuzda yer alan bireyler ise normolipidemiktir. Plazma trigliserid düzeyi ile LDL büyüklüğü arasındaki ilişki ilk kez Austin ve ark. tarafından keşfedilmiştir. “Tip A” fenotipi düşük plazma trigliserid düzeylerinde [$<0,5$ mmol/L (\cong 44 mg/dL)] görülürken, “Tip B” fenotipi trigliserid düzeyi 2 mmol/L' yi (\cong 200 mg/dL) aşan şahıslarda görülmüştür (41). Artan trigliserid düzeyleri ile beraber küçük-yoğun LDL konsantrasyonunun artması birkaç sebebe bağlanmıştır. Küçük-yoğun LDL trigliserid yönünden zengin partüküllerden oluşmaktadır, dolayısıyla artan VLDL ve IDL konsantrasyonu ile beraber dolaşımdaki küçük-yoğun LDL miktarının da artacağı düşünülmüştür. Ayrıca hipertrigliseridemi durumunda aynı zamanda oluşumları arttığı için dolaşımdan temizlenmelerinin daha az etkili olacağı ve lipid içeriğinde meydana gelen farklılıkların apo B' de konformasyonel değişikliklerin oluşumunu indükleyeceği ve apo B/E reseptörüne olan ilgisini azaltacağı söylenmiştir. Hipertrigliseridemik bireylerde özellikle küçük-yoğun LDL yüzey lipidlerindeki azalma ile birlikte insan fibroblastlarında LDL reseptörlerine olan ilgisinin %50 azaldığı saptanmıştır (43). McNamara ve ark. LDL büyüklüğü azaldıkça apo B' nin büyüklüğünün de azaldığını, $24A^0$ dan $16A^0$ a düştüğünü bulmuşlardır. Sialik asit ve nötral karbohidrat miktarının da değiştiği saptanmıştır (41). LDL büyüklüğü ile plazma HDL kolesterol seviyesi arasında pozitif korelasyon, plazma trigliserid seviyesi arasında negatif korelasyon bulunmuştur (39, 40). Halle ve ark.' nın HDL kolesterol değeri <35 mg/dL' den düşük ve farklı trigliserid değerlerine sahip erkekler üzerinde yaptığı çalışmada artan serum trigliserid düzeyi ile beraber VLDL ve IDL partüküllerinin büyüklüğü de artmıştır. Bunun yanı sıra VLDL ve IDL' de yüzey lipidleri (serbest kolesterol ve fosfolipid) ve çekirdek lipidleri (ester kolesterol ve trigliserid) artmıştır. LDL' de ise durum farklıdır, artan trigliserid miktarı sadece çekirdekte trigliserid miktarını arttırmış, ester kolesterol miktarını ise azaltmıştır. Yüzey lipidleri (serbest kolesterol ve fosfolipid) artan trigliserid miktarı ile azalmıştır. LDL alt gruplarının analizinde yüzey lipidlerinin büyük-hafif LDL ve özellikle küçük-yoğun LDL' de azaldığı, ayrıca küçük-yoğun LDL' de trigliserid miktarı azalırken büyük LDL partüküllerinde önemli düzeyde artmıştır (43).

Koroner arter hastalığı olan kişilerin yarıya yakınında kolesterol düzeyinin normal sınırlar içinde olduğu, dolayısıyla günümüzde lipidlerin kantitatif özelliklerinden ziyade LDL partükül büyüklüğü gibi kalitatif özelliklerinin önem kazanmaya başladığı söylenmektedir (96). “Küçük-yoğun LDL” ve “büyük-hafif LDL” olmak üzere tanımlanan iki farklı LDL fenotipi gradient jel elektroforezi sonucu elde edilen partikül çapı esas

alınarak tespit edilmiştir; LDL partikül çapı 258,4 Å ya da daha fazla ise “Tip A” (büyük-hafif LDL’ nin baskın olduğu fenotip), partikül çapı 258,4 Å dan az ise “Tip B” (küçük-yoğun LDL’ nin baskın olduğu fenotip) olarak değerlendirilir (40). Yaptığımız çalışmada fındık tüketimi LDL partikül büyüklüğünü değiştirmemiş, her üç dönemde ortalama LDL partikül büyüklüğü >258,4 Å dan fazla bulunmuştur. Plazma trigliserid düzeyi ne kadar yüksekse küçük-yoğun LDL yüzdesinin o kadar fazla olacağından, yani LDL partikül büyüklüğünün azalacağından bahsetmiştik. Başlangıç değerlerine göre 30. gündeki değişimi göstermek için hesapladığımız yüzde değişim değerleri arasında yapılan korelasyonlara baktığımızda serum trigliserid düzeyi ile LDL partikül büyüklüğü arasında negatif korelasyon gözledik, bulduğumuz serum trigliserid değerleri istatistiksel olarak anlamlı olmasa da bir miktar azalmıştır. Balık yağının kardiyovasküler risk faktörlerine olan etkisini gösteren çalışmalarda balık yağının sözü edilen en önemli özelliklerinden birinin trigliserid düzeylerinde azalmalara neden olmasıdır. Plazma trigliserid seviyesinin yüksek olmasının küçük-yoğun LDL oluşumunun temel belirleyicisi olduğu, dolayısıyla balık yağının küçük-yoğun LDL miktarını azaltacağını düşünmenin yerinde olduğu vurgulanmıştır (97). Eikosanoidler peroksizom proliferatörleri ile aktive reseptörler (PPAR) için ligandır. Balık yağında bulunan eikosapentaenoik asit (20:5, n-3) ve dokosaheksaenoik asit (22:6, n-3) PPAR için ligand olabilirler, bu reseptörler aktive oldukları zaman LPL gen ekspresyonunu indükleyerek ve apo CIII üretimini azaltarak trigliserid bakımından zengin lipoproteinlerin katabolizmasını artırırlar. Bunun yanında de-novo yağ asidi sentezini azaltarak ve yağ asitlerinin beta-oksidasyonunu arttırarak VLDL oluşumunun azalmasına neden olurlar (42). Dolayısıyla küçük-yoğun LDL oluşumunu da azaltırlar. Wallace ve ark. ise LDL alt gruplarının diyetle aldığımız yağlara verdiği cevabın genetik faktörlerle ilişkili olduğunu ileri sürmüştür. Apo AIV H360 aleline sahip bireylerde PUFA yönünden zengin diyetin yoğun-LDL kolesterol miktarını azalttığını ve HDL kolesterol miktarını arttırdığını gözlemişlerdir (95).

Bütün bu bilgilerin ışığında fındığın hipertrigliseridemik şahıslarda plazma trigliserid düzeylerini düşüreceği, dolayısıyla aterojenik bir lipoprotein olan küçük-yoğun LDL oluşumunu azaltacağı öngörülebilir. Ayrıca NCEP ATP III tarafından kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörü olarak kabul edilen küçük-yoğun LDL miktarlarının hastalık riski yüksek şahıslarda belirlenmesi önem taşımaktadır. Koba ve ark. koroner kalp hastaları ile yaptıkları çalışmada hem bayanlarda hem de erkeklerde küçük-yoğun LDL kolesterol miktarının arttığını, büyük-hafif LDL miktarının ve LDL partikül büyüklüğünün azaldığını tespit etmişlerdir. Ayrıca kontrol grubunda küçük-yoğun LDL

kolesterol ile LDL partükül büyüklüğü arasında negatif korelasyon saptamışlardır (45). Küçük-yoğun LDL' nin oksidasyona duyarlılığının artmasının aterojenik özellik göstermesinde önemli bir sebep olduğu belirtilmiştir (39, 40, 44, 45). 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. LDL alt gruplarında konjuge dien takibinin yapıldığı çalışmalar vardır (46, 47, 98). Bu çalışmalarda büyük-yoğun LDL' de LDL oksidasyonunun göstergesi olan gecikme fazı uzunluğunun (t-lag) daha uzun olduğu belirlenmiştir. LDL partükül büyüklüğü ile LDL oksidasyonunun gecikme fazı arasında pozitif ilişki olduğu bulunmuştur (47). Ayrıca koroner arter hastalarında konjuge dien miktarının arttığı tespit edilmiştir (99). Badem, ceviz gibi sert kabuklu meyvelerin konjuge dien oluşumu üzerine etkilerini gösteren çalışmalar yapılmıştır (65, 69, 70). Yapılan literatür araştırması sonucunda fındık yağının konjuge dien oluşumuna etkisi hayvanlar üzerinde araştırılmış (76, 77), fakat insanlar üzerinde hem fındık yağının hem de fındığın kendisinin konjuge dien oluşumuna etkisini gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yaptığımız çalışma fındığın LDL alt gruplarına olan etkisi yanında insanlar üzerinde konjuge dien oluşumuna etkisini göstermesi ile de ilktir. Beklediğimiz gibi fındık tüketimi gecikme fazı uzunluğunu (t-lag) hem 15. hem de 30. günde başlangıç değerlerine göre anlamlı derecede artmıştır. Aynı şekilde maksimum absorbansa ulaşmak için geçen süre (t-max) de artmış, fakat sadece 30. gündeki artış anlamlı bulunmuştur. Dien konjugasyon hızı ve maksimum dien konsantrasyonu değişmeden kalmıştır. Fındık tüketimi ile beraber t-lag değerinin uzaması bize LDL' nin oksidasyona direnç kazandığını gösterir. Bu sonuç iki sebeple açıklanabilir; birincisi önemli bir antioksidan olan E vitamini miktarının fındık tüketimi ile beraber artmasıdır. İkincisi ise daha önce bahsettiğimiz gibi 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 azaltmasıdır. LDL' de E vitamini miktar tayini yaparak öne sürdüğümüz birinci sebebi kanıtlayabildik, fakat teknik aksaklıklar sebebi ile LDL yağ asidi kompozisyonu tayini yapamamamız önemli bir eksikliktir. Çalışma grubunda yağ asidi kompozisyonu tayini daha sonra yapmayı planladığımız ilk hedefimizdir. Yine de literatürde yer alan diğer sert kabuklu meyvelerle yapılan çalışmalar öne sürdüğümüz ikinci sebebi kanıtlamamıza yardımcı olabilir. Jenkins ve ark.' nın hiperlipidemik bireyler üzerinde yaptıkları çalışmada

LDL oksidasyonunun belirleyicisi olan konjuge dien miktarının badem tüketimi ile beraber 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 (65). 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 (69). Aynı araştırmacılar LDL alfa-tokoferol miktarının azaldığını, gama-tokoferol miktarının arttığını saptamış, ayrıca MDA ve ox-LDL miktarlarının değişmediğini gözlemişlerdir. Artan gama-tokoferol miktarına rağmen t-lag değeri azalmıştır. Ceviz sert kabuklu meyveler içinde PUFA miktarı (39,1 g/100 g) en yüksek meyvedir. Dolayısıyla diyetle alınan PUFA miktarını artırması ile LDL oksidasyonuna neden olabileceği düşünülebilir. Zambon ve ark. cevizle benzer bir çalışma yapmışlar ve t-lag değerinin değişmediğini gözlemişlerdir (70). Başka bir çalışmada PUFA yönünden oldukça zengin balıkla beslenen kişilerde LDL' deki yağ asitleri yüzdesine bakıldığında omega-3 yağ asidi miktarlarının önemli düzeyde arttığı bulunmuştur. Aynı çalışmada balık ile beslenen kişilerde LDL' de belirlenen t-lag değerinin en kısa olduğu tespit edilmiştir (100). Balık yağı bakımından zengin diyetlerle yapılan çalışmalarda gecikme fazı ile beraber dien konjugasyon hızının da azaldığı rapor edilmiştir. Bu paradoksun sebepleri bazı varsayımlarla açıklanmaya çalışılmıştır. Brude ve ark. n-3 PUFA alımı ile oksidasyon hızının azalmasını eikosapentaenoik asit ve dokosaheksaenoik asitin daha sıkı paketlenmesi sonucunda çift bağların serbest radikallerle daha az etkileşmesine bağlamışlardır. Bunun yanında balık yağı bakımından zengin diyetle alınan n-3 PUFA' nin daha polar radikaller oluşturduğu ve bu polar radikallerin lipofilik olan çekirdeğe daha yavaş ulaşacağı ve dolayısıyla dien konjugasyon hızının azalacağı öne sürülmüştür (53).

LDL oksidasyonu sırasında oluşan lipid hidroperoksitlerin α -tokoferol miktarı ile ters ilişkili olduğu bulunmuştur (53). E vitamini doğal olarak bulunan en önemli antioksidanlardan biridir. E vitamini plazmada esas olarak LDL ile taşınır ve diğer dokularda olduğu gibi plazma E vitaminininin %90 gibi büyük bir kısmını α -tokoferol oluşturur (56). Fındık ve fındık yağı E vitamininin en iyi doğal kaynağıdır. Her gün sadece

25-30 g fındık günlük E vitamini ihtiyacının tamamını karşılamaktadır (52). Yaptığımız çalışmada bir ay boyunca her gün düzenli fındık tüketiminin LDL' de bulunan α -tokoferol miktarını özellikle 30. günde önemli düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ($p=0,017$). Dieber-Rotheneder ve ark. plazma E vitamini miktarının değil de LDL' deki E vitamini miktarının LDL' nin oksidasyona duyarlılığı ile ilişkili olduğunu açıkça göstermiştir (99). Zeytinyağı ağırlıklı beslenen Yunanlı bireylerde α -tokoferol miktarı $5,6 \pm 0,3 \mu\text{g}/\text{mg}$ LDL protein olarak bizim bulduğumuz değerlere yakın bulunmuştur (54). MUFA yerine cevizin yer aldığı "Akdeniz Diyeti" benzeri bir diyet hiperkolesterolemik bireylere uygulandığında alfa-tokoferol miktarının azaldığı, gama-tokoferol miktarının arttığı saptamıştır (69). Cevizle yapılan başka bir çalışmada alfa-tokoferol miktarı temel diyete göre yine azalmıştır (70). Cevizde gama-tokoferol miktarının fazla olduğu düşünülürse bu bulgular beklenen sonuçlardır. Mosca ve ark. tarafından yapılan çalışmada kardiyovasküler hastalığı olan şahıslara 6 hafta ve 12 hafta boyunca günde 800 IU E vitamini, 1000 mg C vitamini ve 24 mg beta-karoten olacak şekilde kompleks vitamin verildiğinde LDL oksidasyonu gecikme fazının (t-lag) arttığı bulunmuştur. Dozlar yarıya düşürüldüğünde de yine aynı sonuç elde edilmiştir (58). E vitamininin faydalı etkilerinin sebebinin doku aldehitlerini azaltmasına bağlı olduğu öne sürülmüş, bunun yanında E vitaminin, aldehit bağlayıcı sistein amino asidi için kaynak olan glutasyon miktarını arttırdığı gözlenmiştir. Ayrıca vitamin E' nin sağlıklı, hiperlipidemik ve diyabeti olan bireylerde lipid peroksidlerini düşürdüğünden bahsedilmektedir (101). E vitaminine ilave olarak fındığın toplam antioksidan kapasiteyi nasıl etkilediğini görmek için serumda toplam antioksidan kapasite (TAS) miktarlarını belirledik. TAS miktarlarının fındık tüketiminden etkilenmediğini değişmeden kaldığını gözledik. Çalışmamızdan farklı olarak Durak ve ark. fındığın antioksidan potansiyeli (AOP) arttırdığını göstermişlerdir. Araştırmacılar fındığın bazı antioksidan bileşenlerinin plazma antioksidan potansiyelini (AOP) arttırarak peroksidasyon reaksiyonlarını önleyebileceğini öne sürmüşlerdir (75).

Konjuge dien takibi ve E vitamini miktar tayini yanında LDL' nin oksidasyona duyarlılığını gösteren başka parametrelerde vardır. Lipid hidroperoksit, TBARS ve oLAB bu parametreler arasında yer alır. Çalışmamızda plazma LHP düzeyleri fındık tüketimi ile beraber azalmıştır. 30. günde gözlenen azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu bulgu artan α -tokoferol miktarı düşünüldüğünde şaşırtıcı değildir. LDL oksidasyonu sırasında oluşan lipid hidroperoksit (LHP) ile α -tokoferol arasında ters ilişki olduğunun gösterildiğinden söz etmiştik (53). Ayrıca fındığın diyetle MUFA miktarını arttırması LHP değerlerinde gözlenen azalışın diğer bir sebebi olarak düşünülebilir. İlk bakışta yaptığımız

çalışmada fındık tüketimi ile konjuge dien miktarının değişmeyip, LHP düzeyinin azalması ilginç bulunabilir. Fakat konjuge dien miktarı LDL' de, LHP düzeyi ise plazmada ölçülmüştür. Yaptığımız çalışmada LHP değerlerinin aksine TBARS değerlerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Durak ve ark.'nın yaptığı çalışmada sağlıklı bireylerde fındığın MDA düzeylerini düşürdüğü (75), yine sağlıklı normolipidemik bireylerde çam fıstığı tüketiminin MDA düzeylerini azalttığı saptanmıştır (64). Tavşanlar üzerinde yapılan bir çalışmada fındık yağının hiperkolesterolemik diyetle beslenen tavşanlarda plazma, karaciğer ve aort MDA düzeylerini düşürdüğü, normal diyet ile beslenen tavşanlarda ise MDA düzeylerini değiştirmedeği saptanmıştır (77). Yine tavşanlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada fındık yağının hiperkolesterolemik diyetle beslenen tavşanlarda plazma ve eritrosit MDA düzeylerini düşürdüğü, normal diyet ile beslenen tavşanlarda ise MDA düzeylerini değiştirmedeği saptanmıştır (76). Nifedipine (anti-hipertansif ilaç) ile tedavi gören hastalarda yerfıstığı yağının TBARS miktarını azalttığı, E vitamini miktarını ve kan basıncını arttırdığı bulunmuştur. TBARS miktarındaki azalışın ise yerfıstığı yağının yüksek oranda MUFA içermesine (%46) bağlı olabileceğini öngörmüşlerdir (101). Çalışmamızda E vitamini miktarını ve t-lag değerini artmış ve plazma LHP düzeyini azalmış bulmamıza rağmen TBARS değerinin değişmemesi beklenmedik bir sonuçtur.

Okside LDL seviyesini *in vivo* şartlarda belirlemek çok zordur. Çünkü LDL oksidasyonu genellikle subendotelyal alanda gelişir ve meydana gelen ox-LDL makrofajlarca hızlı bir şekilde toplanarak köpük hücre oluşumuna katılır. Ox-LDL' ye karşı oluşan otoantikolar, direkt oksidasyonu gösteren parametrelerden biri olarak kullanılmaktadır (34, 35). Aterosklerotik lezyonda ox-LDL birikimi, otoantikor oluşumunu teşvik etmektedir. Otoantikorların fazla olması da lipid peroksidasyonunun yüksekliği ile yakından ilişkilidir (37). Çalışmamızda TBARS değerleri gibi oLAB değerleri de değişmeden kalmıştır. Bireysel immunolojik farklılıklar oLAB oluşumunu etkileyen önemli faktörlerdendir. Oluşan antikoların dolaşımdan temizlenmesi yine bireysel farklılıklara bağlıdır.

Aterosklerozun gelişiminde endotel disfonksiyonunun öneminden ve endotelden salınan vazoaktif moleküller arasındaki dengenin bozulmasının endotel disfonksiyonuna yol açabileceğinden söz etmiştik. Yaptığımız çalışmada ET-1 değerleri önemli düzeyde artmış, NO düzeyini yansıtan nitrit ve nitrat düzeylerine baktığımızda sadece nitrit düzeyinde artış gözlenmiştir. Çalışmamızda artan ET-1 miktarı tek başına endotel disfonksiyonunun göstergesi olamaz, VCAM-1 ve PAI-1 gibi diğer vazoaktif moleküllerin miktarının fındık tüketimi ile değişmemesi ve her ne kadar toplam nitrit ve nitrat miktarını

değiştirmese de sadece nitrit miktarında gözlenen artış endotel fonksiyon bütünlüğünün bozulmadığı hakkında fikir verici olabilir. Büyük endotelin (bET-1), endotelin-dönüştürücü enzim (ECE) ile ET-1' e dönüşür. ET-1 salınımının ve mRNA ekspresyonunun trombin, TGF-B, IL-1, epinefrin, anjiotensin II, arginin vazopressin, Ca iyonofor ve forbol ester tarafından arttığı bulunmuştur (15). Tüketimi ile beraber fındıkta yüksek oranda bulunan arginin, ET-1 mRNA ekspresyonunu, dolayısıyla ET-1 üretimini arttırmış olabilir. Bunun yanında arginin aynı zamanda nitrik oksitin öncü molekülüdür. Fakat çalışmamızda toplam nitrit ve nitrat miktarı ve tek başına nitrat miktarı değişmezken yalnızca nitrit miktarı değişmiştir. Yaptığımız çalışmada nitrit ve nitrat arasında korelasyon tespit edilmemiştir. Bu alanda yapılan diğer çalışmalarda da nitrit ve nitrat arasında korelasyon tespit edilmemiştir (89). İnsanlarda argininin endotel fonksiyonları üzerine etkisini gösteren bazı deneysel klinik çalışmalar Brown ve Hu' nun makalesinde özetlenmiştir (102). Bu çalışmalardan bazıları kardiyovasküler hastalığı olan veya hiperkolesterolemik bireylerde argininin endotel fonksiyonlarını geliştirdiğini göstermiştir (102). Epidemiyolojik çalışmalar sert kabuklu meyvelerin sıkça tüketilmesinin koroner hastalık riskinin azalması ile ilgili olacağını göstermiştir. Sert kabuklu meyvelerin yüksek arginin içerikleri nedeni ile kardiyoprotektif etki gösterdikleri öne sürülmüştür (102). Çalışmamızda sVCAM-1 ve PAI-1 düzeyleri anlamlı oranda değişmemiştir. Hiperkolesterolemik bireyler üzerinde yapılan bir çalışmada α -linolenik asit yönünden yönünden zengin diyetin VCAM-1 düzeyini düşürdüğü gözlenmiştir. Ros ve ark. yaptıkları çalışmada cevizin endotel hücreleri tarafından salınan ICAM-1 düzeyini değiştirmezken, VCAM-1 düzeyini düşürdüğünü bulmuşlardır (69).

Yapılan bütün bu çalışmalar fındık ve yağ asitleri kompozisyonu bakımından zeytinyağı ve kanola yağına yaklaşık değerinde olan fındık yağının kardiyovasküler hastalıklardan korunmada önem taşıdığını göstermektedir. Türkiye yıllık ortalama 500 bin ton fındık üretimi ve bu üretimden sağlanan ortalama 500 milyon dolar dolayında ihracat geliri ile dünya ülkeleri arasında birinci sırada yer almaktadır. Türkiye' yi İtalya, İspanya ve Yunanistan izlemektedir. Ülkemizde başta doğu kesimleri olmak üzere hemen tüm Karadeniz bölgesinde yaklaşık 450 bin hektar alanda fındık yetiştirilmektedir (74). Dünya fındık üretiminin %74' ü ve fındık ihracatının %87' si ülkemiz tarafından karşılanmasına rağmen iç tüketimimiz üretimimizin %8-10' u kadardır (72). Dolayısıyla kardiyovasküler hastalıkların ölüm sebeplerinin başında yer aldığı ülkemizde fındık ve fındık yağının günlük diyetinde yer alması yararlı olacaktır.

5.1. Çalışmanın Dezavantajları

Çalışmaya katılan bireylerin günlük diyetlerinde önceki dönemlere göre değişiklik yapılmaması sağlanmaya çalışılsa da bu konuda %100 bir başarıdan ve standardizasyondan söz etmek söz konusu olamaz. Dolayısıyla çalışma grubundan kaynaklanabilecek bir takım minör faktörlerin çalışma sonucu üzerinde negatif etkileri olabilir.

Fındığın yararlı etkilerinin başlıca sebeplerinden biri olarak gösterilen yüksek MUFA içeriğinin LDL' nin yağ asidi kompozisyonunu nasıl değiştirdiğini ortaya koymak için fındık tüketiminin öncesinde ve sonrasında yapılması gereken LDL' nin yağ asidi kompozisyonu teknik aksaklıklar nedeni ile belirlenememiştir.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

Çalışma grubunu oluşturan 21 kişinin günlük diyetine 4 hafta süre ile 1g/kg/gün fındık eklenmesi ile elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

Çalışmaya katılan bireylerin vücut kitle indekslerinde değişim gözlenmemiştir.

Çalışma grubuna ait rutin biyokimya parametrelerinden ALT, AST, BUN, glukoz, bilirübin, protein, kreatinin ve ürik asit değerleri değişmeden kalmıştır. Albümin değerleri başlangıç değerlerine göre sadece 15. günde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmıştır.

Serum toplam kolesterol ve apo B düzeylerinde 30. günde istatistiksel olarak anlamlı bir azalış gözlenmiştir. Apo AI düzeylerinde 15. günde anlamlı bir artış tespit edilirken, 30. günde gözlenen artış anlamlı bulunmamıştır. Apo B/apo AI oranları hem 15. hem de 30. günde başlangıç değerlerine göre anlamlı derecede azalmıştır. TG, LDL-K, HDL-K, Lp(a), LDL-TK ve LDL-TG düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır.

Lipoprint sistem ile lipoprotein ve alt gruplarının incelenmesi sonucunda VLDL ve IDL-C düzeyleri 30. günde başlangıç değerlerine göre anlamlı derecede azalmıştır. LDL alt gruplarından LDL-4 çalışma grubundaki bireylerin çok azında tespit edilirken, LDL-5, LDL-6 ve LDL-7 hiç tespit edilmemiş ve LDL-4 değerlerinde gözlenen değişimler anlamsız bulunmuştur. LDL-1 hem 15. hem de 30. günde anlamlı derecede azalırken, LDL-2 ve toplam LDL sadece 30. günde anlamlı derecede azalmıştır. LDL partikül büyüklüğü her üç dönemde değişmeden kalmıştır.

t-lag 15. ve 30. günde başlangıç değerlerine göre anlamlı derecede artmıştır. Maksimum absorbansa ulaşmak için geçen süre (t-max) başlangıç değerlerine göre 30. günde anlamlı derecede artmıştır. Dien konjugasyon hızı (DKH) ve maksimum dien

konsantrasyonu (MDK) 15. günde ve 30. günde başlangıç değerlerine ve birbirlerine göre anlamlı bir değişim göstermemiştir.

α -tokoferol miktarlarında gözlenen artış sadece 30. günde başlangıç ve 15. güne göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Başlangıç ve 15. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir.

Plazma LHP düzeyleri karşılaştırıldığında 15. gündeki azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken, 30. günde gözlenen azalış anlamlıdır. TBARS, TAS ve oLAB değerleri değişmemiştir.

Nitrit miktarı 30. günde anlamlı derecede artarken, nitrat miktarında ve toplam nitrit ve nitrat miktarında değişim gözlenmemiştir. ET-1 düzeyi ise hem 15. hem de 30. günde artış göstermiş, sVCAM-1 ve PAI-1 düzeyleri anlamlı oranda değişmemiştir.

6.2. Öneriler

Bu bulguların ışığı altında kan lipid profilindeki, özellikle aterojenik lipoprotein olarak kabul edilen LDL ve alt gruplarındaki anti-aterojenik değişiklikler nedeniyle günlük diyetle belirli bir miktar (1 g/kg/gün) fındık tüketimine yer verilmesinin ileride gelişebilecek kardiyovasküler hastalıklardan korunmada ve bu hastalıkları geciktirmede faydalı olabileceği kanısındayız.

Bunun yanında fındık tüketiminin endotel fonksiyonları üzerindeki etkisini net olarak ortaya koyabilmek için endotel hücre kültürü ile çalışılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Ayrıca hiperkolesterolemik diyetle ateroskleroz gelişimi sağlanan hayvanlarda ve hiperkolesterolemik bireylerde fındık tüketiminin ateroskleroz gelişimini nasıl etkilediğinin planlanan başka bir çalışma ile ortaya koyulabileceğini düşünmekteyiz.

7. ÖZET

FINDIĞIN ATEROJENİK VE ANTİ-ATEROJENİK PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Fibröz-yağlı plak oluşumu ile karakterize kronik inflamatuvar bir hastalık olan ateroskleroz kardiyovasküler hastalıkların oluşumunda en önemli risk faktörlerinden biridir. Endotel disfonksiyonu ve LDL oksidasyonunun ateroskleroz gelişimindeki rolü önemlidir. LDL' nin oksidasyona duyarlılığı yapısındaki α - tokoferol ve yağ asitlerindeki çift bağlar gibi kimyasal kompozisyonundan etkilenir. LDL' nin yağ asidi kompozisyonu diyetle alınan yağ asitleri ile değişebilir, PUFA içeriğinin azaltılıp, MUFA içeriğinin artırılması LDL oksidasyonunu azaltabilir. Sahip olduğu yüksek MUFA ve antioksidan potansiyeli ile fındığın sağlık üzerinde olumlu etkileri vardır. Fındığın sağlıklı normolipidemik bireylerde plazma lipidleri, lipoproteinleri, LDL oksidasyonu, α - tokoferol miktarları, LDL alt grupları, LDL partikül büyüklüğü ve endotel fonksiyonlarını gösteren bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisini göstermeyi amaçladık. Çalışma grubu yaşları 20 ve 38 arasında değişen 13 bayan ve 8 baydan oluşmaktadır. Kan örnekleri başlangıçta, 15.günde ve 30.günde toplanmıştır. Çalışmamızda LDL' nin oksidasyona duyarlılığı konjuge dien takibiyle, LDL alt grupları ve LDL partikül büyüklüğü ise "Lipoprint Sistem" ile belirlenmiştir. α - tokoferol miktarları HPLC ile ölçülmüştür. Diğer parametreler ise ELİSA yöntemi ile tespit edilmiştir. Çalışmaya katılan bireylerin vücut kitle indekslerinde değişim gözlenmemiştir. Serum TK ve apo B düzeyleri 30. gün sonunda azalmıştır. Apo AI düzeyleri 15. gün sonunda artarken, apo B/apo AI oranları 15. ve 30. gün sonunda azalmıştır. TG, LDL-K, HDL-K, Lp(a), LDL-TK ve LDL-TG düzeylerinde anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. VLDL, IDL-C, LDL-2 ve toplam LDL düzeyleri 30. günde azalırken, LDL-1 hem 15. hem de 30. günde azalmıştır. LDL partikül büyüklüğü

değişmeden kalmıştır. t-lag 15. ve 30. günde artmış. α -tokoferol miktarları 30. günde başlangıç ve 15. gün değerlerine göre artmıştır. Plazma LHP düzeyleri 30. gün sonunda azalırken, ET-1 ve nitrit miktarı çalışma sonunda artış göstermiştir. TBARS, TAS, oLAB, sVCAM-1, PAI-1 ve nitrat düzeyleri anlamlı oranda değişmemiştir.

Sonuç olarak 4 hafta boyunca fındık tüketiminin plazma lipid ve lipoproteinlerin düzeyini ve kimyasal kompozisyonlarını, özellikle LDL' nin, değiştirerek antiaterojenik etki gösterdiği ileri sürülebilir.

Anahtar kelimeler: Fındık, ateroskleroz, LDL oksidasyonu, LDL alt grupları, α -tokoferol.

8. ÖZET

EXAMINATION OF THE EFFECT OF HAZELNUT ON ATHEROGENIC AND ANTI-ATHEROGENIC PARAMETERS

Atherosclerosis is a chronic inflammatory disorder characterized by the formation of fibromatous-fatty plaque and one of the most important risk factor for cardiovascular diseases. Endothelial disfunctions and LDL oxidation play 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. The fatty acid composition of LDL can be affected by the dietary fatty acid composition. Therefore decreasing PUFA and increasing MUFA contents of LDL can be resulted in decrease of LDL susceptibility to oxidation. Hazelnut consumption has beneficial effects on health with its high MUFA and antioxidant potential. It was aimed to determine the effects of hazelnut consumption by diet on plasma lipids, lipoproteins, LDL susceptibility to oxidation, α -tocopherol content, LDL subfractions, LDL particle size and some biochemical parameters for endothelial functions in healthy normolipidemic individuals. Study group was consist of 13 women and 8 men varying ages between 20 and 38 years. Hazelnut (1g/kg/day) was consumed by the individuals for 4 weeks. Blood samples were collected before starting the study, on 15th day and 30th day of the study. LDL susceptibility to oxidation was determined by measuring the conjugated diene kinetics. "Lipoprint Sistem" was used to ascertain the LDL subfractions and LDL particle size. α -tocopherol level was measured by using the HPLC. The other parameters were determined by ELISA. It was observed that no change was found in the body mass index of the individuals. Serum TC and apo B levels decreased at the end of the 30 days. While apo AI increased on 15th day, apo B/apo AI ratios decreased on 15th and 30th days. TG,

LDL-C, HDL-C, Lp(a), LDL-TC and LDL-TG levels didn't change significantly. While VLDL, IDL-C, LDL-2 and total LDL decreased on 30th day, LDL-1 decreased on both 15th and 30th days. LDL particle size remained unchanged. It was found that t-lag increased on both 15th and 30th days. The levels of α -tocopherol in LDL were found to be elevated on 30th day compared to the beginning and 15th day of the study. Plasma LHP levels decreased but ET-1 and nitrit levels increased at the end of the study. TBARS, TAS, oLAB, sVCAM-1, PAI-1 and nitrat levels remained unchanged.

It can be concluded that hazelnut consumption for 4 weeks had an antiaterogenic effects by changing both the levels of plasma lipids, lipoproteins and their chemical composition, especially in LDL.

Keywords: Hazelnut, atherosclerosis, LDL oxidation, LDL subfractions, α -tocopherol.

9. KAYNAKLAR

1. Greaves, D.R. and Channon, K.M., “Inflammation and immune responses in atherosclerosis”, *Trends in Immunology*, vol. 23, no. 11, 535-541, 2002.
2. Scott, J., “Pathophysiology and biochemistry of cardiovascular disease”, *Current Opinion in Genetics and Development*, 14: 271-279, 2004.
3. Onat, A., TEKHARF, Türk Erişkinlerinde Kalp Sağlığı, ARGOS, 2005.
4. Lowenstein, C. and Matsushita, K., “The acute phase response and atherosclerosis”, *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*, vol. 1, no. 1, 2004.
5. 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; International Journal of Clinical Chemistry*, vol. 366, iss. 1-2, p. 74-80, April, 2006.
6. 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.
7. 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.

8. Bobryshev, Y.V., "Monocyte recruitment and foam cell formation in atherosclerosis", *Micron*, 37: 208-222, 2006.
9. Duval, C., Chinetti, G., Trottein, F., Fruchart, J-C., Staels, B., "The role of PPARs in atherosclerosis", *Trends in Molecular Medicine*, vol. 8, no. 9, September, 2002.
10. Steinberg, D., Parthasarathy, S., Carew, T.E., Khoo, J.C., Witztum, J.L., "Beyond cholesterol: Modification of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity", *New Engl. J. Med.*, 320: 915-922, 1989.
11. Ross, R., "The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s", *Nature*, 362: 801-809, 1993.
12. Nakajima, K., Nakano, T., Tanaka, A., "The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: The comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma", *Clinica Chimica Acta*, 367: 36-47, 2006.
13. Laroia, S.T., Ganti, A.K., Laroia, A.T., Tendulkar, K.K., "Endothelium and the lipid metabolism: the current understanding", *International Journal of Cardiology*, 88: 1-9, 2003.
14. Schiffrin, E.L., "Beyond Blood Pressure: The Endothelium and Atherosclerosis Progression", *American Journal of Hypertension*, 15: 115S-122S, 2002.
15. Lüscher, T.F. and Barton, M., "Biology of the Endothelium", *Clin. Cardiol.*, vol. 20 (suppl. II), II-3-II-10, 1997.
16. Matsuoka, H., "Endothelial dysfunction associated with oxidative stress in human", 54 (suppl. 2): S65-S72, 2001.

17. Behrendt, D. And Ganz, P., "Endothelial Function: From Vascular Biology to Clinical Applications", *Am. J. Cardiol.*, 90 (suppl.): 40L-48L, 2002.
18. Schiffrin, E.L., "Role of Endothelin-1 in Hypertension and Vascular Disease", *American Journal of Hypertension*, 14: 83S-89S, 2001.
19. Plack, P.H. and Garbutt, L.D., "Stres, inflammation and cardiovascular disease", *Journal of Psychosomatic Research*, 52: 1-23, 2002.
20. Onat, T., Emerk, K., ve Sözmen, E. Y., İnsan Biyokimyası, Palme yayıncılık, Haziran, p.617-623, 2002.
21. Nelson, D.L., Cox, M.M., Lehninger Principles of Biochemistry, 4th ed., W.H. Freeman and Company, New York, p.821-825, 2005.
22. 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.
23. Esterbauer, H., Puhl, H., Dieber-Rotheneder, M., Waeg, G., Rabl, H., "Effect of antioxidants on oxidative modification of LDL", *Ann. Med.*, 23:573-581, 1991.
24. 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.
25. Jialal, I., Devaraj, S., "Low-density lipoprotein oxidation, antioxidants and atherosclerosis: a clinical biochemistry perspective", *Clin. Chem.*, 42:498-506, 1996.
26. Yamaguchi, Y., Kunitomo, M., Haginaka, J., "Assay methods of modified lipoproteins in plasma", *Journal of Chromatography B*, 781: 313-330, 2002.

27. Maziere, C., Dantin, F., Conte, M.A., Degonuille, J., All, D., Dubois, F., Maziere, J. C., "Polyunsaturated fatty acid enrichment enhances endothelial cell-induced low-density lipoprotein peroxidation. *Biochem. J.*, 336: 57-62, 1998.
28. Mahley, R.W., "Aterogenezin hücresel ve moleküler biyolojisi: Kolesterol taşınması ve lipoprotein metabolizması", O. Gökdemir, K. E. Raloğlu (Editörler), Amerikan Hastanesi Lipid Kliniği, İstanbul, p. 146-150, 1995.
29. Halliwell, B., "Oxidation of low-density lipoproteins.: questions of initiation, propagation and the effect of antioxidants", *Am. J. Clin. Nutr.*, 61:670S-677S, 1995.
30. Retsky, K.L., Chen, K., Zeind, J., Frei, B., "Inhibition of copper induced LDL oxidation by vitamin C is associated with decreased copper binding to LDL and 2-oxo-histidine formation", *Free Rad. Biol. Med.*, 26:90-98, 1998.
31. Leray, C., Andriamampandry, M.D., Freund, M., Gachet, C., Cazenave, J.P., "Simultaneous determination of homologues of vitamin E and coenzyme Q and products of α -tocopherol oxidation", *J. Lipids Res.*, 39:2099-2105, 1998.
32. Çimen, B.Y., "Flavonoidler ve antioksidan özellikleri", *T. Klin. Tıp Bil.*, 19:296-304, 1999.
33. Parthasarathy, S., Santanam, N., Tamachandran, S., Meilhac, O., "Oxidants and antioxidant in atherogenesis : an appraisal", *J. Lipid Res.*, 40: 2143-2157, 1999.
34. Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., Jürgens, G., "The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL", *Free Rad. Biol. Med.*, 13:341-390, 1992.

- 35.** Kim, J.G., Sabbogh, F., Santaram, N., Wilcox, J.N., Medfer, R.M., Parthasarathy, S., "Generation of a polyclonal antibody against lipid peroxide modified proteins", *Free Rad. Biol Med.*, 23:251-259, 1997.
- 36.** Maggi, E., Finardi, G., Poli, M., Bollati, P., Fillipponi, M., Stefano, P.L., Paolini, G., Gressi, A., Clot, P., Albaro, E., "Specificity autoantibodies against oxidized LDL as an additional marker for atherosclerotic risc", *Coronary Artery Dis.*, 4:1119-1122, 1993.
- 37.** Iribarren, C., Folsom, A.R., Jacobs, D.R., Gross, M.D., Belcher, J.D., Eckfeldt, J. H., "Association of serum vitamin levels, LDL susceptibility to oxidation and autoantibodies against MDA-LDL with carotid atherosclerosis", *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 17:1171-1177, 1997.
- 38.** Carpenter, K.L.H., Challis, I.R., Arends, M.J., "Mildly oxidised LDL induces more macrophage death than moderately oxidised LDL: roles of peroxidation, lipoprotein-associated phospholipase A₂ and PPAR γ ", *FEBS Letters*, 553: 145-150, 2003.
- 39.** Rizzo, M. ve Berneis, K., "LDL size and cardiovascular prevention", *European Journal of International Medicine*, 17: 77-80, 2006.
- 40.** Rizzo, M. ve Berneis, K., "Should we measure routinely the LDL peak particle size?", *International Journal of Cardiology*, 107: 166-170, 2006.
- 41.** Packard, C.J. and Shepherd, J., "Lipoprotein Heterogeneity and Apolipoprotein B Metabolism", *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 17: 3542-3556, 1997.
- 42.** Stalenhoef, A.H.F., Graaf, J., Wittekoek, M.E., Bredie, S.J.H., Demacker, P.N.M., Kastelein, J.J.P., "The effect of concentrated n-3 fatty acids versus gemfibrozil on plasma lipoproteins, low density lipoprotein heterogeneity and oxidizability in patients with hypertriglyceridemia", *Atherosclerosis*, 153: 129-138, 2000.

43. Halle, M., Berg, A., Baumstark, M.W., Konig, D., Huonker, M., Keul, J., "Influence of mild to moderately elevated triglycerides on low density lipoprotein subfraction concentration and composition in healthy men with low high density lipoprotein cholesterol levels", *Atherosclerosis*, 143: 185-192, 1999.
44. Zambon, A. ve Crepaldi, G., "The plurimetabolic syndrome: qualitative lipoprotein abnormalities and atherosclerosis", *International Congress Series*, 1253: 223-228, 2003.
45. Koba, S., Hirano, T., Ito, Y., Tsunoda, F., Yokota, Y., Ban, Y., Iso, Y., Suzuki, H., Katagiri, T., "Significance of small dense low-density lipoprotein-cholesterol concentrations in relation to the severity of coronary heart diseases", *Atherosclerosis*, article in press, 2006.
46. Tribble, D.L., Rizzo, M., Chait, A., Lewis, D.M., Blanche, P.J., Krauss, R.M., "Enhanced Oxidative Susceptibility and Reduced Antioxidant Content of Metabolic Precursors of Small, Dense Low-Density Lipoproteins", *Am. J. Med.*, 110: 103-110, 2001.
47. Hidaka, A., Inoue, K., Kutsukake, S., Adachi, M., Kakuta, Y., Kojo, S., "Decrease in the particle size of low-density lipoprotein (LDL) by oxidation", *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 15: 2781-2785, 2005.
48. Canbek, E., Güncel Hiperlipidemi, Turgut yayıncılık ve tic. A.Ş., p.76-96, 2000.
49. Champe, P.C., Harvey, R.A., Ferrier, D.R., Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry, 3rd ed., Lippincott Williams and Wilkins, p.355-370, 2005.
50. Alphan, E., "Sert kabuklu meyvelerin sağlığa etkileri", 3. Milli Fındık Şurası Tebliğler Kitabı, Uğur Eğitim Hizmetleri ve Yayıncılık, p.550-555, Ocak, 2006.
51. Kültürsoy, H., Koroner Kalp Hastalığı, Primer ve Sekonder Korunma, ARGOS, p.138-140, 2001.

- 52.** Pehlivanoglu, S., “Kalp ve Damar Hastalıklarından Korunmada Fındığın Etkisi”, 3. Milli Fındık Şurası Tebliğler Kitabı, Uğur Eğitim Hizmetleri ve Yayıncılık, p.584-586, Ocak, 2006.
- 53.** Moreno, J.J. and Mitjavila, M.T., “The degree of unsaturation of dietary fatty acids and the development of atherosclerosis (Review)”, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 14: 182-195, 2003.
- 54.** Tsimikas, S., Philis-Tsimikas, A., Alexopoulos, S., Sigari, F., Lee, C., Reaven, P.D., “LDL Isolated from Grek Subjects on a Typical Diet or from American Subjects on an Oleate-Supplemented Diet Induces Less Monocyte Chemotaxis and Adhesion When Exposed to Oxidative Stress”, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 19: 122-130, 1999.
- 55.** Lombardo, Y.B. and Chicco, A.G., “Effects of dietary polyunsaturated n-3 fatty acids on dyslipidemia and insulin resistance in rodents and humans. A review”, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 17: 1-13, 2006.
- 56.** Lim, C. K., “HPLC of small molecules ; a practical approach”, IRL Press Limited, 173-180, 1986.
- 57.** Chan, A.C., “Vitamin E and Atherosclerosis”, *J. Nutr.*, 128: 1593-1596, 1998.
- 58.** Mosca, L., Rubenfire, M., Mandel, C., Rock, C., Tarshis, T., Tsai, A., Pearson, T., “Antioxidant Nutrient Supplementation Reduces the Susceptibility of Low Density Lipoprotein to Oxidation in Patients with Coronary Artery Disease”, *J. Am. Coll. Cardiol.*, 30: 392-399, 1997.
- 59.** K lt rsoy, H., Koroner Kalp Hastalığı, Primer ve Sekonder Korunma, ARGOS, p.504-507, 2001.

- 60.** 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.
- 61.** Fraser, G.E., “Nut Consumption, Lipids and Risk of a Coronary Event”, *Clin. Cardiol.*, 22 (Suppl. III): III-11-III15, 1999.
- 62.** Hu, F.B., “Plant-based foods and prevention of cardiovascular disease: an overview”, *Am. J. Clin. Nutr.*, 78 (suppl.): 544S-551S, 2003.
- 63.** Lorgeril, M. and Salen, P., “Alpha-linolenic acid and coronary heart disease”, *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, 14: 162-169, 2004.
- 64.** 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.
- 65.** 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.
- 66.** 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*, vol. 50, no. 4, April, 494-503, 2001.
- 67.** 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.

- 68.** 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.
- 69.** 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.
- 70.** 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.
- 71.** Bayram, F., Şahan, S., Kurtoğlu, S., Karadeniz, T., “Sağlık ve beslenme gozuyle fındık”, 3. Milli Fındık Şurası Tebliğler Kitabı, Uğur Eğitim Hizmetleri ve Yayımcılık, p.590-595, Ocak, 2006.
- 72.** Yağmur, C. ve zer, A., “Fındığın insan beslenmesi ve sağlığındaki nemi”, 3. Milli Fındık Şurası Tebliğler Kitabı, Uğur Eğitim Hizmetleri ve Yayımcılık, p.602-607, Ocak, 2006.
- 73.** Baysal, A., “Fındığın beslenme ve sağlık ynunden nemi”, 3. Milli Fındık Şurası Tebliğler Kitabı, Uğur Eğitim Hizmetleri ve Yayımcılık, p.587-588, Ocak, 2006.
- 74.** Akurt, F., “Fındığın beslenme ve sağlık açısından değerlendirilmesi”, 3. Milli Fındık Şurası Tebliğler Kitabı, Uğur Eğitim Hizmetleri ve Yayımcılık, p.596-601, Ocak, 2006.
- 75.** Durak, İ., Kksal, İ., Kamaz, M., Bykkoak, S., imen, B.M.Y., ztrk, H.S., “Hazelnut supplementation enhances plasma antioxidant potential and lowers plasma cholesterol levels”, *Clinica Chimica Acta*, 284:113-115, 1999.

- 76.** 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.
- 77.** 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.
- 78.** Sclavons, M. M., Cordonnier, C. M., Mailleux, 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 discontinues density gradient”, *Clin. Chim. Acta*, 153:125-135, 1985.
- 79.** 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.
- 80.** 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, p.72-74, 1990.
- 81.** 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.
- 82.** Proudfoot, J. M., Croft, K. D., Puddey, I. A., Beilin, L. J., “The role of copper reduction by α -tocoferol in low density lipoprotein oxidation”, *Free Rad. Biol. Med.*, 23:720-728, 1997.
- 83.** Puhl, H., Waeg, G., Esterbauer, H., “Methods to determine oxidation of low density lipoproteins”, *Methods in Enzymology*, 233:425-440, 1995.

- 84.** 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.
- 85.** Austin, M. A., Breslow, J. L., Hennekens, C. H., Buring, J. E., Willet, W. C., Krauss, R. M., "Low-density lipoprotein subclass pattern and risk of myocardial infarction", *J. Am. Med. Assoc.*, 260: 1917-21, 1988.
- 86.** Yagi, K., "Lipid peroxides and related radicals in clinical medicine", *Free Radicals in Diagnostic Medicine*, Plenum Press, New York, p.1-15, 1994.
- 87.** Pussinen, P. J., Linder, H., Glatter, O., Reicher, H., Kostner, M. G., Wintersperger, A., Malle, E., Sattler, W., "Lipoprotein associated α -tocopheryl-succinate inhibits cell growth and induces apoptosis in human MCF-7 and HBL-100 breast cancer cells", *Biochimica et Biophysica Acta*, 1485: 129-144, 2000.
- 88.** Ruiz, C., Alergria, A., Barberá, R., Farré, R., Lagarga, M. N., "Determination of lipid hydroperoxides by an NADPH/NADP coupled enzyme reaction system; Evaluation of a method", *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 35:893-898, 1997.
- 89.** Moshage, H., Kok, B., Huizenga, J. R., Jansen, P. L. M., "Nitrite and Nitrate Determinations in Plasma: A Critical Evaluation", *Clin. Chem.*, 41/6: 892-896, 1995.
- 90.** Erel, Ö., "A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions", *Clinical Chemistry*, 37: 112-119, 2004.
- 91.** 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.

- 92.** Spiller, G.A., Jenkins, D.A.J., Bosello, O., Gates, J.E., Cragen, L.N., Bruce, B., "Nuts and Plasma Lipids: An Almond-Based Diet Lowers LDL-C while Preserving HDL-C", *Journal of the American College of Nutrition*, vol. 17, no. 3, 285-290, 1998.
- 93.** Sabate, J., "Nut consumption and body weight", *Am. J. Clin. Nutr.*, 78 (suppl.): 647S-650S, 2003.
- 94.** Chisholm, A., Auley, K., Mann, J., Williams, S., Skeaff, M., "Cholesterol lowering effects of nuts compared with a Canola oil enriched cereal of similar fat composition", *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 15: 284-292, 2005.
- 95.** Wallace, A.J., Humphries, S.E., Fisher, R.M., Mann, J.I., Chisholm, A., Sutherland, W.H.F., "Genetic factors associated with response of LDL subfractions to change in the nature of dietary fat", *Atherosclerosis*, 149: 387-394, 2000.
- 96.** Shimada, K., Kawarabayashi, T., Tanaka, A., Fukuda, D., Nakamura, Y., Yoshiyama, M., Takeuchi, K., Sawaki, T., Hosoda, K., Yoshikawa, J., "Oolong tea increases plasma adiponectin levels and low-density lipoprotein particle size in patients with coronary artery disease", *Diabetes Research and Clinical Practice*, 65: 227-234, 2004.
- 97.** Patti, L., Maffettone, A., Iovine, C., Di Marino, L., Annuzzi, G., Riccardi, G., Rivellese, A.A., "Long-term effects of fish oil on lipoprotein subfractions and low density lipoprotein particle size in non-insulin-dependent diabetic patients with hypertriglyceridemia", *Atherosclerosis*, 146: 361-367, 1999.
- 98.** Jun-Jun, W., Xiao-Zhuan, L., Yi-Yi, Z., Lu-Yan, L., "Correlation Between Susceptibility of LDL Subfractions to in vitro Oxidation and in vivo Oxidized LDL", *Clinical Biochemistry*, vol. 33, no. 1, 71-73, 2000.
- 99.** Kostner, K., Hornykewycz, S., Yang, P., Neunteufl, T., Glogar, D., Weidinger, F., Maurer, G., Huber, K., "Is oxidative stress causally linked to unstable angina pectoris? A

study in 100 CAD patients and matched controls”, *Cardiovascular Research*, 36: 330-336, 1997.

100. Lahteenmaki, T.A., Seppo, L., Laakso, J., Korpela, R., Vanhanen, H., Tikkanen, M.J., Vapaatalo, H., “Oxidized LDL from subjects with different dietary habits modifies atherogenic processes in endothelial and smooth muscle cells”, *Life Sciences*, vol. 66, no. 5: 455-465, 2000.

101. Sankar, D., Sambandam, G., Ramakrishna Rao, M., Pugalendi, K.V., “Modulation of blood pressure, lipid profiles and redox status in hypertensive patients taking different edible oils”, *Clinica Chimica Acta*, 355: 97-104, 2005.

102. Brown, A.A. and Hu, F.B., “Dietary modulation of endothelial function: implications for cardiovascular disease”, *Am. J. Clin. Nutr.*, 73: 673-686, 2001.

103. Executive summary of the third report of the NCEP expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III), *JAMA*, 285: 2486-97, 2001.

ÖZGEÇMİŞ

Fulya Balaban 1974 yılında Kayseri’ de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini tamamladıktan sonra 1991 yılında Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde öğrenime başladı ve 1995 yılında mezun oldu. 1996 yılında Orta Doğu Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimine başladı. 2000 yılında “Yeni sentezlenen retinoidlerin genotoksik etkileri” konulu tezini tamamlayarak yüksek lisans öğrenimini bitirdi. Aynı yıl Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı’nda doktora öğrenimine başladı ve 5 yıl araştırma görevlisi olarak çalıştı. Halen aynı enstitüde doktora öğrenimini tamamlamak üzeredir.