

44808

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BIYOKİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA PROGRAMI**

**DİYETTE MARGARİN KULLANIMININ BAZI
PLAZMA VE ERİTROSİT MEMBRAN LİPİDLERİ ÜZERİNE
OLAN ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

NECMETTİN YILMAZ

44808

TRABZON - 1995

TC
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DOKTORA PROGRAMI

DIYETTE MARGARİN KULLANIMININ BAZI PLAZMA VE ERİTROSİT
MEMBRAN LİPİDLERİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

NECMETTİN YILMAZ

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 28.7.1995

Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 28.8.1995

Tez danışmanı

Jüri Üyesi

Jüri Üyesi

: Prof. Dr. E. Edip KEHA

: Prof.Dr. Ekin ÖNDER

: Prof.Dr. Nuri BAKAN

Enstitü Müdürü

: Prof. Dr. Ethem Alhan

Temmuz-1995

TRABZON

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	
2.1. Lipidler Hakkında Genel Bilgiler	2
2.1.1. Yağ Asitleri ve Triaçilgliseroller	3
2.1.2. Sıvı Bitkisel Yağlar, Margarin Tereyağı ve Hayvani Yağların Bileşimleri	7
2.1.3. Fosfolipidler	9
2.1.4. Glikolipidler	11
2.1.5. Kolesterol ve Kolesterol türevi Bileşikler	11
2.1.6. Lipoproteinler Hakkında Genel Bilgiler	13
2.2. Membranların Yapısı ve Fonksiyonları	15
2.2.1. Membranın Lipid Yapısı	16
2.2.2. Membranın Protein Yapısı	16
2.2.3. Membran Yapısının Akışkan-Mozaik Modeli	17
2.3. Eritrosit Yapısı ve Fonksiyonları	17
3. MATERYAL VE METOD	
3.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler	21
3.2. Çalışmada Kullanılan Alet ve Cihazlar	21
3.3. Kan Örneklerinin Alınması	22
3.4. Eritrosit Paketi ve Lipid Ekstraktının Hazırlanması	23
3.5. Kolesterol Tayini	
3.5.1. Eritrosit Membran Kolesterolünün Tayini	23
3.5.2. Plazma Toplam Kolesterolü, HDL ve LDL Kolesterol Tayinleri	24
3.6. Plazma Toplam Trigliserid Miktarlarının Belirlenmesi	25
3.7. Eritrosit Membran Fosfolipidlerinin Analizi	26

3.7.1. Fosfolipidlerin İnce Tabaka Kromatografisi İle Ayrılması	26
3.7.2. Fosfolipidlerin Fosfolipaz B İle Hidrolizi	27
3.7.3. Fosfoglisericid Yapısındaki Yağ Asit Çeşitlerinin Gaz Kromatografisi İle Belirlenmesi	27
4. BULGULAR	
4.1. Membran ve Plazma Kolesterollerine İlgili Bulgular	29
4.1.1. Eritrosit Membran Kolesterollerine İlgili Bulgular	30
4.1.2. Plazma Kolesterollerine İlgili Bulgular	30
4.2. Plazma Toplam Triglisericid Miktarları İle İlgili Bulgular	33
4.3. Eritrosit Membran Fosfoglisericidlerinin Yağ Asitleri Bileşimine İlgili Bulgular	33
4.4. İstatistiksel Analiz Sonuçları	34
5. TARTIŞMA	36
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	48
7. ÖZET	49
8. SUMMARY	51
9. KAYNAKLAR	53

ÖNSÖZ

Tez çalışmalarım sırasında yardımlarını gördüğüm tez danışmanım sayın Prof. Dr. E. Edip Keha'ya, Prof. Dr. Orhan Değer'e, Prof.Dr. Ekin Önder'e, Prof.Dr. Ebubekir Bakan'a, Prof. Dr. Nuri Bakan'a, Yrd. Doç. Dr. Yaşar Demir'e, Öğr. Gör. Mehmet Aktaş'a, Araş. Gör. Mahfuz Elmastaş'a en içten duygularıyla şükranlarımı sunarım.

Bu tez Karadeniz Teknik Üniversitesi Araştırma Fonunca 94 11400313 nolu proje ile desteklenmiştir



GİRİŞ VE AMAÇ

Hidrojene bitkisel yağlar bir başka ifadeyle margarinler insanoğlunun diyetine 1940 lı yıllardan sonra günümüze kadar, artan miktarlarda girmiştir. Bunlar özellikle soya, pamuk, mısır özü, palmye ve ayçiçeği yağlarının hidrojenlenmesiyle oluşmaktadır. Bu suretle bitkisel yağdaki C=C çift bağlarının bir kısmı doyurularak ticari yönden dağıtımı daha kolay yapılabilen, paketlenen ve mutfaklarda kullanım kolaylığı olan katı bir yağ meydana gelmektedir. Bu esnada çift bağların doyurulmasının dışında bazı çift bağlar yeni pozisyonlara da geçmektedirler. Böylece insan metabolizmasına tamamen yabancı izomerler karışımı bir ürün meydana gelmektedir. Bitkisel yağlardan margarinlerin imalatında önemli bir sonuçta trans yağ asitlerinin oluşumudur. Memeli dokularında sentezlenen yağ asitlerinin tamamı cis konfigürasyonunda çift bağlara sahiptir. Dolayısıyla margarinlerde insan metabolizmasına en yabancı unsur olarak trans yağ asitleri görülmektedir. Ticari ürünlerde toplam yağ içindeki oranı % 5-75 arasında değişmektedir.

Yapılan epidemiyolojik çalışmalar özellikle koroner kalp hastalıkları ile margarin kullanımı arasında önemli ilişkiler ortaya koymaktadır. Bundan dolayı çeşitli hidrojenlenmiş yağları veya belirli trans yağ asitlerini diyetlerinde alan çeşitli gruplar üzerinde yapılan araştırmalar kan lipidlerinin önemli değişmelere uğradığını göstermiştir. Özellikle serum kolesterolünün arttığı vurgulanmaktadır.

Eritrositler plazma lipidleriyle en fazla etkileşen hücrelerdir. Dolayısıyla diyetle alınan yağların ve kandaki lipidlerin bileşimi öncelikle eritrosit bileşimini etkileyecektir.

Bu çalışmamızda son bir yıldır hiç margarin kullanmayan ve diyetinde margarin dışında herhangi bir yağ kısıtlaması yapmayan belirli bir yaş grubundaki kişilerin bazı plazma ve eritrosit membran lipid çeşitlerini yine aynı yaş grubunda olup diyetinde hiç bir yağ kısıtlaması olmayan şahıslarınki ile karşılaştırmayı amaçladık. Böylece ülkemizde tüketilen hidrojene yağların bir grup üzerindeki lipid metabolizması yönündeki etkileri bir derece açıklığa kavuşturulmuş olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Lipidler Hakkında Genel Bilgiler

Lipidler heterojen yapıda olan, suda çözünmeyen kloroform, eter ve benzen gibi apolar çözücülerde kolayca çözünen biyomoleküllerdir. Bunlar yapı ve fonksiyon bakımından çok büyük farklılıklar gösterirler.

Lipidlerin başlıca biyolojik fonksiyonları şunlardır:

1. Membranların yapı elemanlarıdır.
2. Metabolik yakıtın hücre içi depolanma şeklidir.
3. Metabolik yakıtın bir taşıma formudur.
4. Birçok bakterinin, yüksek bitki yapraklarının, böcek kabuklarının ve omurgalı derilerinin hücre çeperleri için koruyucu bileşiklerdir.
5. Vücuttaki lokalizasyonları itibariyle elektrik ve termal izolator görevleri vardır.
6. Lipidler grubuna dahil edilen bileşiklerden vitamin (A,D,E ve K vitaminleri) ve hormonlarında (steroidlerin) etkili biyolojik aktiviteleri vardır. (1)

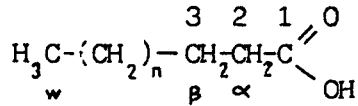
Lipidleri bir çok şekilde sınıflandırmak mümkündür. Yaygın olarak aşağıdaki tasnif şekli kullanılmaktadır.

1. Nötral Yağlar (Triaçilgliseroller, trigliseridler)
2. Yağ Asitleri
3. Fosfolipidler
4. Glikolipidler
5. Mumlar
6. Steroid ve Terpenler

2.1.1. Yağ Asitleri ve Triaçilgliseroller

Yağ asitleri, hücre ve dokularda serbest olarak çok düşük konsantrasyonda bulunur. Fosfolipid, glikolipid, kolesterol esterleri ve bazı mumların temel bileşenleridir. Yağ asitlerinin hepsinde uzun bir hidrokarbon zinciri ve bir uç karboksil grubu vardır. Hidrokarbon zinciri doymuş olabilirken bir veya birden fazla C = C çift bağı da ihtiva edebilir. Birbirlerinden doymamış bağların sayısı, yeri ve zincir uzunluklarıyla ayırdedilirler.

Adipoz dokuda nötral yağlar (triaçilgliseroller) şeklinde depolanırlar. Hormonal kontrole bağlı olan lipazların hidrolitik etkisiyle mobilize olurlar. Fizyolojik pH'da iyonlaşmış haldedirler ve tuz isimleriyle anılırlar. Yağ asiti karbon atomları karboksi ucundan başlavarak numaralandırılırlar (1).



İkinci karbon atomu alfa, üçüncü karbon atomu beta, en sondaki metil karbon atomu ise omega olarak isimlendirilir. Tabii yağ asitlerinin çoğunluğu çift sayıda karbon ihtiva ederler. Canlılarda bulunan yağ asitleri 14 -24 arasında karbon atomu ihtiva eder. Bunlar arasında 16 ve 18 karbonlular en bol olanlarıdır. Yüksek organizmalardaki doymamış yağ asitlerinin çoğunda 9 - 10 nolu karbon atomları arasında bir çift bağ vardır. Birden fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinde çift bağlar genelde konjugasyon göstermezler. Yüksek organizmalarda en bol bulunan yağ asitleri palmitik asit (16:0), stearik asit (18:0), oleik asit (18:1, cis Δ^9)linoleikAsit (18:2,cis $\Delta^9,12$), linolenik asit (18:3, cis $\Delta^9,12,15$) ve araşidonik asit (20:4, cis $\Delta^{5,8,11,14}$) tir. Birden fazla çift bağ ihtiva eden doymamış yağ asitlerine bakterilerde rastlanmaz. Tek karbonlu yağ asitlerine kara hayvanlarında çok nadir rastlandığı halde deniz hayvanlarında çok fazla rastlanır. Doymamış yağ asitleri bir veya daha fazla çift bağ ihtiva ettiklerinden, çift bağ sayısı kadar dönme serbestisi olmayan bölgelere sahiptir. Doymuş yağ asitlerindeki hidrokarbon zincirlerinin herbir tekli C - C bağları tam dönme serbestisine sahip olduğundan sonsuz konformasyonda olabilirler.

Doymamış yağ asitlerinin çift bağları cis konfigürasyonunda ise zincirin lineer konformasyonunda 30 ° 'lik bir bükülme hasil olur. Eğer konfigürasyon trans ise zincirin davranışı doymuş yağ asitlerinkine benzer. Cis şekilleri trans şekillerine göre daha az kararlıdır. Cis konfigürasyonunda birden fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinde bükülmelerden dolayı hidrokarbon zinciri kısalmır. Isıtılarak veya belirli katalizörler kullanarak trans haline dönüştürülebilirler (2,3). Mesela bu şekilde oleik

asit ısıtılarak kendisinin trans formu olan elaidik asit haline dönüştürülebilir. Elaidik asitin erime derecesi daha yüksektir. Bitkisel yağlar, fabrikalarda hidrojenasyona tabi tutularak yapılarında bol bulunan oleik asidin önemli bir kısmı elaidik asit haline dönüştürülür. Bu proses ile yarı katı mutfak yağları ve margarinler yapılır. Yapılan çalışmalar bu tip yağları diyetlerinde alanların bazı dokularında elaidik asitin bulunduğunu göstermiştir (4-11).

Biyolojik membranların akışkanlığını etkileyen iki önemli faktör vardır. Bunlardan birisi membrandaki yağ asitlerinin doymuşluk derecesi ve uzunlukları, diğeri ise kolesteroldür. Yağ asitlerinin fiziksel durumlarını belirleyen her yağ asiti için farklı bir sıcaklık derecesi vardır. Yağ asitleri bu derecenin üzerinde bir sıcaklıkta sıvı, altında ise jel (katı) haldedirler. İşte bu durumdan diğere geçişe faz geçişi denir.(1,12)

Yağ asitleri ve onların türev lipidlerinin akışkanlık özellikleri zincir uzunluğuna ve doymamışlık derecesine bağlıdır. Doymamış yağlar, aynı uzunluktaki doymuş yağlardan daha düşük erime sıcaklığına sahiptir (3,13). Mesela stearik asitin erime noktası 69.6 C° iken, bir çift bağ ihtiva eden oleik asitin erime noktası 13.4 C° dir. C₁₈ serisindeki diğere doymamış yağ asitlerinin erime noktaları daha da düşüktür. Çift bağlar erime noktasını etkilediği gibi zincir uzunluğu da erime noktasını etkiler. Mesela 16 karbonlu palmitik asitin erime noktası (6.5 C°) 18 karbonlu stearik asitinkinden daha düşüktür. Doymuş ve doymamış yağ asitleri görünür ve UV bölgede absorpsiyon göstermezler. Doymamış yağ asitleri çift bağlarda katılma reaksiyonlarına maruz kalabilirler. Cl₂ ve I₂ gibi halojenlerle kantitatif titrasyonla yağ asiti veya lipid numunelerindeki çift bağ sayıları hakkında bilgi edinilebilir.

Memeliler, tek doymuş yağ asitleri ile tek çift bağlı doymamış yağ asitlerini sentez edebilirler. Çünkü memelilerde 9 nolu karbondan sonra karbon atomlarında çift bağ oluşturacak enzimler bulunmaz. Bu yüzden 18:2 cis ve 18:3 cis yağ asitleri memeliler için esansiyel olup diyetle alınması lazımdır. Memelilerdeki doymamış yağ asitleri palmitoleat, oleat, linoleat ve linolenattan türetilir (2).

Doymamış kimyasal bağlar, doyurulduğunda yeni pozisyonlara geçer. Bir izomer karışımı olan bu ürün insan vücuduna tamamen yabancıdır.Bitkisel yağların hidrojenasyonu sırasında cis formundaki bazı yağ asitleri trans formuna izomerize olur. Trans izomerleri ürünlere katılık sağlar. Sonuçta katı margarinler meydana gelir. Yumuşak margarinler ise hidrojene edilmemiş yağlar ile sıkıca paketlenmiş yağların karışımından yapılır.Bunlarda doymamış yağ asiti miktarı daha fazladır. Yaygın olarak kullanılan ürünlerdeki hidrojene nebati yağlar ortalama olarak % 5 - 75 kadar trans yağ asiti ihtiva ederler. Geviş getiren hayvanların yağlarında az miktarlarda bulunur.

Mesela 100 g tereyağı 4 - 8 g trans yağ asiti ihtiva eder. Daha fazla miktardaki trans yağ asitlerine ise belli tip margarinlerde, margarinli ürünlerde, kızartma için kullanılmış yağlarda rastlanır.

Trans yağ asitlerinin tüketimi kuzey Avrupa ülkelerinde yüksektir. Akdeniz ülkeleri ise zeytin yağını daha fazla tükettikleri için trans yağ alımı daha azdır. Fransızlar ise yiyeceklerinde kısmen hidrojene edilmiş yağları sınırlı olarak kullanmaktadırlar. Amerika'da trans yağ asitlerinin günlük alınımı, günlük yağ tüketiminin % 8 - 10'u kadar iken Hollanda'da % 17 dir. Bu miktar, margarin veya katı yağlarla kızartılarak hazırlanmış yiyeceklerle beslenenlerde artabilir. Diyetteki trans yağ asitlerinin en bol bulunanları elaidik asit ve onun izomerleridir. Trans yağ asitleri doymuş yağ asitleri ile aynı fiziki özelliklere sahiptir. Trans yağ asitleri oleik asit kadar iyi absorbe edilirler ve adipoz dokuda depolanırlar. Diğer uzun zincirli yağ asitleri gibi enerji için okside olurlar. Adipoz dokunun yağ asiti muhtevası diyet alınımını yansıtır. Bu trans yağ asitleri serum total kolesterol seviyelerini yükseltmeğe sebep olur. Fakat bir başka çalışmaya göre bu etkinin varlığı teyit edilmemiştir (14).

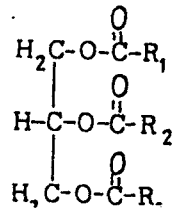
Trans yağ asitlerinin metabolizması doymuş yağ asitlerinininkine benzer. Trans yağ asitlerinin hiperkolesterolemik etkisi, kolesterolden meydana gelen safra asitlerinin sentezindeki ilk reaksiyonu katalizleyen enzimin inhibisyonundan kaynaklanmaktadır. Kolesterolün en önemli tükekim yolu olan safra asitlerinin sentezinin azalması kanda kolesterol seviyesinin yükselmesine sebep olur. Kolesterol seviyesinin artması koroner kalp hastalığında önemli bir risk faktörüdür (13,15). Trans yağ asiti alan ve koroner kalp hastalığı olan kişilerin adipoz dokularındaki trans izomerleri muhtevası yüksektir. Koroner kalp hastalığındaki en büyük değişiklikler diyetteki yağ tüketimine bağlı olarak meydana gelmektedir. Trans yağ asitleri plazma LDL oranını artırdığı için koroner kalp hastalığı riskine sebep olmaktadır. Yumuşak margarin kullananlarda serum lipid profilleri katı margarin kullananlarınkinden daha iyidir.

Trans yağ asitleri linoleik asite yapısal olarak oldukça benzemektedir. Bu yüzden önemli biyolojik fonksiyonları interfere edebilir. Trans izomerleri esansiyel yağ asiti metabolizmasını etkileyebilir. Araşidonik asit miktarını azaltır. Yapı taşları esansiyel yağ asitleri olan eikosanoidlerin sentezini inhibe eder. Membran fosfolipidlerine inkorpore olarak fiziksel yapı ve fonksiyonlarını değiştirir. Kas hücreleri kaloriye ihtiyaç duyduklarında trans yağ asitlerini kullanabilirler. Fakat yağ hücrelerinde trans yağ asitlerinin depolanmasına yol açan şartlar sterol metabolizmasını bozabilir. Hücrelerdeki lipoprotein reseptörleri trans yağ asitlerince bozulabilir ve genetik olarak normal olan şahıslar familiyal hiperkolesterolemili şahıslara benzerler (4-8,12,16,17).

bozulabilir ve genetik olarak normal olan şahıslar familiyal hiperkolesterolemili şahıslara benzerler (4-8,12,16,17).

Trans yağ asitleri bitkisel yağların kısmi hidrojenizasyonu sonucu oluştuğu gibi sığırların işkembesinde de oluşabilirler ve gerek sığır gerekse süt kaynaklı yağlarda % 5 oranında bulunurlar. Trans yağ asitleri tabii yağ asitleri ile prostaglandin sentezinde yer alan enzimler için yarışır, böylece trombosit aktivitelerini değiştirirler. Doymuş yağ asitleri ve monoansatüre doymamış yağ asitleri ile karşılaştırıldığında LDL-kolesterolü artırır. Yapılan bir çalışmada koroner kalp hastalığından ölen kişilerin yağ dokusundaki trans yağ asitlerinin, başka nedenlerden ölenlerinkine oranla yüksek olduğu bulunmuştur. Kadınlarla ilgili bir çalışmada koroner kalp hastalığı riskinin, trans yağ asiti kullananlarda arttığı bulunmuştur. Trans yağ asitlerinin koroner kalp hastalığını artırması Lp(a) ile ilgili olabilir. %7-10 oranında trans - monoansatüre ihtiva eden bir diyetle beslenme sonucunda aynı oranda ama doymuş yağ veya oleik asit ihtiva eden bir diyetle beslenenlere oranla Lp(a) oranının arttığı belirtilmiştir. İn vitro olarak, trans- izomerlerinin cis-izomerlerine oranla kollajence indüklenen trombosit agregasyonunu daha zayıf inhibe ettiği görülmüştür. Sıçan kalbi zarlarında trans yağ asitlerinin Na, K-ATPaz ve adenilat siklaz aktivitelerini inhibe ettiği ve β-adrenerjik reseptör yoğunluğunu azalttıkları bildirilmiştir. Öte yandan cis poliansatüre yağ asitlerinin antitrombotik etki göstermesine karşılık, trans poliansatüre yağ asitleri trombin tarafından uyarılan agregasyonunu artırır (18).

Triaçilgliseroller (nötral yağlar veya trigliseridler), hayvan ve bitki hücrelerindeki yağ depolarının başlıca bileşenleridir. Hücre membranlarında yer almazlar. Gliserolün üç hidroksil grubunun yağ asitleriyle esterleşmesinden meydana gelirler.



Triaçilgliserolün Genel Yapısı

Ayrıca monoaçil - ve diaçilgliseroller de vardır. Triaçilgliserolde yağ asitlerinin hepsi aynı çeşit ise bunlara basit, birbirinden farklı ise karışık triaçilgliseroller denir.

Triaçilgliserollerin herbirinin bir erime noktası vardır. Bu da sahip oldukları yağ asitlerinin çeşidine bağlıdır.

Triaçilgliseroller suda hiç çözünmezler. Çünkü tamamen apolardır ve bu yüzden dağılmış miseller oluşturamazlar. Fakat mono - ve diaçilgliserollerin serbest OH grupları olduğu için kolayca misel oluştururlar. Triaçilgliseroller depo lipidi olarak görev yaparlar. Hücrede sitozolde küçük mikroskobik yağ damlacıkları ve emülsifiye halde bulunurlar. Bazı hayvanlarda deri altında depolanan triaçilgliseroller hem enerji deposu olur hem de soğuğa karşı izolasyon sağlar (19).

2.1.2. Sıvı Bitkisel Yağlar, Margarin, Tereyağı ve Hayvani (İç Yağı) Yağların Lipid Bileşimleri

Hayvan kaynaklı yağlar (iç yağı, donyağı, tereyağı, domuzyağı gibi) bitkisel kaynaklı olanlara göre daha fazla doymuş yağ asitleri ihtiva eder (15). Bununla beraber Hindistan cevizinden elde edilen yağlar 12 - 14 karbon atomlu doymuş yağ asitleri ile % 5 monoansatüre, % 1 - 2 kadar da poliansatüre yağ asiti ihtiva ederler. Bazı değişikliklerle beraber hayvani yağlar % 40 - 60 kadar doymuş yağ asitleri, % 30 - 50 monoansatüre yağ asitleri, nisbeten az miktarda da poliansatüre yağ asitleri ihtiva ederler. Bunun tersine olarak bitkisel yağlar yaklaşık % 10 - 20 kadar doymuş yağ asitleri, % 80 - 90 doymamış yağ asitleri ihtiva ederler. Doymamış yağ asitlerinin kompozisyonu bitki ve hayvan türlerine göre değişmektedir. Mesela zeytinyağında % 79 oleik asit, safran yağında % 76 linolenik asit vardır. Balık yağında ise w₃ serisi (alfa linolenik ve eikosapentaenoik asitler) % 25 - 35 kadardır (13).

Margarinler, özellikle soya yağı , pamukyağı, mısır yağı, palmye yağı ve ayçiçeği yağı gibi her ülkede kolay bulunabilen bitkisel yağların hidrojenlenmesinden veya hayvansal yağlardan elde edilir. Şimdi daha çok katı yağa biraz rafine ve kokusu giderilmiş ve hidrojenlenmemiş yağ karıştırmak suretiyle margarin yapılmaktadır. Domuz ve donyağı, ucuz fiatlı ürünlerde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Sert margarinler % 29 kadar trans yağ asidi ihtiva ederken yumuşak margarinlerin trans yağ asiti ihtiva etmediği ileri sürülmektedir (4).

Ülkemizde ayçiçeği yağından yapılan margarinlerde bulunan doymuş ve doymamış yağ asitlerinin ortalama yüzde bileşenleri şöyledir; %3.6 palmitat, %2.9 srearat, % 34 oleat, %57.5 linoleat, %0.05'den az linoleat, %0.6 araşidat.

Margarin bileşenleri genellikle yağ, yağı alınmış süt, tuz ve A vitamindir. Benzoik asit ve tuzları, askorbik asit ve tuzları gibi koruyucu maddeler ayrı ayrı veya karışım

halinde 1 kg margarine en çok 1 g olacak şekilde katılır. yağ asitlerinin mono ve diaçil gliserolleri, lesitin ve lesitin bileşenleri gibi emülsifiye ediciler istendiği kadar katılır. BHT (butillenmiş hidroksi toluen), BHA (butillenmiş hidroksi aminler)'nın herbiri veya karışımı 1 kg margarine en çok 100 mg olacak şekilde katılır. Ayrıca tabii yada sentetik tokoferoller, renk verici olarak beta karoten veya sentetik besin boyar maddeler kahvaltılık margarinin her gramına en az 1 UB olacak şekilde D vitamini, tad ve koku verici olarak da biasetil katılır.

Türk standartlarına göre margarinler;

1. Kahvaltılık margarin, yağ miktarı en az % 80 erime noktası en çok 36 C°,
2. Mutfak margarini, yağ miktarı en az % 99 erime noktası en çok 36 C°,
3. Gıda sanayi margarini; tip I yağ miktarı en az % 99 erime noktası en çok 45 C° tip II yağ miktarı en az % 80 erime noktası en çok 45 C° olmak üzere üç sınıfa ayrılır (20).

Tablo.1 Değişik Bitki ve Hayvan Türlerinin Yağ Asidi Muhtevaları (% cinsinden)

Yağ asit	Don yağı	Tereyağı	Domuz yağı	Hindis. cevi. y.	Zeytin yağı	Pamuk yağı	Mısır yağı	Soya fas.yağı	Safra yağı	Sert mar.	Yum. mar.
12:0		3		54						0.5	3.6
14:0	3	11	2	18						0.7	1.6
16:0	26	31	25	8	11	20	10	10	5	13.9	12.4
16:1	3	3	3							16.6	4.5
18:0	25	14	15	2	2	2	2	4	2	43.4	13.8
18:1	36	30	45	5	79	18	31	24	17	29	0
18:2	2	2	9	1	7	60	56	54	76	3.5	61.3

(13)

Yağ asit; Yağ asitleri,

Hindistan cevi. y; Hindistan cevizi yağı,

Soya fas. yağı; Soya fasulyesi yağı,

Sert mar.; Sert margarin,

Yum.mar; Yumuşak margarin

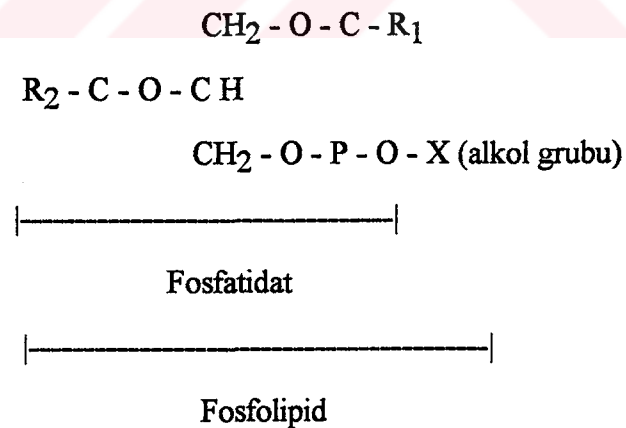
Tablo.2. Üç çeşit beslenme yağında bulunan yağ asitlerinin kompozisyonu

	Doymuş yağ asitleri				Doymamış yağ asitleri
	C ₄ - C ₁₂	C ₁₄	C ₁₆	C ₁₈	C ₁₆₋₁₈
Zeytinyağı	<2	<2	13	3	80
Tereyağı	11	10	26	11	40
İç yağı	<2	<2	29	18	46

(3)

2.1.3. Fosfolipidler

Hücre membranlarının en önemli bileşenlerinden olan fosfolipidler, gliserol veya sfingozin türevleridir. Gliserolden meydana gelen fosfolipidlere fosfogliseridler denir. Bir fosfogliserid; bir gliserol omurgası ,iki yağ asiti (ikinci yağ asiti genelde doymamış yağ asitidir) ve fosforillenmiş bir alkolden ibarettir. Bir fosfogliseridin genel yapısı şöyledir;



Bir fosfolipidin genel yapısı

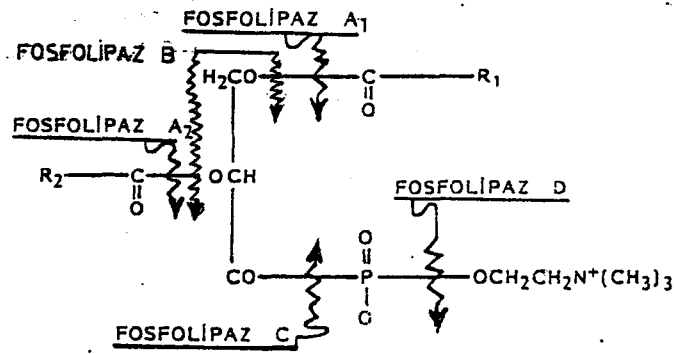
Fosfogliseridlerde gliserolün 1 ve 2 nolu karbonlarındaki hidroksil grubu, iki yağ asitinin karboksil gruplarıyla, 3 nolu karbonun hidroksili de fosforik asitle esterleşmiştir. Bu yapıya fosfatidat denir. Fosfatidatlardaki fosfat grubunun serin, etanolamin, kolin, inositol ve gliserol alkolleriyle esterleşmesi sonucu fosfogliseridler

ortaya çıkar. Fosfolipidlerden yapısı en kompleks olanı kardiolipindir. Kardiolipinde iki fosfatidil grubu bir gliserol köprüsü ile birbirine bağlanmıştır. Mitokondirice oldukça zengin kalp kasından izole edilmiş olan kardiolipine ilk defa bakterilerde ve mitokondirilerde rastlanmıştır (13).

Sfingomiyelin, membranlarda bulunan ve gliserolden türetilmeyen tek fosfolipittir. Sfingomiyelin, doymamış ve uzun bir hidrokarbon zinciri ihtiva eden bir amino alkol olan sfingozin omurgası ihtiva eder. Sfingozinin amino grubu bir yağ asidine amid bağıyla bağlanırken primer hidroksil grubu da fosforilkolin veya fosfatidil etanolamin gruplarından biriyle esterleşir. Bir çok sinir hücresinin aksonlarında elektriksel yalıtım sağlayan membranlı miyelin kılıfı sfingomyelinlerce zengindir (3).

Lipoproteinlerin yapısında bulunan fosfolipidler amfipatik özellikte olduklarından trigliseridler ve kolesterol esterleri gibi polar olmayan lipidlerin plazma içinde çözünür halde tutulmasına sebep olurlar. Trigliseridlerde olduğu gibi fosfolipidlerin de yağ asiti muhtevası diyetle alınan yağın yapısından oldukça etkilenir (21).

Fosfolipidler spesifik fosfolipazlarca hidrolizlenirler. Bu spesifik enzimlerden fosfolipid yapısının tayininde de faydalanılır. Fosfolipaz A₁, spesifik olarak gliserolün birinci karbon atomuna bağlı yağ asitini koparır. Fosfolipaz A₂, ikinci karbon atomuna bağlı yağ asitini parçalar. Fosfolipaz B ise birinci ve ikinci karbon atomlarına bağlı yağ asitlerinin her ikisini de hidrolizler. Fosfolipaz C fosfat grubunun gliserol omurgasından, fosfolipaz D ise alkol grubunun fosfattan hidrolizlenmesini katalizler (22).



Şekil.1.Fosfolipazların fosfolipidleri hidrolize ettiği kısımlar

2.1.4. Glikolipidler

Glikolipidler sfingozin alkolünden türemiştir. Sfingozinin amino grubu bir yağ asitiyle amid bağı yaparken primer hidroksil grubu bir veya daha fazla sayıda monosakkaritle birleşmiştir. Tek bir şeker molekülüne (glukoz veya galaktoz) sahip glikolipidlere serebrositler denir Serebrositin şeker bağlanmamış yalnız yağ asitiyle açillenmiş haline seramid denir. Birden fazla (yedi adet) monosakkarite sahip glikolipidlere gangliositler denir. Gangliositler sinir hücre membranlarının dış yüzeyindeki spesifik reseptör bölgelerinin önemli yapısal elemanıdır. Sığır beyni gangliositleri hidroliz edildiğinde sfingozin alkolü, D- glukoz, D-galaktoz, N-asetil glukozamin ve N- asetil nöraminik asit elde edilmiştir. Beyin gri maddesindeki membran lipidlerinin % 6 sını gangliositler oluşturmaktadır. Özellikle sinir sonlarında lokalize olan gangliositlerin, sinapslardan sinir impulslarının geçişinde önemli rol oynadığı kabul edilmektedir. Bazı nötral glikolipidler eritrosit membranlarının dış yüzeyinde bulunarak kan gruplarına özgüllük kazandırdıkları gibi organ ve dokulara da özgüllük kazandırır (2).

2.1.5. Kolesterol ve Kolesterol Türevi Bileşikler

Memeli hücre membranlarının önemli bir bileşeni olan kolesterol; siklopentanoperhidrofenantren halkasına sahip 27 karbonlu bir bileşiktir. 3 nolu karbondaki bir OH grubu 5 nolu karbondaki bir çift bağı vardır. 17 nolu karbondaki bir 8 karbonlu dallanmış bir hidrokarbon zincirine sahiptir.

Kolesterol safra asitlerinin, steroid hormonlarının ve D vitamininin öncül maddesidir. Lipoproteinlerin dış tabakasında da yer almaktadır. Organellerin membranlarında daha az miktarda bulunan kolesterol, eritrosit plazma membranında asimetric bir dağılıma sahiptir ve lipid ikili tabakanın iç kısmında daha fazla olarak bulunur (1).

Plazmadaki kolesterolün 3/4'ünden fazlası ester halde olup, lipoproteinlerin yapısında yer alır. Kolesterol doku ve hücre membranlarında serbest halde bulunur. Kolesterolün plazmadaki esterleşmesinde Lesitin-kolesterol açil transferaz (LCAT) enzimi, karaciğer ve ince barsakta esterleşmesinde ise asetil CoA kolesterol açil transferaz (ACAT) enzimi rol oynar. Kolesterol esterlerinin yapısı plazma lesitinindeki yağ asitinin cinsi ve diyetdeki yağın tipi tarafından belirlenir. Plazma serbest kolesterolü, kolesterol esterlerinin tersine olarak hücre membranlarındaki kolesterol ile rahatça değişebilir (21).

Vücut kolesterolünün bir kısmı endojen olarak diğer kısmı diyetle temin edilir. Kolesterol hücrede sitozol ve mikrozomlarda sentezlenir. Her ne kadar bir çok dokunun kolesterol sentezleme yeteneği varsa da normal şartlarda vücutta yeni sentezlenmiş kolesterolün tamamı karaciğer ve ince barsağın distal kısmında oluşur (3).

Kolesterol sentezi, HMG-CoA redüktaz tarafından kontrol edilir. cAMP kolesterol sentezini inhibe ederken, insülin ve tiroid hormonları aktive etmektedir. Vücutta mevcut kolesterolün % 80'ni karaciğer tarafından çeşitli safra asitlerine dönüştürülür. Bu da kolesterolün vücutta sabit oranda kalmasını sağlar (15).

Hücrede, kolesterolün hareket mekanizmaları reseptörlerce denetlenir. Bu mekanizmalar; lipoproteinlerin endositozisi ile hücre membranında lipoprotein partiküllerinden kolesterol moleküllerinin transferidir. Düşük yoğunluktaki lipoproteinler (LDL) kendi reseptörlerine bağlanır. Sonuçta LDL endositoza uğrar. Açığa çıkmış olan kolesterol hücrede artmaya başlar. Buna bağlı olarak protein inhibe edilir. Olayda LDL reseptör sistemi ve 3-hidroksi 3-metil glutaril koenzim A redüktaz enzimi birlikte feedback kontrolü yaparlar. Bunun yanısıra artmış kolesterol, açıl CoA kolesterol açıl transferaz enzimini aktive eder. Bu enzim kolesterolün esterleşmesini katalizler ve esterleşme artar. Sonuçta ester kolesterol oluşur.

Normal hücre fonksiyonları devam ederken steroid hormonları veya safra asitleri üretilmez fakat fazla kolesterol birikimi, kolesterolün membranla kenetlenmesine sebep olur. Daha sonra membranda yer alan fazla kolesterol lipoprotein havuzlarıyla hücre dışına atılır. Bu son mekanizmada aksaklık olursa membranda kolesterol artışı söz konusu olur ve membran fonksiyon göremez hale gelir. Transport mekanizmaları engellenir. Tüm organizmada kolesterol metabolizması ekstrasellular lipoproteinlerin metabolizmasına bağlıdır. Kolesterolün hücre membranının akışkanlık derecesini etkilemesi iki şekilde olmaktadır. Kolesterolün polar bölgesi fosfolipid ve glikolipidlerin polar baş bölgeleri ile bağlantı kurarak membranın mekanik dayanıklılığını artırır.

Diğer taraftan kolesterolün steroid halkaları hidrokarbon zincirlerinin arasına girerek bunların kristalize olmalarını engeller ve böylece sıcaklık düşüşü sonucunda meydana gelebilecek faz geçişlerini önleyerek membranın sıvılığını korumasını sağlar. Çünkü membranın fonksiyonlarını yerine getirebilmesi için akışkanlığını koruması gerekmektedir (12,23-25).

Kolesterol türevi biyomoleküllerini şöyle sıralayabiliriz:

1. Safra asitleri; safra asitleri içinde en bol bulunanları kolik asit ve kenodezoksikolik asittir,
2. Steroid hormonları; androjen, östrojen, progesteron ve adrenokortikal hormonları kolesterolde sentezlenir.
3. 7- Dihidro kolesterol; D₃ vitamininin ön maddesi olup kolesterolde sentezlenir.

2.3.2 Lipoproteinler Hakkında Genel Bilgiler

Lipoproteinler trigliseridlerin, kolesterolün ve fosfolipidlerin özel proteinlere bağlı olarak birlikte taşınan birimleridir. Merkezde trigliserid, kolesterol esterleri ve kısmen de kolesterol yer alır. Bunların etrafı fosfolipid tabakasıyla çevrilidir. Fosfolipitteki yağ asitlerinin hidrofobik zincirleri yapının iç tarafına, hidrofilik başları ise dışa yönelmiştir. Esterleşmemiş kolesterol molekülleri ise bu fosfolipid tabakasının içine yerleşmiştir. Lipoproteinlerde, bu lipidlere ilave olarak apolipoprotein veya apoprotein denen ve miktarları %1-60 arasında değişen proteinler bulunmaktadır.

Lipoproteinlerin ihtiva ettikleri lipid ve proteinlerin kompozisyonlarına göre, dansiteleri değişmekte ve düşük yoğunluktan yükseğe doğru şilomikronlar, VLDL, LDL, HDL olmak üzere dört ana fraksiyona ayrılmaktadır.

Lipoproteinlerin başlıca üç fonksiyonu vardır.

1- Barsaktan absorbe edilen diyet yağlarının diğer dokulara taşınması. Bunu şilomikronlar ve kalıntıları yapar.

2- Triaçilgliserolü karaciğerden depo edileceği veya enerji için okside edileceği dokulara transfer eder. Bu fonksiyonu VLDL yerine getirir

3-Üçüncü sistem ters taşınım sistemidir. Bu sistem HDL ve LDL den meydana gelir. Ekstrahepatik dokudaki fazla kolesterol karaciğere taşınır.

LDL; VLDL metabolizmasının son ürünüdür. Plazmada esas kolesterol taşıyıcısı olup, yoğunluğu 1.019-1.063 g/dl dir. Elektroforezde β-lipoproteinlere karşılıktır. Başlıca apolipoproteini B₁₀₀ dür. %22 fosfolipid, %8 kolesterol, %42 ester kolesterol %7 trigliserid taşır.

HDL; yoğunluğu 1.063 - 1.21 g/dL arasında değişir. Elektroforezde alfa lipoproteine karşılıktır. Lipoliz sırasında VLDL ve şilomikronlardan açığa çıkan apo

C'ler için bir depo görevi görür. İnce barsakta ve karaciğerde sentezlendikleri gibi vasküler kompartmanda şilomikronlar ve VLDL katabolizması sırasında da disk şeklinde oluşmaktadır. Yeni teşekkül eden HDL' nin hücre yüzeylerinden ve aterosklerotik plaktan serbest kolesterolü bağladığı ileri sürülmektedir. Kolesterol kanda LCAT enzimiyle esterleşmekte ve bu ester kolesterol HDL'nin hidrofobik iç kısmına yerleşmekte ve yapı küresel olmaktadır (HDL₃). Bu prosesin devamı ile daha büyük fakat daha hafif HDL'ler oluşmaktadır (HDL₂). HDL₂, % 32 fosfolipid, % 5 kolesterol, % 20 ester kolesterol ve % 6 trigliserid ihtiva ederken HDL₃ % 26 fosfolipid, % 2 kolesterol, % 15 ester kolesterol ve % 3 trigliserid ihtiva eder. HDL'nin apoprotein kompozisyonu değişiktir. Apo A-I ve Apo A-II proteinleri önemlidir ve partiküle yapısal özellik kazandırır. Ayrıca Apo A-I, LCAT enziminin koenzimidir. Diğer apoproteinler, LCAT ve CETP gibi proteinler HDL partiküllerine bağlanmaktadır.

Koroner ateroskleroz, lipidlerin özellikle kolesterolün damar içinde birikmesi ve lokal olarak damar duvar bağ dokusu ile etkileşmesiyle karakterizedir. Kolesterol birikmesinin sebebi olarak plazmadaki kolesterolce zengin LDL'lerden sızma, lokal sentezin muhtemel etkisi ve arter duvarlarından kolesterolün temizlenmesindeki bozukluk gösterilmektedir. Kolesterolün perifer dokulardan karaciğere taşınması, oradan katabolize olması ve safra üzerinden itrahında HDL başlıca rol oynamaktadır.

Plazma HDL konsantrasyonundaki azalma, arterial duvardan kolesterolün çekilmesinde yetmezliğe ve böylece aterosklerozun gelişmesine yol açmaktadır. Yapılan çalışmalarla, doku kolesterol havuzu ile serum kolesterolü arasında çok düşük bir korelasyon olduğu ve doku kolesterolü ile lipoproteinler arasındaki ilişkinin daha önemli olabileceği ileri sürülmektedir. Çeşitli toplumlarda HDL-kolesterol ile LDL-kolesterol arasında negatif korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında HDL-kolesterol ile koroner kalp hastalığı arasında da negatif korelasyon bulunmaktadır (3,13,26).

HDL-kol > 60 mg/dL (düşük risk)

HDL-kol 35 - 60 mg/dL (orta derecede risk)

HDL-kol <35 mg/dL (yüksek derecede risk) (26).

LDL-kol/HDL-kol oranı bu konuda yorum için yardımcı önemli bir kriterdir.

LDL-kol/HDL-kol : 0.5 - 3 (düşük derecede risk)

4.4 - 7.1 (orta derecede risk)

7.1 - 11 (artmış risk)

> 11 (yüksek derecede risk)

Apo A-I/Apo B oranının koroner kalp hastalığı riskinin tesbit edilmesinde LDL-kol/HDL-kol'den daha iyi bir parametre olduğu belirtilmektedir (27).

2.2. Membranların Yapısı ve Fonksiyonları

Biyolojik membranlar lipid ve proteinlerden meydana gelmişlerdir. Sahip oldukları spesifik moleküler pompa ve kapılarla son derece seçici geçirgenlik engelleridir. Bu özelliklerinden dolayı hücre içi iyonik ve moleküler terkip düzenlenmiş olur. Ökaryotik hücrelerin mitokondri, kloroplast ve lizozomları da membrana sahiptirler. Membranlar, reseptörlere sahip oldukları için dıştan gelen uyarıları alırlar. Mesela, hedef hücrelerin insulin hormonlarına cevabı gibi.

Bazı membranlar ise kimyasal veya elektriksel sinyal üretebilirler. Sonuç olarak, membranların biyolojik haberleşmede önemli rolleri vardır. Ayrıca iki önemli enerji dönüşüm prosesi olan fotosentez ve oksidatif fosforilasyon olayları da kloroplast ve mitokondri iç membranlarında meydana gelir (1).

Membranların özellikleri genel olarak şu şekilde sıralanabilir;

1. Membranlar yassılaştırılmış yapılardır ve birkaç molekül kalınlığındadır.
2. Protein ve lipidlerden meydana gelir. Proteinlerin lipidlere ağırlıkça oranı 4:1 ile 1:4 arasında hücreden hücreye değişir. Lipid ve proteinden başka az miktarda karbohidrat da bulunur.
3. Membrandaki lipidler nisbeten küçük moleküller olup hidrofobik ve hidrofilik gruplar taşır ve sulu ortamda ikili tabaka oluştururlar. Bu özelliklerinden dolayı polar moleküllerin membrandan geçişini sağlar.
4. Proteinler, membrana özellik kazandırır. Membrandaki geçiş kapıları, iyon pompaları, reseptörler, enerji üreten mekanizmalar, taşıyıcılar ve enzimler protein yapısındadır. Proteinler lipid tabakalarının içine gömülü olarak yerleşmişlerdir. Bu lipid tabakası proteinlerin fonksiyon görmeleri için uygun bir ortam teşkil eder.
5. Membran bileşeni olan lipid ve proteinler birbirine kovalent olarak bağlı değildirler. Nonkovalent etkileşmelerle müşterek hareket ederler.
6. Membranlar asimetrikdir. Yani iç ve dış yüzeyleri birbirinden farklıdır.
7. Membranlar akışkan özellikte olup lipidler hızlı bir şekilde lateral olarak diffüze olurlar (1).

2.2.1. Membranın Lipid Yapısı

Membran yapısında fosfolipidler, glikolipidler, sfingomyelin ve kolesterol yer alır. Bunların ortak özellikleri hidrofilik ve hidrofobik kısımlarına sahip olmalarıdır. Fosfolipid ve glikolipidlerin polar baş gruplarının suya afinitesi olduğu ve hidrokarbon kuyrukları da sudan kaçtığı için membranda ikili tabakayı spontan olarak meydana getirirler. Lipidlerin membranda meydana getirdiği bu yapı, sulu ortamda fosfolipid ve glikolipidlerin misellere göre daha düşük enerjili olduğu ve bu yüzden tercih ettikleri bir yapıdır. Bunun biyolojik önemi çoktur. Çünkü bir miselin büyüklüğü en fazla 200 Å çapında iken, ikili tabakadan bir vesikül ise 10 Å a varan boyutlarda olabilmektedir.

Lipid ikili tabakanın teşekkülünde en başta gelen faktör hidrofobik etkileşimlerdir. Membran lipidlerinin hidrokarbon kuyrukları ikili tabakanın iç kısmında yer aldığı için su buradan uzaklaştırılır. Hidrokarbon kuyrukları arasındaki Van der Waals çekim kuvvetleri bu kuyrukların daha da sık isitflenmesini sağlar. Lipidlerin polar baş grupları ile su molekülleri arasındaki hidrojen bağı ve iyonik etkileşimleri de lipid ikili tabakayı daha kararlı hale getirir.

Lipid ikili tabakaları iyon ve bir çok polar bileşikler için geçirgen bir ortam değildir. Fakat su bu genelleştirmenin süpriz bir istisnasıdır. Küçük bir molekülün lipid ikili tabakadan geçebilmesi için çevresindeki su çözünme tabakasını dağıtması gerekmektedir. Daha sonra membranın hidrokarbon bölümünde çözünür, bu bölümün içinden diffüze olarak membranın diğer tarafına geçer ve orada su tarafında tekrar çözünür (1).

2.2.2. Membran Protein Yapısı

Membran porteinleri, membranların dinamik proseslerinden sorumludur. Transport, haberleşme ve enerji dönüşümü gibi görevler membran porteinleri tarafından yürütülür. Membranlar yaptıkları fonksiyonlara göre değişik protein muhtevasına sahiptir. Özellikle plazma membranları çok daha aktif olup bir çok pompa, geçit, reseptör ve enzim ihtiva eder. Plazma membranlarının protein muhtevası yaklaşık % 50 dir. Sinir liflerinin miyelin kılıfları % 18, mitokondri ve kloroplast iç membranları % 75 protein ihtiva ederler. Proteinler, membranlardan deterjan ya da seyreltik tuz çözeltileriyle ayrıştırılabilirler. Son zamanlarda yapılan araştırmalar plazma membranının da iki tür protein olduğunu göstermiştir. Bunlardan birincisi hücrenin iç ve dış yüzüne elektrostatik ve hidrojen bağlarıyla bağlı olan periferel proteinler, ikincisi ise lipid tabakasına gömülü daha kuvvetli bağlarla bağlı

integral proteinlerdir. İntegral proteinlerin bir kısmı membranı boydan boya geçerken bir kısmı da membranın bir tek yüzeyinden dışarıya bakmaktadır. Periferik proteinler ise membranın her iki yüzeyine yapışmıştır.

Glikoprotein ve glikolipidlerin şeker birimleri ise membran dış yüzünde yer almakta ve hücrelerin birbirini tanımasını sağlamaktadır. Tüm proteinlerin membrandaki yerleşimleri, membranların iç ve dış yüzeyleri arasında bir asimetrisinin olduğunu göstermektedir (1).

2.2.3. Membran Yapısının Akışkan-Mozaik Modeli

Farklı modellerle açıklanan membran yapısının temeli iki tabakalı bir lipid tabakası ile proteinlerden meydana geldiği esasına dayanmaktadır. Membranlar statik ve rijid bir yapıda olmayıp membran bileşenleri sürekli olarak membran düzleminde hareket eder. İşte membran bileşenlerinin bu özelliklerinden yararlanan Jonathan Singer ve Gert Nicolson 1972'de yaptıkları çalışmalarıyla biyolojik membranların yapısını akışkan mozaik modeliyle izah ettiler. Bu modelin başlıca özellikleri şunlardır;

1- Polar yapıdaki fosfolipid ve glikolipidler membranda ikili tabaka teşkil ederler. Bu polar lipid tabakalarının polar baş kısımları membranın dış yüzeyine dönüktür. Fakat doymuş ve doymamış yağ asitlerinden meydana gelen hidrofobik kuyruk kısımları membranın iç kısmına dönmüş olduğundan bu ikili lipid tabakası bir misel meydana getirir. Hidrofobik yan zincir ihtiva eden amino asitleri yüzeyinde taşıyan integral membran proteinleri, lipid tabakasının ortasındaki hidrofobik bölgede yer alırken, hidrofilik yan zincir ihtiva eden amino asitleri yüzeyinde taşıyan periferik membran proteinleri polar baş gruplarıyla elektrostatik olarak etkileştiği membranın dış yüzeyinde bulunur. İşte ikili lipid tabakası bu proteinler için bir solvent ve geçirgenlik barajı oluşturur.

2- Membran lipidlerinin çok az bir kısmı membran proteinleriyle etkileşir ve onların aktivitesi için gereklidir.

3- Membran proteinleri membran düzleminde diffüze olurlar (28).

2.3. Eritrosit Yapısı ve Fonksiyonları

Kan dokusunun yaklaşık % 45'ini hücreler, % 55'ini plazma oluşturmaktadır. Eritrositler ise kan hücrelerinin çoğunluğunu meydana getirir.

Eritrositler disk biçiminde iki tarafı çukur bir yapıya sahiptir ki, bu yapı eritrosite geniş bir yüzey alanı sağlar. Eritrositlerin membranları bu yapıları sayesinde fazla gerilmeden şişebilir ve bol miktarda CO₂ ve O₂ taşıyabilir. Bütün memeli hayvanların olgun eritrositleri çekirdeksizdir ve hemoglobin taşırlar. Balıkların, amfibilerin,

sürüngelelerin, kuşların eritrositleri hem çekirdek, hem de hemoglobini taşırlar. Memeli hayvanlarda ve insanda olgun eritrositler çekirdek taşımadığı gibi mitokondri ve ribozomda bulundurmaz. Bu sebeple enerji sağlamak ve kendisini oksidasyona karşı korumak için sitoplazmada meydana gelen glikoliz ve pentoz fosfat yolunu kullanırlar. Eritrositler, fetal hayatın üçüncü ayından beşinci ayına kadar karaciğer ve dalakta yapılır. Fetal hayatın yarısından sonra kemik iliğinde üretilir ve yapımı hayat boyu devam eder. Ekstremitelerdeki kemik ilikleri genç şahıslarda kırmızı iken yaşlanmayla yağlanır ve kan hücrelerini yapamaz hale gelir. Eğer dolaşımdan eritrositlerin kaybı söz konusu olursa yağlanan kemik ilikleri tekrar kan hücrelerini yapmaya başlar.

Kan dolaşımına yeni giren genç eritrositler (çekirdeksizdir ve ribozom taşır) retiküler bir yapı gösterdiğinden bunlara retikülosit denir ki bunlar tüm alyuvarların % 1'ini oluşturur. Kemik iliğinde kan yapımı devamlı olduğu için, yaşlanıp dolaşımdan uzaklaştırılan eritrositlerin yerine yenileri yapılır. Kan kaybı söz konusu olduğunda yapımı artar. Eğer kan nakli ile eritrosit sayısı artarsa bu sayı normale dönüncüye kadar yapımı durur. Kan yapımına tiroid bezi, adrenal korteks (bu bezler çıkarılacak olursa anemi meydana gelir) cinsel hormonlar da etkilidir.

Eritrositler Ca^{++} , Mg^{++} , Na^{+} , karbonat, klorür gibi iyonlar ile Hb, organik ve inorganik fosfatları taşır. Bundan başka piridin nükleotidleri, glutatyon ve bir çok enzim bulundurur (mesela, Karbonik Anhidraz O_2 ve CO_2 taşımada çok önemli role sahiptir (29).

Eritrosit membranı 150 - 200 kadar farklı lipid ve 20'ye yakın protein ihtiva etmektedir. İnsan eritrosit membranında nötral lipidler, glikolipidler ve fosfolipidler yer almaktadır. Değişik kaynaklara göre membran lipidlerinin membranın % kuru ağırlığı cinsinden miktarları şöyledir: Fosfolipidler 24, glikolipidler az miktarda, kolesterol 9.2, total lipidin %'si cinsinden şöyledir; fosfolipidler 58, kolesterol 25, sfingolipidler 18'dir (30). Değişik araştırmacılara göre $mg/10^{10}$ hücre cinsinden ise şöyledir (31).

	<u>Kolesterol</u>	<u>Total Lipid</u>	<u>Fosfolipid</u>
Reed ve arkadaşları (1960)	1.13	4.95	2.88
Ways ve Hanahan (1964)	1.27	4.88	3.18
Van Gastel ve arkadaşları (1964)	1.13	4.80.	2.73
Neerhout (1967)	1.33	5.07	3.05
Jaffe ve Gotfried (1968)	1.32	4.98	2.92
Cooper (1969)	1.34	---	3.16

Membranda nötral lipidlerden en fazla kolesterol yer almaktadır. Yukarda da ifade edildiği gibi membran kolesterolü, değişik araştırmalara göre mg/ 10¹⁰ hücre cinsinden 1.13 - 1.34 arasında değişirken. Peter Ott ve arkadaşlarının çalıştıkları farklı metodlara göre 1.24 - 1.47 arasındadır (32). Memeli plazma membranlarının ihtiva ettikleri fosfolipidlerin miktar ve çeşidi türden türe değişmektedir. İnsan eritrosit membranında yapılan çalışmalar iki grup fosfolipidin yer aldığını göstermiştir. Bunlardan major fosfolipid grubu fosfatidilkolin, fosfatidiletanolamin, sfingomiyelin ve fosfatidilserin ihtiva eder. Bunlar membranda fazla miktarda bulunur. Membranda daha az miktarda yer alan minor fosfolipidler ise lizofosfatidilkolin, fosfatidilinositol, fosfatidat, poligliserofosfolipidlerdir (31).

Farklı hücre ve organellerin membranlarında yer alan fosfolipid çeşitleri şöyledir:

Miyelinde; fosfatidiletanolamin, fosfatidilserin, fosfatidilkolin yer alırken fosfatidil inositol, fosfatidilgliserol ve kardiolipin yer almaz. Eritrositlerde; fosfatidiletanolamin, fosfatidilserin, fosfatidilkolin fosfatidilinositol yer alır. Mitokondride ise adı geçen lipidlerin hepsi yer alır. Mikrozoamlarda fosfatidilserin yer almaz. E. coli'de sadece % 100 oranında fosfatidiletanolamin yer alır (33).

Farklı hayvan gruplarının membralarında yer alan fosfolipid miktarları % total fosfolipid cinsinden şöyledir (53);

	<u>sfingomiyelin</u>	<u>fosfatidil kolin</u>	<u>fosfatidil etanolamin</u>	<u>fosfatidil serin</u>	<u>diğerleri</u>
Köpekte	10	46.9	22.4	15.4	4.5
İnsanda	25.8	28.3	26.7	12.7	3.9
Koyunda	51	—	26.2	14.1	—

İnsan eritrosit membranlarının fosfolipid kompozisyonu ise değişik araştırmalara göre şöyledir;

	<u>Philips veDodge</u>	<u>Neerhout</u>	<u>Rouser ve arkadaşları</u>	<u>Broekhyuse</u>
Sfingomiyelin	25.2	24.1	26.9	25.8
Fosfatidil kolin	29.2	29.5	28.9	28.3
Fosfatidil etanolamin	27.7	31.5	27.2	26.7
Fosfatidil serin	14.8	13.1	13	12.7
Fosfatidil inositol	0.6	—	—	—
Fosfatidat	—	1	1.3	1.9
Poligliserofosfolipid	1.1	—	2.2	0.6
Lizofosfatidil kolin	1.4	1	1.2	1.1

Fosfatidilkolinde palmitat ve linoleat çok fazla yer alırken 23:0, 24:0, 22:4, 24:1, 22:5 yağ asitleri az miktarda bulunur. Fosfatidilserinde 18:0, 20:4 fazla miktarda yer alırken 23:0, 24:0, 24:1 ve 20:0 yağ asitleri az miktarda yer alır. Sfingomiyelinde ise 20 karbon atomundan fazla karbona sahip yağ asitleri % 50'den fazladır. Bunlar içinde 24:0 ve 24:1 yağ asiti en fazla bulunanlarıdır. Fosfatidiletanolaminde ise en fazla 20:4 ve 18:1 yağ asitleri yer almaktadır (31).

Farklı memelilerin eritrosit yağ asitleri % cinsinden şöyle bulunmuştur:

	Doymuş yağ asitleri	monoansatüre y.a	poliansatüre .y.a
Sıçan	12	41	47
Tavşan	15	40	45
Köpek	13	42	44
At	28	32	40
İnsan	18	42	40
Domuz	33	39	28
Koyun	63	24	12 (31)

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmamızda kullandığımız kimyasal maddelerin isimleri ve temin edildikleri firmalar aşağıda verilmiştir.

Kloroform	Merck
İzopropil Alkol	Merck
Amonyak	Merck
Metanol	Merck
Na ₂ EDTA	Merck
BHT (Bütillenmiş hidroksi toluen)	Fluka
İyot	Technic
% 0.9'luk NaCl	Eczacıbaşı
Kolesterol Tayin Kiti	Biotrol
Trigliserid Tayin Kiti	Biotrol
HDL çöktürücüsü	Biotrol
Silikajel GF ₂₅₄	Merck
Silikajel H ve HF ₂₅₄	Merck
Fosfolipaz B	Sigma
Yağ Asiti Standartları	Sigma
Azot gazı	Habaş

3.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Yüksek devirli soğutmalı santrifüj: Heraus Sepatechsuprefuge 22

Heraus Labofuge 200 Centra 4 International Centrifuge

Otomatik Plak Çekicisi : : Camag

Heraus Labofuge 200 Centra 4 International Centrifuge	
Otomatik Plak Çekicisi :	: Camag
Sonikator	: Fischer Dismembratör-550
Spektrofotometre	: LKB Ultraopec K 4053
Magnetik Karıştırıcı	: IKA Labotechnic
Su Banyosu	: DT - Hetotherm
Vortex Karıştırıcı	: Vifnofix VF1 Elektronik Jenke
Kan Sayım Cihazı	: Hemalaser 2 Sebia Coulter Max
Gaz Kromatografisi Cihazı	: Tracor 570
Detektör	: FID (Flame İonization Dedector)
Yağ Asiti Kolonu	: Restek Rtx-2330

Cam ve otomatik pipetler, teflon kapaklı tüpler, hassas terazi, soğutucu, hamilton şırınga.

3.3. Kan Örneklerinin Alınması

Çalışmamız, margarinli diyet alanlarla margarinsiz diyet alan şahıslar üzerinde yapıldı. Bu amaçla margarinli diyet alan şahıslar, KTÜ öğrenci yurtlarında kalıp KTÜ yemekhanesinden yemek yiyenlerden seçildi. Bu kişilerin yemekhanelerinin mutfaklarına gidilerek yemeklerine bol miktarda margarin katıldığı görüldü. Ayrıca, kendileriyle de konuşularak evlerinde de margarin kullandıkları ve margarin kullanımıyla birlikte diyetle diğer yağların kullanmasında herhangi bir kısıtlamaya gitmedikleri öğrenildi. Margarinsiz diyet alan şahıslar, Türkiye'de üretilen margarinlerde domuz yağı olabilir endişesiyle ne evlerinde ve ne de dışarda margarinli ürünleri diyetlerinde en az bir yıldır almayanlar arasından seçildi. Bu gruptaki kişiler de margarin kullanılmamasının haricinde diyetlerinde almış oldukları diğer yağlarda (tereyağı hayvani yağ vb) kısıtlama yapmadıklarını ifade ettiler. Her iki grubun da yaşları 18- 23 arasında idi..

İçinde 5 mg/mL Na₂EDTA bulunan tüplere 12 saat aç olan şahıslardan 8 - 10 mL kan alındı. Alınan kanlar 2280 x g'de 30 dakika soğutmalı ve yüksek devirli Heraus marka santrifüjde santrifüj edildi. Santrifüj sonrası elde edilen plazmanın bir kısmı trigliserid ve plazma kolesterolünün tayini için -20 C'de muhafaza edildi. Plazmanın diğer kısmı HDL-kolesterolü tayin etmek için kullanıldı.

3.4. Eritrosit Paketi ve Total Lipid Ekstraksiyonunun Hazırlanması

Plazma alındıktan sonra geriye kalan hücre kısmı eritrosit paketi elde etmek için kullanıldı. Bu kısım, beş misli % 0.9' luk NaCl ile üç kez yıkanarak lökosit ve trombositler uzaklaştırıldı. Böylece temiz bir eritrosit paketi elde edildi. Sonra CBC laboratuvarında eritrositlerin sayımı yapıldı.

Membran total lipid ekstraktı aşağıda belirtilen şekilde hazırlandı.:

Hazır eritrosit paketinden 0.5 mL alındı ve teflon kapaklı temiz bir tüpe kondu. Üzerine 0.5 mL distile su ilave edilerek vorteks karıştırıcı ile iyice hemoliz edildi ve 15 dakika beklendi. Sonra tüpe yavaşca ve çalkalayarak 5.5 mL izopropil alkol ilave edildi ve teflon bir kapakla tüp kapatıldı. Her 15 dakika arayla tüpü çalkalamak suretiyle bir saat inkübasyona bırakıldı. Bu esnada hemolizat koyulaşmaya ve kümeleşmeye başladı. Daha sonra 3.5 mL kloroform ilave edilerek inkübasyona bırakıldı. Bu beklemeden sonra 500 x g 'de santrifüj edildi (34,35).

Santrifüj sonrası lipidlerin içinde bulunduğu süpernatant kısmı temiz bir tüpe alınarak -20 C de saklandı. Yapılan işlemler sırasında ve daha sonra meydana gelebilecek oksidasyonu önlemek amacıyla antioksidan olarak 0.1 g/L BHT (Butillenmişhidroksi toluen) izopropil alkol konmadan önce ilave edildi (36).

Membran ekstraktını elde ederken kullandığımız metodda eritrosit paketi 1 mL, çözücüler ise toplam 18 mL olarak alınmış. Bizim eritrosit hacminin 0.5 mL olarak almamızın sebebi, gönüllü olarak kan veren şahıslardan daha kolay bir şekilde kan temin edebilmektir. Çözücülerini az almamızın bir sebebi daha az çözücüyle ekstraksiyon yapmak, diğer bir sebebi de az çözücünün daha az azot gazı ile daha az zamanda uçurulmasıdır.

3.5 Kolesterol Tayini

3.5.1 Eritrosit Membran Kolesterolünün Tayini

Eritrosit membran kolesterolü, plazma kolesterolü için kullanılan kolesterol oksidaz metodunun modifiye şekliyle tayin edildi (32). (Bu metodun reaksiyonları 3.5.2 de gösterilmiştir). Total lipid ekstraktının içinde bulunduğu tüpteki çözücü, azot gazı altında uçuruldu. Her bir numune üzerine 1 mL kolesterol reaktifi ilave edildi. 37 C° lik sıcak su banyosunda 10 dakika bekletildi ve inkübasyon sonrası köre karşı 500 nm dalga boyunda absorbanslar okundu. Okunan bu absorbanslara karşılık gelen

kolesterol konsantrasyonları, standart grafiğinin verdiği formül yardımıyla bulundu. Eritrosit başına düşen kolesterol, formülle hesaplanan kolesterol konsantrasyonunun, eritrosit sayısına bölünmesiyle bulundu ve 10^{10} eritrosit başına düşen mg kolesterol cinsinden ifade edildi (32).

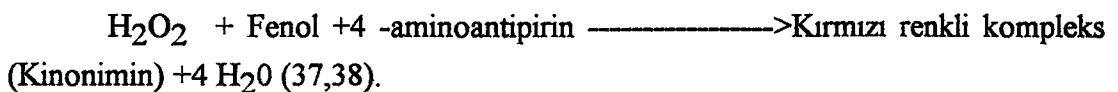
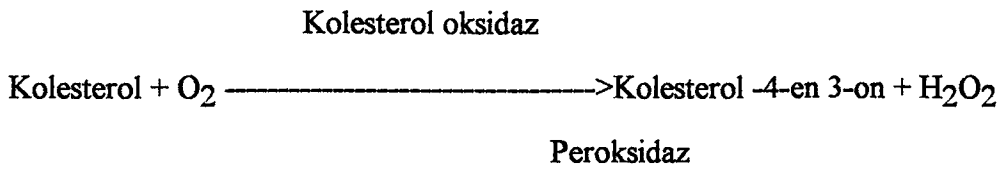
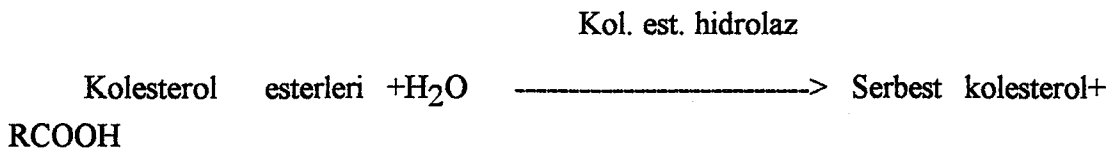
Standart grafiğinin çizimi için konsantrasyonu 2 g/L olan kolesterol standartı kullanıldı. Bu kolesterol standartı 1/4 oranında seyreltildi. Seyreltilen kolesterol standartından sırasıyla 10 μ L, 20 μ L, 40 μ L, 60 μ L, 80 μ L ve 100 μ L alındı ve üzerlerine toplam hacim 0.1 mL olacak şekilde distile su ilave edildi. Böylece sırasıyla 5, 10, 20, 30, 40 ve 50 μ g konsantrasyonlarında 6 farklı kolesterol standartı hazırlandı. Her tüpe 1 mL kolesterol reaktifi pipetlendi ve 37 C'lik sıcak su banyosunda 10 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası 6 tüpün standartları 500 nm'de ölçüldü. Çıkan absorbanslar ordinata, absorbanslara karşılık gelen standart kolesterol konsantrasyonu ise apside gelecek şekilde standart grafiği elde edildi. Hazırlanan standart grafiğine göre her bir numunenin 500 nm'de ölçülmüş absorbansına karşılık gelen kolesterol konsantrasyonları hesap edildi.

3.5.2. Plazma Kolesterol Tayini

Kolesterol oksidaz metoduyla analiz yapıldı. 500 nm dalga boyunda absorbanslar okundu ve sonuçlar mg/dL cinsinden belirlendi.

Prensip: Numunedeki ester kolesterol, kolesterol ester hidrolaz ile serbest kolesterole çevrilir. Serbest kolesterol, oksidaz ile (O_2 varlığında) kolesterol 4en 3on ve peroksit'e çevrilir. Peroksit, fenol ve 4 amino antipirin peroksidazla reaksiyona sokulur. Oluşan kırmızı renkli kompleksin renk şiddeti kolesterol konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

Reaksiyonlar:



HDL-Kolesterol Tayini

HDL-Kolesterol , Biotrol tayin kiti ile çalışıldı. 500 nm dalga boyunda okundu. Değerler mg/dL olarak verildi.

Prensip: Fosfotungustik asit ve magnezyum klorür kandaki düşük dansiteli lipoproteinleri çöktürür. 1 mL serum 1 mL çöktürücü ile iyice karıştırılır. Oda sıcaklığında 10 dk inkübe edilir. 15 dk 5000 rpm de santrifüj edilerek süpernatant alınır. Kolesterol oksidaz ile kolesterolün tayini yapılır. LDL ile VLDL çökeceği için süpernatanda sadece HDL kalır (37,38).

LDL-Kolesterol Tayini:

LDL kolesterol; total kolesterol, triaçilgliserol ve HDL kolesterol tayini yapıldıktan sonra 1972 de Friedewald ve arkadaşlarınca bulunan

LDL-Kolesterol = Total kolesterol - (HDL -kol.) + TG/5 formülü ile hesaplandı. TG/5 oranı yaklaşık olarak VLDL kolesterolü ifade eder. Değerler mg/dL cinsinden verildi (39).

3.6. Plasma Toplam Trigliserid Miktarlarının Belirlenmesi

Serumda trigliseridlerin kantitatif analizi için Biotrol kiti kullanıldı. Değerler 500nm dalga boyunda kolorimetrik olarak belirlendi. Sonuçlar mg/dL cinsinden bulundu.

Prensip: Nümunedeki trigliseridler, lipoprotein lipaz vasıtası ile serbest yağ asitleri ve gliserole hidroliz edilirler. Gliserol ise Gliserol kinazın katalizlediği bir reaksiyonla fosforillenerek Gliserol 3- fosfata çevrilir. Gliserol 3- fosfat O₂ varlığında gliserol fosfat oksidaz ile reaksiyona sokulur. Dihidroksiaseton fosfat ve hidrojen peroksit'e dönüşür. H₂O₂, klorofenol ve 4 aminoantipirin bir peroksidaz vasıtasıyla kırmızı renkli bir kompleks verir. Bu kompleksin renk şiddeti trigliserid konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

Reaksiyonlar:

Lipaz

Trigliseridler \longrightarrow Gliserol + Serbest yağ asitleri

Gliserol kinaz

Gliserol + ATP \longrightarrow Gliserol 3 fosfat + ADP

Gliserol fosfat oksidaz

Gliserol 3 fosfat + O₂ \longrightarrow Dihidroksiaseton fosfat + H₂O₂

Peroksidaz

H₂O₂ + 4- klorofenol + 4 - aminoantipirin \longrightarrow Kırmızı renkli kompleks(Kinonimin)(37,38,40).

3.7. Erirosit Membran Fosfolipidlerinin Analizi

3.7.1. Fosfolipidlerin İnce Tabaka Kromatografisi İle Ayrılması

-20 C° de saklanan total lipid ekstraktından belirli bir miktar alındı ve azot gazı altında membran lipidlerinin içinde bulunduğu çözücü uçuruldu. Yeniden daha küçük hacimde kloroformda çözüldü. Çözünen bu ekstrakt daha önceden hazırlanmış ince tabaka plaklarına tatbik edildi. Kromatografi işleminde kullanılan ince tabaka plakları şöyle hazırlandı: Kullanılacak tabaka adedine göre Merck marka Silikajel HF 254 (UV ışığına hassas) tartıldı. Su ilave edildikten sonra bar kullanarak magnetik karıştırıcı ile iyice homojen hale getirildi. Camag marka otomatik plak tatbikatörüyle plaklara çekildi. Jelle kaplanan plaklar oda sıcaklığında 10-15 dk bekletildikten sonra 110 C° de 1 saat aktive edildi. Aktive edilmiş plaklara çözülen ekstraktan aynı noktaya bir kaç defa olmak üzere tatbik edildi. İçinde 65:35:5 hacim oranında kloroform : metanol : amonyak bulunan kromatografi tankı içine bu plak yerleştirilerek solvent sistemiyle plağın üst kısmına 1.5- 2 cm kalıncaya kadar yürütüldü. Sonra plak tanktan çıkarıldı ve kurutuldu. UV ışık altında fosfolipidler gözlenerek işaretlendi ve bu kısım kazılmak suretiyle tüp içine alındı. 1 mL kloroformda çözüldü. 2500 rpm de santrifüj edildi ve jel süzölmek suretiyle uzaklaştırıldı. Bu işlem 4 kez tekrarlanarak

jeldeki fosfolipidlerin tamamen eldesi sağlandı. Sonra margarin kullanan ve kullanmayan şahısların fosfolipid ekstraktları ayrı ayrı birleştirildi (41).

3.7.2 Fosfolipidlerin Fosfolipaz B İle Hidrolizi

İki gruba ait fosfolipid ekstraktlarından 10' ar mL alındı ve azot gazı altında kloroformları uçuruldu. Her bir tüpün üzerine, fosfolipidleri hidroliz edecek olan fosfolipaz B nin optimum olarak çalışabilmesi için birer mL pH sı 8 olan tris tamponu ve 10'ar µL fosfolipaz B ilave edildi. Hidroliz işlemini kontrol etmek amacıyla Merck marka hazır ince tabaka plaklarına ekim yapıldı. Sonra fosfolipid numuneleri, fosfolipidlerin hidrolizini kolaylaştırmak için Fisher marka ultrasonikatör altına kondu. Ultrasonikatör cihazı 10 sn çalışıp 5 sn duracak şekilde 4 saat süreyle çalıştırıldı. Ortam ısı da 37 C° civarında tutuldu. Yağ asitlerinin serbest hale gelip gelmediğini anlamak için her bir numune, kloroform: metanol: su (65:25:4) solvent sistemiyle yeniden ince tabaka kromatografisi işlemine tabi tutuldu . İki kromatografi işlemi arasında fark olup olmadığı kontrol edildi (41).

3.7.3. Fosfoliserid Yapısındaki Yağ Asit Çeşitlerinin Gaz Kromatografisi İle Belirlenmesi

Fosfolipidlerin Fosfolipaz B ve sonikasyonla hidrolizi sonucu serbest hale gelen yağ asitlerinin çeşitleri kalitatif olarak gaz kromatografisi metoduyla belirlendi. Her iki hidroliz işlemi arasında fark olduğu gözlenince ultrasonikatör altında bulunan tüp kaldırılarak üzerine 1 mL kloroform ilave edildi. Tüpün ağzı kapatıldı ve 3-4 kez alt üst edildi. Serbest hale gelmiş yağ asitlerinin içinde bulunduğu alttaki kloroform fazı mikropipet yardımıyla alındı. Kromatografi için yapılmış küçük cam şişeye aktarıldı. Aynı işlem bir kez daha yapıldı. Daha sonra cam şişe içine alınmış olan numunenin içinde bulunduğu kloroform, azot gazı altında uçuruldu. Şişenin üzerine 200 mikrolitre kloroform ilave edilerek ağzı sıkı bir şekilde kapatıldı ve dondurucuya konuldu. Kromatografi işlemi yapılacağı zaman şişelerin içine alınmış olan numuneler dondurucudan alındı .

Yağ asitlerinin kromatogramlarını almak için Tracor 570 marka gaz kromatografisi cihazından ve FI (alev iyonlaştırıcılı) detektöründen faydalanıldı. Çalışmamızda yağ asitlerine spesifik olan Restek Rtx-2330 kapiller kromatografi kolonu kullanıldı. En son 200 mikrolitre kloroformda çözünmüş halde bulunan yağ asitlerinden, 10'ar µL doğrudan gaz kromatografisi cihazına tatbik edilerek kromatogramları alındı. Aynı şekilde Sigma firmasından temin edilen doymuş ve

doymamış yağ asitlerini ihtiva eden yağ asidi standartlarından 10'ar µL tatbik edilerek kromatogramları alındı. Numuneler kapiller gaz kromatografi cihazında aşağıdaki sıcaklık programı uygulanarak ayrıldı.

Başlangıç sıcaklığı C°	Bekleme süresi dakika	Sıcaklık artış hızı C°/ dakika	Bitiş sıcaklığı C°
75	5	10	125
125	10	10	175
175	25	10	225
225	40	0	225

Numunelerimizden elde edilen kromatogramlarla standartlardan elde edilen kromatogramlar karşılaştırılarak yağ asidi çeşitleri belirlendi (41).

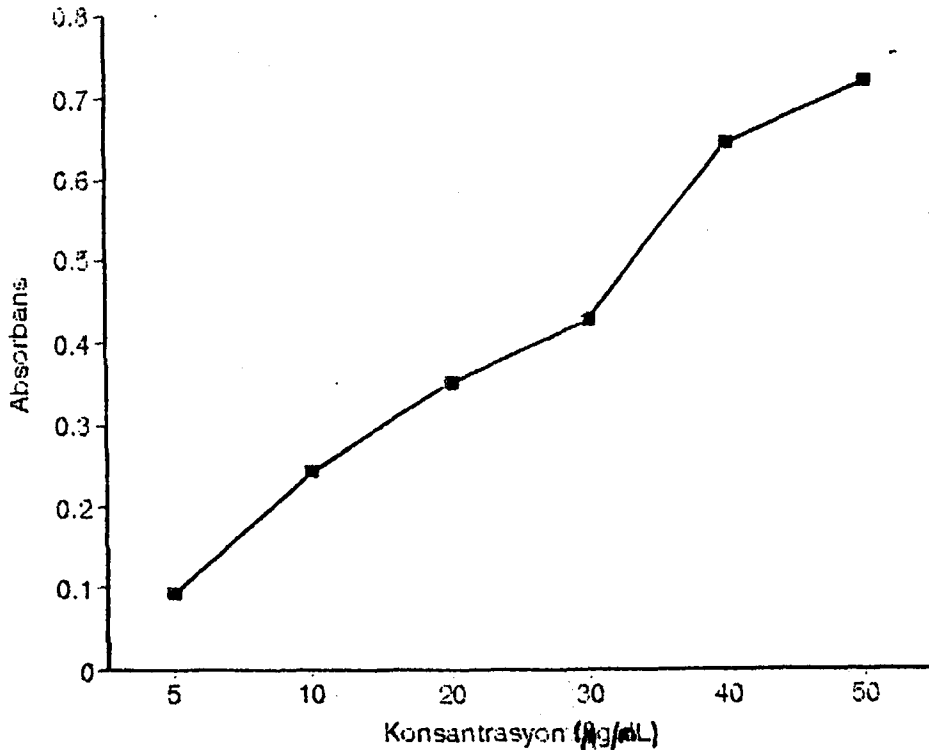
Eitrosit membranlarındaki bazı yağ asitleri çok az miktarda bulunmaktadır. Çok az olan bu maddelerin analitik metodlarla saflaştırılması ve analiz edilmesi çok güç olduğu için enstrümental teknikler kullanılmalıdır. Araştırmamızda çok hassas olan kapiler gaz kromatografisi metodu uygulandı. Kapiler gaz kromatografisi hem hızlı hemde çok hassas bir metoddur. Bu teknikle çok küçük miktarlardaki yağ asitleri rahatlıkla tesbit edilebilir. Bu metodun hassaslık sınırı yaklaşık olarak 10^{-9} g mertebesindedir.

4. BULGULAR

4.1. Membran ve Plazma Kolestrolleri İle İlgili Bulgular

Diyetinde margarin kullanan ve kulanmayan şahıslardan alınan kan numunelerindeki kolesterol miktarlarını bulmak için standart kolesterol grafiği hazırlandı. Standart grafiği; 5-50 μ L arasında hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki 6 kolesterol standardının 500 nm dalga boyunda absorbanslarının ölçülmesiyle elde edildi. Ölçüm sonucu elde edilen 0.0845, 0.1985, 0.3165, 0.4825, 0.6550 ve 0.7935 şeklindeki absorbanslar konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek standart grafiği elde edildi.

Şekil 1, ölçümler sonucunda elde edilen kolesterol standart grafiğinin 10-30 μ g / mL arasında lineer olduğunu gösterirken, şekil 2, bu lineer bölgenin bir doğru haline getirilmiş şeklini ve bu doğrunun denklemini göstermektedir. Bu doğrunun denklemi regresyon analiziyle $y= 0.0189+0.0156X$ olarak bulunmuştur. Şekil 1'de gözlenen 10-30 μ g/mL'lik bölge, çalışmalar sırasında esas olarak alındı. Ölçümle bulunan numune absorbansları bu denklemde yerine konularak nünunelerin kolesterol konsantrasyonları tayin edildi.



Şekil 1: Ölçümler Sonucu Elde Edilen Eğri

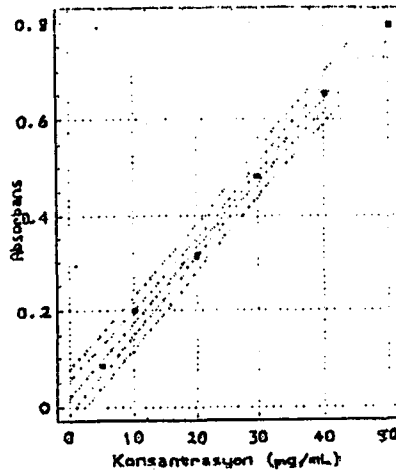
4.1.1. Eritrosit Membran Kolesterolleri İle İlgili Bulgular

K.T.Ü. öğrenci yurtlarında kalıp öğrenci yemekhanesinden yemek yiyen toplam 30 şahıstan alınan kan numunelerindeki eritrosit membran kolesterol değerleri, Tablo III ' de yer almaktadır. Yaşları 18-23 arasında olan bu şahısların eritrosit membran kolesterol seviyeleri 1.06 -1.392 mg 10^{10} hücre arasında bir dağılım göstermektedir. Bu şahısların ortalama eritrosit membran kolesterol değeri $\bar{X}(\text{ort})=1.29 \pm 0.07$ mg/ 10^{10} hücre olarak bulundu. K.T.Ü. öğrenci yurtlarında kalmayan ve diyetinde margarin kullanmayıp yaşları 18-23 arasında değişen 30 şahıstan da kan nümuneleri alındı. Alınan kan nümunelerinde yapılan eritrosit membran kolesterolü tayini ile ilgili sonuçlar da Tablo IV' de yer almaktadır. Bulunan eritrosit membran kolesterol değerleri 1.010-1.333 mg / 10^{10} eritrosit arasında değişirken, ortalama eritrosit kolesterol değeri ise 1.17 ± 0.09 mg / 10^{10} eritrosit olarak tesbit edildi.

4.1.2. Plazma Kolesterolleri İle İlgili Bulgular

Margarin kullanan şahıslardan alınan kan örneklerinde yapılan plazma total kolesterolü, LDL-kolesterol , HDL-kolesterol seviyeleri Tablo III'de yer almaktadır. Tabloya göre total kolesterol değerleri 166-243 mg/dL arasında iken ortalama kolesterol seviyesi 200.90 ± 21.80 mg/dL olarak tesbit edildi. LDL-kolesterol değerleri 89.20-151.20 mg/dL aralığında bulundu. Ortalama LDL-kolesterolün değeri ise 124.54 ± 13.34 mg/dL şeklinde tesbit edildi. HDL-kolesterol değerleri 21-77 mg/dL arasında tayin edilirken, ortalaması 48.80 ± 15.26 mg/dL olarak bulundu.

Margarinsiz diyet kullanan şahıslardan alınan kan nümunelerinde yapılan çalışmalar sonucu elde edilen plazma total kolesterolü, LDL-kolesterol ve HDL-kolesterol Tablo IV' de gösterilmiştir. Tabloya göre, total kolesterol, LDL-kolesterol ve HDL-kolesterol değerleri sırayla 134-232 mg/dL, 75.40-140 mg/dL, 36-78 mg/dL arasında dağılım gösterirken ortalama değerleri sırayla 182.57 ± 26.74 mg/dL, 104.37 ± 18.00 mg/dL, 56.73 ± 9.85 mg/dL olarak tesbit edildi.



Şekil 2 : Doğru Haline Getirilmiş Standart Kolesterol Grafiği

Tablo III: Diyetinde Margarin Kullanan Şahısların Plazma Total Kolesterol, LDL Kolesterol, HDL Kolesterol, Eritrosit Membran Kolesterolü ve Plazma Trigliserid değerleri.

Margarin alanlar	Plazma total kolesterolü (mg/dl)	LDL kolesterol (mg/dl)	HDL kolesterol (mg/dl)	Eritrosit membran kolesterolü (mg/10 ⁹ hücre)	Plazma trigliserid değerleri (mg/dl)
1	224.00	151.20	45.00	1.16	139.00
2	209.00	112.80	67.00	1.06	149.00
3	215.00	121.80	64.00	1.18	146.00
4	186.00	132.20	33.00	1.37	114.00
5	197.00	38.40	33.00	1.30	128.00
6	213.00	126.20	57.00	1.35	144.00
7	176.00	114.00	39.00	1.38	115.00
8	190.00	108.40	58.00	1.21	118.00
9	224.00	127.40	65.00	1.10	158.00
10	226.00	128.40	50.00	1.22	138.00
11	221.00	129.80	64.00	1.32	136.00
12	221.00	130.80	54.00	1.32	181.00
13	243.00	137.20	77.00	1.25	144.00
14	181.00	131.60	27.00	1.29	112.00
15	176.00	122.00	33.00	1.30	100.00
16	193.00	138.40	29.00	1.38	128.00
17	181.00	128.00	21.00	1.28	140.00
18	177.00	118.40	39.00	1.23	98.00
19	208.00	139.00	37.00	1.26	160.00
20	216.00	130.20	63.00	1.39	114.00
21	216.00	126.00	59.00	1.34	155.00
22	198.00	121.00	35.00	1.18	210.00
23	176.00	112.40	30.00	1.27	158.00
24	227.00	131.00	74.00	1.24	110.00
25	217.52	136.60	52.00	1.39	162.00
26	179.60	89.20	60.00	1.31	149.00
27	184.40	121.60	40.00	1.30	102.00
28	216.50	132.20	56.00	1.38	139.00
29	166.41	105.20	105.00	1.29	99.00
30	171.60	95.80	62.00	1.27	66.00

$\bar{X} \pm SD$ 200.90 \pm 21.80 124.54 \pm 13.34 48.80 \pm 15.26 1.29 \pm 0.07 133.73 \pm 28.65

Tablo IV: Margarinsız Diyet Alanlarda Plazma Total Kolesterol, LDL-Kolesterol, HDL-Kolesterol, Eritrosit Membran Kolesterolü ve Plazma Trigliserid Değerleri

	Plazma total kolesterolü (mg/dl)	LDL kolesterolü (mg/dl)	HDL kolesterolü (mg/dl)	Eritrosit membran kolesterolü (mg/1 0 ¹⁰ hücre)	Plazma trigliserid değerleri (mg/dl)
1	167.00	85.00	67.00	1.23	75.00
2	198.00	121.80	64.00	1.31	61.00
3	175.00	104.80	55.00	1.30	76.00
4	201.00	100.40	78.00	1.21	103.00
5	211.00	127.20	57.00	1.19	134.00
6	134.00	75.40	47.00	1.20	58.00
7	175.00	103.80	46.00	1.28	126.00
8	171.00	89.00	67.00	1.22	75.00
9	196.00	120.20	60.00	1.14	79.00
10	232.00	137.20	60.00	1.10	174.00
11	180.00	91.20	47.00	1.33	199.00
12	232.00	140.00	50.00	1.25	206.00
13	190.00	119.60	54.00	1.17	82.00
14	185.00	119.40	54.00	1.25	58.00
15	225.00	116.80	71.00	1.30	186.00
16	220.00	120.00	63.00	1.01	85.00
17	156.00	97.00	69.00	1.28	80.00
18	149.00	98.00	48.00	1.17	60.00
19	176.00	97.80	55.00	1.02	121.00
20	199.00	102.00	65.00	1.22	160.00
21	154.00	81.80	54.00	1.01	91.00
22	170.00	87.80	66.00	1.23	81.00
23	145.00	82.20	48.00	1.25	74.00
24	176.00	101.60	44.00	1.04	152.00
25	205.00	118.60	56.00	1.04	152.00
26	229.00	125.00	66.00	1.23	190.00
27	161.00	81.20	63.00	1.20	84.00
28	152.00	78.80	51.00	1.02	116.00
29	174.00	115.40	36.00	1.13	113.00
30	159.00	92.00	41.00	1.17	120.00
$\bar{X} \pm SD$	182.56 ± 26.70	104.37 ± 18.04	56.73 ± 9.85	1.17 ± 0.09	112.37 ± 45.78

4.2. Plazma Toplam Triglisericid Miktarları İle İlgili Bulgular.

Margarin kullanan şahıslarda triglisericid değerleri 66-210 mg/dL arasında dağılım gösterirken, ortalama değer 133.73 ± 28.65 mg/dL olarak bulunmuştur. Margarinli diyet alanların triglisericid değerleri tablo III de, bu değerlerin ortalaması ise tablo V de gösterilmiştir. Margarin kullanmayanlarda triglisericid değerleri 58-206 mg/dL arasında değişim gösterirken ortalama olarak 112.37 ± 45.78 mg/dL bulunmuştur. Margarinsiz diyet alanların değerleri tablo IV de, ortalaması da tablo V de gösterilmiştir.

4.3. Eritrosit Membran Fosfoliglisericidlerinin Yağ Asitleri Bileşimleri İle İlgili Bulgular

Çalışmamızda, diyetinde margarin kullanan şahısların eritrosit membranlarından şu yağ asitleri elde edilmiştir.1

Pentanoik asit	(5:0)
Heptanoik asit	(7:0)
Nonanoik asit	(9:0)
Tridekanoik asit	(13:0)
Oleik asit	(18:1;9)
Petroselinik asit	(18:1;12)
Erukik asit	(22:1;13)

Çalışmamızda diyetinde bitkisel sıvı yağ kullanan şahısların eritrosit membranlarında tesbit edilen yağ asitleri şunlardır :

Pentanoik asit	(5:0)
Heptanoik asit	(7:0)
Nonanoik asit	(9:0)
Tridekanoik asit	(13:0)
Pentadekanoik asit	(15:0)
Heptadekanoik asit	(17:0)
Stearik asit	(18:0)
Oleik asit	(18:1;9)

Linoleik asit	(18:2;9,12)
Heneikosanoik asit	(22:0)
Erukik asit	(22:1;13)

4.4 İstatistiki Analiz Sonuçları

Elde edilen değerlerin ortalamaları (\bar{X}) ve standart sapmaları (SD) hesaplandı. Grup ortalamaları arasındaki farkın önemliliğini belirlemek için student t-testi kullanıldı. Gruplardaki parametreler arası ilişkiyi belirlemek amacıyla regresyon-korelasyon analizi uygulandı. Bu istatistiksel analizler IBM bilgisayarda statgraph istatistik programında yapıldı. İstatistiksel çalışmada kullanılan kısaltmalar:

n= Üzerinde çalışılan şahısları sayısı

\bar{X} = Aritmetik ortalama

SD= Standart sapma

r= Korelasyon katsayısı

Tablo V. Margarinli Diyet Alan ve Almayan Şahısların Plazma Total Kolesterol, LDL-Kolesterol, HDL-Kolesterol, Eritrosit Membran Kolesterol ve Plazma Trigliserid Değerlerinin Ortalamaları.

Parametreler	n	$\bar{X} \pm SD$		P
		Margarin alanlar	Margarin almayanlar	
Plazma total kolesterol (mg/dl)	30	200.90 \pm 21.80	182.57 \pm 26.74	< 0.5
LDL-kolesterol (mg/dl)	30	124.54 \pm 13.34	104.37 \pm 18.00	< 0.001
HDL-kolesterol (mg/dl)	30	48.80 \pm 15.26	56.73 \pm 9.85	< 0.05
Eritrosit membran kol (mg/10 ¹⁰ hücre)	30	1.29 \pm 0.07	1.17 \pm 0.09	< 0.05
Trigliserid değeri (mg/dl)	30	133.73 \pm 28.65	112.37 \pm 45.78	< 0.05

Tablo VI. Margarimli Diyet Alan ve Almayanlarda Lipid Parametreleri Arasındaki İlişkiler. [Korelasyon katsayıları (r), ve anlamlılık düzeyleri (p)].

Gruplar	Plazma kol- LDL- kol	Plazma kol- HDL-kol	Plazma kol- Trigliserid
Margarin kullananlar	r= 0.39 p<0.05	r =0.64 p<0.05	r =0.35 p<0.05
Margarin kullanmayanlar	r =0.87 p<0.001	r =0.37 p<0.05	r =0.47 p<0.05

Kol ; Kolesterol,

Margarin kullanan ve kullanmayan şahıhların lipid parametreleri arasındaki ilişkiler tablo vı de gösterilmiştir. Her iki grubun da membran kolesterolleri ile diğer lipid parametreleri arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanmamıştır.

TARTIŞMA

Çalışmamızda diyetinde hiç bir yağ kısıtlaması yapmayan belirli bir yaş grubundaki şahıslarla son bir yıldır hiç margarin kullanmayan ve diyetinde margarin dışında herhangi bir yağ kısıtlaması yapmayan aynı yaş grubundaki kişilerin bazı plazma ve eritrosit membran lipid çeşitlerinin karşılaştırılması amaçlandı.

Margarinlerin özellikle koroner kalp hastalıkları ve kan lipidleri üzerine olan etkileri incelenmiş, insan vücuduna tamamen yabancı bir ürün olan trans yağ asitlerinin insan metabolizmasına olan tesirleri son yıllarda önemli araştırma konusu olmuştur.

Bu maksatla diyetinde margarin alan ve almayanlar şeklinde iki grup seçildi. Her iki gruptaki şahısların plazma total trigliserid ve kolesterollerini, LDL- kolesterollerini, HDL- kolesterollerini, eritrosit membran kolesterollerinin ve yağ asiti çeşitlerinin nasıl değişim gösterdiği ve aralarında nasıl bir ilişki olduğu araştırıldı.

Eritrosit membranları; yapılan yoğun çalışmalar sonucu kendisini oluşturan elemanlar ve bu elemanların dizilimi yönünden hemen hemen aydınlatılmıştır (42). Membran hareketleri, membranda kolesterol-fosfolipid değişimleri ve bu değişimlerin meydana getirdiği etkiler incelenmiş ve mekanizmalarla açıklanmıştır (25). Membranın yapısındaki kolesterol (36,43-51), fosfolipidler, fosfolipidlere bağlı yağ asitleri araştırılmış, fosfolipid ve yağ asit miktarlarının diyetle nasıl değiştiği incelenmiştir (23,31,36,43-48,52-54).

Çalışmamızda diyetinde margarin kullanan şahısların eritrosit membran kolesterollerini ortalama olarak $1.29 \pm 0.07 \text{ mg}/10^{10}$ hücre, margarin kullanmayan şahısların eritrosit membran kolesterollerini, ortalama $1.17 \pm 0.09 \text{ mg}/10^{10}$ hücre olarak bulunmuştur.

Eritrosit membran kolesterolünü değişik araştırmacılar farklı miktarda bulmuşlardır. Reed ve arkadaşları $\text{mg}/10^{10}$ hücre başına 1.13, Ways ve Hanahan 1.27, Von Gastel ve arkadaşları 1.13, Neerhoud 1.33, Jaffe ve Gottfried 1.32, Cooper 1.34 olarak tesbit etmişlerdir (31). Ott ve arkadaşları ise çalıştıkları farklı metodlara göre 1.24-1.47 arasında bulmuşlardır (32). Uydu; kontrol grubunda $1.19 \pm 0.06 \text{ mg}/10^{10}$ hücre, hiperkolesterolemik şahıslarda $1.34 \pm 0.16 \text{ mg}/10^{10}$ hücre, hipertiroidili şahıslarda ise $1.49 \pm 0.19 \text{ mg}/10^{10}$ hücre olarak bulunmuştur (55).

1951 yılından beri eritrosit ve plazma arasındaki kolesterolün değişimi üzerine çalışmalar yapılmış, insan eritrositlerinde bir kolesterol havuzu bulunduğu, serbest kolesterolün hem in vivo hem de in vitro şartlarda eritrositler ile plazma arasında değişim gösterdiği bildirilmiştir (31,56).

Yapılan uzun çalışmalar sonunda vücutta üç kolesterol havuzunun varlığı ileri sürülmüştür. Bu havuzların her birinin dengeleme hızı farklı olmakla birlikte hepsi de plazma kolesterolü ile denge içindedir. Plazma lipoproteinleri ile eritrositlerin, karaciğer, bağırsaklar ve diğer bazı organların, hızlı değişen havuzu oluşturduğu ve bunların 50-65 mmol kadar kolesterol ihtiva ettiği zannedilmektedir. Orta derecedeki havuzun deri ve adipoz doku gibi periferel dokularda bulunduğu ve 25 mmol kadar kolesterol ihtiva ettiği düşünülmektedir. Yavaş değişen havuzun iskelet kasından arter duvarına kadar çeşitli organlarda bulunduğu ve ihtiva ettiği kolesterol ile en büyük havuzu oluşturduğu belirtilmiştir. Ayrıca Goodman ve arkadaşları, santral sinir sisteminde hiç değişmeyen ve total kolesterolün %35 -40 ını ihtiva eden bir başka havuzun varlığını belirlemişlerdir (21).

Plazma lipoproteinleri hücre membranlarının lipid akışkanlığında, çeşitli hücre fonksiyonlarında ve lipoprotein metabolizmasının kontrolünde önemli bir rol oynamaktadır. Daha akışkan bir lipoproteinin hızlı olarak temizlenebileceği bunda plazma lipid seviyelerinde bir azalmaya yol açabileceği belirtilmektedir.

Hücre membranlarının akışkanlığındaki bir değişim membran geçirgenliğini, membran yapısındaki enzimlerin aktivitesini ve hormon reseptörlerini etkilemektedir.

Eritrosit membranlarının akışkanlığı oksijen transportu, mekanik ve reolojik özellikleri gibi önemli fonksiyonel özellikleri düzenlemektedir. Fosfolipid yağ asitlerinin doymamışlığının artması lipid akışkanlığını artırmaktadır. Beslenme diyetinin yağ asidi kompozisyonu, plazma lipoproteinleri ve hücre membranlarının lipid akışkanlığını in vitro olarak etkilemektedir (43).

Serum lipid anormallikleri eritrosit membran lipid bileşimini etkilemekte ve poliansatüre yağlarla beslenme hücre membranlarının yağ asidi kompozisyonunu değiştirmektedir (44). Balıkla fazla miktarda alınan 22:5 w-3 ve 22:6 w-3 poliansatüre yağ asitleri lipid kompozisyonundaki değişimleri teşvik etmekte, bu da membran lipid akışkanlığını artırmaktadır (45).

İnsan ve hayvanlardaki plazma, eritrosit, ve platelet fosfolipidleri diyet yağlarının yağ asiti kompozisyonunu yansıttığı da bildirilmektedir (46).

Doymamış yağ asitleri ile hücrede belirgin bazı değişiklikler meydana gelmektedir. Esansiyel yağ asitlerinin eksikliğinin fare eritrositlerinde 18:2, 20:4 yağ asitlerini azalttığı, monoenoik ve eikosatrienoik asit miktarını ise önemli ölçüde arttırdığı gözlenmiştir. Eritrosit yağ asitlerindeki farklılıkların diyet akışkanlığına bağlı

olduğu, bu lipid farklılıklarının eritrositlerin permeabiliteleri ile uyum gösterdiği ve diyete bağlı olarak eritrosit yağ asitlerinin yenilenmesinin kırmızı hücre sirkülasyonunda rol aldığı belirtilmiştir (36,47).

Eritrosit membran kolesterolünün plazma kolesterolü ile değişim gösterdiği, yüksek LDL kolesterol seviyesinin eritrosit membranlarının kolesterol seviyesinde yükselmeye sebep olduğu ifade edilmiştir. De-Lucchi ve arkadaşları, yaptıkları çalışmalarda membran yağ asidi kompozisyonunun, fosfolipid ve kolesterol muhtevasının diyetle modifiye edilebileceğini ortaya koymuşlardır. Hipertiroidili ratlarda yapılan çalışmalarda kolesterolün plazmada azaldığı eritrositlerde ise arttığı, hipotiroidili ratlarda plazmada kolesterolün arttığı eritrositlerde ise azaldığı tesbit edilmiştir (49-51,57).

Çalışmamızda diyetinde margarin kullanan şahısların eritrosit membran kolesterol değeri margarinli diyet almayanlara göre artmıştır ve her iki eritrosit membran kolesterol değeri arasında $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı bir fark gözlenmiştir. Araştırmamızda margarinli diyet alan ve almayan şahısların eritrosit membranlarıyla ilgili bulunan sonuçlar literatür ile uyum içindedir.

Margarin kullanan şahıslarda eritrosit membran kolesterolünün artması; diyetle kullanılan yağ tipinin plazma kolesterolünü artırdığı ve artan plazma kolesterolünde eritrosit membran kolesterolü ile değişim gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Araştırmamızda diyetinde margarin kullanan şahısların plazma total kolesterol değerleri ortalama olarak 200.90 ± 21 mg/dl, margarin kullanmayanların ise 182.55 ± 26 mg/dl olarak bulunmuştur.

Yiyeceklerin yağ asiti bileşimi poliansatüre yağ asitinin satüre yani doymuş yağ asitlerine olan oranı ile belirtilir. Genel olarak bu oran et ve sütü ürünlerde düşük, balık ve sebze orjinli yağlarda ise yüksektir. Sert margarinlerin P:S oranı 0.13, yumuşak margarinlerin ise 2 dir. Mısır yağında ise 4.82 dir. Bu yağlar günlük diyetle çok kullanıldığı için P:S oranları oldukça önemlidir. Genel olarak satüre yağlar serum kolesterolünü yükseltir. Poliansatüre yağlar ise düşürür. Açlık serum trigliseridlerinde de benzer değişiklikler meydana gelir. Diyet yağının serum kolesterolünde meydana getirdiği değişiklikler genel olarak LDL kolesterol, biraz da VLDL kolesterol konsantrasyonunda meydana gelen değişikliklere bağlı olarak gelişir. Diyetdeki kolesterol miktarının serum kolesterol konsantrasyonu üzerine etkisi P:S oranının etkisinden daha azdır. Bunun yanında diyetle kolesterol alımının arttığı durumlarda LDL kolesterolün yükseldiği belirtilmiştir. Normal kişilerde kabuklu deniz ürünleri ile alınan kolesterolün serum kolesterol değerlerine etkisinin az olduğu tesbit edilmiştir. Diyet kolesterolünün serum kolesterolüne olan etkisini belirlemedeki en önemli

zorluk, kişilerin cevaplarındaki farklılıklardır. Diyet kolesterolü ile birlikte alınan trigliseridlerin P:S oranı da serum kolesterol değerlerini etkiler. (21)

. Wood ve arkadaşları; yumuşak margarinde 18:2 yağ asitlerini %61.3 olarak, katı margarinde % 3.5 olarak bulmuşlardır. Katı margarinlerdeki 18:1 yağ asiti yumuşak margarinlerdekinin 3 misli iken 18:2 yağ asiti yumuşak margarinlerde katı margarinlerdekinin yaklaşık 20 mislidir. Araştırmacılar çalışmalarında poliansature yağı fazla miktarda ihtiva eden (%46) yumuşak margarin kullanıldığında toplam serum kolesterolünü (187 ± 31 mL/dL.) katı margarinlere göre (198 ± 29 mL/dL.) daha fazla düşürdüğünü göstermişlerdir. Bu araştırmacılar katı margarin kullananlarda kolesterol seviyesinin yüksek oluşunu trans yağ asitlerine bağlamaktadır (4).

Erickson ve arkadaşları poliansatüre ve satüre yağlarla beslenildiğinde her iki yağın sebep olduğu herhangi bir farklılığın kısmen hidrojene edilmiş yağlardan kaynaklandığını, hidrojene edilmemiş bitkisel yağların plazma kolesterolü ile fosfolipid seviyelerinde göze çarpan bir düşüş meydana getirdiklerini ifade etmişlerdir. Kısmen hidrojene yağların hiperkolesterolemik etkiye sahip olmasından serum kolesterol seviyelerini değiştirdiğini bunun da trans yağ asitlerinden kaynaklandığını bulmuşlardır. Ama bunun aksine olan gözlemlerin de bulunduğunu ve trans yağ asitlerinin serum kolesterol düzeyinde devamlı bir etkiye sahip olmadığını belirtmişlerdir (58).

Dupont ve arkadaşları, hidrojene yağların sağlıkla olan ilişkisini araştırmışlardır. Trans yağ asitlerinin LDL ve total kolesterol düzeyini artırdığını ve sature yağ asitleri kadar plazma kolesterolüne zararlı olduğunu bulmuşlardır. Bu araştırmacılar, koroner damar hastalığındaki en büyük değişikliklerin yağ tüketimine bağlı olarak görüldüğünü ifade ederek çalışmalarında serum kolesterolünün %40 enerji sağlayan yağlarla beslenildiği zaman yaş ile arttığını ortaya çıkarmışlardır. Bazı ülkelerde yapılan çalışmalarda doymuş yağ asitlerinin artışı ile ortalama serum kolesterolü arasında $r=0.89$ luk bir korelasyon gözlenmiştir. hidrojene kokonat ve mısır yağı diyetleri karşılaştırıldığında mısır yağının serum kolesterolünde bir artışa neden olmadığı bulunmuştur (5).

Willet ve arkadaşları kolesterol ve doymuş yağ alımının trans izomerlerinin alımını ile pozitif olarak ilişkili olduğunu, trans yağ asitlerinin alımının koroner kalp hastalığı riskini etkilediğini ve bu riskin kadınlarda % 50 arttığını bulmuşlardır (6).

Kletzko, trans yağ asidinin ortaya çıkışı ile kolesterol esterifikasyonundaki artışın aterosjenik kolesterol ve LDL kolesterolde istenilmeyen yükselmeye sebep olabileceğini belirtmiştir (7).

Matson ve arkadaşları plazma kolesterol ve trigliserid düzeylerinin diyet yağ asitlerinin izomerik yapıları dikkate alınmaksızın aynı olduğunu belirtmişlerdir. Satüre yağ asitlerinin plazma lipid düzeylerini yükselttiğini ve poliansatüre yağ asitlerinin ise düşürdüğünü, elaidik asitin tüketilmesinin kan kolesterol düzeyinde bir artışı netice verdiğini bulmuşlardır (59).

Shepperd ve arkadaşları plazma kolesterolünü poliansatüre diyetle 158 ± 29 mg./dL. olarak, satüre diyetle ise 207 ± 28 mg/dL. olarak tesbit etmişlerdir (60). Araştırmacılar diğer bir çalışmalarında satüre diyet verildiğinde plazma kolesterolünü 196 ± 27 mg./dL., poliansatüre diyeti verildiğinde ise 154 ± 25 mgdL, olarak bulmuşlardır (61).

Shekella ve arkadaşları diyet kolesterolü ile poliansatüre yağ asitlerindeki değişimin ve satüre yağ asitlerinin poliansatüre yağ asitlerine oranının, serum kolesterolü ile önemli ilişkileri olduğunu ifade etmişlerdir. Diyet poliansatüre yağ asitlerinin satüre yağ asitlerine oranı ile koroner kalp hastalığı insidansı arasında ters bir ilişki olduğunu sonuç olarak diyet lipid kompozisyonunun serum kolesterol düzeyi ve orta yaşlardaki Amerikan insanların koroner kalp hastalığından olan ölüm riskini uzun vadede etkilediğini izah etmişlerdir.(62)

Turner ve arkadaşları, LDL kolesterol değerleri bakımından iki farklı grup seçmişlerdir. Bu iki grupta diyet uygulanmadan önce ortalama plazma kolesterol değerlerini sıra ile 187 ± 30 mg./dL., 409 ± 77 mg./dL. olarak bulmuşlardır. Satüre yağ diyeti uygulandıktan sonra sıra ile 187 ± 25 mg./dL., 347 ± 59 mg./dL, poliansatüre diyeti uygulanması sonrasında ise 155 ± 28 mg./dL, 293 ± 57 mg./dL olarak tesbit etmişler ve bunun $P < 0.05$ düzeyinde anlamlı bir ilişkisi olduğunu belirtmişlerdir (63)

Becker ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada diyetler uygulanmadan önce total kolesterolü 166 ± 29.10 mg./dL. olarak bulmuşlardır. Poliansatüre diyeti uygulandıktan sonra 122.60 ± 16.30 mg./dL, monoansütüre diyeti uygulandıktan sonra 127 ± 13.20 mg./dL, satüre diyeti uygulandıktan sonra ise 132.90 ± 20.90 mg./dL. olarak tesbit edilmiştir (64).

Mattson ve Grundy plazma total kolesterolünü satüre diyetle 224 ± 10 mg./dL., monoansatüre diyetle 197 ± 6 mg./dL, poliansatüre diyetle ise 191 ± 8 mg/dL olarak bulmuşlardır. Poliansatüre ve monoansatüre diyetlerin satüre diyete göre total kolesterolü $p < 0.05$ düzeyinde düşürdüğünü göstermişlerdir (65).

Bonanome ve arkadaşları, diyet uygulamasından önce plazma kolesterolünü 226.99 ± 21 mg/dL, palmitik asit diyeti sonrası 201.85 ± 23 mg/dL, stearik asit diyeti sonrası 172.85 ± 22 mg/dL, oleik asit diyeti sonrası ise 180.97 ± 20 mg/dL olarak

bulmuşlardır. Stearik asit diyetinde total kolesterol, palmitik asit diyetine göre 11 şahısta $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı bir şekilde düşüş, oleik asit diyetinde de $p < 0.002$ düzeyinde anlamlı bir farklılık gözlenmiştir (66).

Mensink ve arkadaşları total kolesterol miktarını hem kadın hem erkeklerde oleik asitce zengin diyetle 4.46 ± 0.66 mmol/L, trans yağ asitince zengin diyetle 4.72 ± 0.72 mmol/L, satüre yağ asidi diyetinde 5.00 ± 0.71 mmol/L olarak bulmuşlar ve ateroskleroz riski olan hastaların fazla miktarda trans yağ alımından kaçmaları gerektiğini ifade etmişlerdir (16).

Araştırmamızın sonuçları literatür ile uyum göstermektedir(4-7,16,58-66). Diyetinde margarin kullanan şahısların plazma kolesterol değerleri, margarin kullanmayan şahıslara göre $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı artmış göstermiştir. Margarin kullanımı uzun süre devam edecek olursa plazma kolesterol düzeyi ve koroner kalp hastalığına yakalanma riski muhtemelen gittikçe artacaktır. Satüre yağ yerine poliansatüre yağ alındığında LDL sentezinin azaldığı, fraksiyonel katabolizmanın arttığı ve böylece intravasküler LDL havuzunun azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca bu değişikliklerle birlikte VLDL ve LDL nin lipid kompartımanındaki kolesterol esterlerinin linoleik/oleik asit oranında ve safra asitleri ile nötral sterollerin fekal atılımında geçici bir artış da gözlenir. Bu sebeple, normal kişilerde poliansatüre yağ ile beslenmede görülen serum kolesterol düşüşü kolesterol atılımındaki artışa bağlanabilir (21).

Çalışmamızda LDL kolesterol değerleri, ortalama olarak margarin kullanan şahıslarda 124.54 ± 13.34 mg/dL margarin kullanmayanlarda ise 104.37 ± 18.04 mg/dL olarak tesbit edilmiştir.

Wood ve arkadaşları LDL kolesterol değerini kontrol diyetinde 139 ± 25 mg/dL, sert margarin diyetinde 134 ± 25 mg/dL, yumuşak margarin diyetinde 126 ± 25 mg/dL olarak tesbit etmişler ve katı margarinde LDL kolesterol seviyesindeki artışın trans yağ asitlerinden kaynaklandığını ifade etmişlerdir (4).

Shepherd ve arkadaşları satüre yağ diyeti uyguladıklarında LDL kolesterolü 134 ± 24 mg/dL, poliansatüre diyeti uyguladıklarında ise 104 ± 6 mg/dL bulmuşlardır.(60). Araştırmacılar diğer bir çalışmada poliansatüre diyeti sonrasında LDL kolesterolü 116 ± 28 mg/dL, satüre diyeti sonrasında ise 145 ± 27 mg/dL olarak bulmuşlardır.(61)

Turner ve arkadaşları, diyetdeki yağ doygunluğu değişiminin LDL metabolizmasına olan etkisini çalışmışlardır. Diyet uygulanmadan önce LDL kolesterol miktarını normal LDL kolesterol konsantrasyonuna sahip kişilerde 117 ± 24 mg/dL,

LDL kolesterolü yüksek şahıslarda 229 ± 87 mg/dL olarak bulmuşlar ve bunun istatistiki açıdan $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı ilişkisi olduğunu belirtmişlerdir. Satüre diyet uygulaması sonrasında bu değerler 122 ± 29 mg/dL, 271 ± 62 mg/dL, poliansatüre diyeti sonrasında ise 98 ± 24 mg/dL, 219 ± 70 mg/dL olarak ölçülmüştür. Bunun da istatistiki açıdan $p < 0.001$ düzeyinde oldukça anlamlı olduğu ifade edilmiştir. Yüksek LDL kolesterol düzeyine sahip kişilerde poliansatüre yağ etkisiyle LDL kolesterol seviyesi % 25 kadar düşürülmüştür. Poliansatüre yağ bakımından ulaşılan bu düşüş, önemli miktarda düşük LDL üretimine atfedilmiştir (63)

Becker ve arkadaşları, LDL kolesterol değerlerini diyet uygulamasından önce 102.80 ± 27.90 mg/dL, satüre diyeti sonrası 81.40 ± 13.1 mg/dL, monoansatüre diyeti sonrası 70.60 ± 17.50 mg/dL, poliansatüre diyeti sonrası 64.80 ± 14.7 mg/dL olarak tesbit etmişlerdir (64).

Matson ve Grundy LDL kolesterol değerlerini şu şekilde bulmuşlardır: satüre diyetinde 143 ± 11 mg/dL, monoansatüre diyetinde 119 ± 8 mg/dL, poliansatüre diyetinde ise 120 ± 7 mg/dL, mono ve poliansatüre diyetinde satüre diyetine göre $p < 0.05$ düzeyinde önemli düşüşler görülmüştür (65)

Bonanome ve arkadaşları diyet uygulamalarından önce LDL kolesterolünü 153.90 ± 20 mg/dL, palmitik asit diyeti uygulandığında 139.98 ± 18 mg/dL, stearik asit diyeti uygulandığında 109.82 ± 15 mg/dL, oleik asit uygulandığında ise 118.71 ± 20 mg/dL olarak tesbit edilmiştir. LDL kolesterol seviyeleri stearik diyeti ile % 22 kadar, oleik asit diyeti ile % 15 kadar düşürülmüştür (66).

Mensink ve arkadaşları LDL kolesterol değerini, oleik asit diyeti sonrası 103.22 ± 24 mg/dL, trans yağ asidi diyetisonrası 117.52 ± 26 mg/dL, satüre yağ asidi diyeti sonrası ise 121.38 ± 25 mg/dL olarak bulmuşlardır (16).

Çalışmamızda diyetinde margarin kullanan kişilerin LDL-kolesterol değeri kullanan şahıslara göre artış göstermiştir. LDL kolesterolleri arasında $P < 0.001$ düzeyinde anlamlı bir fark gözlenmiştir. Araştırmamızın sonucunda elde edilen değerler literatürle uygunluk arz etmektedir (4,16,60,61,63,64-66).

Poliansatüre ve monoansatüre diyet alındığında LDL kolesterol seviyesindeki düşüş plazmadan LDL nin fraksiyonel temizlenme oranının artmasından dolayı LDL nin düşmesine, LDL sentezinin azalmasına, poliansatüre yağların LDL deki kolesterol esterleri ve fosfolipidler gibi lipidlerin konfigurasyonunu değiştirip kolesterol taşıma kapasitesini azaltmasına ve safra asitlerinin atılımının artması sonucu LDL kolesterolün azalmasına bağlanmaktadır (61).

Çalışmamızda diyetinde margarin kullanan şahsların HDL kolesterolü 48.80 ± 15.26 mg/dL, margarin kullanmayan şahsların ki ise 56.73 ± 9.85 mg/dL olarak ölçülmüştür. Margarinsiz diyet kullananlarda HDL kolesterol değeri artmış olup HDL kolesterolleri arasında $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı bir fark tespit edilmiştir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda HDL kolesterol seviyeleri oldukça farklı bulunmuştur .

Wood ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kontrol grubunun HDL kolesterolünü 45 ± 80 mg/dL, katı margarinlerde 45 ± 90 mg/dL, yumuşak margarin diyetinde ise 45 ± 80 mg/dL olarak tesbit etmişlerdir. Bunun kontrol diyetiyle farklı olmadığını belirtmişlerdir (4).

Shepperd ve arkadaşları yaptıkları çalışmada poliansatüre diyeti uyguladıklarında HDL kolesterolü 31 ± 30 mg/dL, satüre diyet uygulamasında ise 46 ± 30 mg/dL olarak tesbit etmişlerdir (60). Bu araştırmacıların bir diğer çalışmalarında satüre diyet kullananlarda 46 ± 50 mg/dL, poliansatüre diyet kullananlarda ise 37 ± 90 mg/dL olarak tesbit etmişlerdir (61).

Turner ve arkadaşları diyet uygulamadan önce LDL kolesterolü normal olan grupta HDL kolesterolü, 49 ± 17 mg/dL, LDL kolesterolü yüksek grupta ise 53 ± 14 mg/dL olarak tesbit etmişlerdir. Satüre yağ diyeti uygulandıktan sonra LDL kolesterolü normal olan şahıslarda HDL kolesterol değeri 42 ± 18 mg/dL, poliansatüre yağ diyetinde ise bu değer 36 ± 12 mg/dL olarak ölçülmüş ve bu değerlerin $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı olduğu belirtilmiştir. LDL kolestorel seviyesi yüksek grupta, satüre yağ diyeti uygulaması sonrası HDL kolesterol 45 ± 90 mg/dL, poliansatüre diyet uygulaması sonrası ise 40 ± 80 mg/dL olarak tesbit edilmiş ve bununda istatistiki açıdan $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı olduğu belirtilmiştir (63).

Becker ve arkadaşları diyetler uygulanmadan önce plazma HDL kolesterolünü 45.70 ± 13.50 mg/dL olarak ölçerken poliansatüre diyeti uygulaması sonrası 45.20 ± 8.50 mg/dL, monoansatüre diyeti sonrası 45.30 ± 8.70 mg/dL, satüre diyeti sonrası ise 39.80 ± 10.50 mg/dL olarak ölçmüşlerdir (64).

Nichaman ve arkadaşları doymamış yağla beslenen fertlerde HDL kolesterol düzeyinde azalma olduğunu , Ernst ve arkadaşları doymamış yağ alınınının HDL kolesterolü etkilemediğini, Tan ve arkadaşları ise doymuş yağların HDL kolesterol düzeyini artırdığını bulmuşlardır. Bu çelişkili sonuçları dikkate alan Arıcıoğlu ve Özkurt; tereyağı kullanan Erzurum bölgesi halkı ile zeytinyağı kullanan Ege bölgesi halkı üzerinde HDL kolesterol düzeylerini çalışmışlardır. Doğu bölgesindeki tereyağı kullanan fertlerde HDL kolesterol düzeyi 53.27 ± 1.21 mg/dL, sıvı yağla beslenen Ege bölgesinin bütün fertlerinde ise 57.95 ± 2.09 mg/dL olarak bulunmuştur (67).

Matson ve Grundy çalışmalarında HDL kolesterol düzeylerinin satüre diyetle $39. \pm 2$ mg/dL, monoansatüre diyetle 38 ± 2 mg/dL, poliansatüre diyetle ise 35 ± 22 mg/dL olduğu bildirilmiştir (65).

Bonanome ve arkadaşları çalışmalarında diyet uygulamasından önce HDL kolesterolü 42.92 ± 0.10 mg/dL olarak bulmuşlardır. Palmitik asitce zengin diyet uygulandığında HDL kolesterolü 42.15 ± 0.10 mg/dL, stearik asit diyetinde 39.83 ± 0.10 mg/dL, oleik asit diyetinde ise 43.69 ± 0.15 mg/dL olarak ölçmüşlerdir (66).

Mensink ve arkadaşları HDL kolesterolü oleik asit diyetinde 54.89 ± 0.32 mg/dL, trans yağ asiti diyetinde 48.36 ± 0.29 mg/dL, satüre yağ diyetinde ise 54.89 ± 0.32 mg/dL olarak bulmuşlardır (16).

Değişik araştırmacıların yaptıkları araştırmalara göre HDL kolesterol değerleri oldukça farklı bulunmuştur. Shepperd ve arkadaşları poliansatüre diyetin HDL kolesterol seviyelerini düşürdüğünü, Turner ve arkadaşları, hem satüre hem poliansatüre yağ diyetin HDL kolesterölü düşürdüğünü , Becker ve arkadaşları, poliansatüre diyetin monoansatüre ve satüre diyetle göre HDL kolesterolü yükselttiğini, Matson ve Grundy, satüre ve monoansatüre diyetlere göre poliansatüre diyetin HDL kolesterolü biraz düşürdüğünü Thompson, poliansatüre yağ ağırlıklı diyetlerin HDL kolesterölü biraz düşürdüğünü ama monoansatüre yağ ağırlıklı diyetlerde bu durumun görülmediğini, Arıcıoğlu ve Özkurt, polüansatüre diyetlerin HDL kolesterolü $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı bir şekilde yükselttiğini ve bunda da yağ beslenmesi alışkanlığının önemli olduğunu, Wood ve arkadaşları, HDL kolesterolün poliansatüre diyetle değişmediğini , Mensink ve arkadaşları, monoansatüre ve satüre diyetlerin HDL kolesterol üzerine aynı şekilde etkili olduğunu ,trans yağ asitlerinin ise biraz yükselttiğini ifade etmişlerdir.

Araştırmamızda margarin kullanan şahısların trigliserid değerleri ortalama olarak 133.75 ± 28.65 mg/dL, margarinsiz diyet kullanan şahıslarınki ise 112.37 ± 45.78 mg/dL tesbit edilmiş ve margarin kullananlarda anlamlı derecede arttığı gözlenmiştir.

Shepperd ve arkadaşları poliansatüre diyeti sonrasında trigliserid değerinin , satüre diyetine göre çok fazla düştüğünü göstermişlerdir (60,61).

Turner ve arkadaşları hem poliansatüre hem de satüre diyetin kontrol diyetine göre trigliserid değerini biraz yükselttiğini ama bunun istatistiki açıdan önemli olmadığını belirtmişlerdir (63).

Becker ve arkadaşları, kontrol diyetine göre poliansatüre, monoansatüre, satüre diyetlerin trigliserid değerlerini düşürdüğünü poliansatüre diyetle bu düşüşün daha fazla olduğunu göstermişlerdir (64).

Matson ve Grundy, poliansatüre ve monoansatüre diyetinde satüre diyetine göre trigliserid değerlerini oldukça düşük bulmuşlardır (65).

Bonanome ve arkadaşları oleik asit palmitik asit ve stearik asit diyetlerinin kontrol diyetine göre trigliserid değerlerini düşürdüğünü ama palmitik asit ve stearik asitce zengin diyetler arasında plazma trigliserid seviyelerini düşürmede anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (66).

Mensink ve arkadaşları, trigliserid değerini oleik asit diyetinde trans yağ asiti diyeti ve satüre yağ diyetinde oldukça düşük bulmuşlardır (16).

Araştırmamızın sonucunda margarin kullanan ve kullanmayan şahısların plazma trigliserid değerleri arasında $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı bir fark bulunmuştur. Çalışmamız sonucunda elde edilen değerler satüre ve poliansatüre yağ kullanan araştırmacıların bulgularıyla (16,60,61,64,65) uyum göstermektedir.

Membran yapısındaki yağ asiti çeşitleri membran fonksiyonları ile yakından ilgili olup, membran transportunu, pompaları ve enzimleri etkileyerek akışkanlıkta rol oynadığı için araştırmamızda eritrosit membran yağ asitlerinin çalışılması düşünüldü. Literatürlerde şimdiye kadar çift karbonlu ve genelde yaygın olarak bulunan yağ asitleri çalışılmış olduğundan araştırmamızda eritrosit membranlarındaki tek karbonlu yağ asitleriyle, nadir olarak bulunan yağ asitlerinin incelenmesi düşünülmüştür. Bütün materyalleri tamamlamamıza rağmen çalışma süreci içinde trans yağ asitleri ile bazı yağ asitlerini temin edemediğimiz için incelemelerimiz belli yağ asitleriyle sınırlı kalmıştır.

Araştırmamızda diyetinde margarin kullanan şahısların eritrosit membran fosfolipitlerinden 5:0, 7:0, 9:0, 13:0, 18:0, 18:1, 22:1 yağ asitleri elde edilmiştir. Margarinsiz diyet alan şahısların eritrosit membran fosfolipidlerinde ise 5:0, 7:0, 9:0, 13:0, 15:0, 17:0, 18:0, 18:1, 18:2, 21:0, 22:1 yağ asitleri bulunmuştur.

Diyet P:S oranındaki değişimler eritrosit membran yağ asidi kompozisyonunda değişmelere sebep olmaktadır. Bryant ve arkadaşları ile Angelico ve arkadaşları, eritrosit membranlarının yağ asit kompozisyonunu, diyet yağlarının tipinin belirlediğini ifade etmişlerdir. Tavella ve arkadaşları, normal ve hiperlipoproteinemik şahısların plazma ve eritrositlerindeki yağ asitleri üzerinde çalışmışlar ve her bir lipid fraksiyonunun karakteristik bir yağ asiti kompozisyonuna sahip olduğunu göstermişlerdir (48).

İnsan eritrosit fosfatidilkolininde palmitoleat ve linoleat çok fazla yer almakta iken fosfatidil serinde 18:0 ve 20:4, fosfatidiletanolaminde ise 20:4, 18:1 en fazla yer almaktadır (31).

Popp-Sinijders ve arkadaşları, morina balığının yağını diyet olarak kullandıklarında eritrosit membranlarından 16:0, 18:0, 18:1, 18:2, 18:3, 20:3, 20:4, 20:5, 22:4 ve 22:6 yağ asitlerini elde etmişlerdir (43).

Popp-Sinijders ve arkadaşları eikopentaenoik ve dokosanhekzaenoik asit diyeti uygulayarak yaptığı çalışmalarında eritrosit membranlarından 14:0, 16:0, 16:1, 18:0, 18:1, 18:2, 18:3, 18:4, 20:1, 20:5, 22:1, 22:4, 22:5 ve 22:6 yağ asitlerini elde etmişlerdir (44).

Pagnan ve arkadaşları, zeytinyağını diyet olarak kullandıklarında eritrosit membranlarından 14:0, 16:0, 16:1, 18:0, 18:1, 18:2, 18:4, 20:0, 20:1, 20:2, 20:4, 20:5, 22:6, yağ asitlerini bulmuşlardır (36).

Berlin ve arkadaşları, poliansatüre bir diyet uygulayarak eritrosit membranlarında 12:0, 14:0, 15:0, 16:0, 16:1, 18:0, 18:1, 18:2, 18:3, 20:0, 20:3, 20:4, 20:5, 22:5, 22:6, 24:0, 24:1 yağ asitlerini bulmuşlardır (48).

Glatz ve arkadaşları, eritrosit membranlarında 14:1, 16:0, 17:0, 18:0, 18:1, 18:2, 20:3, 20:4, 22:0, 22:4, 22:5, 22:6, 24:0, 24:1 yağ asitlerini bulmuşlardır (74).

Hagve ve arkadaşları, eritrositlerden 16:0, 18:0, 18:1, 18:2, 20:4, 20:5, 22:5, 22:6 yağ asitlerini elde etmişlerdir (54).

Dodge ve Phillips, membran yağ asitleri olarak 15:0, 16:0, 16:1, 17:0, 18:0, 18:1, 18:2, 19:0, 20:0, 20:1, 20:2, 20:3, 20:4, 20:5, 22:0, 22:1, 22:4, 22:5, 22:6, 23:0, 24:0, 24:2, 26:0 elde etmişlerdir (68).

Eritrosit membranlarında miktar itibari ile major ve minor olmak üzere iki grup fosfolipid bulunmaktadır. Major fosfolipidler: lesitin, fosfatidiletanolamin, fosfatidilserin ve sfingomiyelindir. Minor fosfolipidleri ise lizolesitin, fosfatidilinositol, fosfatidat ve poligliserofosfolipidler olup membranda oldukça az miktarda bulunmaktadır.

Araştırmacıların tesbit ettikleri yağ asitlerine sfingomiyelinden elde edilen yağ asitleri de dahildir. Araştırmamız sonucunda elde ettiğimiz yağ asitlerine ise sfingomiyeline bağlı yağ asitleri dahil değildir. Çünkü sfingomiyeline bağlı yağ asitlerini hidroliz edebilmek için ayrıca sfingomiyelinaz enzimini kullanmak gerekir. Çalışmamızda ise hem birinci hem de ikinci karbon atomuna bağlı yağ asitlerini hidroliz eden fosfolipaz B kullanılmıştır.

Birçok araştırmacı her bir lipid fraksiyonunun karakteristik bir yağ asidi kompozisyonuna sahip olduğunu ifade etmişlerdir. Bryant ve arkadaşları da bunu özellikle belirtmişlerdir. Karakteristik yağ asidi kompozisyonuna sahip olan lipidlerin yağ asidlerinin de diyete bağlı olarak değiştiğini yukarıda belirtilen araştırmacılar ifade etmişlerdir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda eritrosit membranlarda 35 değişik yağ

asidine rastlanmıştır (31). Fakat araştırmacıların çalışmalarına bakıldığında bu 35 çeşit yağ asidinin tamamının elde edilemediği, genelde eitrosit membranlarında yaygın olarak bulunan yağ asitlerinin çalışıldığı, tek karbonlu yağ asitlerine pek fazla rastlanmadığı gözlenmektedir. Çalışmamızda diğer çalışmalarda rastlanmayan tek karbonlu yağ asitleri elde edilmiştir. Farklı araştırmacıların elde ettikleri yağ asitleri arasındaki bu farklılıklar, gaz kromatografisi cihazındaki gelişmelerden dolayı olabilir. Çünkü gaz kromatografisi cihazı şimdiye kadar yağ asitleri ve aldehid karışımlarının kimyasal kompozisyonlarının araştırılmasında kullanılan tek imkandı. Birçok araştırıcı, insan eritrosit lipidlerinin yağ asidi zincirlerinin doymamışlık derecesi ile zincir uzunluğunu belirlemede bu metodu kullanmıştır. Gaz kromatografisinin gittikçe gelişmesi ile değişik araştırmacıların elde ettikleri bilgilerde önemli değişmeler olmuştur.

Gaz kromatografisinin gelişmesinden başka numunelerin hazırlanması, lipid moleküllerinden elde edilen yağ asidi zincirlerinin bozuşması ve yağ asidlerinin metil esterleri ile dimetil asetal formlarına dönüşmesi sırasındaki bozulmalar gibi yanlışlıklar da sayılabilir.

şimdiye kadar yapılan çalışmalarda tesbit edilen yağ asitleri, metil esterleri şeklinde hazırlanarak kolona verilmiştir. Araştırmamızda ise amacına uygun yağ asidi kolonu bulunduğundan fosfolipaz B hidrolizi sonucu elde edilen yağ asitleri, metil esterlerine dnştrlmeksizin doğrudan kolona verilerek tesbit edilmiştir. Dolayısıyla metil esterleri hazırlanırken doğabilecek hatalar ortadan kaldırılmıştır.

6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER

-Diyetinde margarin kullanan şahısların, kullanmayanlara göre;

1-Total plazma kolesterolleri, $p<0.05$ düzeyinde anlamlı bir artış gözlenmiştir.

2-Trigliserid seviyelerinde bir artış gözlenmiştir. Aradaki fark, $p<0.05$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur

3-LDL kolesterol düzeyleri, $p<0.001$ düzeyinde oldukça önemli bir farkla artış göstermiştir.

4-HDL kolesterol seviyeleri, $p<0.05$ düzeyinde anlamlı bir farkla azalış göstermiştir.

5-Eritrosit membran kolesterol değerleri $p<0.05$ düzeyinde artış göstermiştir.

6-Diyetinde margarin kullanan şahısların, eritrosit membran değerleri ile diğer lipid değerleri arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanmamıştır.

7-Diyetinde margarin almayan şahısların, eritrosit membran değerleri ile diğer lipid değerleri arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanmamıştır.

8-Diyetinde margarin kullanan ve kullanmayan şahısların eritrosit membranlarından karbon sayısı ondan aşağı olan tek karbonlu yağ asitleri elde edilmiştir.

Bu konudaki önerilerimiz;

1-Diyetinde bu şekilde yağ kullanan şahısların plazmalarındaki yağ asitleri, plazma lipoproteinlerindeki yağ asitleri ve membran yağ asitleri arasındaki korelasyon ile

2-Lipoproteinlerdeki fosfolipid ve kolesterolleri ile membran fosfolipid ve kolesterolleri arasındaki korelasyon da araştırılmalıdır.

ÖZET

Margarinli ve margarinsiz diyet alımının plazma lipidleri, lipoproteinleri, membran kolesterolleri ile yağ asitleri üzerine olan etkileri; 30 margarin kullanan ve 30 margarin kullanmayan şahıslar arasında karşılaştırıldı.

Margarin kullanan şahısların, plazma kolesterol değeri ortalama 200.90 ± 21.08 mg/dL, LDL kolesterolü 124.54 ± 13.34 mg/dL, HDL kolesterolü 48.80 ± 15.26 mg/dL, trigliserid değeri 133.73 ± 28.65 mg/dL, eritrosit membran değeri 1.29 ± 0.07 mg/10¹⁰ hücre olarak tesbit edildi

Margarinli diyet alanların eritrosit membranlarından, pentanoik asit, heptanoik asit, nonanoik asit, tridekanoik asit, oleik asit, erukik asit, petroselinik asit yağ asitleri elde edildi.

Margarin alan şahısların plazma kolesterolleri ile LDL kolesterol ($r=0.39$, $p<0.05$), HDL kolesterol ($r=.064$, $p<0.05$) ve trigliserid ($r=0.47$ $p<0.05$) değerleri arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanmıştır. Fakat eritrosit membran kolesterolü ile diğer lipid değerleri arasında anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir.

Margarinsiz diyet alan şahısların plazma kolesterolü ortalama 182.56 ± 26.70 mg/dL, LDL kolesterolü 104.37 ± 18.04 mg/dL, HDL kolesterolü 56.73 ± 9.85 mg/dL, trigliserid değeri 102.37 ± 45.78 mg/dl, eritrosit membran değeri 1.17 ± 0.09 mg/10¹⁰ hücre olarak tesbit edildi.

Margarin kullanmayanların eritrosit membranlarından, pentanoik asit, heptanoik asit, nonanoik asit, tridekanoik asit, pentadekanoik asit, heptadekanoik asit, stearik asit, oleik asit, linoleik asit, heneikosanoik asit, erukik asit yağ asitleri elde edildi.

Margarinsiz diyet kullananların plazma kolesterolleri ile LDL kolesterol ($r=0.87$, $p<0.001$), HDL kolesterol ($r=.37$, $p<0.05$), ve trigliserid ($r=0.42$, $p<0.05$) değerleri arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanmıştır. Fakat eritrosit membran kolesterolü ile diğer lipid değerleri arasında anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir.

Margarin kullanan ve kullanmayan şahısların plazma kolesterollerini, LDL ve HDL kolesterollerini, trigliserid değerleri, eritrosit membran kolesterol değerleri arasında anlamlı bir fark tesbit edilmiştir.

Margarin kullanan şahıslarda plazma lipid, lipoprotein ve eritrosit membran kolesterol değerlerinin artması, margarinsiz diyet alanlarda azalması; satüre, monoansatüre, poliansatüre diyetlerin plazma lipid değerlerini etkileyebileceğini ve plazma ile membran arasında bir değişimin olabileceğini düşündürmektedir.



SUMMARY

The effect of diet application with and without margarine on plasma lipids, lipoproteins, membrane cholesterol and fatty acids were studied and the study took place between 30 margarine users and 30 non-margarine users.

The mean value of plasma cholesterol in the margarine users was determined as 200.90 ± 21.08 mg/dL, LDL cholesterol as 124.54 ± 13.34 mg/dL, HDL cholesterol as 48.80 ± 15.26 mg/dL, the value of triglyceride as 133.73 ± 28.65 mg/dl, and the value of erythrocyte membrane as 1.29 ± 0.07 mg/ 10^{10} cells.

Pentanoic acid, heptanoic acid, nonanoic acid, tridecanoic acid, oleic acid, erucic acid, petroselinic acid fatty acids were obtained from erythrocyte membranes of the people with margarine.

A considerable relation was found out between the plasma cholesterol of the margarine users and the values of LDL cholesterol, HDL cholesterol and triglyceride. But no considerable relation was observed between the values of erythrocyte cholesterol and other lipid values.

The mean plasma cholesterol in the people with non-margarine diet was determined as 182.56 ± 26.70 mg/dL, LDL cholesterol as 104.37 ± 18.04 mg/dL, HDL cholesterol as 56.73 ± 9.85 mg/dL, the value of triglyceride as 102.37 ± 45.78 mg/dL, the value of erythrocyte membrane as 1.17 ± 0.09 mg/ 10^{10} cells.

Pentanoic acid, heptanoic acid, nonanoic acid, tridecanoic acid, pentadecanoic acid, heptadecanoic acid, oleic acid, linoleic acid, heneicosanoic acid, erucic acid, fatty acids were obtained from erythrocyte membranes of the non-margarine users.

A meaningful relation was found out between the plasma cholesterol of the people with no margarine diet and LDL cholesterol, HDL cholesterol and the value of triglyceride. But no meaningful relation was observed between erythrocyte cholesterol values and other lipid values.

A meaningful relation was found out between the plasma cholesterol of the people with no margarine diet and LDL cholesterol, HDL cholesterol and the value of triglyceride. But no meaningful relation was observed between erythrocyte cholesterol values and other lipid values.

A meaningful difference among the plasma cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol, the value of triglyceride and the value of erythrocyte margarine users and non- margarine was found out.

The fact that the values of plasma lipids and, lipoprotein and erythrocyte membrane cholesterol increased in the margarine-using people and that the same values decreased in the people with no margarine diet showed that saturated, monounsaturated and poliunsaturated diets may effect the plasma lipid values and that a change between plasma and membrane may occur.



KAYNAKLAR

1. Strayer, L.: Biochemistry. Third Edition, W.H. Freeman and Company, New York, pp. 283-302, 469-770, 1988.
2. Keha, E.E., Kufrevioğlu, Ö.İ.: Biyokimya. Derya Kitabevi, Trabzon, ss. 164-186, 1993.
3. Lehninger, A.L.: Principles of Biochemistry. W. Orth Publisher, New York, pp. 303-327, 1982.
4. Wood, R., Kubena, K., O'Brien, B., Tseng, S., and Martin, G.: Effect of butter, mono-and polyunsaturated fatty acid enriched butter, trans fatty acid margarine, and zero trans fatty acid margarine on serum lipids and lipoproteins in healthy men. *J Lipid Res*, Vol: 34, 1-11, 1993.
5. Dupont, J., White, P., J., and Feldman, E.B.: Saturated: and Hydrogenated Fats in Food in Relation to Health. *J Am Col Nutr.*, Vol: 10, No. 6, 577-592, 1991.
6. Willet, W., Stampfer, M., Manson, J.E., Colditz, G.A., Speizer, F.E., Rosner, B.A., Sampson, L., Hennekens, C.H.: Trans -fatty acid intake in relation to risk of CHD women. *Lancet*, 341: 581-585, 1993.
7. Kletzko, B.: Trans Fatty acids may impair biosynthesis of long chain polian saturates and growth in man. *Acta Pediatr*, 81: 302-306, 1992.
8. Mensink, R.P., and Katan, M.B.: Effect of dietary trans fatty acids on high - density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects. *The New En.J medicine*, Vol: 323, No.7, 439-445, 1990.
9. Zevenbergen, J.L., Houtsmuller, U.M.T.: Effect of dietary fats on linoleic acid metabolism. A radiolabel study in rats. *Biochimica et biophysica Acta*, Vol: 1002, 312-323, 1989.

10. Zack, P.I, Katan, M.R.: Hydrogenation alternatives: Effect of trans Fatty acids and stearic acid versus linoleic acid on serum lipids and lipoproteins in humans. *J.Lipid Res*, 33(3), 399-410, 1992.
11. Chiango, M.T., Otomo, M.I., İtah, H., Furukawa, Y., Kimura, S., and Fujimoto, H.: Effect of trans fatty acids on plasma lipids, platelet function and systolic blood pressure in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Lipids*, Vol: 26, 46-52, 1991.
12. Alberts, B.: Membran and Transport. *Molecular Biology of the Cell*, pp. 128-135, 1983.
13. Montgomery, R., Conway, W., Spector, A.A.: *Biochemistry*. Fifth Edition. The C.V. Mosby Company, Philadelphia, pp. 437-443, 1990.
14. Weihrauch, J.L., Brignoli, C.A., Reeves, J.B., and Iverson, J.L.: Fatty acid composition of margarines, processed fats and oils, 80-85, 1977.
15. Bhagavan, N.V.: *Medical Biochemistry*. Jones and Barlet Publishers, pp. 432-40, 1992.
16. Mensink, R., and Katan, M.: Effect of dietary trans fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects. *New Eng J Med*, 323: 439-445, 1990.
17. Mann, G. V.: Metabolik consequences of dietary trans fatty acids. *Lancet*, vol 343, pp. 1268-1271, 1994.
18. Yücel, D.: Diyet Yağları ve Koroner Kalp Hastalığı. *Biyokimya dergisi*, Şafak matbaacılık, Ankara, Cilt XIX, sayı 3, s 64, 1994.
19. Rawn, D.J.: *Biochemistry*. Neil Patterson Publishers, Burlington, North Carolina. pp. 209-235, 555-72, 1989.
20. Keskin, H.: *Yemek Yağları*. Besin Kimyası. Cilt. I, Fatih Yayınevi Matbaası, İstanbul, ss. 586-633, 1981.
21. Tompson. G.R.: (ed.) Enis Tamuğur. *Plazma Lipidleri ve Lipoproteinler*. Hiperlipidemi el kitabı, (Ed) Enis Tamuğur.Uycan Yayınları A.Ş., İstanbul, ss.3-30, 1991.

22. Kates, M.: *Techniques of Lipidology*. Second edition Isolation, analysis and identification of lipids. Elsevier science publishers, Amsterdam, pp. 100-426, 1991.
23. Brucdorfer, K.R., Graham, J.M.: In *Biological Membranes*, Chapman, P. (Ed.), Academic Press, pp. 103-152, 1976
24. Abram, J.J., and Grunday, S.M.: Cholesterol Metabolism in Hypotroidism and Hyperthroidism in Man. *J Lipid Res*, 22, 323-339, 1981.
25. Philips, M.C, Johnson, W.J., Rothblat. G.H.: Mechanism and consequences of cellular cholesterol exchange and transfer. *Biochim Biophys Acta*, Vol: 906, pp: 223-276, 1987.
26. Howard, B.V., Abbalt, W.G., Egusa, G., Taskinen, M.R.: Coordination of Very-Low-Density Lipoprotein Triglyceride and lipoprotein B Metabolism in Humans. Effects of Obesity and Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *Am. Heart J*, Feb 113: (2pt 2), 522-6, 1987.
27. Popp-Snijders, C., Schouten, A.J., Meer, D.V., Veen, D.V.E.A.: Fatty Fish-Induced Changes in Membrane Lipid Composition and Viscosity of Human Erythrocyte Suspensions. *Scand. J Clin Lab Invest.*, 46: 253-258, 1986.
28. Storch, J., and Kleinfeld, A.M.: *The lipid structure of Biological membrane*. Elsevier Science publishers , 418-421, 1985.
29. Noyan, A.: *Fizyoloji*. 8. Baskı. Anadolu Üniversitesi Yayınları, Meteksan Limited Şirketi, Beytepe/Ankara., ss. 666-670, 1988.
30. Datla, D.B.: *A Comprehensive Introduction to Membrane Biochemistry*. Floral Publishing, Meclison, pp. 55-89, 1987.
31. Van Deenen, L.L.M. and de Gier.: Lipid of the red cell membrane. In the *Red Blood cell*. Surgener (D.M.ed) 2nd. Academic Press, New York, 148-214, 1974.
32. Ott, P., Binggeli, Y., and Brodbeck, U.: A rapid and sensitive assay for determination of cholesterol in membrane lipid extracts. *Biochim Biophys Acta*, Vol: 685, 211-213, 1982.

33. Clark, M.J., Switzer, L.R. and Jr: Experimental Biochemistry. Second Edition. W.H. Freeman and Company, New York, San Fransisco, pp. 182-183 1977.
34. Magot, T., Frein, Y., Giraud, F., Cheruy, A.: Improved Procedure for extraction of Lipid from Human Erythrocytes. *Biochem Biophys Acta.* 834:331-35, 1985
35. Rose, H.G., Oklander, M.: Improved Procedure for the Extraction of Lipids From Human Erythrocytes. *J Lipid Res*, 6, pp. 428-431, 1965.
36. Pagnan, A., Corrocher, R., Ambrosio, G.B., Ferrari, S., Guarini, P., Piccolo, D., Opportuno, A., Bassi, A., Olivieri, O., and Baggio, G.: Effects of an olive-oil-rich diet on erythrocyt membrane lipid composition and cation transport systems. *Clin Sci*, Vol: 76, 87-93, 1989.
37. Stein, E.A.: Lipids, Lipoproteins and Apolipoproteins. In Tietz, Textbook of Clinical Chemistry .WB Saunders Company, Philedelphia., pp.829-926, 1986.
38. Naioto, H.K.: Lipids. In Kaplan LA, Pasce AJ (Eds). *Clinical Chemistry, Theory, Analysis and Correlation*. Mosby Company, Missouri, pp.968-1004, 1989.
39. Friedewald W.T., Levy, R.I., Frederickson , D.S.: Estimation of the concentration of low-densy lipoprotein in plazma without use of the preparative ultracentrifuge, *Clin chem*, 18:499-502, 1972.
40. Klotzsch, S.G., McNama, Jr: Triglyceride measurements. A review of methods and interferans .*Clin chem*, 36:1605-1613, 1990.
41. Dittmer, C.J., Wells, A.M.: Quantitative and Qualitative Analysis of Lipids and Lipid Components. *General Analytical Method.* 53: 482-530, 1982.
42. Chopmon, D., Hayward. J.A.: New biophysical techniques and their oplication to the study of membranes. *Biochem J.*, Vol: 228, pp-281-295, 1985.
43. Popp Snijders, C.P., Schouten, J.A., De Jong, A.P., Van Der Veen, E.A.: Effect of dietary cod-liver oil on the lipid composition of human erythrocyte membranes. *Scand J Clin Lab Invest*, Vol: 44, 39-46, 1984.

44. Popp-Snijders, C., Schouten, J.A., Von Blitterwijk, W.J., and Van Der Veen, E.A.: Changes in membrane lipid composition of human erythrocytes after dietary supplementation of (n-3) polyunsaturated fatty acids. Maintenance of membrane fluidity. *Biochim Biophys Acta*, Vol: 854, 31-37, 1986.
45. Popp-Snijders, C., Schouten, A., Van Der Meer, J., Van Der Veen, E.A.: Fatty fish-induced Changes in Membrane Lipid Composition and Viscosity of Human Erythrocyte Suspensions. *Scand J Clin Lab Invest*, Vol: 46, 253-258, 1986.
46. Dougherty, R.M., Claudio Galli, B.A., Anna-Ferro-Luzzi, M.D., and Jamez M Lacono, M.D., PhD.: Lipid and phospholipid fatty acid composition of plasma, red blood cells, and platelets and how they are affected by dietary lipids: a study of normal subjects from Italy, Finland, and the USA. *Am J Clin Nutr*, Vol:45, 443-455, 1987.
47. De Gher, J., and Van Deenen, I.I.M.: A Dietary Investigation on The Variations in Phospholipid Characteristics of Red-Cell Membranes. *Biochim Biophys Acta*, Vol: 84, 294-304, 1964.
48. Berlin, E., Bhathena, S.J., Judd, J.T., Nair, P.P., Jones, D.Y., and Taylor, P.R.: Dietary fat and hormonal effects on erythrocyte membrane fluidity and lipid composition in adult women. *Lipid nutr*, 790-796, 1989.
49. Loschiavo, C., Ferrari, S., Aprili, F., Grugolini, L., Faccini, G., and Maschio, G.: Modification of serum and membrane lipid composition induced by diet in patients with chronic renal failure. *Clin Nephro*, Vol: 34, 267-271, 1990.
50. Ruggiero, F.M., Cafagna, F., and Quagliarello, E.: Exchange of free cholesterol between plasma and erythrocytes from hyperthyroid and hypothyroid rats in vitro. *Lipids*, Vol: 25, 529-533, 1990.
51. Brosche, T., and Platt, D.: Decrease of cholesterol concentration in human erythrocyte ghosts in old age. *Exp Geront*, Vol: 25, 23-28, 1990.
52. Glatz, J.F.C., Soffers, A.E., Katan, M.B.: Fatty acid composition of serum cholesteryl esters and erythrocyte membrane as indicators of linoleic acid intake in man. *Am J Clin Nutr.*, 49: 269-276. 1989.
53. Theret, N., Bard, J.M., Nuttens, M.C., Lecerf, J.M., Delbart, C., Romon, M., Salomez, J.L., and Fruchart, J.c.: The relationship between the phospholipid fatty

- acid Composition of Red Blood Cells, Plasma Lipids, and Apolipoproteins. *Metabolism*, Vol: 42, 562-568, 1993.
54. Hagve, T.A., Lie, Q., Gronn, M.: The Effect of Dietary N-3 Fatty Acid on Osmotic Fragility and Membrane Fluidity of Human Erythrocytes. *Scand Clin Lab Invest*, Vol: 53, 74-84, 1993.
 55. Uydu, H.A.: Hipertroidili hastaların eritrosit kolesterol miktarlarının belirlenmesi. Yüksek lisans tezi K.T.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı, Trabzon, 1994.
 56. Jennfer, C.G., and Michael, C.P.: Effects of Membrane Lipid Composition on the Kinetics of Cholesterol Exchange Between Lipoproteins and Different Species of Red Blood Cells. *Biochim Biophys Acta*. 1027: 85-92, 1990.
 57. Gold, J., Phillips, M.: Effects of membrane lipid composition on the kinetics of cholesterol exchange between lipoproteins and different species of red blood cells. *Biochim Biophys Acta*, Vol: 1027, 85-92, 1990.
 58. Erickson, B.A., Coots, R.H., Mattson, F.H., Kligman, A.M.: The effect of partial Hydrogenation of dietary fats, of the ratio of polyunsaturated to saturated fatty acids, and of dietary cholesterol upon plasma lipids in man. *J Clin Invest*, Vol. 43, No:11, 1964.
 59. Matson, F., and Grundy, S.M.: Comparison of effects of dietary saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acid on plasma lipids and lipoprotein in man. *JLipid Res*, 26:194-201, 1985.
 60. Shepperd, J., Packard, C.J., Patsch, J.R., Gotto, A.M., Taunton, J.Rand, O.: Effect of dietary polyunsaturated and saturated fat on the properties of high density lipoproteins and the metabolism of apolipoprotein A-I. *J Clin Invest*, 1582-1592, 1978.
 61. Shepperd, J., Packard, C.J., Grundy, S.M., Yeshurun, D. Gotto, A.M., Taunton Jr and O.: Effects of saturated and Polyunsaturated fat diets on the Chemical composition and metabolism of low density lipoproteins in man. *J Lipid Res*, 21: 91-99, 1980.
 62. Shekelle, R.B., Shryorck, A.M., Paul, O., Lepper, M., Stamler, J., Liu, S., and Raynor, W.: Diet, Serum, Cholesterol, and death from coronary heart disease. *The New Eng J Medicine*. 304: 65-70, 1981.

63. Turner, J.D., Le, N.A., and Brown, W.V.: Effect of changing dietary fat saturation on low-density lipoprotein metabolism in man. Am Phys Soc, pp: E 57-E 63, 1981.
64. Becker, N., Illingworth, R., Alaupović, P., Connor, W.E., and Sundberg, E.E.: Effects of saturated, monounsaturated, and w-6 polyunsaturated fatty acids on plasma lipids, lipoproteins, and apoproteins in humans. Am J Clin Nutr, Vol:37, 355-360, 1983.
65. Matson, F.H., Hollenbach, E.J., and Kligman, A.M.: Effect of hydrogenated fat on the plasma cholesterol and triglyceride levels of man. Am J Clin Nutr, Vol:28 726-731, 1975.
66. Bonanome, A., and Grundy, S.M.: Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein levels. New Eng J Med, Vol:318, 1244-1248, 1988.
67. Arıcıoğlu, A., Özkurt: Diyetle kullanılan sıvı yağ cinsinin yüksek dansiteli lipoprotein düzeyine etkisi. Biyokimya Dergisi. 52-64, 1985.

ÖZGEÇMİŞ

Necmettin Yılmaz, 1958 yılında Sivas'ta doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Sivas'ta yaptı. 1976 yılında Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünü kazandı ve 1981 yılında mezun oldu. 1986' ya kadar Milli Eğitim bünyesinde hizmetlerde bulundu. 1986'da K.T.Ü. Fen -Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümüne Araştırma Görevlisi olarak girdi. Bu bölümde yüksek lisansını yaptı 1989'da 8 aylık Finlandiya araştırma bursunu kazandı. Daha sonra K.T.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalından doktora programını kazandı. Doktoraya devam etmekte iken 1993' te Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen- Edebiyat Fakültesine Öğretim Görevlisi olarak atandı. Halen bu görevine devam etmektedir.