

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DİSLİPİDEMİK BİREYLERDE FINDIK TÜKETİMİNİN SERUM
L-KARNİTİN VE İSKEMİ MODİFİYE ALBÜMİN DÜZEYLERİ
ÜZERİNE ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Utku UÇAR

TRABZON-2009

**T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**DİSLİPİDEMİK BİREYLERDE FINDIK TÜKETİMİNİN SERUM
L-KARNİTİN VE İSKEMİ MODİFİYE ALBÜMİN DÜZEYLERİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

**THE EFFECT OF HAZELNUT CONSUMPTION ON SERUM
L-CARNITINE AND ISCHEMIA MODIFIED ALBUMIN LEVELS IN
DYSLIPIDEMIC INDIVIDUALS**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Utku UÇAR

Tez Danışmanı: Doç.Dr.S.Caner KARAHAN

Trabzon-2009

İÇİNDEKİLER

I

ÖNSÖZ

III

KISALTMALAR

IV

1.	GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.	GENEL BİLGİLER	4
2.1.	Lipid Metabolizması ve Fındığın Lipid Metabolizmasına Etkileri	4
2.1.1.	Lipidler ve Lipid Metabolizması	4
2.1.2.	Dislipidemi	6
2.1.3.	Ateroskleroz	8
2.1.3.1.	Ateroskleroz Gelişiminin Önlenmesinde ve Tedavisinde Diyet	10
2.1.4.	Ağaçta Yetişen Yenebilir Sert Kabuklu Meyvelerin Lipid Metabolizmasına Etkileri	13
2.1.4.1.	Sert Kabuklu Meyveler	13
2.1.4.2.	Fındık	17
2.2.	Karnitin	20
2.2.1	Karnitinin Genel Özellikleri	20
2.2.2.	Karnitin Biyosentezi	23
2.2.3.	Karnitinin Fonksiyonları	24
2.2.4.	Karnitin ve Lipid Metabolizması	28
2.2.5.	Oksidan-Antioksidan Denge ve Karnitin	29
2.3.	İskemi-Modifiye Albümin	31
3.	MATERYAL VE METOD	35
3.1.	Materyal	35
3.1.1.	Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler	35
3.1.2.	Kullanılan Kimyasal Maddeler	35
3.1.3.	IMA Tayininde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	36
3.2.	Metod	36
3.2.1	Deneylelerin Planlanması ve Örneklerin Toplanması	36
3.2.2.	Otoanalizörlerde Tayin Edilen Parametreler	37

3.2.3.	L-Karnitin Tayini	37
3.2.3.1.	Örnek Hazırlama ve Analiz	37
3.2.4.	İskemi Modifiye Albümin Tayini	41
3.3.	İstatistiksel Analizler	41
4.	BULGULAR	42
4.1.	Demografik Verilerin Analizi	42
4.2.	Biyokimyasal Analiz Sonuçları	43
4.3.	L-Karnitin Analiz Sonuçları	45
4.4.	Amino Asit Analiz Sonuçları	49
4.5.	İskemi Modifiye Albümin Analiz Sonuçları	50
5.	TARTIŞMA	52
6.	SONUÇLAR ve ÖNERİLER	59
7.	ÖZET	60
8.	SUMMARY	62
9.	KAYNAKLAR	64

ÖNSÖZ

Tez çalışmam ve uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini aktaran, her konuda yardım ve öngörülerini paylaştığım tez danışmanım Sayın Doç. Dr. S. Caner KARAHAN ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Asım ÖREM başta olmak üzere, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Orhan DEĞER'e, Sayın Prof. Dr. E. Edip KEHA'ya, Sayın Prof. Dr. Ekin ÖNDER'e, Sayın Doç. Dr. Yüksel ALİYAZICIOĞLU'na, Sayın Doç. Dr. Birgül KURAL'a, Sayın Doç. Dr. Ahmet ALVER'e, Kardiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Sayın Doç. Dr. Cihan ÖREM'e, Çalışma grubunda yer alan gönüllülere, Çalışmam sırasındaki yardımlarından ötürü Arş. Gör. Buket AKCAN'a, Dr. Fulya BALABAN YÜCESAN'a, Arş. Gör. Müge KOPUZ'a, Arş. Gör. Dr. Ahmet MENTEŞE'ye, Gökçe OKUR'a, Uzm. Dr. M. Selçuk EMİNAĞAOĞLU'na, Uzm. Dr. Hülya YILMAZ'a ve tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma, Biyokimya Laboratuvarı personeline, Çok sevgili ve değerli aileme en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Dr. Utku UÇAR

KISALTMALAR

ABC	: Albümin kobalt bağlama tayini
ADMR	: Kabul edilebilir makrobesin dağılım oranları
ALCAR	: Asetil-L-Karnitin
ANT	: Adenin nükleotid translokaz
AOPP	: İleri protein oksidasyon ürünü
BMI	: Vücut kitle indeksi
CACT	: Karnitin-açilkarnitin Translokaz
CETP	: Kolesterol ester transfer proteini
CoA	: Koenzim A
CPT	: Karnitin palmitoiltransferaz
CVD	: Kardiyovasküler hastalık
DOC	: Deoksikarnitin
DTT	: Dithiothreitol
FDA	: ABD Besin ve ilaç yönetimi
HDL	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HDL-K	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol
HSA	: İnsan serum albumini
IDL	: Ara yoğunluklu lipoproteinler
IMA	: İskemi modifiye albümin
LCAT	: Lesitin kolesterol açıl transferaz
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
LDL-K	: Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol
L-Karnitin	: Levo izomer karnitin
MDA	: Malondialdehit
mmLDL	: Minimal modifiye LDL
MUFA	: Tekli doymamış yağ asidi
NCEP-ATP III	: National Cholesterol Education Programme Adult Treatment Panel III
NO	: Nitrik oksit
PON	: Paraoksonaz
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asidi
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SAM	: S-Adenozilmetiyonin
ŞM	: Şilomikron
TAS	: Total antioksidan durum
TG	: Trigliserid
TK	: Total kolesterol
TML	: Trimetillizin
TOS	: Total oksidan durum
VLDL	: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Kardiyovasküler hastalıklar ve buna bağlı ölümler günümüzde özellikle gelişmiş ülkelerde en önemli sağlık problemlerinin başında gelmektedir. Kardiyovasküler hastalıkların altında yatan başlıca sebep aterosklerozdur. Genetik yatkınlık, hipertansiyon, dislipidemi, diabetes mellitus, obezite, oksidatif stres, sigara, bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, hiperhomosisteinemi ve diyet alışkanlığı (doymuş yağ ve kolesterol oranı yüksek, sebze, meyve ve tahıl oranı düşük diyet) ateroskleroza neden olan başlıca risk faktörleridir. Endotel disfonksiyonu, lipid ve lipoprotein düzeylerindeki değişimler ve LDL yapısında meydana gelen oksidasyon aterosklerozun patogenezinde oldukça önemlidir (1).

Epidemiyolojik çalışmalar ve ikincil tedavi çalışmaları kardiyovasküler hastalık riskinin azalması ile sebze, meyve ve sert kabuklu meyvelerin (fındık, fıstık, badem, ceviz gibi) tüketiminin ilişkili olduğunu göstermiştir (2). Doymuş yağ asidi yönünden fakir, MUFA (monoansatüre yağ asidi) özellikle oleik asit yönünden zengin, PUFA (poliansatüre yağ asidi) miktarı yeterli ve antioksidan (E vitamini) potansiyeli yüksek olan fındık ve fındık yağına günlük diyetle (yağdan gelen enerjinin % 20'sini geçmeyecek şekilde) yer verilmesinin, aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklardan korunmada yararlı olacağı öne sürülmüştür (3). Durak ve ark.'nın yaptığı çalışmada sağlıklı bireylerin normal diyetlerine günde kilogram başına 1 g olacak şekilde 30 gün boyunca fındık ilave edilmiştir. Otuzuncu günün sonunda fındık tüketiminin toplam kolesterol, LDL-kolesterol (LDL-K) ve MDA (malondialdehit) düzeylerini düşürdüğü, HDL-kolesterol (HDL-K), trigliserid (TG) düzeylerini ve antioksidan potansiyelini arttırdığı gözlenmiştir (4). Mercanlğıil ve ark. hiperkolesterolemik bireylerde fındığın serum toplam kolesterolü % 5.2, LDL-K'ü % 3.3 düşürdüğünü ve HDL-K'ü ise % 12.6 artırdığını gözlemlemişlerdir (5). Sert kabuklu meyvelerin normolipidemik bireylerde lipid profili üzerine etkilerini gösteren çalışmalar da vardır. Anabilim dalımızda yapılan "Normolipidemik bireylerde fındık tüketiminin aterojenik ve antiaterojenik parametreler üzerine etkileri" adlı çalışmada, fındığın normolipidemik bireylerde serum total kolesterol ve Apo B düzeylerini önemli ölçüde düşürdüğü, Apo A-I düzeyini ise anlamlı olarak arttırdığı bulunmuştur. Bu çalışmada LDL-K ve TG düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da bir miktar azalma gözlenmiştir. HDL-K düzeyinde ise belirgin bir değişiklik tespit edilmemiştir (6).

Fizyolojik şartlar altında bakır, kobalt ve nikel gibi geçiş metalleri albüminin N-terminal bölgesine sıkıca bağlanabilirler. İskeminin hipoksi, asidoz ve serbest radikal oluşumunu içeren patofizyolojik olayları albüminin N-terminal bölgesinde konformasyonel değişikliğe neden olarak geçiş metallerinin albümine bağlanmasında azaltmaktadır (7,8). Konformasyonel değişikliğe uğrayan molekül iskemik modifiye albümin (IMA) olarak tanımlanmaktadır. İn vitro şartlarda albüminin kobalt bağlamasındaki azalma basit ve hızlı bir kolorimetrik test olan Albümin Kobalt Bağlama tayini (ABC) ile tayin edilerek IMA miktarı belirlenmektedir. IMA kardiyak iskeminin ve akut koroner sendrom şüpheli olgularda risk saptanmasında kullanılabilen tek FDA (Food and Drug Administration) onaylı biyomarkördür. IMA bir iskemik olay veya atak sırasında kanda çok kısa sürede tayin edilebilecek seviyelere ulaşabildiği için iskeminin sensitif bir markörü olarak ifade edilmektedir. Sinha ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ilk kez IMA'nın, akut göğüs ağrısı ile üç saat içinde acil servise başvuran ve akut koroner sendrom ön tanısı alan 219 hastada yüksek sensitiviteye ve düşük spesifiteye sahip olduğu vurgulanmıştır. IMA son dönem böbrek hastalarında, karaciğer yetmezliğinde, serebrovasküler hastalıklarda, aşırı travmalarda, bazı neoplastik hastalıklarda ve enfeksiyonlarda serumda yükselmektedir.

L-karnitin (γ -trimetilamino- β -hidroksi bütirik asit), kuarterner amin yapısında bir bileşik olup vücutta yaygın bir doku dağılımı gösterir. L-karnitin, lizin ve metiyonin amino asitleri öncülüğünde karaciğer, böbrek ve beyinde sentezlenir ve diğer dokulara gönderilir. L-karnitin aerobik hücre metabolizması için esansiyel kabul edilir ve C \geq 10 zincirli yağ asitlerinin oksidasyonu için gereklidir (9). Günümüze kadar karnitinin rol oynadığı tarif edilen metabolik süreçler aşağıdaki gibidir.

Karnitin;

1-Uzun zincirli yağ asitlerinin β -oksidasyon yerleri olan mitokondrial matrikse taşınmalarını sağlar. Karnitin, benzer şekilde peroksizomal yağ oksidasyonunda da rol oynamaktadır (10).

2-Karnitin, açıl gruplarını temizleme sistemi olarak da görev yapmaktadır; bu yönüyle detoksifiye edici bir ajandır (11).

3-Karnitin, organizmaya güçlü toksik etkileri olan, endojen veya eksojen organik asitlerin konjugasyonunda da görev yapmaktadır. Örneğin, artan glutamin ve amonyanın beyindeki düzeylerini azaltarak amonyak toksisitesinden beyini koruma görevi de üstlenir.

4-Yağ asitleri dışında, dallı yan zincirli aminoasitlerin (valin, lösin, izolösin) metabolizmasında karnitinin rolü vardır.

5-Karnitin akciğerlerin biyokimyasal ve morfolojik matürasyonunda görev almaktadır.

6-Karnitin membran fosfolipid turnover'nda görev almaktadır.

Stefanutti C ve ark. yaptığı çalışmada günlük 1g 90 gün boyunca düzenli L-karnitin alımı ile hiperlipidemik bireylerde total kolesterol ve LDL-kolesterolde azalma ve apolipoprotein A-1 ve B seviyelerinde artış görülmüştür (12). Son yıllarda L-karnitin'in antioksidan etkisi olduğu öne sürülmektedir. L-karnitin serbest radikal temizleyicisi (scavenger) olarak hücreleri ROS (serbest oksijen radikalleri)'den korumaktadır. Gomez-Amores ve ark. yaptığı çalışmada hipertansif ratlarda 0.2 g/kg/gün 8 hafta boyunca oral olarak verildiğinde L-karnitin oksidatif hasara karşı etkinliğini göstermek amacıyla yapılan çalışmada hepatic ve kardiyak antioksidan enzimler lipid peroksidasyon ürünleri incelendiğinde antioksidanların savunmanın arttığını ve oksidanların azaldığı gösterilmiştir (13). L-karnitin ve bazı esterlerinin (asetil-L-karnitin) ksantin oksidazı kısmen inhibe ettiği ve buna bağlı olarak gelişen hipoksi-reoksijenasyon hasarını azalttığı ifade edilmektedir (14). Son dönem böbrek yetmezliği nedeniyle hemodiyalize giren hastalarda plazma ve doku karnitin düzeylerinin sağlıklı bireylere göre düşük olduğu bilinmektedir. Özener ve ark. yaptığı çalışmada karnitin tedavisi ile total kolesterol, LDL-kolesterol, Apo B düzeylerinde önemli düşme izlenmektedir (15). Ancak fındığın anti-aterojenik ve antioksidan etkilerini belirleyen çalışmalar olmasına rağmen fındık tüketiminin L-karnitin seviyesine etkilerini belirleyen çalışma bulunmamaktadır.

Dislipidemi; lipoprotein aşırı üretimi ya da eksikliğini içine alan lipoprotein metabolizması bozukluğu veya hastalığıdır. Bu tür hastalarda toplam kolesterol, LDL-kolesterol ve trigliserid seviyelerinde artış ya da HDL-kolesterol seviyesinde azalış gözlenmektedir. Ancak LDL-kolesterol yüksekliği esas lipid anomaliliğidir (16). Bu etkilerden dolayı dislipidemik bireylerde aterosklerotik kalp hastalığı riski artmaktadır. Fındığın lipid düşürücü etkileri ve antioksidan (E vitamini) potansiyelinin yüksek olması sonucunda aterosklerotik kalp hastalığı riskini düşürdüğü ortaya konmuştur. Ancak normal veya dislipidemik bireylerde fındık tüketiminin lipid düzenleyici ve antioksidan etkilerinin oluş mekanizmaları tam olarak açıklanamamıştır ve fındığın lipid metabolizması için esansiyel olan L-karnitin seviyelerine etkisini gösteren bir çalışma mevcut değildir. Bu çalışmada dislipidemik şahıslarda fındık tüketiminin kan lipid seviyeleri yanında hücrelerde lipid metabolizmasında esansiyel role sahip olan ve antioksidan özelliği belirtilen L-karnitin seviyelerine etkisi araştırılacaktır. Ayrıca, dislipidemik bireylerde fındık ve L-karnitin lipid metabolizmasına olumlu etkileri ve antioksidan özelliklerinden hareketle miyokard iskemisinin önemli markörü olan IMA seviyelerindeki değişim de belirlenerek IMA ile fındık tüketimi, lipid seviyeleri ve L-karnitin arasındaki ilişki incelenecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. LİPİD METABOLİZMASI VE FINDIĞIN LİPİD METABOLİZMASINA ETKİLERİ

2.1.1. Lipidler ve Lipid Metabolizması

Lipidler; hormon ve hormon öncülleri, enerji depolanması ve metabolik yakıt, biyolojik zarların yapısal ve fonksiyonel bileşenleri olarak biyolojik yaşamın her bölümünde önemli role sahip bileşiklerdir. Lipidler polar olmayan organik çözücüler tarafından dokulardan ekstrakte edilebilen, suda çözünmeyen (hidrofobik) organik moleküllerin heterojen bir grubudur. Kimyasal olarak lipidler; hidrolizlendiklerinde yağ asitleri açığa çıkaran veya yağ asitleri ile birleşerek esterler oluşturan kompleks alkoller olarak tanımlanabilir. Sulu çözeltilerde çözünmediklerinden dolayı vücutta bulunan lipidler genellikle ya membran lipidler şeklinde ve adipozitlerde triaçilgliserol damlacıkları olarak bulunurlar ya da lipoprotein partikülleri olarak proteinlerle birlikte plazmada taşınırlar.

Lipidler başlıca vücut için ana enerji kaynağı olmakla birlikte hücre membranlarının hidrofobik bariyer oluşturmalarında, yağda çözünen vitaminler yoluyla düzenleyici ve koenzim olarak, prostaglandinler ve steroid hormonları yoluyla vücut homeostazisinin kontrolünde görev alırlar. Lipid metabolizmasındaki eksiklikler ve dengesizlikler ateroskleroz ve obezite gibi önemli klinik problemlerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Yetişkin bir kişi günde yaklaşık 60-150 g yağ almaktadır. Bu miktarın %90'ından fazlası triaçilgliseroldür. Geri kalan miktarı kolesterol esterleri, fosfolipidler ve esterleşmemiş (serbest) yağ asitleri oluşturmaktadır.

Lipidler; yağ asitleri (kısa, orta ve uzun zincirli yağ asitleri, prostaglandinler), sterol türevleri (kolesterol, steroid hormonlar, safra asitleri, vitamin D), gliserol esterleri (trigliseridler, digliseridler, monogliseridler, fosfolgliseridler), sfingozin türevleri (sfingomiyelinler, glikosfingolipidler) ve terpenler (A,D,E,K vitaminleri) olmak üzere 5 sınıfa ayrılmaktadır (17).

Lipoproteinler

Lipidlerin sulu ortamda çözünürlükleri son derece düşük olduğundan kolesterol, trigliserid, kolesterol esterleri ve fosfolipidler plazmada lipoproteinler adı verilen yapılar içinde dokulara taşınırlar ve metabolize olurlar. Plazma lipoproteinleri apolipoprotein olarak adlandırılan özgün proteinler ve lipidlerin moleküler kompleksleridir. Bu dinamik partiküllerin sentez ve yıkımı denge halindedir. Lipoprotein partikülleri şilomikron (ŞM), çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL), düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), ara yoğunluklu lipoprotein (IDL) ve yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL)'lerdir. Lipoproteinler; lipidlerin plazmada çözünür yapıda tutularak taşınmalarına, lipid içeriklerinin dokulara verilmesine ve matabolize edilmelerine aracılık ederler.

Şilomikronlar (ŞM); çapı en büyük, yoğunluğu en az ve trigliserid içeriği en fazla lipoproteinlerdir. Şilomikronlar diyet ile alınan trigliseridleri bağırsaklardan dokulara taşırlar. Trigliseridlerin lipoprotein lipaz ile hidrolizi sonucu oluşan şilomikron kalıntıları ester kolesterol yönünden zengindir, trigliserid içeriği azalmıştır. Şilomikron kalıntıları lenfatik sistem ile kana verilir ve ardından karaciğere gelerek katabolize edilir. Bağırsaklarda sentezlenen şilomikronlar 12 saatlik açlıktan sonra dolaşımda bulunmazlar. Diyetle alınan fazla miktardaki karbohidrat ve yağ asitleri karaciğerde trigliseridlere dönüşür ve VLDL içinde dolaşıma verilir. Karaciğerden sistemik dolaşıma verilen VLDL kas ve adipoz dokuya taşınır. Lipoprotein lipazın Apo C-II ile aktivasyonu sonucu VLDL trigliseridleri serbest yağ asitlerine parçalanır. Serbest yağ asitleri adipositlerde trigliseridlere dönüşürken, miyositlerde okside olurlar. Karaciğerden dolaşıma verilen VLDL'de bulunan trigliseridlerin hidrolizi ile IDL (VLDL kalıntıları) oluşur. Pek çok VLDL kalıntısı dolaşımdan hepatositlerle uzaklaştırılır.

Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL); plazmadan dokulara kolesterol taşıyan en önemli partiküldür. Plazma kolesterolünün %60-70'i LDL'de bulunmaktadır. Kolesterol ve kolesterol ester içerikleri yüksektir. Eser miktarda Apo E dışında protein içeriğinin %95'ini Apo B-100 proteini oluşturur. LDL'nin hemen hemen tümü VLDL'nin lipolizi sonucu oluşur. Yapısındaki fosfolipid ve çoklu doymamış yağ asidi içeriği bakımından oksidasyona duyarlıdır. Küçük ve yoğun LDL oksidasyona en duyarlı olanıdır ve aterojenik bir molekül olarak bilinir. Kimyasal olarak değişikliğe uğrayan LDL'nin makrofaj tarafından aşırı alımı köpük hücre ve aterosklerotik plak oluşumuna neden olur.

Yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL); KC'de sentezlenir ve ekzositozla kana verilir. HDL, protein açısından zengin partiküldür ve içeriğindeki başlıca protein Apo AI'dir. Apo AII, Apo AIV, paraoksonaz (PON), lesitin kolesterol açıl transferaz (LCAT) gibi çeşitli proteinler HDL ile yakın ilişkilidir. HDL'nin ateroskleroza karşı koruyucu role sahip olduğu bilinmektedir ve bu proteinlerin HDL'nin fonksiyonlarında önemli rolleri vardır. HDL Apo CII'nin dolaşımdaki deposu olarak, ekstrahepatik dokulardan serbest kolesterolün alınımı, esterleştirilmesi ve KC'e taşınmasında rol oynayan başlıca moleküldür.

Lipoprotein (a); yapısında 514 kDa ağırlığında yüksek glikolize bir protein olan Apo (a) ve Apo B-100 bulunur. Lipid bileşimi bakımından LDL'ye benzer. Aterojenik bir protein olup intimada aterosklerotik plak oluşumunda rolü olduğu bilinmektedir. Tekrarlayan ve plazminojen ile homoloji gösteren kringle benzeri yan zincire sahiptir. Bu yan zincir endotelial plazminojen reseptörüne bağlanmak için yarışır ve tromboz oluşumuna neden olabilir (18).

2.1.2. Dislipidemi

Dislipidemi; lipoproteinlerin aşırı üretimi ya da eksikliğini içine alan lipid metabolizması bozukluğunun bir sonucu olarak kan lipid dağılımının değişimi olarak ifade edilmektedir. Lipid dağılımının bozulması aterosklerotik damar yapı bozukluğu çerçevesinde periferik arter hastalığı, serebrovasküler hastalık, kardiyovasküler hastalık gibi çeşitli kronik hastalıkların gelişimine neden olmaktadır. Özellikle serum total kolesterol, LDL-kolesterol ve TG seviyelerinin yükselmesi, HDL-kolesterol seviyesinin azalması koroner kalp hastalığı için iyi bilinen risk faktörleridir (19). Küçük yoğun LDL partikülleri, artmış TG ve azalmış HDL-kolesterol ile birlikte olmaya eğilim gösterirler veya bunların kombinasyonu şeklinde bulunurlar ki, bu durum "Aterojenik Dislipidemi" olarak adlandırılmaktadır.

Dislipidemiler sınıflandırılması 2 şekilde yapılmaktadır.

1-Fenotipe bağlı olarak gelişen dislipidemiler: Serumdaki lipid anormalliklerine göre yapılan sınıflandırmadır ve Tablo 1'de özetlenmiştir (20).

Tablo 1: Fredrickson fenotipine göre hiperlipidemilerin sınıflandırılması

Fenotip	Hastalığın Adı	Lipid Değişikliği	Genetik Defekt
Tip I	Ailesel LPL Eksikliği Ailesel CII eksikliği	Trigliserid (ŞM)	LPL, CII eksikliği
Tip IIA	Ailesel Hiperkolesterolemi Ailesel Kombine Hiperlipidemi	Kolesterol (LDL)	Apo B reseptör eksikliği (LDL) ve VLDL aşırı üretimi
Tip IIB	Ailesel Kombine Hiperlipidemi	Trigliserid ve Kolesterol (VLDL, LDL)	Apo B ve VLDL aşırı üretimi
Tip III	Ailesel Disbetalipoproteinemi	Trigliserid ve Kolesterol (IDL)	Anormal Apo E
Tip IV	Ailesel Hipertrigliseridemi Ailesel Apo CII Eksikliği Ailesel Kombine Hiperlipidemi	Trigliserid (VLDL)	LPL eksikliği, CII eksikliği, Apo B ve VLDL aşırı üretimi
Tip V	Ailesel LPL Eksikliği Ailesel CII Eksikliği Ailesel Kombine Hiperlipidemi	Trigliserid (VLDL ve ŞM)	LPL eksikliği, CII eksikliği, Apo B ve VLDL aşırı üretimi

(LPL: Lipoprotein lipaz)

2-Etiyolojisine göre dislipidemiler primer ve sekonder dislipidemi olmak üzere 2'ye ayrılırlar.

Primer dislipidemide genetik zemine eklenen sağlıksız beslenme, sigara, düşük fiziksel aktivite gibi etkenler sonucunda lipid dağılımında bozulma görülmektedir. Ailesel hiperkolesterolemi, ailesel defektif Apo B-100, ailesel kombine hiperlipidemi, ailesel disbetalipoproteinemi, lipoprotein lipaz eksikliği, Apo CII eksikliği, ailesel hipertrigliseridemi, plazma lipoprotein (a) yüksekliği, ailesel hiperkolesterolemi, sporadik hipertrigliseridemi, hipoalfalipoproteinemi, abetalipoproteinemi, hepatik lipaz eksikliği primer dislipidemiye neden olmaktadır.

Sekonder dislipidemi ise kullanılan ilaçlar veya çeşitli hastalıklar sonucu gelişen lipid metabolizma bozukluklarını içermektedir. Diabetes mellitus, hipotroidi, östrojen tedavisi, alkol kullanımı, nefrotik sendrom ve glukokortikoidler, diüretikler, beta blokörler gibi ilaçlar sekonder dislipidemiye yol açan başlıca nedenler arasındadır.

2.1.3. Ateroskleroz

Kalp-damar hastalıkları dünyadaki en önemli sağlık problemlerinden biri olup, günümüzdeki ölüm nedenleri arasında nde yer almaktadır. Kalp-damar hastalıklarının altında yatan başlıca sebep aterosklerozdur. Ateroskleroz orta ve büyük arterlerin intima tabakasında gelişen, ‘‘aterom’’ denilen fibröz-yağlı plak oluşumu ile karakterize, kronik inflamatuvar bir hastalıktır ve ilerleyici arteryel darlık ve tıkanmalara, arterlerin esneklik ve antitrombotik özelliklerinin kaybolmasına yol açmaktadır. Aterosklerotik plaklar lipidler, fibroblastlar, makrofajlar, düz kas hücreleri ve hücre dışı maddeleri değişik oranlarda içermektedir. Ateroskleroz erken safhada asemptomatiktir. Hastalığa neden olan diyet, egzersiz, yaşam kalitesi ve alışkanlıklar gibi risk faktörleri hastalık başlamadan önce veya hastalığın belirli bir döneminde ortadan kaldırıldığında ateroskleroz gelişimi engellenebilir veya azaltılabilir. Hastalığın daha ileri safhasında kan damarları sertleşir, daralır ve damarlardan geçen kan miktarı azalır. Bunun sonucunda da hücelere daha az oksijen ve besin girer dolayısıyla dokularda iskemi, hipoksi veya infarktüse bağlı semptomlar ortaya çıkmaya başlar (21).

Aterosklerotik kalp-damar hastalıkları özellikle batı toplumlarında en önemli ölüm nedenidir. Dünya genelinde ölümlerin %29’u kardiyovasküler hastalık (CVD) kaynaklı iken bu oran Avrupa’da ölümlerin %51’ini, Amerika’da ise %31’ini oluşurmaktadır. Bu nedenle aterosklerotik lezyonların oluşmasını ve gelişmesini önlemek veya daha önceden oluşmuş lezyonları geriletebilmek toplum sağlığı açısından çok önemli bir konudur (22). Ateroskleroz, etiopatogenezinde çok sayıda risk faktörünün rol oynadığı multifaktöryel bir hastalıktır. Genetik yatkınlık, yaş, hipertansiyon, dislipidemi, diyabet, obezite, sigara, bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, hiperhomosisteinemi, oksidatif stres, doymuş yağ ve kolesterol oranı yüksek, sebze, meyve ve tahıl oranı düşük diyet ateroskleroza neden olan başlıca risk faktörleridir (23).

Hiperlipidemi kan lipid düzeylerinin normalin üzerinde olması ile karakterize bir tablodur. Serum lipidleri ateroskleroz gelişiminde farklı öneme sahiptirler. Serum kolesterolü ykseklıği ile ateroskleroz gelişimi arasında sürekli, dereceli ve kuvvetli bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Plazma total kolesterol ykseklıği ile koroner kalp hastalığından ölüm oranı arasında da güçlü bir ilişki vardır. Plazma kolesterol düzeyi yüksek toplumlarda miyokard infarktüsünden ölme yüzdesi daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte LDL-kolesterol

düzeyleri ile koroner kalp hastalığı arasındaki ilişkinin total kolesterol ile olandan daha kuvvetli olduğu gösterilmiştir. Lipoprotein tipleri içinde LDL'de taşınan kolesterolün plazma kolesterolünün en aterojenik şekli olduğu ve VLDL kalıntılarının da aterojenik etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Buna karşılık, HDL koroner kalp hastalığına karşı koruyucu bir rol oynamaktadır. Bu nedenle ateroskleroza önleyici ve tedavi edici yaklaşımların amacı serum kolesterolünü ve özellikle LDL-kolesterolü azaltmayı, buna karşılık HDL-kolesterolü arttırmayı hedeflemektir. Total kolesterol, LDL-kolesterol, trigliserid normal ve diğer dilim sınırları Tablo 2' de özetlenmiştir.

Tablo 2: Lipid düzeylerinin sınıflandırılması (NCEP ATP III)

	Total kolesterol (mg/dL)	LDL-kolesterol (mg/dL)	Trigliserid (mg/dL)
Normal	<200	100-129	< 150
Sınırdan yüksek	200-239	130-159	150-199
Yüksek	≥240	160-189	200-499
Çok yüksek		≥190	≥500

2001'de yayınlanan NCEP ATP III (National Cholesterol Education Programme Adult Treatment Panel III) kriterlerine göre total kolesterolün 200 mg/dL'den az olması normal, 240 mg/dL'den fazla olması yüksek olarak tanımlanmıştır. HDL-kolesterolün erkeklerde 40 mg/dL'nin, kadınlarda 50 mg/dL'nin altında olması düşük ve 60 mg/dL'den fazla olması yüksek olarak değerlendirilmiştir (24).

Ateroskleroz gelişiminde yer alan olayları açıklayan iki temel hipotez vardır;

1. Oksidatif modifikasyon hipotezi; İlk kez 1989 yılında Steinberg ve ark. tarafından öne sürülen bu hipotezle LDL'nin oksidatif modifikasyonunun aterosklerozun başlangıç ve ilerleme safhasında anahtar rol oynadığına inanılmaktadır (25).

2. Hasara yanıt hipotezi; Bu hipoteze göre endotel disfonksiyonu aterogenezde ilk basamaktır. Ateroskleroza neden olan risk faktörlerinin hemen hepsi endotel disfonksiyonuna neden olabilmektedir (26).

Serbest radikaller vücutta antioksidan savunma mekanizmasının kapasitesini aştıkları zaman çeşitli bozukluklara yol açarlar. Karbohidrat, lipid, protein ve DNA gibi biyomoleküllerin tüm sınıfları ve tüm hücre komponentleri ile etkileşerek hücrede yapısal ve metabolik değişikliklere neden olurlar (27). Prooksidan-antioksidan sistemdeki değişimler sonucunda LDL oksidatif modifikasyona maruz kalır ve aterogeneizde ana risk faktörü haline gelir. Serbest radikaller ve radikallerin etkisi ile oluşan lipid peroksidleri damar endotel hasarı yaparak ve damar duvarlarında prostasiklin/tromboksan dengesini bozarak ateroskleroz patogenezinde rol oynarlar. Yapılan çalışmalar ışığında prooksidan-antioksidan dengenin prooksidan yönüne bozulduğunda ateroskleroz gelişimine neden olduğu ve ateroskleroz tedavisinde lipid seviyelerini düşürmenin yanı sıra oksidan-antioksidan dengeyi düzeltici yaklaşımların önem kazandığı görülmektedir (28).

2.1.3.1. Ateroskleroz Gelişiminin Önlenmesinde ve Tedavisinde Diyet

Ateroskleroz oluşumu ile beslenme alışkanlıkları arasında güçlü bir ilişki bulunmaktadır. Besinlerdeki yağ miktarı ve bileşimi, hayvansal / bitkisel proteinlerin oranı, mineral içeriği, günlük kalori miktarı, sebze ve meyve yeme alışkanlığı, yemeklerin hazırlanma ve saklanma koşulları ve yemek pişirme yöntemleri gibi değişik faktörler organizmada lipid düzeylerini ve prooksidan-antioksidan dengeyi etkilemekte ve ateroskleroz gelişimini kolaylaştırabilmektedir (29).

Ateroskleroza yol açan başlıca risk faktörlerinden biri olan dislipideminin tedavisinde dislipidemi tipi ve miktarı önemlidir. Sekonder dislipidemide (başka hastalıklara, ilaçlara, davranışsal etmenlere bağlı gelişen dislipidemi) ilk olarak dislipidemi sebepleri araştırılıp tedavi edilmeli ve diyet ile birlikte yaşam tarzına ilişkin önlemler alınmalıdır. Bu önlemler tedavide ilk adımı oluşturmaktadır. Bu önlemler yetersiz kalır ise ilave olarak ilaç tedavisi kullanılmaktadır. Statinler fibratlar, safra asidi bağlayanlar ve nikotinik asit kullanımındaki etki mekanizmaları farklı lipid düşürücü ilaçlardır. İlaç tedavisine başlansa bile diyet sürdürülmeli ve yaşam boyu devam eden bir alışkanlık haline getirilmelidir.

Yetişkinler için kabul edilebilir makrobesin dağılım oranlarına (AMDR) göre alınması gereken günlük kalori miktarının % 45-65'i karbohidratlardan, % 10-35'i proteinden, % 20-35'i yağdan gelmelidir. Yağların da % 7-10'unu PUFA, % 10-15'ini MUFA, % 6-10'unu doymuş yağ asitleri oluşturmaktadır (30).

2001 yılında NCEP kardiyovasküler hastalık riskini azaltmak için "tedavi edici hayat tarzı değişikliği" yaklaşımını önermiştir. Bu yaklaşıma göre kalorinin % 50-60'ı

karbohidratlardan, % 15'i proteinlerden, % 25-35'i yağlardan gelmelidir. Bu yüzde içinde doymuş yağ asitlerinin ve trans yağ asitlerinin oranı toplam kalorisinin % 7'ni geçmemeli, toplam kalorisinin % 18-20'den fazlası tekli doymamış yağ asitleri ve % 10-12'sinden fazlası çoklu doymamış yağ asitleri tarafından karşılanmalıdır (31).

Çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) omega-3 (ω -3) ve omega-6 (ω -6) diye tanımlanan iki grupta toplanmaktadır. Başlıca ω -6 yağ asitleri linoleik, linolenik ve araşidonik asit olup ayçiçeği, mısır, pamuk, soya ve yer fıstığı gibi bitki ürünlerinin yağlarında bulunurlar. ω -3 serisinin yağ asitleri ise α -linolenik asit, eikosapentaenoik asit (20:5, ω -3) ve dekosahexaenoik (22:6, ω -3) asitlerdir. α -linolenik asit keten tohumu yağı, soya yağı, ceviz, semizotu ve ıspanak gibi kaynaklarda mevcuttur. Eikosapentaenoik asit ve dekosahexaenoik asit ise balık, midye ve deniz memelilerinde bol miktarda bulunur. Bu yağ asitleri normal büyüme ve gelişim için gereklidir. Ayrıca lipid seviyelerinin düzenlenmesinde, kardiyovasküler ve immünolojik fonksiyonlar üzerinde yararlı etkileri vardır. Epidemiyolojik bulgulara dayanılarak diyetle ω -3 yağ asidi alınımının kardiyovasküler hastalık riskini azalttığı söylenebilmektedir (32).

Diyetin ateroskleroz ve koroner arter hastalığı gelişimi üzerine etkisi kısmen diyetteki yağların plazma LDL-kolesterol düzeyi üzerine etkileri aracılığı ile gerçekleşir. Diyetteki doymuş yağ asitleri LDL-kolesterolü yükseltirken, çoklu ve tekli doymamış yağ asitleri ise LDL-kolesterolü düşürmektedir. Ek olarak diyetteki lifler ve karbohidratlar koruyucu faktörler olarak rol oynarlar (33). Roche ve ark.'nın yaptığı çalışmada 8 hafta boyunca MUFA içeriği yüksek, doymuş yağ içeriği düşük bir diyet ve MUFA içeriği düşük, doymuş yağ içeriği yüksek bir başka diyet uygulanan iki farklı grupta postprandiyal plazma trigliserid seviyeleri ölçülmüştür. MUFA içeriği yüksek diyetle beslenen şahıslarda trigliserid seviyeleri diğer diyet grubundaki şahıslara göre daha erken zamanda açlık seviyelerine geri dönmüştür. Sağlıklı normolipidemik şahıslarda MUFA ve PUFA yönünden zengin diyet plazma total kolesterol ve LDL-kolesterol düzeylerini düşürmüş, HDL kolesterol düzeylerini ise yükseltmiştir. Kolesterol düzeylerini düşüren başlıca MUFA kaynağı zeytinyağıdır, fakat kanola (kolza) yağı, sert kabuklu meyveler (örneğin fındık, fıstık, badem gibi) ve ürünleri de aynı etkiye sahiptir. Genç, sağlıklı normolipidemik bireylerde diyetle yüksek MUFA ilavesinin ya da yüksek karbohidrat, düşük yağ içerikli diyet ilavesinin kolesterol ester transfer proteini (CETP) konsantrasyonunu düşürdüğü tespit edilmiştir. ω -3 serisi PUFA verilmesi ise plazma total kolesterol, LDL-kolesterol ve HDL-kolesterol seviyeleri üzerine MUFA' dan daha az etkili olmasına rağmen, her iki diyet de trigliserid seviyesini azaltır ve HDL/LDL kolesterol oranını artırır, total kolesterol/HDL kolesterol oranını dolayısıyla ateroskleroz ve koroner arter hastalığı riskini düşürür.

LDL'nin oksidasyona duyarlılığı antioksidan kapasitesi ve yağ asidi içeriği gibi temel iki faktörden etkilenir. PUFA'ların otooksidasyona duyarlı olmaları nedeniyle PUFA'ca zengin beslenme oksidan-antioksidan dengeyi oksidan yöne değiştirmektedir. MUFA ise oksidasyona dirençlidir. Yapısındaki PUFA içeriğinin azaltılıp, MUFA içeriğinin artırılması LDL oksidasyonunu azaltır. Tsimikas ve ark. oleik asit (18:1) içeriği artırılmış LDL'nin, linoleik asit (18:2) ve araşidonik asit (20:4) içeriği azaltılmış LDL'ye göre proinflamatuvar minimal modifiye LDL (mmLDL)'ye daha az oranda dönüştüğünü ileri sürmüşlerdir. De la Cruz ve ark. zeytinyağı içeren bir diyetin kalp, aort ve trombositlerde lipid peroksidasyonunu azalttığını rapor etmişlerdir (34).

MUFA; HDL-kolesterol düzeyini artırır, LDL-kolesterol düzeyini, LDL oksidasyonunu, hücresel oksidatif stresi, tromboz ve aterosklerotik plak oluşumunu azaltır. LDL'yi oksidasyona duyarlı hale getirmesine rağmen ω -3 PUFA ise; HDL-kolesterol düzeyini ve HDL/LDL kolesterol oranını artırır, vasküler düz kas hücre proliferasyonunu, tromboz ve aterosklerotik plak oluşumunu ise azaltır. Bu bulgular zeytinyağı ve balık yağı yönünden zengin "Akdeniz Diyeti"nin birçok yararlı etkisini göstermektedir. Akdeniz diyeti; a. doymuş ve trans-yağların yerine doymamış yağların tercih edilmesi, b. balık, balık yağı ve bitkisel kaynaklı omega-3 yağ asitlerinin tüketiminin artırılması, c. günlük diyet içerisinde meyve, sebze, sert kabuklu meyvelerin (fındık, fıstık, badem, ceviz gibi) ve tahıl oranının artırılması, rafine edilmiş tahıl tüketiminin (örneğin beyaz ekmek) ise azaltılmasını kapsayan bir beslenme tarzıdır. Zhengling ve ark. koroner kalp hastalığı riskinin arttığı orta yaşlı ve yaşlı insanlarda yaptıkları bir çalışmada doymuş yağ ve kolesterol içeriği sınırlandırılmış, yüksek balık yağı içeren diyetin VLDL ve HDL alt gruplarını etkilediğini, lipoprotein alt gruplarını az aterojenik fenotipe doğru kaydırıldığını göstermişlerdir (35).

2.1.4. Ağaçta Yetişen Yenebilir Sert Kabuklu Meyvelerin Lipid Metabolizmasına Etkileri

2.1.4.1. Sert Kabuklu Meyveler

Fındık, ceviz, badem, fıstık gibi sert kabuklu meyvelerin insan sağlığındaki önemi son yıllarda daha iyi anlaşılmıştır. Sert kabuklu meyveler içerdikleri doymamış yağ asitleri ve lipid olmayan bileşenleriyle düzenli tüketilmeleri sonucu kolesterol ve lipoproteinleri düşürürler. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar ve ikincil tedavi çalışmaları kardiyovasküler hastalık riskinin azalması ile sebze, meyve ve sert kabuklu meyvelerin tüketimi arasında anlamlı bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur (2).

Sert kabuklu meyveler karbohidrat, protein ve yağ içeriği yönünden zengindirler. Pek çok sert kabuklu meyvenin kalorisinin yaklaşık % 80'i yağdan gelir ve bu yağın büyük bir kısmını tekli doymamış yağ asitleri oluşturur. Bazı sert kabuklu meyvelerin içerdiği yağ asidi miktarları Tablo 3'de verilmiştir. Doymamış yağ asitlerinin ise büyük bir kısmını fındıkta MUFA, cevizde ise PUFA oluşturur. Bu meyveler en iyi doğal E vitamini kaynağıdır. Ayrıca magnezyum, potasyum, bitkisel protein, arginin, folik asit, fitokimyasallar ve bitkisel sterollerden, bakır ve lif yönünden oldukça zengindirler. Arginin vücutta nitrik oksit (NO)'in sentezinde rol alarak kan dolaşımını düzenler. Metiyonin vaskülo-toksik özellik gösteren homosisteinin öncül molekülü olması nedeniyle önemlidir. Folik asit ise önemli bir kofaktör olmakla birlikte homosisteinin metiyonine dönüşümü ve nitrik oksit sentezi için gıdalarla yeterli miktarda alınmalıdır (36,37).

Tablo 3: Bazı sert kabuklu meyvelerin 100 gramında bulunan yağ asidi miktarları (38,39)

	Fındık	Ceviz	Badem	Yer Fıstığı
Doymuş yağ asidi(g)	4.6	3.36	3.88	6.83
Tekli doymamış yağ asidi				
Oleik asit(g)	48.63	8.8	33.3	23.8
Çoklu doymamış yağ asidi				
Linoleik asit(g)	5.83	38.1	10.5	15.6
α -linolenikasit (g)	0.15	9.1	0.4	0

Fındık ağaçta yetişen yenilebilir sert kabuklu meyveler içinde MUFA içeriği en zengin olanıdır. Ağaçta yetişen sert kabuklu meyveler yüksek tekli doymamış yağ asidi içerikleri, düşük lizin/arginin oranı, trombosit ve prostaglandin metabolizması üzerine olumlu etkileri ve yüksek antioksidan kapasiteleri aracılığıyla antiaterojenik etki gösterirler (40).

Sert kabuklu meyvelerin kalsiyum, magnezyum ve potasyum içeriğinin yüksek, sodyum içeriğinin düşük olması nedeniyle kemik gelişimi ve sağlığı ile kan basıncının ayarlanmasında, içerdiği B grubu vitaminleri ile metabolizmanın düzenlenmesinde büyük önemleri vardır. Ayrıca sert kabuklu meyveler zengin posa (lif) ve bitkisel steroller içeriğine bağlı olarak hepatik LDL-kolesterol alımını artırır ve kandaki LDL-kolesterolü düşürürler (41).

Yapılan kohort çalışmalarda; koroner kalp hastalığı riskinin % 30-50 oranında azalma sebebinin sert kabuklu meyvelerin tüketimi ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Sert kabuklu meyve tüketiminin; LDL-kolesterol düzeyini azaltması, içeriklerindeki E vitaminin gösterdiği antioksidan etki, yapılarında bulunan arginin aracılığıyla NO düzeylerini arttırıp endotel fonksiyonunu etkileyerek trombositlerin yapışması ve kümeleşmesini baskılaması bu azalışın sebebi olarak gösterilmiştir (42). Koroner arter hastalığı risk oranı ve sert kabuklu meyvelerin sık tüketimi ile ilgili yapılan ilk epidemiyolojik çalışma 6 yıl süren “Adventist Health Study”dir. Bu çalışmada haftalık sert kabuklu meyve tüketim sıklığına göre haftada 1’den az, haftada 1-4 ve haftada 5 veya daha fazla olmak üzere 3 farklı grup oluşturulmuştur. Yaş, cinsiyet, sigara kullanımı, fiziksel aktivite, ağırlık ve yüksek kan basıncına göre düzenlemeler yapıldıktan sonra relatif risk oranları belirlenmiştir. Ölümcül olmayan miyokard infarktüsü için bu risk oranları tüketim sıklığına göre sırası ile 1.0, 0.74 ve 0.52 iken, ölümcül koroner arter hastalığı için ise yine tüketim sıklığına göre 1.0, 0.73 ve 0.62 olarak bulunmuştur. Başka bir çalışmada ise (Nurses’ Health Study) haftada 5 veya daha fazla sert kabuklu meyve tüketen kadınlarda koroner arter hastalığı relatif risk oranı, nadiren (ayda bir veya hiç tüketmeyen) tüketen kadınlara göre daha düşük bulunmuştur (43).

Günlük 84-100 g sert kabuklu meyve tüketiminin serum total kolesterol düzeyini % 10-20 azalttığı birkaç çalışmada gösterilmiştir. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda diyetle yer alan geleneksel yağların yerine badem ve ceviz tüketildiğinde LDL-kolesterol düzeyinin % 8-12 oranında azaldığı tespit edilmiştir. Bazı çalışmalarda sert kabuklu meyve içeriği yüksek diyetlerin LDL-kolesterolü yanında total kolesterol/HDL-kolesterol oranını da düşürdüğü gösterilmiştir. Çoğu sert kabuklu meyvenin NO sentezinin öncül molekülü olan arginin bakımından zengin olduğu tespit edilmiştir. Bunların tüketiminin arginin miktarını dolayısıyla NO miktarını arttıracığı ve bu sebeple anti-aterojenik oldukları ileri sürülmüştür

(36). Berry ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada; badem, zeytinyağı ve avokado içeren MUFA yönünden zengin bir diyet ile karbohidrat yönünden zengin başka bir diyet karşılaştırılmıştır. Buna göre; karbohidrat yönünden zengin diyetin kolesterol düzeylerinde anlamlı bir değişikliğe yol açmaz iken, MUFA yönünden zengin diyetin total kolesterol düzeyini % 7.7 ve LDL-kolesterol düzeyini % 14.4 oranında düşürdüğü gösterilmiştir (42). Bir başka çalışmada ise Morgan ve Clayshulte normolipidemik bireylerde 8 hafta boyunca günlük 68 g pecan (özellikle oleik asit bakımından zengin güney Amerika' ya özgü bir tür sert kabuklu meyve) tüketiminin LDL kolesterolü düşürdüğünü, HDL kolesterol düzeylerinin ise etkilenmediğini bulmuşlardır (44). Koçyiğit ve ark. sağlıklı normolipidemik bireylerde çam fıstığı tüketiminin plazma lipid profili ve oksidatif durumu üzerine olan etkilerini incelemiştir. Bireyler aldıkları günlük kalori miktarının %20'sini oluşturacak şekilde 3 hafta boyunca çam fıstığı tüketmişlerdir. Üç hafta sonunda total kolesterol ve MDA düzeylerinin, total kolesterol/HDL-kolesterol ve LDL-kolesterol/ HDL-kolesterol oranlarının önemli derecede azaldığını, HDL-kolesterol, toplam antioksidan potansiyel düzeylerinin ve toplam antioksidan potansiyel/MDA oranının önemli derecede arttığını gözlemlemişleridir. Ayrıca trigliserid ve LDL-kolesterol düzeylerinin de azaldığını fakat bu azalışı istatistiksel olarak anlamlı bulmadıklarını rapor etmişlerdir (38). Yer fıstığı ile sağlıklı yetişkinler üzerine yapılan bir çalışmada ise magnezyum, folik asit, alfa-tokoferol, bakır, arginin ve lif düzeylerinin arttığı, trigliserid düzeyinin azaldığı gözlenmiştir. Bu etkileri ile yer fıstığı tüketiminin kardiyovasküler hastalık riskini azaltacağı ileri sürülmüştür (45).

Sert kabuklu meyve tüketiminin hiperkolesterolemik bireylerde de lipid profili üzerine etkili olduğu pek çok çalışma ile gösterilmiştir. Ros ve ark. hiperkolesterolemik bireylere enerjinin %32'sini oluşturan MUFA yerine cevizin yer aldığı "Akdeniz Diyeti" benzeri bir diyet uygulamışlar ve vazodilatasyonun daha da artarken, VCAM-1'in azaldığını, ayrıca total kolesterol ve LDL-kolesterol düzeylerinin düştüğünü belirtmişlerdir. Azalan kolesterol düzeyi ile artan alfa-linolenik asit ve γ -tokoferol arasında korelasyon tespit etmişlerdir. Bu bulgu sert kabuklu meyvelerin kolesterolü düşürmelerinin yanında kalp hastalıklarından koruyucu etkilerinin bir başka yolu olarak görünmektedir (46). Zambon ve ark. ceviz kullanarak Ros ve ark. çalışmasına benzer bir çalışma yaptıklarında total kolesterol ve LDL-kolesterolün daha da azaldığını gözlemişlerdir. Minnesota Kalp Çalışmasından elde edilen sonuçlara göre, günlük diyetten gelen yağın (total enerjinin % 39'u) % 5-15'i çoklu doymamış yağ asitlerinden, % 9-18'i doymuş yağ asitlerinden gelecek şekilde düzenlenen diyet ile total kolesterol seviyesinin % 14 oranında azaldığı gösterilmiştir (47). Benzer bir çalışma ise 1064 erkek ve 698 kadın üzerinde Akdeniz diyetinin etkilerini incelemek için yapılmıştır. Çalışma sonucunda, normal kilodaki

insanlarla hafif kilolu ve/veya obez olguların diyetle farklı cevaplar verdikleri görülmüştür. Hafif kilolu ve obez olgular arasında Akdeniz diyetini uygulayanların, total kolesterol seviyelerinde ve sistolik kan basınçlarında anlamlı azalma görülürken, normal kilolu olgularda bu etki gözlenmemiştir (48). Sert kabuklu meyveler (badem, ceviz, yer fıstığı) ile yapılan bazı çalışmalarda kontrol diyeti ile beslenenlere göre total kolesterolde % 2-16, LDL-kolesterolde % 2-19 arasında bir düşüş görülmüştür. Buna göre; günde 50-100 g olmak üzere, haftada 5 kez ya da daha fazla sert kabuklu meyve tüketimi, normolipidemik ve hiperlipidemik kişilerde total kolesterol ve LDL-kolesterolün anlamlı olarak azalmasına neden olmaktadır (49).

Kris-Etherton ve arkadaşlarının yaptığı meta analizde sert kabuklu meyveler ve serum lipidleri üzerine yapılan 9 çalışma incelenmiştir. İçerdikleri yağ asidi örüntüleri ve makro besin öğeleri bakımından kolesterol düşürücü diyet olarak planlanan düşük yağ yüksek karbohidrat alımına dayalı diyetlerde, yağlardan gelen enerji düzenlenirken doymuş yağlardan gelen kalorinin sert kabuklu meyvelerden sağlanmasının sadece total kolesterol, LDL-kolesterol ve trigliserid seviyelerini azaltmakla kalmayıp aynı zamanda HDL-kolesterol seviyesini de arttırdığı bildirilmiştir. Sabate ve ark. nın yaptığı “Nut consumption, vegetarian diets, ischemic heart disease risk, and all-cause mortality: evidence from epidemiologic studies” çalışmasında haftada 5 defadan fazla sert kabuklu meyve tüketen hastalarda iskemik kalp hastalıklarından (IKH) ölüm riskleri % 12 oranında azalmıştır. Ayrıca haftada 5 defadan fazla sert kabuklu meyve tüketen hastaların yaşam süreleri daha az tüketenlere göre 5.6 yıl artmıştır. Bu bize sert kabuklu meyve tüketimindeki artışın sadece iskemik kalp hastalıklarından ölüm riskini azaltmakla kalmayıp aynı zamanda hastalık gelişimini uzun yıllar erteletebildiğini göstermektedir (50).

2.1.4.2. Fındık

Ağaçta yetişen yenilebilir sert kabuklu meyveler sınıfından olan fındığın tüketimi besleyici özelliği ve insan sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır. Fındık bitkiler aleminde Fagales takımının Betulaceae familyasından Corylus cinsine aittir. Fındık yağ ve protein açısından değerli bir kaynaktır (3). Fındığın organik ve inorganik madde içeriği Tablo 4’de verilmiştir (51).

Tablo 4: Fındıkta bulunan karbohidrat, protein, lipid, vitamin ve mineral miktarları

100g Fındık İçeriği			
	100 g Fındık		100 g Fındık
Kalori	628 kcal	Tiamin(mg)	0.643
Protein(g)	14.95	Riboflavin(mg)	0.113
Total Yağ(g)	60.75	Niasin(mg)	1.8
Doymuş Yağ(g)	4.46	Pantotenik Asit(mg)	0.918
MUFA(g)	45.65	Vitamin B6(mg)	0.563
PUFA(g)	7.92	Folat(mcg)	113
Kolesterol(mg)	0	Vitamin C(mg)	6.3
Posa(g)	9.7	Vitamin K(mcg)	14.2
Karbohidrat(g)	16.7	Vitamin E(mg)	15.03
Kalsiyum(mg)	114	Arginin(g)	2.21
Magnezyum(mg)	163	Aspartik asit(g)	1.68
Demir(mg)	4.7	Glutamik asit(g)	3.71
Fosfor(mg)	290	Metiyonin(g)	0.221
Potasyum(mg)	680	Tirozin(g)	0.362
Çinko(mg)	2.45	Lizin(g)	0.420
Bakır(mg)	1.72	Alanin(g)	0.730
Total Fitosterol(mg)	96	Glisin(g)	0.724

Fındık esansiyel amino asitler için fakir ve nonesansiyel amino asitler için iyi bir kaynaktır. Glutamik asit fındıkta en bol bulunan aminoasittir. Ayrıca, arginin ve aspartik asit de fındıkta yüksek miktarda bulunurken diğer aminoasitlerin miktarları daha düşüktür. Fındık içerdiği yüksek protein miktarı nedeniyle önemli bir bitkisel kaynaklı protein kaynağıdır.

Fındık yağı bileşimi üzerine yapılan çalışmalarda bileşimce zeytinyağına benzediği, tüm fındık çeşitlerinde en fazla oleik asidin (18:1) bulunduğu ve bunu sırayla linoleik (18:2), palmitik (16:0), stearik (18:0) ve linolenik (18:3) asitlerin izlediği belirlenmiştir. Tablo 5’te fındığın 100 gramında bulunan yağ asitleri ve miktarları verilmiştir (52).

Tablo 5: Fındığın 100 gramında bulunan yağ asitleri ve miktarları

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

Fındık ve fındık yağı E vitamininin en iyi doğal kaynağıdır, her gün sadece 25-30 g fındık yenmesi günlük E vitamini ihtiyacının büyük bir kısmını karşılamaktadır. Fındık ve fındık yağının vücutta karbohidrat, protein ve yağ metabolizmasında düzenleyici rolü olan bazı B grubu vitaminler (B1, B2 ve özellikle B6 vitamini) için önemli bir kaynak olduğu saptanmıştır. Ayrıca kalsiyum, magnezyum, fosfor ve potasyum başta olmak üzere iyi bir mineral kaynağıdır. Tansiyonu dengelemesinin yanı sıra sodyum bakımından düşük fakat mineraller bakımından zengin olan fındık ve fındık yağı, demir ve çinko için en iyi kaynaklardan biridir (35). Fındık ve fındık yağının bir önemli özelliği de fındıkta bulunan sterollerden beta-sterol'ün bağırsaktan kolesterolün emilimini azaltmasıdır. Fındıkta bulunan lif, kolesterol öncülü olan moleküllerin ve glukozun emilimini azaltarak kan glukoz ve kolesterolü yükselmesinin önlenmesine yardımcı olur. Folik asit, B2 ve B6 vitaminleri koroner kalp hastalığı ve sinir sisteminin fonksiyonlarının bozulmasında risk faktörü olan homosistein düzeyinin yükselmesini önleyici etki yapar. Fındığın içerdiği yüksek miktardaki E vitaminin LDL oksidasyonunu önleyerek koroner kalp hastalığı riskini azalttığı belirlenmiştir (53). Fındığın sağlıklı beslenme açısından uygun niteliklere sahip ve yüksek enerji sağlayan bir besin maddesi olmasının yanında son yıllarda yapılan çalışmalarla fındıkta çok yüksek düzeylerde bulunan oleik asidin (% 82 oleik asit) kan kolesterolünün yükselmesini önlediği ve böylece kalp ve damar hastalıklarına karşı koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir (54).

Fındıkta yüksek oranda bulunan oleik asit, lif ve magnezyum insanda kan şekerini düzenlediği, serum toplam kolesterol ve Apo B düzeylerini azalttığı, Apo AI düzeyini ise arttırdığı gösterilmiştir. Bu etkiler sonucunda düzenli fındık tüketiminin koroner kalp hastalığı riskini azaltacağı öngörülebilir. Türk Kardiyoloji Derneğinin 2002 yılında yayınladığı Koroner Kalp Hastalığı- Korunma ve Tedavi Kılavuzu'nda fındık; MUFA (oleik asit) ve PUFA (linoleik asit), B ve E vitaminlerin zengin bir besin kaynağı olarak sağlıklı beslenme diyetinin bir parçası şeklinde yer almaktadır (35). Durak ve ark.'nın yaptığı çalışmada sağlıklı bireylerin normal diyetlerine günde kilogram başına 1 g olacak şekilde 30 gün boyunca fındık ilave edilmiştir. 30. gün sonunda fındık tüketiminin toplam kolesterol, LDL-kolesterol ve MDA düzeylerini düşürdüğü, HDL-kolesterol, trigliserid düzeylerini ve antioksidan

potansiyelini arttırdığı gözlenmiştir (4). Tavşanlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada fındık yağının hiperkolesterolemik diyetle beslenen tavşanlarda aort duvarında kolesterol, MDA ve konjuge dien düzeylerini düşürdüğü saptanmıştır (55).

Sözü edilen bu çalışmalar fındık ve fındık yağının kardiyovasküler hastalıklardan korunmada ve tedavisinde büyük önem taşıdığını göstermektedir. Bu durum fındık ve fındık yağında bulunan PUFA'den linoleik asitin kolesterol düzeylerini düşürücü etkileri ile desteklenmektedir. Ancak PUFA'nin vücutta serbest radikal oksidasyonuna yatkın olması nedeni ile aşırı tüketiminden kaçınılması gerektiği unutulmamalıdır. Özetle doymuş yağ asidi yönünden fakir, MUFA yönünden zengin, PUFA miktarı yeterli ve antioksidan potansiyeli yüksek olan fındık ve fındık yağına günlük diyetle (yağdan gelen enerjinin %20' sini geçmeyecek şekilde) yer verilmesi, aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklardan korunmada ve tedavisinde yararlı olacaktır (3).

ABD Besin ve İlaç Yönetimi (FDA) her gün 40-45 gram ağaçta yetişen sert kabuklu meyvelerin (nut) tüketilmesinin kalp hastalığı riskini azaltabileceğini açıklamıştır. Fındığın değerinin belirtilmesinde bu açıklama çok önemlidir. Fındığın yağ içeriği ve enerji değeri yüksek olduğundan, günlük beslenmede, belirli miktarlarda fındığın, yağlı ve şekerli besinler azaltılarak eklenmesi gerekir. Fındık, gereksinimimiz olan 50 besin ögesinden A, C ve B12 vitaminleri dışındaki bütün besin öğelerini içeren bir besindir. FDA'nın önerdiği miktarda (45 gram) fındık yenildiğinde, vücuda alınacak besin öğeleri ve bu besin öğelerinin gereksinimleri karşılama oranı Tablo 6'da verilmiştir (41).

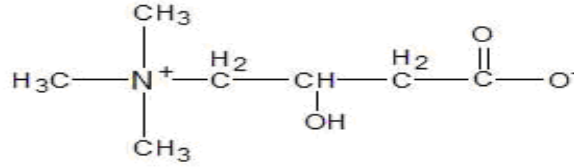
Tablo 6: Fındığın günlük gereksinimleri karşılama oranları

Günlük Gereksinimi Karşılama Oranları (45 g Fındık)			
Kalori	270	Potasyum	%9
Protein(g)	6	Çinko	%6
Total Yağ(g)	25	Bakır	%37.5
Doymuş Yağ(g)	2.8	Total Fitosterol(mg)	%40
MUFA(g)	19	Tiamin	%15
PUFA(g)	3	Riboflavin	%3
Kolesterol(mg)	0	Niasin	%3
Posa(g)	4.5	Pantotenik Asit	%3
Karbohidrat(g)	7.5	Vitamin B6	%12
Kalsiyum	%6	Folat	%12
Magnezyum	%15	Arginin(g)	%0.95
Demir	%12	Vitamin K(µg)	6.05
Fosfor	%12	Vitamin E	%30

2.2. KARNİTİN

2.2.1. Karnitinin Genel Özellikleri

Karnitin (3–hidroksi–4–N–trimetilaminobutirik asit) molekül ağırlığı 161.2 Da olan ve bir kuaterner amin bileşiği olmasına rağmen oldukça polar bir moleküldür (Şekil 1). Karnitin ismi latince “et” anlamına gelen “carnis” kökünden gelmektedir. Karnitinin fonksiyonel olarak vitamine benzer yönleri bulunmasına karşın vücutta sentez edilebildiği için tam bir vitamin özelliği taşımaz. İlk kez Gulewitsch ve Krimberg (1905) tarafından sığır kas dokusundan izole edilmiştir. Friedman ve Fraenkel (1955) karnitinin karaciğerde Asetil koenzim A (Asetil-CoA) ile asetillenerek (asetil-karnitin) yağ asitlerinin oksidasyonunu uyardığını göstermiştir. Norum ve ark. (1966) mitokondri iç membranında karnitin palmitoil transferazın (CPT), mitokondri dış membranında ise açıl-CoA sentetazın lokalize olduğunu ortaya koymuştur. Horne ve ark. (1971) lizinin karnitin prekürsörü olduğunu göstermişlerdir. Jacobs ve Wanders (1995) ise açıl gruplarının peroksizomlardan mitokondriye transferinde karnitinin önemini vurgulamıştır (56).



Şekil 1: L-Karnitin

Karnitin uzun zincirli yağ asitlerinin açıl-karnitin yoluyla sitoplazmadan mitokondriye transportunu ve beta oksidasyonunu düzenleyen esansiyel bir kofaktördür. D ve L izomeri bulunan karnitin dokularda sadece L-formu sentez edilir ve biyolojik olarak aktif olan izomeri budur. Ekzojen ve endojen (öncelikle karaciğer ve böbrek) kaynaklardan gelen karnitin karaciğerde depolanır ve gerektiğinde kan dolaşımına salınır. En yüksek karnitin konsantrasyonuna sahip iskelet ve kalp kasları gibi dokuların bu bileşiği sentez etme yeteneği yoktur ve kandan almak zorundadırlar (57).

Karnitin doğada hayvansal kaynaklı besinler olan et, yumurta ve sütte yüksek, bitkisel yiyeceklerde ise çok az oranda ester ya da serbest formda bulunmaktadır. Kırmızı ette beyaz

ete oranla yüksek oranlarda mevcuttur. İnsanlarda diyet ile alınan karnitin ancak % 54-87'si absorbe edilebilir (58). Hayvansal ve bitkisel kaynaklı besinlerdeki karnitin miktarlarını Tablo 7'de verilmektedir.

Tablo 7: Hayvansal ve bitkisel kaynaklı besinlerdeki karnitin miktarları (59)

Hayvansal Kaynaklı Besinler	Karnitin ($\mu\text{mol}/100\text{g}$)	Bitkisel Kaynaklı Besinler	L-Karnitin ($\mu\text{mol}/100\text{g}$)
Sığır eti	401	Elma	1
Tavuk eti	64	Muz	1
Mezgit	13	Kayısı	3
Tonbalığı	9	Armut	2
Krem peynir	89	Avokado	50
Süt %2 yağlı	18	Mercimek	13
Süt tozu	62	Zeytin	3
Tereyağı	8	Patates	15
Yoğurt	75	Biber	2
Yumurta sarısı	5	Sarımsak	8
Yumurta beyazı	2	Fıstık	1
		Fındık	1
		Kuru Üzüm	5

Vücutta karnitin serbest ve açıl-karnitin olmak üzere iki formda bulunmaktadır. Serbest karnitin karnitin açıl grupları ile esterleşmemiş formudur. Açıl-L-karnitin ise açıl gruplarının Açıl-CoA'dan transferiyle oluşan kısa, orta ve uzun zincirli karnitin esterlerini temsil eder.

Total L-karnitin, serbest L-karnitin ve esterlerinin toplamıdır, bazen karnitin havuzu olarak da adlandırılır. 70 kg ağırlığındaki bir erişkinde yaklaşık 128 mmol (yaklaşık 21g) karnitin vardır. Vücuda günlük diyetle 2-12 $\mu\text{mol}/\text{kg}/\text{gün}$ (23-135mg/gün) L-karnitin alınır. Vejeteryanlarda plazma L-karnitin düzeyi %10-20 daha düşüktür. Günlük olarak 1-2 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ (10-20 mg) L-karnitin endojen olarak sentezlenebilir ve üretilen bu miktar vücudun ihtiyacının %10'u kadardır. Vücudun günlük L-karnitin ihtiyacı 150-500 mg arasındadır. Fiziksel aktivite ve stres gibi faktörlerin de etkisiyle bu ihtiyaç günlük 1200 mg'a kadar çıkabilmektedir (60).

L-karnitin fizyolojik pH'da yüksek oranda polar olarak bulunduğundan dolayı hücre membranını rahatlıkla geçemez. Burada görevli taşıyıcı bağımlı transport sistemleri vardır. Bunlardan biri de aynı zamanda renal tubuler reabsorbsiyonda da görev alan sodyum bağımlı karnitin organik katyon taşıyıcısıdır (OCTN2). Bu transport mekanizmasının bozulması karnitin dokulara alınımında ve tubuler reabsorbsiyonunda azalmaya neden olur (61).

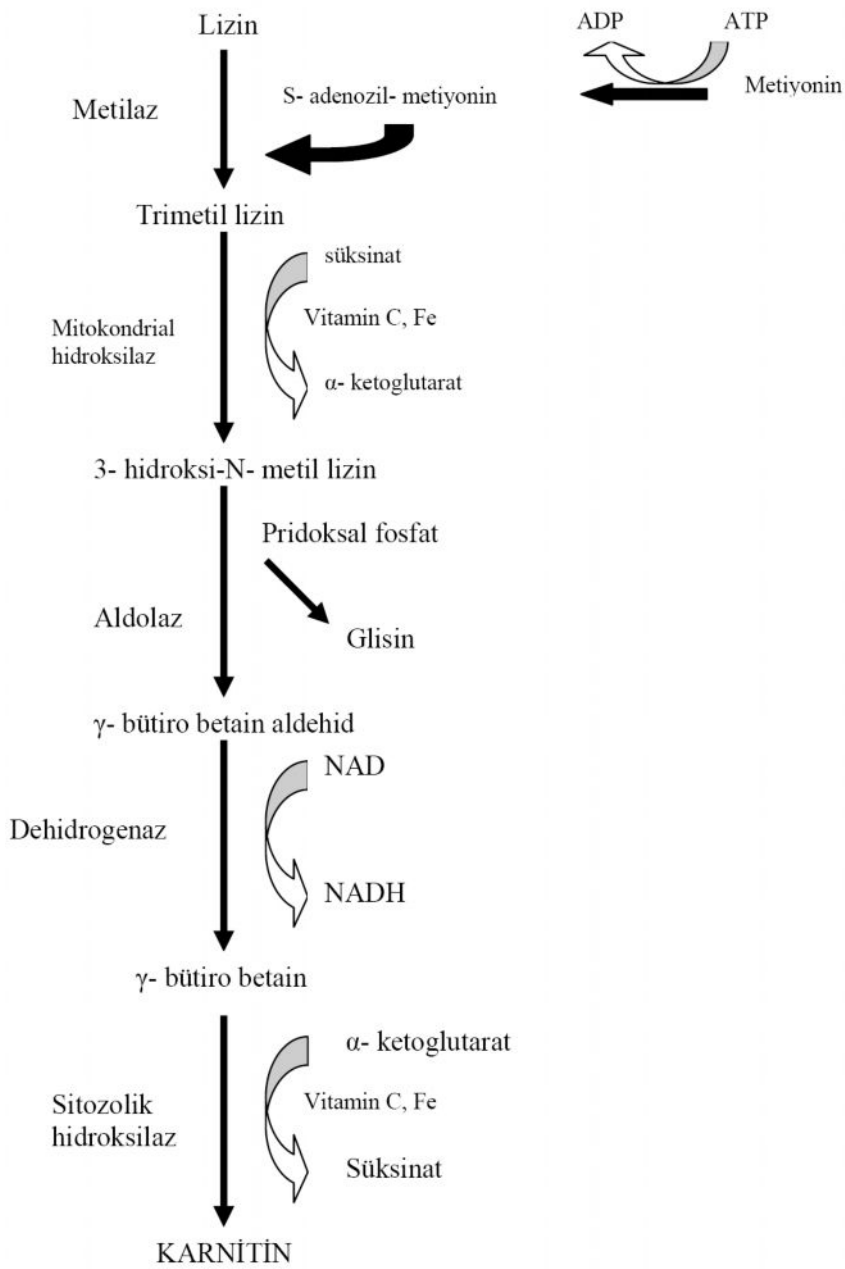
Diyetle alınan karnitin çoklu transport mekanizmaları ile duodenum ve jejunumdan emilmektedir. İnce bağırsaktan OCTN2 taşıyıcıları ile aktif transportla ve “Na⁺, Cl⁻ bağımlı nötral ve katyonik aminoasit taşıyıcıları” (ATB^{0,+}) ile pasif difüzyonla emilen karnitin portal ven yoluyla KC’e taşınmaktadır ve vücudun ihtiyacına göre dolaşıma geçmektedir. Diyetin içerdiği karnitin miktarına göre karnitin emilimi %10 ile %75 arasında değişmektedir. Emilemeyen karnitin bağırsakta trimetilamin ve γ -bütirobetain (DOC)’e yıkılarak atılmaktadır (62).

Bir dokudaki karnitin düzeyi, dokunun metabolize edeceği yağ asidi kapasitesine bağlıdır. Dokularda bulunan karnitin miktarı karnitin alımına, endojen sentezine, doku içerisine ve dışına taşınma miktarına bağlı olarak değişebilmektedir. İnsanlardaki karnitin %98’i kaslarda (2000-4000 $\mu\text{mol/kg}$), %1,5’i karaciğer ve böbrekte (300-1000 $\mu\text{mol/kg}$) ve geri kalanı ise ekstrasellüler sıvılarda bulunmaktadır. Cinsiyet, yaş, beslenme durumu, açlık ve hastalıklar insandaki plazma karnitin düzeylerini etkilemektedir. Yenidoğanlarda plazma, kalp ve kas karnitin düzeyleri erişkinlere göre daha düşük olup normal erişkin düzeylerine 6 ay civarında ulaşır (63). Sağlıklı erişkinde plazmada 40-50 $\mu\text{mol/L}$ L-karnitin bulunmaktadır ve total vücut karnitin miktarının % 0.6’sını oluşturmaktadır. Plazma karnitin miktarı bayanlarda % 10-20 daha düşüktür. Normal koşullarda plazmada total karnitin % 70–85’i serbest, geri kalan ise açılmiş durumda bulunur. Plazmada karnitin en fazla bulunan esteri asetil-karnitin olup, miktarı 3-6 $\mu\text{mol/L}$ kadardır. Geri kalan açıl-karnitin türevlerinin toplamı 5 $\mu\text{mol/L}$ ’den daha düşüktür. Açıl karnitin ve serbest karnitin oranı serbest karnitin kullanılabilirliğini göstermektedir. Normalde açıl karnitin serbest karnitine oranı 0,19’dur. Açıl karnitin/serbest karnitin oranı 0.4’den büyük olması serbest karnitin eksikliğini göstermektedir (64).

Karnitin vücuttaki yarılanma ömrü yaklaşık 15 saattir ve atılımı serbest karnitin ya da açıl karnitin esteri biçiminde böbrekler yolu ile olur. Glomerüllerden süzülen karnitin % 98-99’u tubuler reabsorbsiyona uğrar. Böbrekler yoluyla 5 $\mu\text{mol/kg/gün}$ karnitin atılımı olur. Çok az bir bölümü de feçes ile atılır (65). Normal koşullarda idrarda açıl karnitin olarak asetil karnitin bulunur ve idrardaki açıl-karnitin/serbest karnitin oranı plazmaya oranla daha yüksektir. Serbest karnitin, karnitin esterlerine göre daha fazla tübüler reabsorbsiyona uğradığı için karnitin esterlerinin renal klirensi serbest karnitine göre 4–8 kat daha fazladır. Böbreklerde L-karnitin esterifikasyonu sonucu oluşan asetil-L-karnitin (ALCAR) bileşiğinin vücuttaki fazla karnitin atılım yolu olduğu düşünülmektedir (61).

2.2.2. Karnitin Biyosentezi

Karnitin biyosentezi için lizin ve metiyonin amino asitleri gereklidir. Ayrıca sentez için demir, niasin, askorbik asit ve B6 vitamini kofaktör olarak kullanılmaktadır. Lizin, metiyonin, B6 vitamini, askorbik asit veya demir eksikliğine bağlı olarak vücut sıvı veya dokularındaki karnitin seviyelerinin azaldığı gösterilmiştir (66). Karnitin biyosentezi Şekil 2’de özetlenmiştir.



Şekil 2: Karnitin biyosentezi

Karnitin yapısındaki üç metil grubu S-Adenozilmetiyonin (SAM)'den sağlanırken, lizin ise yapıdaki azot ve diğer karbon atomlarının kaynağıdır. Sentez mitokondride başlayıp sitoplazmada sonuçlanan bir reaksiyon dizisi şeklindedir. Sentez sırasında oluşan γ -bütirobetain (Deoksikarnitin, DOC)'nin karnitine hidroksilasyonu insan renal dokusu başta olmak üzere, beyin, epididim ve karaciğer ile sınırlıdır. Bu nedenle diğer dokulardan DOC prekürsörleri hidroksilleyici dokulara kan yoluyla taşınır. Trimetillizin (TML) en fazla kas dokusunda bulunmaktadır. Kas dokusu tarafından salınan TML'nin büyük bir kısmı böbrekler tarafından alınarak burada DOC ve karnitine çevrilir. İnsan böbreği TML'i alma ve β -hidroksilaz aktivitesi yolu ile DOC'a çevirme kapasitesi en yüksek organdır. Yeni sentezlenen karnitin kan yoluyla tekrar kaslara gelir. Karnitin sentezindeki bu döngüye “organlar arası transport” adı verilmektedir. Karaciğer ve böbrek sentezlediği karnitini dolaşıma verirken, beyin ve epididim sentezlediği karnitini kendileri kullanır. Yüksek karnitin konsantrasyonuna sahip olan iskelet ve kalp kasları karnitin sentez edemezler. İskelet ve kalp kasları büyük ölçüde enerji metabolizmalarını yağ asidi oksidasyonundan sağladıkları halde sentez edemedikleri karnitini dolaşımdan almakta ve özellikle uzun zincirli yağ asidi transportu için mitokondrilerine kazandırmaktadırlar (9).

2.2.3. Karnitinin Fonksiyonları

Günümüze kadar karnitinin bilinen yağ asidi β -oksidasyonundaki hayati rolüne ilave olarak çeşitli fonksiyonları tarif edilmiştir (56,63). Karnitin fonksiyonları şu şekilde sıralanabilir;

1- Uzun zincirli yağ asitlerinin iç mitokondriyal membranın bir tarafından diğer tarafına transferini sağlar ve mitokondriyal yağ asidi oksidasyonu için esansiyel bir kofaktör olarak fonksiyon görür.

2- Dallı yan zincirli amino asitlerin metabolizmasına aracılık eder. Karnitin valin, lösin, izolösin, gibi dallı zincirli aminoasitlerin oksidasyonunu stimüle eder. Mitokondriye dallı zincirli aminoasitlerin yıkım ürünü olan α -ketoasitlerin girişi arttığı zaman dallı zincirli açıl karnitinler oluşmaktadır. Lösin, izolösin ve valinin, dallı zincirli açıl- karnitin yoluyla mitokondri ve peroksizom dışına taşınması katabolizmalarında çok önemlidir. Çünkü lösinin katabolizması sonucu oluşan izovaleril-CoA'nın mitokondri dışına taşınması karnitin yetmezliği halinde aksar ve izovaleril-CoA birikimi sonucu izovalerik asidemi gibi metabolik bozukluklara neden olabilir.

3- Karaciğerde peroksizomal β -oksidasyon ile oluşan açıl gruplarının mitokondriye taşınmasında bir mekik fonksiyonu görür.

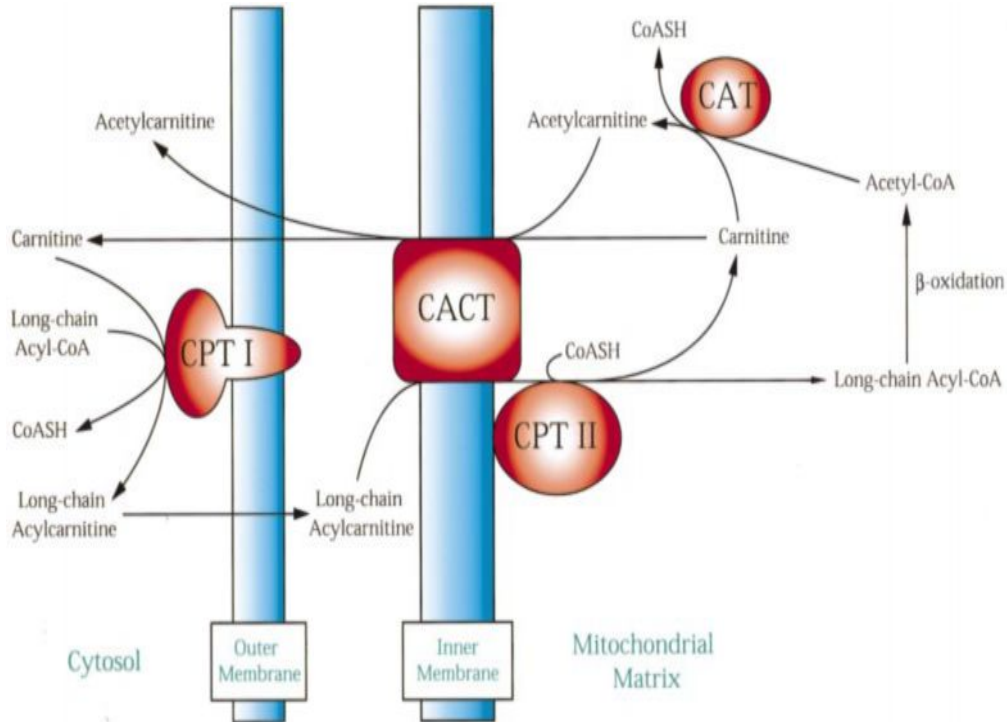
4- Memeli hücrelerinde sitozol ve mitokondri arasındaki açıl-CoA/CoA oranını düzenler. Mitokondride birikimi toksik olabilen açıl grupları miktarının düzenlenmesi ve uzaklaştırılmasını sağlar.

5- Glukoneogenezi, yağ asidi sentezini ve keton sentezini düzenleyici rolü vardır. Piruvatın sitrik aside dönüşümünü sağlayan piruvat dehidrogenaz enziminin aktivitesini artırır, piruvatın laktik aside dönüşmesi baskılanır ve bu şekilde hücre içi laktik asit birikimi de önlenir.

6- Karnitinin immüneyi düzenleyici etkileri olduğu ileri sürülmektedir. Bu etkileri anti-apoptotik özelliği ile CD4 ve CD8 lenfosit sayısını artırarak sağladığı ifade edilmiştir.

7- Serbest radikallerin uzaklaştırılmasında karnitin esterlerinin “radikal temizleyicisi” rolü olduğu gösterilmiştir.

8- Karnitin, kolesterol turnoverini safra asidi sentezini artırmak yoluyla hızlandırır ve vücut kolesterol miktarını düzenler.



Şekil 3: Yağ asitlerinin mitokondriye girişi ve karnitinin rolü (9)

(CPT-I: Karnitin palmitoil transferaz-I, CPT-II: Karnitin palmitoil transferaz-II, CACT: Karnitin-açilkarnitin translokaz, CAT: Karnitin açıl transferaz)

Yağ asitlerinin katabolizması için ana yolak yağ asitlerinin mitokondriye taşınması ve beta oksidasyonudur. Kısa ve orta zincirli yağ asitlerinin mitokondri içindeki oksidasyonları karnitinden bağımsız olarak oluşabildiği halde, uzun zincirli yağ asitlerinin oksidasyonu ancak karnitin varlığında gerçekleşebilmektedir (Şekil 3).

Karnitin mitokondri içinde oluşan kısa zincirli açıl rezidülerinin ve fizyolojik olmayan bazı bileşiklerin (benzoik asit, pıvolik asit gibi) eliminasyonu ve yakalanmasında rol oynar. Bu yol ile enerji metabolizması için ihtiyaç duyulan serbest CoA'nın ve aynı zamanda mitokondriden fazla miktardaki asetil ve açıl-CoA gruplarının taşınması sağlanır (57).

Karnitin Eksikliği

Karnitin eksikliği metabolik bir durum olup karnitin miktarının organizmanın faaliyetleri için gerekli olan kan ve doku düzeyinde olmamasıdır. Karnitin eksikliğinin biyolojik etkileri normal değerinin % 10–20'sine düşünceye kadar görülmemektedir. Dokulardaki karnitin içeriğinin azalmasının nedenleri arasında; karaciğer ve böbrekte sentezinin azalması, böbrekten atılımının artması, diyetle yetersiz alım veya emilim bozukluğu, dokularda taşınma bozukluğu, esterleşmiş karnitin artması nedeniyle serbest karnitin miktarının azalması gibi faktörler tarif edilmiştir (67,68). Primer ve sekonder olmak üzere iki tip karnitin eksikliği tanımlanmaktadır (Tablo 8).

Tablo 8: Karnitin eksikliği tipleri ve nedenleri

1- Primer Karnitin Yetersizliği

Kas karnitin yetersizliği
Sistemik karnitin yetersizliği
Ailesel kardiyomyopati
Karnitin taşınma bozukluğu

2- Sekonder Karnitin Yetersizliği

Genetik geçişli;
Organik asidüriler
 β –oksidasyon bozuklukları
Solunum zincirleri bozuklukları

Edinsel;
Hemodiyaliz, siroz, Fanconi sendromu, Reye benzeri sendrom, total parenteral beslenme
İlaçlar; Valproik asit ve deriveleri, Doksorubisin, Azatiyoprin, İzotretinoin, Zidovudin, Pivampisilin, Tiyoasetamid kullanımı

Primer karnitin eksikliği; karnitin biyosentezindeki veya transportundaki genetik defektlere bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Primer karnitin eksikliğinin klinikte miyopatik ve sistemik formları vardır. Miyopatik tip karnitin eksikliğinde plazma karnitin düzeyi genellikle normaldir. Defektin karnitin plazmadan kas hücresi içine transportunu sağlayan taşıyıcı proteinde olduğu sanılmaktadır. Primer sistemik karnitin eksikliğinde ise bütün dokularda ve çoğu zaman plazmada karnitin düzeyi azalmıştır. Kas gibi diğer dokularda da nötral yağ birikimi görülür. Klinikte kas güçsüzlüğü, kardiyomyopati, karaciğer yetmezliği ve ensefalopati tablosu ile karşılaşılabılır. Ensefalopatinin nedeni, hipogliseminin yanı sıra beynin kullanımı için keton bileşiği üretilmemesidir. Primer sistemik karnitin eksikliğinin karnitin glomerüler filtrattan geri emilimini sağlayan renal transport protein eksikliği sonucu geliştiği ifade edilmektedir.

Karnitin transport defektleri dışında kalan diğer nedenler sekonder karnitin eksikliğine yol açmaktadır. Serum ve dokularda karnitin seviyesi düşüktür. Sekonder karnitin eksikliği bazı genetik geçişli metabolik hastalıklarda (yağ asidi oksidasyon bozuklukları, organik asidemiler) açıl-karnitin renal hücrelerde karnitin transportunu inhibe etmesi ile oluşabilmektedir. Hemodiyalize alınan son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda halsizlik, çabuk yorulma, kramp ve uyuşukluğa yol açan kas disfonksiyonları multifaktöriyeldir ve kronik hemodiyalizle ilişkili kas zayıflığında karnitin yetersizliği bir neden olarak veya en azından katkıda bulunan bir faktör olarak göz önünde bulundurulmalıdır. Valproik asit tedavisi alan hastalarda sekonder karnitin eksikliğine rastlanmıştır.

Karnitin eksikliğinin başlıca klinik bulguları arasında tekrarlayan akut ensefalopati, kusma, şuur bulanıklığı, kardiyomyopati, hepatomegali ve Reye sendromu gibi klinik tablolar sayılabilmektedir. Kardiyomyopati, ensefalopati, nonketotik hipoglisemi, progressif kas güçsüzlüğü, miyopati, büyüme geriliği ve sık enfeksiyon geçiren hastalarda karnitin eksikliğinin göz önünde bulundurulması gerektiği vurgulanmaktadır. Nonketotik hipoglisemi, metabolik asidoz, transaminazlarda artma, hiperammonemi, hipoprotrombinemi, dikarboksilik asidüri karnitin eksikliğinde başlıca laboratuvar bulguları olarak rapor edilmiştir.

2.2.4. Karnitin ve Lipid Metabolizması

Damar duvarındaki hasar yerinde oluşan serbest radikallerin etkisiyle meydana gelen lipid peroksidleri ateroskleroz için başlatıcı bir faktör olarak kabul edilmektedir. Karnitin aterosklerotik lezyonlara karşı koruyucu olduğu, hiperlipidemide kan ve dokularda karnitin konsantrasyonunun azaldığı gösterilmiştir. Karnitin bu koruyucu etkisini serbest radikal süpürücü ve antioksidan özellikleri ile yapmaktadır. Sayed-Ahmed ve ark.'nın hiperkolesterolemik tavşanlarda aterosklerotik lezyon oluşumu üzerine L-karnitin etkisi inceledikleri çalışmada 28 gün boyunca 250 mg/kg L-karnitin verilmesinin aorta ve koroner arterlerde aterosklerotik lezyon oluşumunu önlediği gösterilmiştir (69).

Karnitin kullanımının lipid düzeylerini düşürdüğü pek çok çalışmada ortaya konmuştur. Tanaka ve ark. ratlara 3 ay boyunca 100 mg/kg/gün asetil-L-karnitin (ALCAR) verilmesinin bütün lipoprotein fraksiyonlarında özellikle triaçilgliserol ve kolesterol düzeylerinde azalma sağladığını belirtmiştir (70). Diaz ve ark. yaptığı çalışmada diyet % 0.5 kolesterol eklendiğinde total kolesterolde 40 kat artma olduğu, diyet 80 mg/kg L-karnitin eklendiğinde ise kolesteroldeki artışın % 50 azaldığı izlenmiştir (71). Güneş ve ark. çalışmasında hiperlipoproteinemili çocuklarda 12 hafta boyunca 100 mg/kg/gün L-karnitin verilmesinin Tip II heterozigot hastalarda HDL ve Apo AI seviyelerinde azalma sağladığı belirtilmiştir (72). Hong ve ark. yaptığı çalışmada 2 hafta süreyle 200 mg/kg/gün L-karnitin alan kişilerde adriamisine bağlı gelişen total kolesterol, trigliserid ve LDL-kolesterol yüksekliğinin önemli derecede azaldığı bulunmuştur (73). Kosan ve ark. diyalize giren pediatrik hastalara 30 gün boyunca 50 mg/kg/gün L-karnitin verilmesi sonucunda apolipoprotein B seviyesinde belirgin azalma bulmuşlardır (74).

Diyabette insülin yetersizliği veya etkisizliği nedeniyle hücreler glukozdan yeterince faydalanamaz. Enerji sağlamak için lipoliz ve serbest yağ asitleri (FFA) artar. FFA'nin hepsi Krebs döngüsüne giremediği için keton cisimleri sentezi artar. Serbest karnitin başta FFA olmak üzere artan toksik metabolitlerle esterleşerek bunların idrarla atılmalarını sağlar. Bu esnada serbest karnitin ve total karnitin düzeyi azalır. Koyuncu ve ark. diyabetik hastalarda serbest karnitin düzeylerinin düştüğünü, açıl-karnitin /serbest-karnitin oranında ise artış (>0.46) meydana geldiği göstermiştir (75). Derosa ve ark. Tip II diyabetli hiperkolesterolemik hastalarda yaptığı çalışmada 6 ay süreyle 1 g/gün L-karnitin kullanımının ağırlıkta ve vücut kitle indeksinde değişim yapmadığı bulunmuştur (76). Yaşlılık; halsizliğin, mental sağlıkta bozulmanın olduğu, hareketliliğin ve dayanıklılığın azaldığı bir durumdur. Malaguarnera ve ark 6 ay boyunca 2 g/gün levokarnitin verilmesinin yaşlılarda total yağ

kitlesini azalttığını, kas kitlesinde, fiziksel ve bilişsel fonksiyonlarda artış yaptığını göstermiştir (77).

2.2.5. Oksidan-Antioksidan Denge ve Karnitin

Sağlıklı organizmalarda, oksidan etki ile antioksidan sistem arasında bir denge vardır. Bu denge oksidan etki lehine bozulduğunda oksidatif stres oluşmaktadır (78). Oksidan etki ile antioksidan savunma arasındaki dengenin bozulmasının yani oksidatif stresin kardiyovasküler ve inflamatuvar hastalıklar, Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif bozukluklar, kanser, diyabete bağlı polinöropatiler, katarakt oluşumu, iskemi/reperfüzyon hasarı gibi birçok hastalığın tetikleyicisi olduğu veya hastalığın bir sonucu olarak oluşarak doku hasarına neden olduğu bilinmektedir. Reaktif oksijen türleri gibi serbest radikaller aterogenez sürecinde rol alan adezyon moleküllerinin ekspresyonunda artış, vasküler düz kas hücre proliferasyonu ve migrasyonu, endotelde apoptoz, lipidlerin oksidasyonu (okside LDL), proteolitik matriks metalloproteinazların (MMP) aktivasyonu ve vazomotor aktivitede değişiklikler gibi birçok önemli olayı başlatırlar. Erken dönemde endotel disfonksiyonuyla başlayan süreç, oksidan uyarının devam etmesi ve antioksidan enzim aktivitesindeki yetersizliğe bağlı olarak hızla aterosklerotik plaktan aşikar koroner arter hastalığına kadar ilerlemektedir. İnsan koroner arterlerinden elde edilen örneklerde SOD gibi antioksidan enzim aktivitesinde azalmanın gösterilmiş olması, oksidatif stres ve ateroskleroz ilişkisinin önemli bir kanıtıdır (79).

Antioksidan sisteme ait moleküller başlıca hücrenin sitoplazmasında, membranında ve hücre dışı sıvılarda bulunurlar. Antioksidanlar doğal (endojen) ve ekzojen kaynaklı olmak üzere iki ana gruba ayrılabilir gibi, enzim ve enzim olmayanlar şeklinde yapılarına göre, çözünürlük özelliklerine ve organizmadaki dağılımlarına göre de sınıflandırılabilirler. Karnitin vücutta bulunan enzim olmayan moleküllerden biridir.

L-Karnitin, uzun zincirli yağ asitlerinin β -oksidasyonu ile ATP üretimi için hayati önem taşıyan bir bileşiktir. L-Karnitin eksikliği veya fonksiyonu ile ilgili bir bozukluk durumunda yağ asitlerinin mitokondriye transportunu interfere eder ve sitoplazmada serbest yağ asitleri birikir. Mitokondride yağ asitlerinin azalan düzeyleri β -oksidasyonu sınırlar ve daha az enerji oluşumuna yol açar. Karnitin desteği yağ asidi transportunu arttırarak ATP üretimini arttırabilir. L-Karnitin'in antioksidan etkisi olduğu ve serbest radikal temizleyicisi (scavenger) olarak hücreleri ROS'den koruduğu öne sürülmektedir (80).

Asetil-L-Karnitin (ALCAR) yağ asidi oksidasyonu esnasında asetilkolinin mitokondriye girişini kolaylaştırır, asetilkolin üretimini, protein ve membran fosfolipidlerinin

sentezini arttırır. ALCAR lipid hidroperoksit üretimini azaltarak antioksidan aktivite göstermektedir. Mansour ve ark. radyasyonun karaciğer ve akciğer dokularındaki oksidatif hasara asetil-L-Karnitinin koruyucu etkisini incelemişlerdir. 5 gün boyunca 250 mg/kg ALCAR verilen ratlarda süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz enzim aktivitelerinde ve redükte glutatyon seviyesinde artış izlendiğini belirtmişlerdir (81).

L-Karnitin ve bazı esterlerinin (asetil-L-karnitin) ksantin oksidazı kısmen inhibe ettiği ve buna bağlı olarak hipoksi-reoksijenasyon hasarını inhibe ettiği ifade edilmektedir (14). Shug ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda asetil-L-karnitinin mitokondriyel süperoksit anyon üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir. Asetil-L-Karnitin'in mitokondriyel fonksiyonu geliştirdiği ve yaşlanmaya bağlı etkileri geri döndürdüğü rapor edilmiştir. Ayrıca, karnitin ve karnitin türevlerinin enerji üretimine aracılık ederken direkt ya da indirekt olarak molekülleri oksidatif hasardan koruduğu ve hasarlı biyomoleküllerin tamirine ve aracılık edebileceği ifade edilmiştir (82). L-Karnitin'in bir şelatör olarak etki ederek lipid peroksidasyonunu indükleyen metal iyonlarının (Fe) miktarını azalttığı gösterilmiştir (83). Ayrıca karnitinin glutatyon miktarını artırdığı ileri sürülmüştür (84).

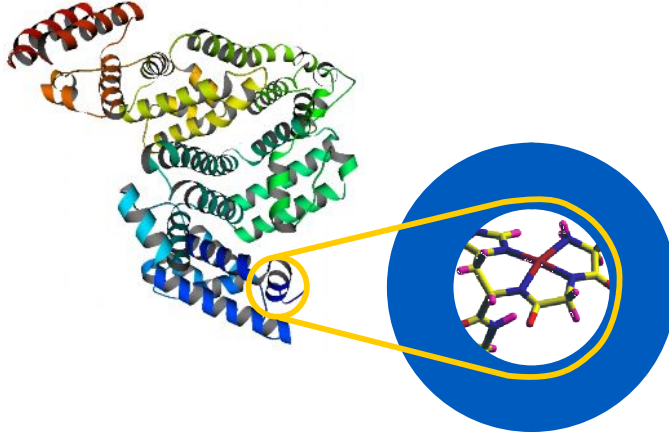
İskemik dokularda β -oksidasyonun yavaşlaması sonucu biriken Açıl-CoA ile tepkimeye giren karnitin açıl gruplarının anoksik hücre dışına çıkarılmasını sağlamaktadır. Böylece mitokondri içi Açıl-CoA düzeyi azalır, adenin nükleotid translokaz serbest kalır, ATP ve CoA düzeyleri artar, asetil-CoA/CoA oranı azalır ve alfa-ketoglutarat Krebs siklusunda kullanılır. Ayrıca aerobik pirüvat metabolizması uyarılır ve pirüvatın laktik aside dönüşmesi baskılanır; bu şekilde hücre içi laktik asit birikimi ve asidoz da önlenir. Ancak uzun süreli veya ısrarlı iskemide uzun zincirli açıl karnitin esterlerinin birikimine bağlı olarak dokulardaki karnitin rezervinin hızla tükendiği gösterilmiştir (85).

L-karnitin ve türevleri; reaktif oksijen türevleri oluşumunu önleme, serbest radikalleri süpürme ve peroksil, hidroksil radikallerle etkileşimi ile hücreleri peroksidatif strese koruma yeteneğindedirler. Luo ve ark. tarafından yapılan çalışmada intraperitoneal doxorubisin uygulanan ratlara 2 hafta süreyle 2.5 mg/kg L-karnitin verilmesinin doxorubisinin neden olduğu lipid peroksidasyonunu anlamlı olarak azalttığı gösterilmiştir. Başka bir çalışmada Önal ve ark. renal iskemi uygulanan sıçanlarda L-karnitin kullanımının böbreği iskemi-reperfüzyon hasarından koruduğu ve sağ kalım süresini uzattığı göstermişlerdir (86).

2.3. İSKEMİ-MODİFİYE ALBÜMİN (İMA)

İnsan serum albümini kanda en fazla bulunan proteindir, normal miktarı 3.5–5.3 g/dL'dir ve karaciğerde sentezlenir. 585 aminoasitlik bir primer zincirden meydana gelen albümin 17 disülfid köprüsü ve bir serbest sistein amino asiti içerir. Molekül ağırlığı 66 kDa olup diğer türlerde olduğu gibi 3 homolog domainden meydana gelir. Plazma onkotik basıncın oluşturulmasında önemli olan albümin, kan pH'sının ayarlanmasında da tampon görevi görür. Amino asit deposu gibi görev yaparak karaciğerin protein sentezi aktivitesini destekler. Tiroksin, bilirübin, kortizol, östrojen, serbest yağ asitleri, warfarin ve penisilin gibi çeşitli ilaçların, kalsiyum, magnezyum, hemin gibi metabolizma için önemli ya da toksik olan organik veya inorganik birçok maddenin taşınmasında görev almaktadır (87).

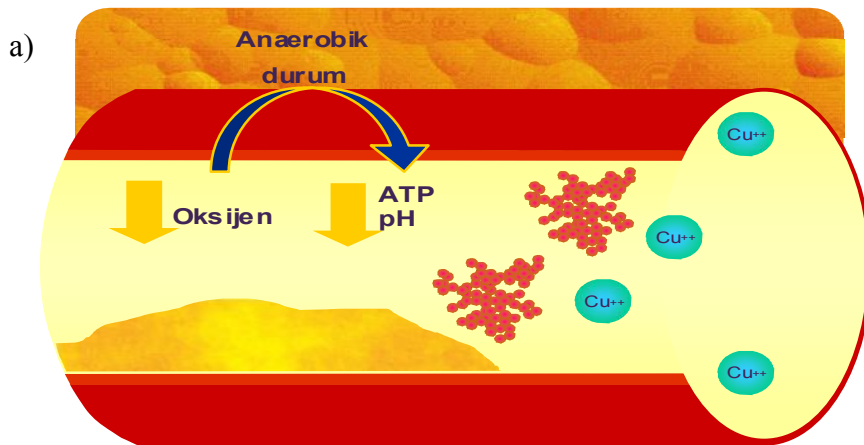
İnsanlarda geçiş metallere olan bakır (II), nikel (II) ve kobaltın (II) primer yüksek affinite bağlanma bölgesinin, albüminin N-terminalinde lokalize olduğu ve bu bölgedeki ilk üç aminoasit olan aspartik asit, alanin ve histidin bağlanma koordinasyonunu sağladığı kesin olarak kanıtlanmıştır (Şekil 4). Özellikle 3. pozisyondaki histidin bakırın bağlanmasında en önemli amino asit olduğu ortaya konmuştur (88).

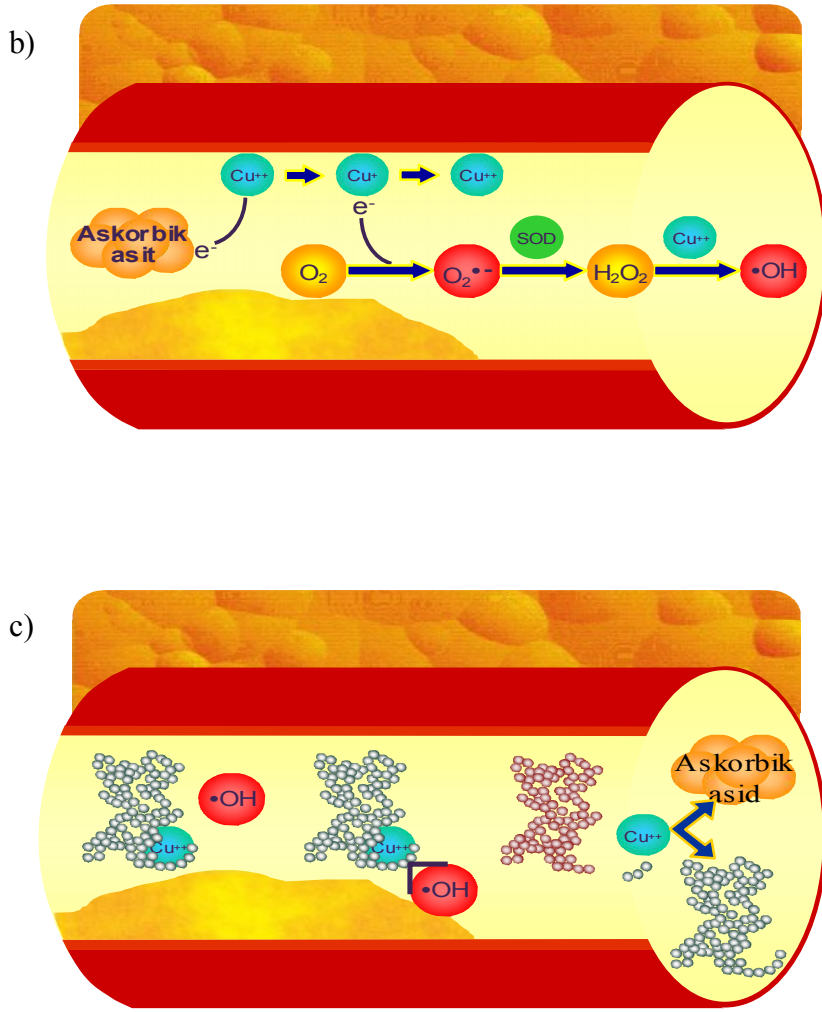


Şekil 4: Albüminin N-terminal bölgesindeki geçiş metallere bağlandığı Asp-Ala-His-Lys amino asitleri.

Sokolowska ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda albüminin N-terminali dışındaki başka kısımlarında geçiş metalleri için zayıf bağlanma bölgeleri de bulunmuş fakat bu bölgelerin fizyolojik fonksiyonları ve önemi tam olarak açığa kavuşturulamamıştır. Kobaltın bu bölgelere zayıf bağlandığı deneysel olarak gösterilmiştir (89). Normal koşullarda kobalt, bakır, nikel gibi geçiş metalleri albüminin N-terminal bölgesine sıkıca bağlanabilirler. İskemik şartlar altında ortamda hipoksi, asidoz ve serbest radikallerin artışının bir sonucu olarak albüminin N-terminal ucu konformasyonel değişikliğe uğrar ve geçiş metallerinin bağlanması azalır. Oluşan bu yeni yapı İskemi Modifiye Albümin (IMA) olarak adlandırılır. Bar-Or ve arkadaşlarının yaptığı iki çalışmayla bu modifikasyonun albüminin N-terminal bölgesindeki N-Asp-Ala-His-lys dizisindeki değişikliklerden kaynaklandığı gösterilmiştir.

İskemi veya iskemi-reperfüzyon süresince oluşan serbest radikaller, asidoz ve sodyum-kalsiyum pompalarının bozulması gibi etkiler albuminin N-terminal bölgesinde meydana gelen konformasyonel değişikliklerin ana nedenleri olarak suçlanmıştır (90,91). Vücudun herhangi bir bölgesinde iskeminin başlamasından kısa bir süre sonra hücre içi ortamda veya taşıma proteinlerine bağlı olan bakır, demir serbestleşerek ve dolaşıma salınarak serbest konsantrasyonlarında artma meydana gelir (92). Bu redoks aktif metal iyonlarının fenton reaksiyonları ile ortamdaki oksijene olan etkileri sonucunda reaktif oksijen zararlı ürünleri meydana gelmektedir. IMA oluşmasında daha çok hidroksil (OH⁻) radikalinin etkili olduğu tahmin edilmektedir (93). İskemik şartlarda IMA oluşumu Şekil 6'da özetlenmiştir (94).





Şekil 5: İskemik şartlarda serbest oksijen radikallerinin üretimi ve IMA oluşumu (a,b,c)

Bar-Or ve Bhagavan tarafından 90'lı yılların sonunda miyokard iskemisinin değerlendirilmesi amacıyla albüminin kobalt bağlama kapasitesindeki değişmeyi tahmin etme prensibine dayanan ilk çalışmalar yapılmıştır (7,8). Bar-Or ve arkadaşlarının 2001 yılında yaptıkları çalışmada perkütan transluminal koroner anjioplasti (PTCA) ile geçici iskemi meydana gelen hastaların kanlarında IMA konsantrasyonunun birkaç dakika içinde artmaya başladığı, daha sonra yapılan anjioplasti ile de reperfüzyon sağlandığında yaklaşık 6 saat sonra iskemisi olmayan kişilerdeki seviyelere indiği tespit edilmiştir (95).

Son dönem böbrek yetmezliği hastalarında, karaciğer yetmezliğinde, serebrovasküler hastalıklarda, aşırı travmalarda, bazı neoplastik hastalıklarda ve infeksiyonlarda da serum IMA seviyelerinin anlamlı olarak yükseldiği gösterilmiştir. IMA; kardiyak iskemi tanısında ve akut koroner sendrom risk sınıflandırılmasında acil servislerde kullanılacak USA Food

and Drug Administration (FDA) onaylı tek iskemi markörüdür. Son yıllarda yapılan çalışmalarda kardiyak arrest, mezenter iskemisi, pulmoner emboli, derin ven trombozu ve kritik bacak iskemisi gibi durumlarda IMA'nın iskeminin tespiti ve hastalığın prognozunun belirlenmesinde kullanılabileceği ileri sürülmüştür. Yapılan çalışmalarda sağlıklı kontrol grubu IMA değeri ortalaması (0.163 ± 0.025) absorbans ünitesi (ABSU) olarak ölçülmüştür (96).

Dislipidemik bireyler ateroskleroz zemini ve akut koroner sendrom tabloları gibi hayati önemi olan risklerle karşı karşıyadır. Bu riske bağlı olarak muhtemel bir iskemi veya hipoksik koşullara maruzdurlar. Bu koşulların etkisiyle IMA düzeyleri normal bireylerden daha yüksek olabilir. Karnitin lipid, protein, karbohidrat metabolizmasına düzenleyici etkilerinin yanında önemli bir antioksidan olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada fındık tüketiminin lipidler ve ateroskleroz üzerine iyileştirici etkilerinin mekanizmalarına yönelik olarak fındık diyetinin kan karnitin seviyelerine etkisi incelenmiştir. Fındığın lipid düşürücü ve antioksidan etkilerine ilave olarak eğer karnitin seviyeleri üzerine etkili ise kan IMA düzeylerini de değiştirebileceği düşünülmektedir.

3. MATERYAL ve METOD

3.1. MATERYAL

3.1.1. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

Biyokimya otoanalizörü (ROCHE DIAGNOSTICS Modular System, DPP)

Tandem Mass Spektrometre (APPLIED BIOSYSTEMS MDS SCIEX API 3200 LC/MS/MS SYSTEM; TRIPLE QUADRUPOLE MASS SPECROMETRY SYSTEM, SHIMADZU PROMINENCE HPLC SYSTEM)

Spektrofotometre (SHIMADZU, UV-1601 UV/Visible Spectrophotometer) ve küvetleri

Derin dondurucu (THERMA ELECTRON CORPORATION FORMA -86C ULT FREEZER)

Karıştırıcı (AUTOVORTEX MIXER SA2)

Santrifüj (EPPENDORF 5810)

Hassas terazi (OERTLING NA164)

Buzdolabı (ARÇELİK)

Deiyonize su cihazı (BARNSTEAD)

Guthrie kağıdı (SCHELEICHER AND SCHUELL, grade 903 filtreli kağıt)

Delme aleti (çapı 3 mm)

Yarı otomatik pipetler (FINN PİPET, SOCOREX)

Cam malzemeler (cam pipet, balon joje, mezür, beher, cam tüp), ependorf tüpleri ve mikropleyt

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Metanol (SIGMA)

Karnitin ve aminoasit döteryum izotop işaretli standart (CAMBRIDGE)

Bütanol (SIGMA)

Hidroklorik asit (SIGMA)

Asetonitril (SIGMA)

Kobalt Klorür (CoCl₂) (SIGMA)

Dithiothreitol (DTT) (SIGMA)

3.1.3. IMA Tayininde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

1) % 0.1 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi: 0.025 g $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ tartıldı, çözelti hacminin yaklaşık yarısı kadar distile suda çözüldükten sonra hacim 25 mL'ye tamamlandı.

2) 1.5 mg/mL DTT çözeltisi: 37.5 mg DTT tartıldı, çözelti hacminin yaklaşık yarısı kadar distile suda çözüldükten sonra hacim 25 mL'ye tamamlandı.

3.2. METOD

3.2.1. DeneYlerin Planlanması ve Örneklerin Toplanması

Dislipidemik bireylerde fındık tüketiminin serum L-Karnitin ve IMA düzeyleri üzerine etkisini incelemek amacıyla yapılan bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında yürütüldü. NCEP ATP III (National Cholesterol Education Programme Adult Treatment Panel III) kriterlerine göre ilaç tedavisi gerektirmeyen hiperkolesterolemik gönüllü bireyler üzerinde yapılan bu çalışmaya dahil edilen bireyler; daha önce bölümümüzde yürütülen "Dislipidemik bireylerde fındık tüketiminin plazma lipidleri, lipoproteinleri ve bunların alt birimleri, LDL oksidasyon kapasitesi, plazma ve eritrosit oksidan-antioksidan kapasiteleri ve endotel fonksiyonları üzerine etkileri" isimli ve etik kurul nosu 2007/10 ile daha önce etik kurul onayı almış, çalışmaya kabul edilen ve çalışmayı tamamlayan kişilerden seçilmiştir. Çalışmada 15 bay, 2 bayan toplam 17 kişi yer almıştır. Diyabet, obezite, hipertansiyon, koroner arter hastalığı veya başka herhangi bir sistemik hastalığı olanlar ve düzenli ilaç kullananlar çalışma grubuna dahil edilmemiştir. Bireylere vücut kitle indeksine, vücut ağırlığına ve belirlenen yağ yüzdelerine göre ideal sınırlara gelebilmeleri için başlangıçtan itibaren bir ay boyunca metabolik stabilizasyon için diyet uygulanmıştır. Takip eden ikinci bir aylık dönemde şahısların diyetlerine enerji ihtiyacının %18-20'sini karşılayacak şekilde fındık ilave edilmiştir. Yenmesi gereken günlük fındık miktarının yarısı sabah saat 10.00-11.00 arasında, diğer yarısı da öğleden sonra saat 15.00-16.00 arasında olmak üzere ikiye bölünerek tüketilmiştir. Son bir aylık dönemde ise bireylere fındık tüketilen dönemdeki eşdeğer kaloriye karşılık gelen fındıksız kontrol diyeti uygulanmıştır. Böylece literatürde sert kabuklu meyvelerle yapılan çalışmalarda uygulanmış olan çalışma süresi, fındığın tüketim miktarı ve tüketim şekli standardize edilmeye

çalışılmıştır. Bireylerden çalışmanın başlangıcında (0.gün), metabolik stabilizasyon sonrasında (30.gün), fındık diyeti sonunda (60.gün) ve fındıksız kontrol diyeti sonunda (90.gün) olmak üzere 4 farklı zamanda kan örnekleri alınmıştır. Bir gecelik açlık dönemini takiben bireylerden serum seperatör jel içeren tüplere ve antikoagülan olarak 1mg/mL K₃-EDTA içeren vakumlu tüplere venöz kan alınmıştır. Kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serum ve plazmaları elde edildikten sonra serum örneklerinde hemen lipid metabolizmasına ait testler analiz edilmiştir. L-Karnitin ve IMA tayini için ayrılan plazma ve serum örnekleri analiz edilinceye kadar -80 °C'de saklanmıştır.

3.2.2. Otoanalizörlerde Tayin Edilen Parametreler

Serum total kolesterol, trigliserid, HDL-kolesterol ve LDL-kolesterol tayinleri ROCHE/DIAGNOSTICS Modüler DPP otoanalizörlerinde kendi orijinal kitleri kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm testlerin tayini günlük kalite kontrol uygulamalarının ardından yapıldı.

3.2.3. L-Karnitin Tayini

3.2.3.1. Örnek Hazırlama ve Analiz

-80 °C'de saklanan plazma örnekleri önce +4 °C de bekletilerek daha sonra da oda ısısına getirilerek vortekslendi ve homojen çözünürlüğü sağlandı. Bu örnekler L-karnitin tayini için aşağıdaki işlem sırasına göre hazırlandı.

1- Guthrie kağıdına 200 µL örnek pipetlendi, kağıt tarafından örneğin iyice emilebilmesi için 60 dakika beklendikten sonra azot akımı ile kurutuldu. Delme aleti ile guthrie kağıdından 3mm çapında düzgün şekilde kesilen parça mikropleytlere yerleştirildi.

2-Daha sonra her bir kuyucuğa içinde döteryum izotop işaretli standart bulunan 100 µL metanol ilave edilerek vortekslendi, 10 dakika beklendi ve ekstraksiyon sağlandı.

İç standart çözeltileri Cambridge marka olup, dötero izotop işaretli L-karnitin (serbest ve açıl-karnitinler) ve amino asit analoglarını içeren standart üreticilerin önerileri doğrultusunda metanolde hazırlandı. Örneklerdeki amino asit paneli, serbest karnitin ve açıl-karnitin miktarlarının hesaplanmasında bu standartların konsantrasyonları ile orantılı olan pik alanları kullanıldı ve sonuçlar µmol/L olarak rapor edildi.

3-Ekstraksiyon aşamasından sonra içinde küçük ekstraksiyonlar kalacak şekilde mikropleytlar azot akımı ile kurutuldu. Sonra her bir kuyucuğa 60 µL HCl/n-Bütanol ilave edildi, mikropleytlar sıkıca sarıldı ve 60°C de 15 dakika ısıtılarak ekstraktın bütilyasyonu sağlandı. Bu türevlendirme işleminden sonra pleytlar tekrar azot akımı ile kurutuldu.

4-Örnekler %0,005 formik asit içeren su/asetonitril (1/1) ile çözüldükten sonra 250 µL örnek LC/MS/MS sistemine emdirildi. Mobil faz olarak su / asetonitril karışımı kullanıldı.

Cihazın software programına daha önce kaydedilmiş olan standartların konsantrasyonları ve kütle/yük (m/z) oranları kullanılarak örneklerdeki serbest karnitin, açıl-karnitin, amino asit konsantrasyonları µmol/L olacak şekilde hesaplandı. Tandem MS ile karnitinler yanında ölçülen diğer amino asitler Tablo 9'da gösterilmiştir.

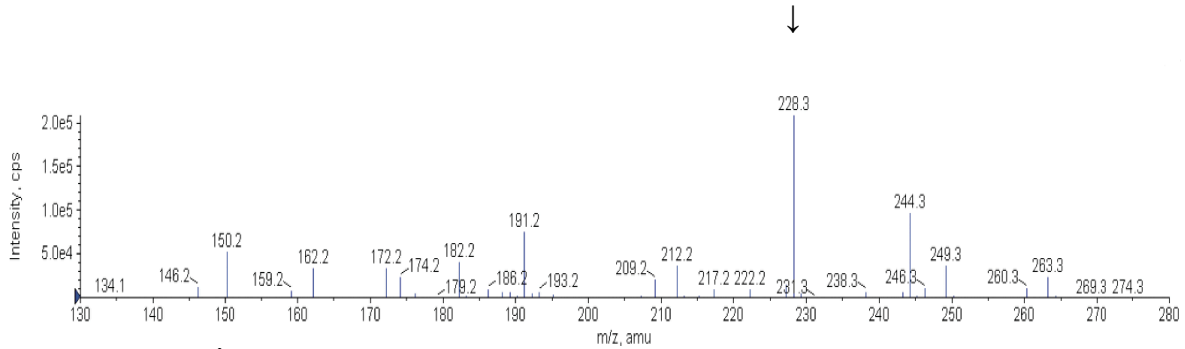
Kütle spektrometreleri manyetik veya elektriksel bir alanda hareket eden yüklü partiküllerin kütle/yük (m/z) oranlarına göre diğer yüklü partiküllerden ayırt edilerek tayin edilmesi esasına göre çalışan cihazlardır. Moleküller normalde yüklü partiküller değildirler ve kütle spektrometreleri iyonizasyon işlemi ile molekülleri uyararak yüklü iyonize moleküller haline dönüştürür. Yüklü moleküller stabil değildirler ve diğer moleküllerle veya bir yüzey ile temas ettikleri zaman fragmentlerine parçalanır ve yüklerini kaybederler. Oluşan her bir iyon spesifik bir moleküler kütleyle, yüke sahiptir ve m/z değerlerinin yoğunluğa karşı gösterdiği bir spektrum ile bileşik tanımlanmaktadır. Her bir iyonun yoğunluğu dedektöre ulaşan miktarı ile orantılıdır ve her bileşiğin spektrumu kendine özeldir. Bilinmeyen bir örneğin analizi sonucu elde edilen spektrum referans spektrum ile karşılaştırılarak tanımlanır. Kütle spektrometresi uzun yıllardır kullanılan analiz metodlarından biridir. Günümüzde bilgisayar kontrollü son derece hassas kütle spektrometreleri üretilmiş, araştırma ve analiz laboratuvarlarında kullanılan önemli cihazlar haline gelmiştir. Kütle spektrometrisinin tıp alanında kullanımı son yıllarda önemli oranda artmıştır. Özellikle metabolik hastalıkların tanısında ve yenidoğan dönemindeki tarama programlarında kütle spektrometrisinin önemi son derece fazladır. Bu sistemler diğer yöntemlere göre daha zor ve pahalı olmasına rağmen basit örnek hazırlanması, yüksek sensitivite ve spesifisite, kısa sürede çok sayıda örnek çalışılabilmesi gibi önemli üstünlükleri nedeniyle tercih edilmektedir (98).

Tablo 9: Tandem MS kullanılarak ölçülen testler

	L-Karnitin	Amino Asit
Serbest karnitin	C6 DC Adipil-karnitin	Sitrulin
C2 Asetil-karnitin	C6 Metil glutaril-karnitin	Glisin
C3 Propiyonil-karnitin	C14:2-karnitin	Alanin
C4 Bütiril-karnitin	C14:1-karnitin	Arjinin
C5:1 Tiglil-karnitin	C14 Miristoil-karnitin	Arjinosüksinik Asit
C5 İzovaleril-karnitin	C8 DC Subaril-karnitin	Valin
C6 Hekzanoil-karnitin	C14 OH 3 OH Miristoil-karnitin	Glutamin
C5 OH 3OH İzovaleril-karnitin	C16:1 Palmitoleil-karnitin	Lösin-İzolösin
C8:1 Oktanoil-karnitin	C16 Palmitoil-karnitin	Metiyonin
C8 Oktanoil-karnitin	C10 DC Sebasil-karnitin	Fenilalanin
C10:1 Dekanoil karnitin	C18:2 Linoleil-karnitin	Tirozin
C10 Dekanoil-karnitin	C18:1 Oleil-karnitin	Aspartik Asit
C4 DC Metil malonil-karnitin	C18 Stearoil-karnitin	Glutamik Asit
C5 DC Glutaril-karnitin	C18:1 OH 3OH Oleil-karnitin	
C12 Dodesil-karnitin		

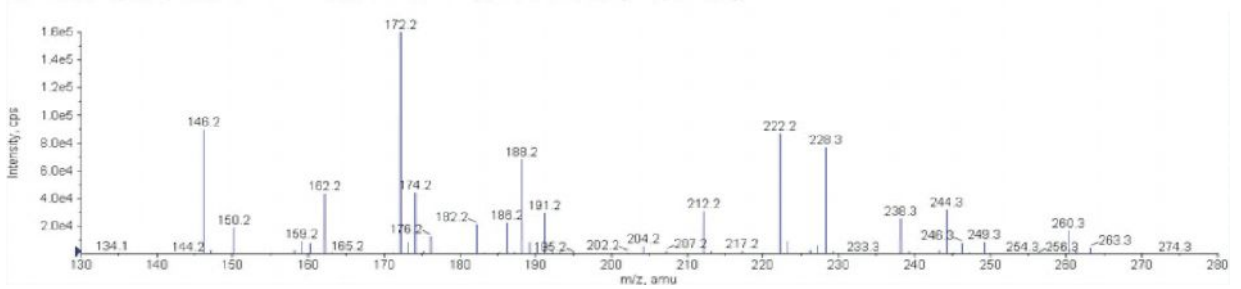
İnternal standartların m/z değerleri ve konsantrasyon verileri esas alınarak örneklerdeki serbest karnitin, açıl-karnitin ve amino asit konsantrasyonları hesaplandı. Analiz edilen molekülün m/z değerine uyan pik alanları döteryum işaretli standartlara ait pik alanları ile ilişkilendirilerek molekülün konsantrasyonu belirlendi ve rapor edildi. Örnek olarak fenilalanin analizinin nasıl yapıldığı Şekil 7 ve 8’de verilmiştir.

İzotop işaretli fenilalanin m/z değeri 228.3



Şekil 6: İnternal standart grafiği

Bütillenmiş fenilalanin m/z değeri 222.2



Şekil 7: İnternal standart eklenmiş bir plazma örneğinin analizi sonucu oluşan grafik örneği

Konsantrasyonu ve m/z değeri bilinen izotop işaretli fenilalaninin standart grafiğindeki sinyal değerleri ve m/z değerleri kullanılarak örnekteki fenilalanin konsantrasyonu hesaplandı.

Plate Results							
File Name	Sample Index	Sample Name	Sample Type	Failed Tests	Phe conc	Tyr conc	Phe/Tyr
LCL of 'Unknown'							
UCL of 'Unknown'					180	200	2
testdata_der	37.00	Sample 1	Unknown		84.76	65.14	1.30
testdata_der	38.00	Sample 2	Unknown	Phe conc, Phe/Tyr	477.49	47.53	10.05
testdata_der	39.00	Sample 3	Unknown	Tyr conc	94.71	452.19	0.21
testdata_der	40.00	Sample 4	Unknown		76.03	75.77	1.00
testdata_der	41.00	Sample 5	Unknown		69.55	56.73	1.23
testdata_der	42.00	Sample 6	Unknown		37.21	19.30	1.93
testdata_der	43.00	Sample 7	Unknown		41.70	37.87	1.10
testdata_der	44.00	Sample 8	Unknown		81.02	69.23	1.17
testdata_der	45.00	Sample 9	Unknown		80.11	83.33	0.96

Şekil 8: MS analizi sonuçlarına ait bir rapor örneği

3.2.4. İskemi Modifiye Albümin Tayini

Serum IMA tayinleri Bar-Or ve ark. tarafından geliştirilen modifiye olmuş albüminin kobaltı bağlama yeteneğindeki azalma sonucu çözeltide artan serbest kobalt düzeyinin ölçülmesi esasına dayanan kolorimetrik “Albümin Kobalt Bağlama (ACB)” metodu kullanılarak yapıldı (7,8). Bunun için;

200 µL’lik hasta serum örnekleri tüplere pipetlendi. Tüplere %0.1’lik 50 µL $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ eklendi ve hafifçe karıştırıldıktan sonra yeterli albümin kobalt bağlanması amacıyla 10 dakika bekletildi. Sonra tüpe renklendirici ajan olarak 50 µL 1.5 mg/mL’lik dithiothreitol (DTT) eklendi. 2 dakika beklendikten sonra albümin ve kobalt arasında meydana gelen bağlanmayı sonlandırmak amacıyla %0.9’luk NaCl’den 1 mL eklenerek reaksiyon durduruldu. Her bir örnek için “örnek körü” hazırlandı. Bu amaçla örnek körü olarak tanımlanan tüplere DTT yerine 50 µL distile su ilave edildi. Bu sayede $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ’e ait absorban ayırt edilmiş oldu. Örneklerin ve örnek körülerinin absorbanları spektrofotometrede 470 nm dalga boyunda ölçüldü. Her bir örnek için ölçülen değerden kendisine ait kör absorbanları çıkarılarak net absorbanlar elde edildi ve sonuçlar “Absorbans Ünitesi (ABSU)” cinsinden rapor edildi. Bu tayin yöntemi albümin kobalt bağlanması gerçekleşikten sonra ortamda kalan serbest kobaltların kantitatif olarak tayin edilmesi prensibine dayanmaktadır. İskemiye bağlı süreçlerin etkisiyle albümin yapısında meydana gelen modifikasyona bağlı olarak albümin-kobalt bağlanmasının azalması sonucu çözeltideki serbest kobalt miktarı artması ile normalden yüksek absorban değerleri tespit edilecektir.

3.3. İstatistiksel Analizler

Çalışmaya dahil edilen 17 şahıstan 4 farklı dönemde alınan kan örneklerinden elde edilen ölçüm değerleri aritmetik ortalama ve standart sapma ($X \pm SD$) şeklinde ifade edildi. Parametrelerin normal dağılıma uygunluğu “Kolmogorov-Smirnov” testi ile belirlendi. Normal dağılıma uyan parametreler “Tekrarlı ölçümlerde tek yönlü varyans analizi” yapılarak değerlendirildi. Grup içi parametreler arasındaki ilişki ve yüzde değişimler arasındaki ilişki “Pearson” veya “Spearman” korelasyon testi kullanılarak incelendi. Dönemler arası yüzde değişimlerin incelenmesinde “Paired t-testi” kullanıldı. $p < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Demografik Verilerin Analizi

Dislipidemik bireylerde fındık tüketiminin serum L-karnitin ve iskemi modifiye albümin düzeyleri üzerine etkisini incelemek amacıyla yapılan çalışma NCEP ATP III (National Cholesterol Education Programme Adult Treatment Panel III) kriterlerine göre ilaç tedavisi gerektirmeyen hiperkolesterolemik gönüllü bireyler üzerinde yapılmıştır. 15 erkek ve 2 bayan olmak üzere toplam 17 kişi (yaş ortalaması 43±10) dört dönemden oluşan bir çalışma programına dahil edilmiştir. Şahısların vücut ağırlıkları ve vücut kitle indeksleri çalışma başlangıcında (0.gün), metabolik stabilizasyon diyeti sonunda (30.gün), fındık diyeti sonrası (60.gün) ve fındıksız kontrol diyeti sonunda (90.gün) belirlenerek değerlendirildi. Fındık diyeti % değişimi; fındık diyeti dönemi sonunda (60.gün) belirlenen değerler ile metabolik stabilizasyon diyeti dönemi sonu (30.gün) değerleri arasındaki farkın kontrol diyeti dönemi sonu (30.gün) değerlerine oranlanarak 100 ile çarpılmasıyla hesaplanmıştır. Kontrol diyeti % değişimi; fındıksız kontrol diyet dönemi sonu (90.gün) değerleri ile fındık diyeti dönemi sonu (60.gün) değerleri arasındaki farkın fındık diyeti dönemi sonu (60.gün) değerlerine bölünmesi ve 100 ile çarpılmasıyla hesaplanmıştır. Çalışma grubunu oluşturan bireylerin 4 farklı dönemdeki demografik verileri Tablo 10’da verilmiştir.

Tablo 10: Dislipidemik bireylerde çalışmanın dört farklı döneminde ölçülen vücut ağırlığı ve BMI değerleri (n=17)

Veri	Başlangıç	30. gün	60. gün	90. gün	F*	p*	Fındık diyeti % değişim	Kontrol diyeti % değişim	p**
Vücut ağırlığı (kg)	84.6 ± 15.6	82 ± 15 ^a	80.3 ± 14.5 ^{a,b}	80 ± 14.3 ^{a,b}	23.51	<0.001	-2.14 ± 1.8	-0.68 ± 1.6	0,005
Vücut kitle indeksi (kg/m ²)	28.5 ± 3.5	27.6 ± 3.4 ^a	27.1 ± 3.3 ^{a,b}	26.9 ± 3.3 ^{a,b}	23.58	<0.001	-2.2 ± 1.78	-0.83 ± 1.6	0.005

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

a; başlangıç değerine (0.gün) göre anlamlı fark (tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, p<0.05)

b; metabolik stabilizasyon diyeti dönemi sonrası değerine (30.gün) göre anlamlı fark (tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, p<0.05)

c; fındık diyeti dönemi sonrası değerine (60.gün) göre anlamlı fark (tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, p<0.05)

** “Paired t-testi” ne göre “p” değerleri

Çalışmada yer alan bireylerin vücut ağırlıkları ve vücut kitle indeksleri başlangıç, metabolik stabilizasyon diyeti sonu, fındık diyeti sonu, fındıksız kontrol diyeti sonu değerleri değişimleri incelendiğinde vücut ağırlığı ve vücut kitle indeksi için anlamlı azalma olduğu (sırasıyla $p<0.001$, $p<0.001$) görüldü. Vücut ağırlığında ve BMI'de; başlangıç ile stabilizasyon diyeti dönemi sonrası değerlerinde anlamlı azalma olduğu (sırasıyla; $p<0.05$, $p<0.05$), fındık diyeti öncesi ve sonrası değerleri arasında anlamlı azalma olduğu (sırasıyla; $p<0.05$, $p<0.05$), fındık tüketimi sonrası ile fındıksız kontrol diyeti sonrası değerleri arasında anlamlı değişim olmadığı (sırasıyla; $p>0.05$, $p>0.05$) görüldü.

Fındık diyeti uygulanan dönemdeki vücut ağırlığı, BMI % değişimleri ve fındıksız kontrol diyeti uygulanan dönemdeki vücut ağırlığı, BMI % değişimleri karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark olduğu (sırasıyla; $p=0.005$, $p=0.005$) görüldü.

4.2. Biyokimyasal Analiz Sonuçları

Çalışmaya katılan bireylerden 4 farklı dönemde alınan kan örneklerinde total kolesterol, trigliserid, LDL-kolesterol ve HDL-kolesterol miktarları tayin edilerek karşılaştırıldı. Sonuçlar Tablo 11'de verilmiştir.

Tablo 11: Dislipidemik bireylerde çalışmanın dört farklı zamanında ölçülen lipid ve lipoprotein değerleri (mg/dL), (n=17)

Test	Başlangıç	30. gün	60. gün	90. gün	F*	p*	Fındık diyeti % değişim	Kontrol diyeti % değişim	p**
TK	241 ± 21	215 ± 21 ^a	205 ± 28 ^{a,b}	219 ± 26 ^{a,c}	24.23	<0.001	-4.9 ± 7,3	7.65 ± 11.03	0.006
TG	200 ± 130	168 ± 112	148 ± 96	161 ± 88	2.95	0.105	-10.7 ± 15	11.8 ± 31.16	0.005
LDL-K	167 ± 23	149 ± 24 ^a	142 ± 27 ^a	152 ± 24 ^{a,c}	20.94	<0.001	-4.3 ± 8.68	7.88 ± 12.64	0.013
HDL-K	42 ± 7.9	43 ± 5.9	45 ± 8.5 ^{a,b}	45 ± 8.8	5.18	<0.05	6.0 ± 9.78	-0.95 ± 8.28	0.062

*"Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi" ne göre "p" ve "F" değerleri

a; başlangıç değerine (0.gün) göre anlamlı fark (tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, $p<0.05$)

b; metabolik stabilizasyon diyeti dönemi sonrası değerine (30.gün) göre anlamlı fark (tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, $p<0.05$)

c; fındık diyeti dönemi sonrası değerine (60.gün) göre anlamlı fark (tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, $p<0.05$)

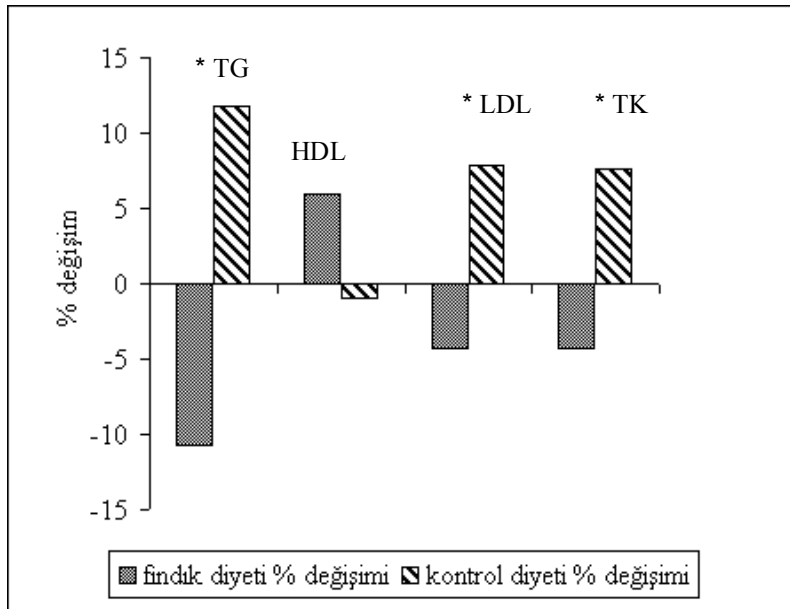
** "Paired t-testi" ne göre "p" değerleri

Çalışmada yer alan bireylerin TK, LDL-K, HDL-K değerleri dönemler arası karşılaştırıldığında (başlangıç, metabolik stabilizasyon diyeti sonu, fındık diyeti sonu ve fındıksız kontrol diyeti sonu) anlamlı değişiklik olduğu (sırasıyla; $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.05$), TG değerlerinde ise anlamlı bir farklılık olmadığı ($p=0.105$) görülmüştür.

Stabilizasyon diyeti sonrası alınan kan örneklerinde TK ve LDL-K değerleri başlangıçtaki değerlerine göre anlamlı olarak azalmıştır (sırasıyla; $p<0.05$, $p<0.05$). Fındık diyetinin lipid parametreleri üzerine etkisini incelemek için diyet öncesi ve sonrası elde edilen değerler karşılaştırıldığında TK miktarında anlamlı bir azalma ($p<0.05$), HDL-K seviyelerinde ise anlamlı bir artış ($p<0.05$) meydana geldiği gözlemlendi. Fındıksız kontrol diyeti sonunda ise fındık diyeti sonunda ölçülen değerlere göre TK ve LDL-K değerlerinde anlamlı bir artma (sırasıyla; $p<0.05$, $p<0.05$) görüldü

Fındık diyeti döneminde TK, TG, LDL-K, HDL-K değerleri % değişimleri ve fındıksız kontrol diyeti dönemi TK, TG, LDL-K, HDL-K değerleri % değişimleri karşılaştırıldığında TK, TG ve LDL-K değerleri arasında anlamlı farklılık olduğu (sırasıyla; $p=0.006$, $p=0.005$, $p=0.013$) görülürken, HDL-K değerleri arasında anlamlı fark bulunamamıştır ($p=0.062$).

Çalışma grubunun lipid değerlerine ait fındık diyeti dönemi yüzde değişimi ve fındıksız kontrol diyeti dönemi yüzde değişimleri Şekil 10'da görülmektedir.



(* = "Paired t-testi" ne göre lipid değerleri yüzde değişimleri arasında anlamlı farklılık $p<0.05$)

Şekil 9: Çalışma grubundaki lipid değerlerine ait fındık diyeti dönemi ve fındıksız kontrol diyeti dönemi % değişimleri

4.3. L-Karnitin Analiz Sonuçları

Dislipidemik bireylerden başlangıç (0.gün), metabolik stabilizasyon diyeti sonu (30.gün), fındık diyeti sonu (60.gün), fındıksız kontrol diyeti sonu (90.gün) alınan plazma örneklerinde ölçülen L-karnitin (serbest karnitin, açıl-karnitin) düzeyleri, açıl/serbest karnitin oranları Tablo 12’de verilmiştir.

Tablo 12: Çalışma grubunun dört döneme ait karnitin değerleri ($\mu\text{mol/L}$), (n=17)

Test	Başlangıç	30. gün	60. gün	90. gün	F*	p*	Fındık diyeti % değişim	Kontrol diyeti % değişim	p**
Total Karnitin	28.2 ± 6.1	26.4 ± 5.6	29.4 ± 7.1 ^b	27.8 ± 6.8	6.28	<0.05	11.9 ± 18.6	-3.6 ± 21.3	0.066
Serbest Karnitin	21.4 ± 4.7	19.4 ± 3.8 ^a	21.7 ± 5.7 ^b	20.8 ± 5.3	8.30	<0.05	12.0 ± 19.3	-2.1 ± 20.2	0.095
Açıl-Karnitin	6.9 ± 1.8	7.0 ± 2.0	7.7 ± 2.0	6.9 ± 1.8	0.28	0.603	12.6 ± 27.6	-6.0 ± 30.3	0.128
Açıl/Serbest Karnitin	0.32 ± 0.06	0.36 ± 0.06	0.36 ± 0.08 ^a	0.34 ± 0.06	9.67	<0.01	1.4 ± 21.5	-4.4 ± 18.2	0.516

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

a; başlangıç değerine (0.gün) göre anlamlı fark (tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, p<0.05)

b; metabolik stabilizasyon diyeti dönemi sonrası değerine (30.gün) göre anlamlı fark (tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, p<0.05)

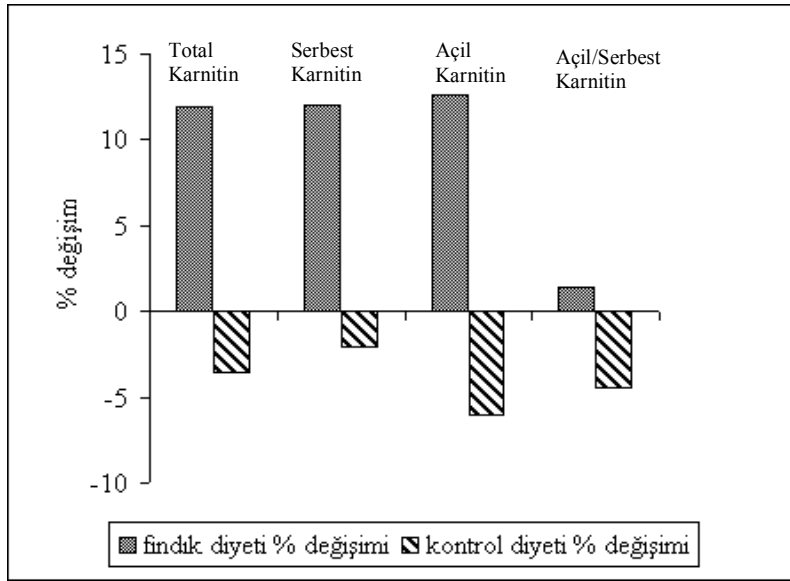
** “Paired t-testi” ne göre “p” değerleri

Çalışmada yer alan bireylerin total karnitin, serbest karnitin, açıl-karnitin, açıl/serbest karnitin; başlangıç, stabilizasyon diyeti sonu, fındık diyeti sonu, fındıksız kontrol diyeti sonu değerleri değişimleri incelendiğinde total karnitin, serbest karnitin, açıl/serbest karnitin değerlerinde anlamlı değişiklik olduğu (sırasıyla; p<0.05, p<0.05, p<0.01), açıl-karnitin değerlerinde ise anlamlı değişiklik olmadığı (p=0.603) görülmüştür.

Başlangıç ile metabolik stabilizasyon diyeti dönemi sonrası değişimler incelendiğinde serbest karnitin değerleri arasında anlamlı azalma olduğu (sırasıyla; p<0.05) görüldü. Fındık diyeti öncesi ve sonrası değişimler incelendiğinde total karnitin, serbest karnitin değerleri arasında anlamlı artış olduğu (p<0.05) görüldü. Fındık tüketimi sonrası ile fındıksız kontrol diyeti sonrası total karnitin, serbest karnitin, açıl-karnitin, açıl/serbest karnitin değerleri arasında anlamlı değişim olmadığı görüldü (sırasıyla; p>0.05, p>0.05, p>0.05, p>0.05).

Fındık diyeti dönemi değerlerin % değişimleri ve fındıksız kontrol diyeti dönemi değerlerin % değişimleri karşılaştırıldığında total karnitin, serbest karnitin, açıl-karnitin, açil/serbest karnitin değerlerinde fındık tüketilen dönemde %12'ye varan artış olmasına rağmen bu farklılık istatistiksel olarak anlamsız (sırasıyla; $p>0.05$, $p>0.05$, $p>0.05$, $p>0.05$) bulunmuştur.

Çalışma grubunun karnitin değerlerine ait fındık diyeti dönemi yüzde değişimi ve kontrol diyeti dönemi yüzde değişimleri Şekil 11'de görülmektedir.



Şekil 10: Çalışma grubundaki karnitin değerlerine ait fındık diyeti dönemi ve fındıksız kontrol diyeti dönemi % değişimleri

Vücuttaki toplam karnitinin büyük bir kısmı serbest halde bulunmaktadır. Karnitin esterleri olan kısa zincirli, orta zincirli ve uzun zincirli açıl-karnitinler olarak ifade edilir. Açıl-karnitinler arasında en fazla asetil-karnitin ve propiyonil karnitin bulunmaktadır. Tablo 13 ve 14'te dislipidemik bireylerde ölçülen açıl-karnitinlerin başlangıç (0.gün), metabolik stabilizasyon diyeti dönemi (30.gün), fındık diyet dönemi (60.gün), fındıksız kontrol diyeti dönemi (90.gün) değerleri verilmektedir.

Tablo 13: Çalışma grubunun dört döneme ait açıl-karnitin değerleri ($\mu\text{mol/L}$), (n=17)

Test (açıl-karnitin)	Başlangıç	30. gün	60. gün	90. gün	F*	p*	Fındık diyeti % değişim	Kontrol diyeti % değişim	p**
C1-6açıl-karnitin	5.77 \pm 1.48	6.04 \pm 1.81	6.46 \pm 1.47	5.84 \pm 1.62	0.218	0.647	11.4 \pm 25.0	-6.9 \pm 30.2	0.111
C2(Asetil- karnitin)	4.74 \pm 1.28	5.07 \pm 1.64	5.42 \pm 1.25	4.87 \pm 1.55	0.334	0.571	12.5 \pm 28.3	-7.47 \pm 32.9	0.119
C3(Propiyonil- karnitin)	0.48 \pm 0.17	0.42 \pm 0.16	0.43 \pm 0.19	0.41 \pm 0.14	2.905	0.108	4.89 \pm 30.9	5.36 \pm 43.2	0.975
C7-12 açıl-karnitin	0.76 \pm 0.40	0.71 \pm 0.27	0.86 \pm 0.48	0.78 \pm 0.33	0.392	0.540	25.9 \pm 61.5	2.1 \pm 40.8	0.281
C13-24 açıl-karnitin	0.35 \pm 0.10	0.30 \pm 0.06	0.35 \pm 0.12	0.31 \pm 0.07	0.536	0.475	15.4 \pm 37.4	-2.1 \pm 32.5	0.254

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

** “Paired t-testi” ne göre “p” değerleri

Çalışmada yer alan bireylerin doymuş (sature) açıl-karnitin, doymamış (unsature) açıl-karnitin, oleik asit bağlı açıl-karnitin ve doymuş açıl-karnitin içeriğinin doymamış açıl-karnitin içeriğine oranı; başlangıç, stabilizasyon diyeti sonu, fındık diyeti sonu, fındıksız kontrol diyeti sonu değerleri değişimleri incelendiğinde doymuş açıl-karnitin, doymamış açıl-karnitin, oleik asit içeren açıl-karnitin değerlerinde ve doymuş/doymamış açıl-karnitin değerlerinde anlamlı değişiklik olmadığı görülmüştür (Tablo 14)

Fındık diyeti dönemi değerlerin % değişimleri ve fındıksız kontrol diyeti dönemi değerlerin % değişimleri karşılaştırıldığında doymuş açıl-karnitin, doymamış açıl-karnitin, doymuş/doymamış açıl-karnitin değerlerinde anlamlı değişim olmadığı (sırasıyla; $p>0.05$, $p>0.05$, $p>0.05$), oleik asit içeren açıl-karnitin değerlerinde anlamlı değişim olduğu ($p<0.05$) görülmektedir.

Tablo 14: Çalışma grubunun dört döneme ait doymuş ve doymamış açil-karnitin değerleri ($\mu\text{mol/L}$), (n=17)

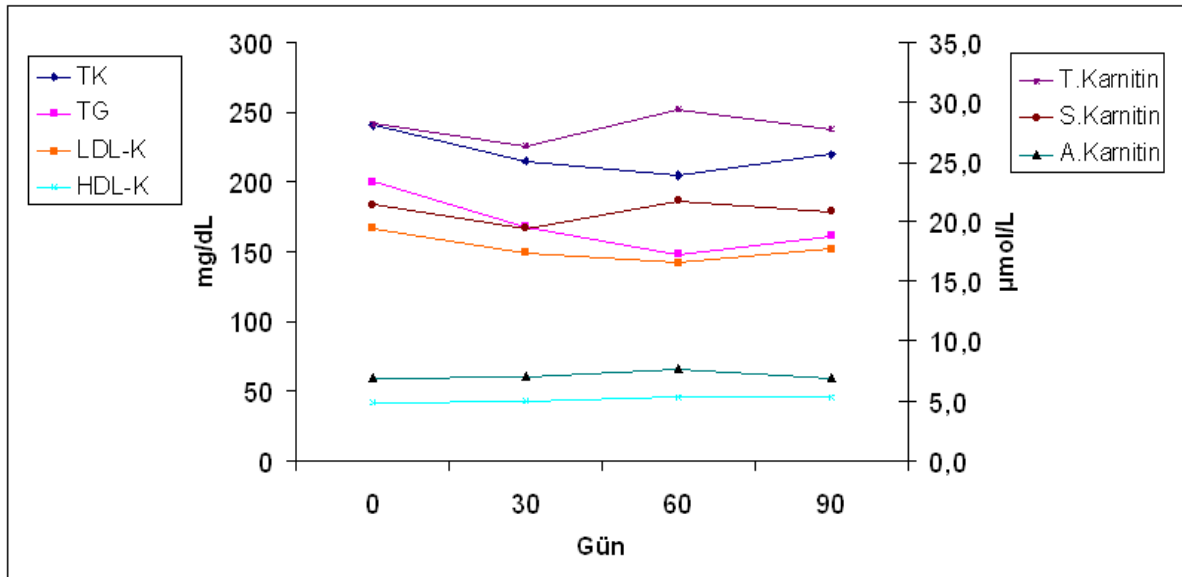
Test (açil-karnitin)	Başlangıç	30. gün	60. gün	90. gün	F*	p*	Fındık diyeti % değişim	Kontrol diyeti % değişim	p**
SFA-karnitin	6.41±1.68	6.61±1.93	7.16±1.76	6.45±1.69	0.235	0.634	12.3±26.8	-6.4±30.3	0.12
UFA-karnitin	0.47±0.18	0.43±0.12	0.51±0.25	0.48±0.19	0.351	0.562	20.4±53.2	1.7±36.3	0.32
18:1 Oleil-karnitin	0.067±0.019	0.065±0.019	0.076±0.025	0.061±0.016	3.925	0.065	23.3±45	-14±36.1	0.048
SFA/UFA	14.36±3.45	15.67±3.97	15.15±3.54	14.28±3.79	0.086	0.773	0.12±26	-4.84±18.9	0.57

*"Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi" ne göre "p" ve "F" değerleri

** "Paired t-testi" ne göre "p" değerleri

SFA:Doymuş yağ asidi

UFA: Doymamış yağ asidi



Şekil 11:Çalışma grubundaki lipid değerleri ve karnitin değerlerinin başlangıç (0.gün), metabolik stabilizasyon diyeti sonu (30.gün), fındık diyeti sonu (60.gün), fındıksız kontrol diyeti sonu (90.gün) değişimleri

4.4. Amino Asit Analiz Sonuçları

Çalışmaya katılan bireylerden 4 farklı dönemde alınan kan örneklerinde bulunduğu L-karnitin seviyelerine etkisini değerlendirmek amacıyla amino asit seviyeleri tayin edildi ve değerlendirildi. Burada esas amaç fındık tüketiminin vücutta karnitin sentezinde esansiyel moleküller olan lizin ve metiyonin seviyelerine bir etkisinin olup olmadığını değerlendirmektir. Başlangıç (0.gün), metabolik stabilizasyon diyeti dönemi (30.gün), fındık dönemi (60.gün), fındık sonrası kontrol diyeti döneminde (90.gün) ölçülen amino asit düzeyleri Tablo 15’te verilmiştir.

Tablo 15: Çalışma grubunun dört döneme ait amino asit değerleri ($\mu\text{mol/L}$), (n=17)

Test	Başlangıç	30. gün	60. gün	90. gün	F*	p*	Fındık diyeti % değişim	Kontrol diyeti % değişim	p**
Arjinin	106 ± 25	91 ± 17 ^a	99 ± 20	98 ± 22	6.59	< 0.05	10.5 ± 19	0.6 ± 18.6	0.198
Metiyonin	41 ± 11	47 ± 10	55 ± 15 ^a	51 ± 21 ^a	6.79	< 0.05	23.9 ± 51.4	0.8 ± 57.8	0.340
Toplam Amino Asit	1496 ± 279	1518 ± 127	1569 ± 174	1439 ± 173	0.46	0.508	3.97 ± 13.7	-7.01 ± 17.3	0.128

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

a; başlangıç değerine (0.gün) göre anlamlı fark (tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, p<0.05)

** “Paired t-testi” ne göre “p” değerleri

Çalışmada yer alan bireylerin arjinin, metiyonin, toplam amino asit başlangıç, stabilizasyon diyeti sonu, fındık diyeti sonu, fındıksız kontrol diyeti sonu değerleri değişimleri incelendiğinde; arjinin ve metiyonin amino asit değerlerinde anlamlı değişiklik olduğu (sırasıyla; p<0.05, p<0.05), toplam amino asit değerlerinde ise anlamlı değişiklik olmadığı (p=0.508) görülmüştür.

Başlangıç ile metabolik stabilizasyon diyeti dönemi sonrası değişimler incelendiğinde arjinin değerleri arasında anlamlı azalma olduğu (p<0.05) görüldü. Fındık diyeti öncesi ve sonrası değişimler incelendiğinde arjinin, metiyonin, toplam amino asit değerlerinde anlamlı değişim olmadığı görüldü (sırasıyla; p>0.05, p>0.05, p>0.05). Fındık tüketimi sonrası ile

findıksız kontrol diyeti sonrası incelendiğinde arjinin, metiyonin, toplam amino asit değerlerinde anlamlı değişim olmadığı görüldü (sırasıyla; $p>0.05$, $p>0.05$, $p>0.05$).

Fındık diyeti döneminde arjinin, metiyonin, toplam amino asit değerleri % değişimleri ve findıksız kontrol diyeti dönemi arjinin, metiyonin, toplam amino asit değerleri % değişimleri karşılaştırıldığında arjinin, metiyonin, toplam amino asit değerleri arasında anlamlı farklılık olmadığı (sırasıyla; $p>0.05$, $p>0.05$, $p>0.05$) görülmektedir.

4.5. İskemi Modifiye Albümin Analiz Sonuçları

Çalışmaya katılan bireylerden 4 farklı dönemde elde edilen serum örneklerinden IMA düzeyleri ölçülerek dönemler arası IMA düzeylerindeki değişim incelenmiştir. Buna ait veriler Tablo 16’da verilmiştir.

Tablo 16: Çalışma grubunun dört döneme ait IMA değerleri (ABSU), (n=10)

Test	Başlangıç	30. gün	60. gün	90. gün	F*	p*	Fındık diyeti % değişim	Kontrol diyeti % değişim	p**
IMA	0.118 ± 0.042	0.164 ± 0.030 ^a	0.152 ± 0.029	0.158 ± 0.043	7.08	<0.05	-4.78 ± 21.3	4.69 ± 26.6	0.310

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

a; başlangıç değerine (0. gün) göre anlamlı fark (tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, $p<0.05$)

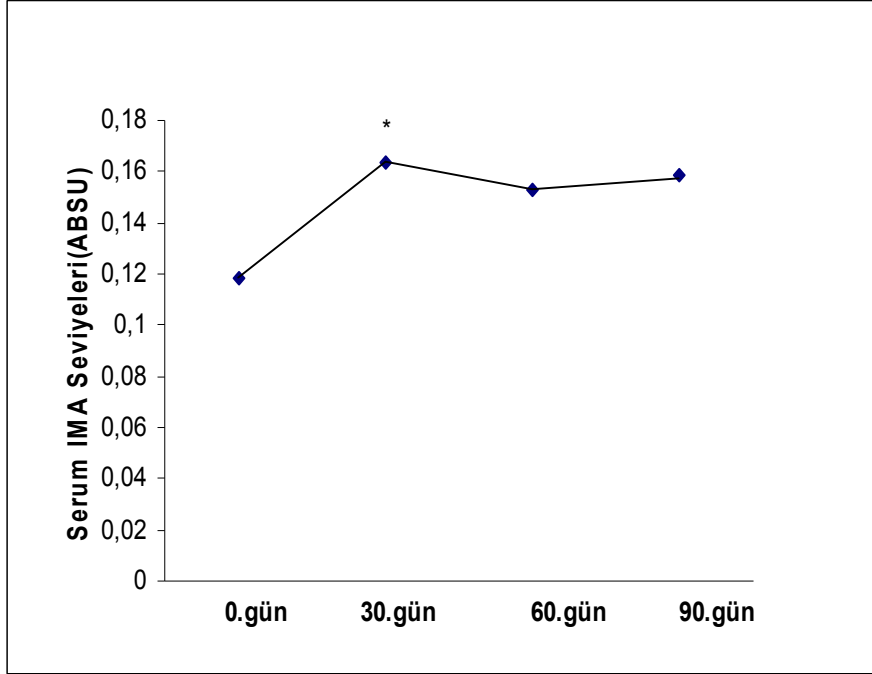
** “Paired t-testi” ne göre “p” değerleri

n=10 çalışmaya katılan 7 hastadan alınan numunenin yetersiz olması nedeniyle IMA değerleri çalışılmamıştır ve hesaplamalar bu 10 hastanın değerlerine göre yapılmıştır.

Çalışmada yer alan bireylerin IMA başlangıç, metabolik stabilizasyon diyeti sonu, fındık diyeti sonu, findıksız kontrol diyeti sonu değerleri değişimleri incelendiğinde IMA değerlerinde anlamlı değişiklik olduğu ($p<0.05$) görülmüştür.

Başlangıç ile stabilizasyon diyeti dönemi sonrası değişimler incelendiğinde IMA değerleri arasında anlamlı artış olduğu ($p<0.05$) görüldü. Bu anlamlı farklılık Şekil 14’te gösterilmiştir. Fındık diyeti öncesi ve sonrası değişimler incelendiğinde anlamlı değişim olmadığı ($p>0.05$) görüldü. Fındık tüketimi sonrası ile findıksız kontrol diyeti sonrası IMA değerleri arasında anlamlı değişim olmadığı ($p>0.05$) görüldü.

Fındık diyeti uygulanan dönemdeki IMA değerleri % değişimleri ve fındıksız kontrol diyeti uygulanan dönemdeki IMA değerleri % değişimleri karşılaştırıldığında aralarında anlamlı farklılık olmadığı ($p>0.05$) görülmüştür.



* =Başlangıç (0.gün) IMA düzeylerinden anlamlı olarak farklılık (Tekrarlı ölçümlerde varyans analizine göre) ($p<0.05$)

Şekil 12: Dislipidemik bireylerde IMA seviyelerinin dönemler arası değişimi

4 dönem ölçülen IMA, serbest karnitin, total karnitin değerleri arasında yapılan korelasyon analizinde; fındık tüketimi sonrası (60.gün) IMA ve total karnitin arasında pozitif yüksek ilişki ($r=0.775$, $p=0.002$), IMA ve serbest karnitin arasında pozitif yüksek ilişki ($r=0.782$, $p=0.002$) bulundu. IMA, total karnitin, serbest karnitin değerleri fındık diyeti dönemi ve kontrol diyeti dönemi yüzde değişimleri arasında yapılan korelasyon analizinde korelasyon bulunamadı ($p>0.05$).

5. TARTIŞMA

Fındık, ceviz, fıstık gibi ağaçta yetişen yenilebilir sert kabuklu meyveler sıklıkla tüketilen ve ülkemiz için önemli derecede ekonomik değere sahip ürünlerdir. Diğer sert kabukluların lipid metabolizmasına etkilerini araştıran pek çok çalışma olmasına rağmen literatürde fındık ve fındığın etkileri üzerine kısıtlı çalışmalar bulunmaktadır. Yenilebilir sert kabuklu meyveler sınıfında olan fındık yağ asidi, protein, karbohidrat, vitaminler, mineraller, diyet lifi, fitosteroller, tokoferoller, skualenler, antioksidanlar, fenolikler, fitokimyasal bileşiminden dolayı sağlıklı beslenmede önemlidir.

Sert kabuklu meyve tüketiminin plazma lipid profili, kardiyovasküler hastalıklar ve diğer kronik rahatsızlık riskini düşürücü etkileri yapılan epidemiyolojik ve klinik çalışmalar ile ortaya konulmuştur (42). Sert kabuklu meyveler sınıfından olan fındığın sağlıklı beslenme açısından uygun niteliklere sahip ve yüksek enerji sağlayan bir besin maddesi olmasının yanı sıra, yüksek miktardaki tekli doymamış yağ asidi (oleik asit) ve E vitamini içeriği nedeni ile kalp ve damar hastalıklarına karşı koruyucu etkiye sahip olması beklenmektedir.

Diyetle aldığımız yağların plazma lipid düzeyleri ve lipoproteinlerin yağ asidi kompozisyonları üzerinde etkili olması ateroskleroz ve koroner arter hastalığı gelişiminde oldukça önemlidir. Doymuş yağ oranının düşük ve MUFA oranının yüksek olduğu diyetler plazma lipid düzeylerinin kontrolünde etkili olmaktadır. Fındıkta yüksek oranda bulunan MUFA ile zenginleştirilmiş beslenmenin plazma toplam kolesterol, trigliserid, LDL-kolesterol ve HDL-kolesterol düzeyleri üzerindeki olumlu etkilerini gösteren çalışmalar mevcuttur. Fındığın bu yararlı etkilerinin bilinmesine karşı lipid metabolizmasını düzenleme mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır (52).

Karnitin oldukça polar bir kuarterner amindir. Ekzojen olarak gıdalarla alınabileceği gibi endojen olarak karaciğer ve böbreklerde sentezlenebilmektedir. Vücutta en yüksek oranda iskelet ve kalp kası gibi yağ metabolizmasının hızlı olduğu dokularda bulunmaktadır. L-karnitin uzun zincirli yağ asitlerinin açıl-karnitin yoluyla sitoplazmadan mitokondriye transportunu ve beta oksidasyonunu düzenleyen esansiyel bir kofaktör olması sebebiyle lipid metabolizmasında önemli rol oynar. Glukoneogenezi düzenler, serbest radikallerin temizlenmesinde görev alır. Hayvansal kaynaklı besinler olan et, yumurta, süt gibi hayvansal besinlerde yüksek oranda olup bitkisel yiyeceklerde çok az oranda bulunmaktadır. Literatürde fındık tüketimiyle ilgili olarak yapılan çalışmalar incelendiğinde fındığın lipid

metabolizmasına, vücut ağırlığına, ateroskleroz gibi hastalıkların oluşum süreçleri üzerine koruyucu ve olumlu etkileri gösterilse de yukarıda önemli fonksiyonlarından bahsedilen L-karnitin düzeyi değişimi ile ilgili herhangi bir çalışma yoktur. Fındığın bu etkileri bazı mekanizmalar ile açıklanmaya çalışılmış ise de yeterli görülmemektedir. Karnitinin özellikle lipid metabolizması ve hücre bütünlüğü üzerine olan etkileri düşünüldüğünde fındık tüketimi ile vücut karnitin seviyeleri arasında bir ilişkinin olup olmadığı merak konusudur. Şayet fındık tüketimi sonrası vücut karnitin miktarları anlamlı olarak değişirse fındığın lipid metabolizmasına bağlı süreçleri düzenleyici, ateroskleroz ve ateroskleroza bağlı hastalıklardan koruyucu etki mekanizmaları biraz daha netleşecektir.

Plazmada L-karnitin tayini enzimatik (spektrofotometrik ya da radioenzimatik ölçümler), HPLC ve Kütle (mass) Spektrometrisi gibi çeşitli yöntemlerle yapılabilmektedir. Serbest karnitin ya da açıl-karnitinlerin hidrolizi sonrası total karnitin tayini enzimatik yöntemlerle yapılabilmektedir. Bu tayinin esası L-karnitin karnitin asetil transferaz (CAT) enzimi ile asetil-CoA'dan asetil grubunu transferi prensibine dayalıdır. Kısa zincirli açıl karnitinlerden (büyük çoğunluğunu asetil L-karnitin oluşturur) asetil-CoA oluşum reaksiyonu geri dönüşümlü olduğu için sonucu interfere etmektedir. Metabolik hastalıkların erken tanısında kısa zincirli açıl-Karnitinlerin ölçüm ihtiyacı sonucu HPLC geliştirilmiştir. Spesifikliğinin düşük olması dezavantajdır (60). Kütle Spektrometrisi ise diğer yöntemlere göre daha teknik ve pahalı bir yöntem olmasına rağmen basit örnek hazırlanması, yüksek sensitivite ve spesifitesi, tek bir analiz ile birçok metabolik hastalığın aynı anda taranması (yağ asidi oksidasyon defektleri, aminoasit metabolizma bozuklukları, üre siklusu enzim bozuklukları, organik asidemiler), otomasyona uygun olması ve kısa sürede çok sayıda analiz yapılabilmesi, kromatografik ayrıştırmaya veya saflaştırmaya gerek kalmadan kompleks örneklerin analizinin sağlanmasından dolayı bu yöntemle karnitin tayini tercih edilmektedir. Ayrıca bu yöntem ile 250 µL gibi az bir örnekten L-karnitin, açıl-karnitinlerin düzey tayinleri yanında kan amino asit paneli düzeyi de çalışılabilmektedir. Kütle spektrometrik yöntemin yukarıda sayılan özelliklerini ve avantajlarını değerlendirerek çalışmamızda karnitinlerin ve amino asitlerin tayini için bu yöntemi tercih ettik. Ayrıca çalışmamızın amaçlarından biri olan düzenli fındık tüketiminin karnitin sentezi için esansiyel aminoasitlerin kan seviyelerine etkisini değerlendirmek için (özellikle metiyonin ve lizin) bu yöntemi kullandık. Ancak mass spektrometri tayininde lizin amino asidinin dötero izotop standardının kararsız olması nedeniyle kullanılamamasından dolayı lizin amino asidi düzeyi tayini yapılamamıştır (97).

Düzenli fındık tüketiminin dislipidemik bireylerde serum L-karnitin ve IMA düzeyleri üzerine etkisini ortaya koymayı amaçladığımız bu çalışma NCEP ATP III kriterlerine göre

ilaç sınırında olmayan hiperkolesterolemik gönüllü şahıslar üzerinde yapılmıştır. Çalışmaya yaşları 26 ile 59 arasında değişen 15 erkek, 2 kadın toplam 17 kişi dahil edilmiştir. Bu şahısların anamnezlerinde fındık alerjilerinin olmamasına dikkat edilmiş ve çalışmaya katılımlarında gönüllülük esas alınmıştır. Şahıslara, ölçülen vücut kitle indeksi ve vücut ağırlığına göre, ideal sınırlara gelebilmeleri için başlangıçtan itibaren bir ay boyunca metabolik stabilizasyon diyeti uygulanmıştır. Takip eden ikinci bir aylık dönemde şahısların diyetlerine enerji ihtiyacının % 18-20' sini karşılayacak şekilde fındık eklenmiştir. Son bir aylık dönemde ise kişilere eşdeğer kaloride fındıksız kontrol diyeti uygulanmıştır. Fındığın normal öğünlerle alınan besinlerle etkileşimini azaltmak için günlük fındık alınımı ikiye bölünmüş, birinci doz sabah ile öğle saatleri arasında, ikinci doz ise öğle ve akşam saatleri arasında alınmış, su dışında ilave içecek ve gıda alınımına müsaade edilmemiştir. Literatürde sert kabuklu meyvelerle yapılan çalışmalarda uygulanmış olan çalışma süresi, fındığın tüketim miktarı ve tüketim şekli incelenerek standardize edilmeye çalışılmıştır. Çalışmaya katılan şahıslardan başlangıçta (0.gün), ideal kilolarına göre günlük kalori kısıtlaması yapılarak hipokolesterolemik diyet uygulandıktan sonra 30. günde, günlük kalori ihtiyaçlarının % 18-20'si fındık olacak şekilde diyet uygulandıktan sonra 60. günde, günlük ihtiyaçları kadar fındıksız hipokolesterolemik diyet uygulandıktan sonra 90. günde olmak üzere 4 kez kan alındı ve her kan örneğinden lipid parametreleri, karnitin düzeyleri, amino asit paneli ve IMA düzeyleri tayin edildi.

Yaptığımız çalışmada 0.gün, 30.gün, 60.gün, 90.gün ölçülen TK, TG, LDL-K, HDL-K değerleri değişimlerine bakıldığında TK, LDL-K, HDL-K değerlerinde anlamlı bir değişim olduğu (sırasıyla; $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.05$) ve TG değerlerinde ise anlamlı bir değişim olmadığı ($P=0.105$) görülmektedir. Total kolesterol için düzenli fındık tüketilen dönemde anlamlı azalma olması ($p<0.05$) ve fındıksız kontrol diyeti döneminde anlamlı artış olması ($p<0.05$) çok dikkat çekicidir. Benzer sonuç total kolesterol fındık diyeti dönemi % değişimi ve fındıksız kontrol diyeti dönemi % değişimi karşılaştırıldığında ortaya çıkmaktadır ($p<0.05$). TG değerleri arasında anlamlı fark olmamasına ($p>0.05$) rağmen fındık tüketimi ile azaldığı ve fındıksız kontrol diyeti döneminde arttığı görülmektedir. TG fındık diyeti dönemi % değişimi ve fındıksız kontrol diyeti dönemi % değişimi karşılaştırıldığında aralarında anlamlı farklılık ($p<0.05$) olması fındığın düzenli kullanılmasının TG metabolizması üzerinde azaltıcı rol oynadığını göstermektedir. HDL-K için düzenli fındık kullanılan dönemde (60.gün ve 30.gün arası) anlamlı artış ($p<0.05$) olması bize fındık tüketimi ile HDL-K değerlerinde artış sağlanabileceği sonucunu vermektedir. Düzenli fındık tüketilen dönemde

LDL-K değerlerinde anlamlı değişim olmamasına rağmen ($p>0.05$), kontrol diyeti dönemi olan 60.gün ve 90.gün arasında anlamlı bir artış ($p<0.05$) görölmektedir.

Mercanlıgil ve ark. hiperkolesterolemik bireylerde findığın serum toplam kolesterolü % 5.2, LDL-K % 3.3 düşürdüğünü ve HDL-K ise % 12.6 artırdığını gözlemlemişlerdir (5). Sert kabuklu meyvelerin normolipidemik bireylerde lipid profili üzerine etkilerini gösteren çalışmalar da vardır. Anabilim dalımızda yapılan çalışmada, findığın normolipidemik bireylerde serum total kolesterol ve Apo B düzeylerini önemli ölçüde düşürdüğü, Apo A-I düzeyini ise anlamlı olarak arttırdığı bulunmuştur. Yine bu çalışmada LDL-K ve TG düzeylerinde azalma gözlenmiş fakat istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. HDL-K düzeyinde ise belirgin bir değişiklik tespit edilmemiştir (6). Durak ve ark. 30 sağlıklı tıp öğrencisinin günlük diyetlerine 1 g/kg/gün fındık ilave ederek 1 ay izledikleri çalışmada findığın toplam kolesterolü % 6, LDL-kolesterolü % 19 düşürdüğü, HDL-kolesterolü % 7, trigliseridi % 25 yükselttiğini gözlemişlerdir (4). Özener ve ark. yaptığı çalışmada hemodiyaliz hastalarına karnitin verilmesinin 16. haftanın sonunda hastalarda serbest karnitin düzeyinde önemli yükselme, total kolesterol, LDL-kolesterol ve Apo B-100 düzeylerinde önemli düşme yaptığı gösterilmiştir (15). Bell ve ark. yaptığı çalışmada 21 gün 40mg/kg/gün L-karnitin verilmesinin total kolesterolde % 35 azalma, VLDL de % 50 azalma, HDL, IDI, LDL'de artış yaptığı gösterilmiş (98). Başka bir çalışmada ise Stefanutti ve ark hiperlipoproteinemili hastalarda 90 gün boyunca 1g/gün karnitin kullanımı ile total kolesterol ve LDL-kolesterolde azalma ve apolipoprotein AI ve B seviyelerinde belirgin artış görölmüştür (12).

Karnitin seviyeleri yönünden çalışma grubumuz değerlendirildiğinde; başlangıçta (0.gün), 30.günde, 60.günde, 90.günde ölçölen total karnitin, serbest karnitin, açıl-karnitin, açıl/serbest karnitin değerlerinin değişimlerine bakıldığında total karnitin, serbest karnitin, açıl/serbest karnitin değerlerinde anlamlı bir değişim olduğu (sırasıyla; $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.01$) göröldü. Total karnitin değerlerindeki anlamlı artışın özellikle düzenli fındık tüketilen dönemde 60.gün ve 30.günler arasında olduğu ($p<0.05$) görölmektedir. Serbest karnitin değerlerinde ise metabolik stabilizasyon diyeti uygulanan dönemde 30.gün ve başlangıç (0.gün) değerleri arasında anlamlı azalma olduğu ($p<0.05$), düzenli fındık tüketiminin olduğu dönemde 60.gün ve 30.gün değerleri arasında anlamlı artış ($p<0.05$) olduğu görölmektedir. Fındık diyeti dönemi % değişimi ile fındıksız kontrol diyeti dönemi % değişimleri arasında anlamlı fark olmaması ($p>0.05$) fındık tüketimi sonrasında uygulanan kontrol diyeti ile total karnitin, serbest karnitin düzeylerinde anlamlı değişiklik olmamasından kaynaklanmaktadır. Doymuş açıl-karnitin, doymamış açıl-karnitin, oleik asit içeren açıl-karnitin ve

doymuş/doymamış açil-karnitin değerleri değişimleri incelendiğinde ise anlamlı bir değişim olmadığı (sırasıyla; $p>0.05$, $p>0.05$, $p>0.05$, $p>0.05$) gözlemlendi. Doymuş açil-karnitin, doymamış açil-karnitin, ve doymuş/doymamış açil-karnitin değerlerine ait fındık diyeti dönemi % değişimi ile fındıksız kontrol diyeti dönemi % değişimleri arasında anlamlı fark olmadığı (sırasıyla; $p>0.05$, $p>0.05$, $p>0.05$), oleik asit içeren açil-karnitin değerlerinde ise anlamlı fark ($p<0.05$) olduğunu tespit ettik. Bu bilgiler ışığında; düzenli fındık tüketiminin plazma total karnitin, serbest karnitin, oleik asit düzeylerini artırdığı için fındık tüketimi döneminde meydana gelen TK azalmasına, HDL-K düzeylerinin artmasına ve diğer lipid parametreleri üzerine düzenleyici etkilerin sağlanmasına karnitin ve oleik asit düzeylerindeki artışın etkili olabileceği ifade edilebilir.

Epidemiyolojik çalışmalar sert kabuklu meyve tüketim sıklığı ile vücut kitle indeksi arasında ters ilişki olduğunu göstermektedir. “Adventist Health Study” ve “Nurses’ Health Study” gibi on binlerce kişinin katıldığı çok geniş kohort çalışmalarında sert kabuklu meyve tüketimi ile vücut kitle indeksi arasında negatif ilişki olduğu rapor edilmiştir. 6080 kişinin yer aldığı bir başka çalışmada ise (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis, MESA) sert kabuklu meyve ve tohum tüketim sıklığı ile vücut kitle indeksi arasında ters ilişki olduğu gösterilmiştir. Sert kabuklu meyvelerin sık tüketiminin tokluk hissini arttırması, yüksek miktardaki protein ve doymamış yağ asidi içeriği nedeni ile dinlenme halinde metabolik hızı arttırması ve yetersiz sindirilmeleri nedeni ile fekal yağ kaybının artıp kullanılabilir enerjinin azalması kilo kaybının sebepleri olarak düşünülmektedir (99). Derosa ve ark. Tip II hiperkolesterolemik hastalarda yaptığı çalışma sonucunda L- karnitin kullanımı ile ağırlığın ve vücut kitle indeksinin (BMI) değişmediğini göstermişlerdir. Malaguarnera ve ark yaptığı çalışmada ise karnitin verilmesinin total yağ kütlesini azalttığı bulunmuştur. Yapılan çalışmalar incelendiğinde karnitin artışı ile kilo arasındaki ilişki konusunda çelişkili sonuçlar bulunabilmektedir. Bizim yaptığımız çalışmada da bu çalışmalara benzer olarak fındık tüketimi ve karnitin düzeyi artışı ile hastaların vücut ağırlıklarında ve BMI’lerinde belirgin olarak azalma olduğu ($p<0.001$, $p<0.001$) saptanmıştır. Bu azalmanın özellikle düzenli fındık tüketiminin olduğu 60.gün ve 30.gün değerleri arasında olduğu görülmektedir ($p<0.05$). Çalışmadaki 90.gün ve 60.gün değerleri karşılaştırıldığında ise fındık tüketimi sonrasında bu azalmanın anlamlı şekilde devam etmediği görülmektedir ($p>0.05$). Bu sonuçlara göre düzenli fındık tüketimi sonucu meydana gelen karnitin artışının ve bununla ilişkili olabilecek lipid değişikliklerinin vücut ağırlığında ve BMI’de azalmaya neden olabileceği düşünülmektedir.

Sert kabuklu meyveler protein, yağ, karbohidrat, vitamin ve mineraller yönünden zengin yiyeceklerdir. Bitkisel kaynaklı yiyeceklerde az miktarda bulunan karnitin dışarıdan ekzojen

gıdalarla alınabileceği gibi vücudumuzda esansiyel olan lizin ve metiyonin amino asitlerinden sentezlenebilmektedir. Çalışmanın bir diğer amacında düzenli fındık tüketiminin kan amino asit düzeylerini nasıl etkilediği, özellikle de karnitin prekürsörlerine etkisini incelemektir. Yapılan çalışmada başlangıç (0.gün), 30.gün, 60.gün, 90.gün değerleri arasında anlamlı fark ($p<0.05$) olmasına rağmen, fındık tüketimi dönemindeki metiyonin değerleri değişimi ve kontrol diyeti dönemindeki metiyonin değerleri değişimi anlamlı değildir (sırasıyla; $p>0.05$, $p>0.05$). Ayrıca fındık tüketilen dönem metiyonin % değişimi ile fındıksız kontrol diyeti uygulanan dönem metiyonin % değişimi arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Bu bilgiler ışığında düzenli fındık tüketiminin net etkisi olarak kan metiyonin düzeylerinde anlamlı bir artış meydana gelmediği görülmektedir. Dötero izotop standartlarında lizin amino asidinin kararsız olmasından dolayı internal standart olarak kullanılamamış ve karnitin sentezinde diğer prekürsör amino asit olan lizin miktarı değişimi incelenememiştir. Endojen karnitin sentezinin birçok faktörün etkisine bağlı olarak değişmesinden ve lizin amino asidi miktarı ölçülememesinden dolayı fındığın düzenli tüketilmesi sonucu endojen karnitin sentezinin anlamlı bir şekilde etkilenip etkilenmediği söylenememektedir. Fındığın vitamin ve minerallerce zengin bir sert kabuklu olması ve karnitin sentezinde demir, niasin, askorbik asit ve B6 vitaminin kofaktör olarak kullanılması nedeniyle düzenli fındık tüketiminin karnitin sentezini artırabileceği düşünülmektedir. Ancak bunu göstermek için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Hipoksi, asidosiz, serbest radikal hasarı ile oluşan iskemik olaylarda, albüminin N-terminal bölgesi ve buna bağlı olarak albümin kobalt bağlanması çok kısa süre içerisinde değişmektedir. Albuminin N-terminal bölgesindeki değişiklik sonucu oluşan IMA iskeminin sensitif bir markörüdür ve iskemik olaylarda kanda çok kısa sürede tayin edilebilecek seviyelere ulaşmaktadır. Dislipidemik bireylerde fındık tüketiminin ateroskleroz üzerine faydalı etkileri ortaya konulduktan sonra hem fındığın hem de karnitinin antioksidan etkileri, lipid metabolizmasına ve hücre bütünlüğüne yönelik yararlı etkileri göz önüne alınarak bu etkilere bağlı olarak IMA seviyelerinde anlamlı olarak değişebileceği varsayılmıştır. Bizim yaptığımız çalışmada başlangıç (0.gün), 30.gün, 60.gün, 90.gün IMA değerleri değişimleri incelendiğinde 0.gün ve 30.gün değerleri arasında anlamlı artış görülmüştür ($p<0.05$). 30.gün IMA değerlerinde görülen bu artış; metabolik stabilizasyon diyeti sonunda özellikle vücut ağırlığı, BMI ve serbest karnitin düzeylerinde gözlenen anlamlı azalmanın (sırasıyla; $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$) bu şahıslarda ani bir metabolik stres yaratarak oksidan-antioksidan dengesi oksidan yöne kaydırabileceği ihtimali ile açıklanmaya çalışılmıştır. 30.gün IMA değerleri ile 60.gün IMA değerleri ve 90.gün IMA değerleri (0.158 ± 0.043) arasında anlamlı fark olmaması

ve literatürdeki sağlıklı kontrol grubu IMA değerleri (0.163 ± 0.025) ile yakın değerlerde olması bize çalışmaya alınan dislipidemik şahıslarda iskemik bir olayın olmadığını düşündürmektedir. Sonuçların güvenilirliğinin artırılması amacıyla tekrar çalışması düşünülmüş olup elimizdeki numune miktarlarının yetersiz olması nedeniyle bu örnek çalışmaları tekrarlanamamıştır. Bizim için değerli olan düzenli fındık tüketilen dönem (30. ve 60. günler arası) ile fındıksız kontrol diyeti uygulanan dönemdeki (60.gün ve 90. günler arası) IMA değerleri arasında (sırasıyla $p > 0.05$, $p > 0.05$) ve fındık diyeti dönemi IMA değerleri % değişimi ile fındıksız kontrol diyeti dönemi IMA değerleri % değişimi arasında anlamlı farklılık olmamasıdır ($p > 0.05$). Bu sonuçlar bize düzenli fındık tüketimi ile IMA düzeylerinde anlamlı bir değişiklik meydana gelmediğini göstermiştir. Bu çalışmanın lipid seviyeleri anlamlı yüksek ve iskemik şahıslarda yapılması düşünülebilir.

Lipoprotein metabolizması bozukluğu sonucu kan lipid dağılımının değişimi olarak ifade edilen dislipidemide, lipid dağılımının bozulması serebrovasküler hastalık, kardiyovasküler hastalık, diyabet, hipertansiyon gibi çeşitli kronik hastalıkların gelişimine neden olmaktadır. Fındık tüketimi özellikle doymuş yağ asidi yönünden fakir olması, MUFA yönünden zengin olması, PUFA miktarı yeterli olması ve antioksidan potansiyeli yüksek olması nedeniyle aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklardan korunmada yararlı etkileri gösterilmiştir. Çalışmamızda günlük kalorinin % 18-20'sini karşılayacak düzenli fındık tüketiminin serum L-karnitin ve IMA düzeyleri üzerine etkisi incelendi. Elde ettiğimiz sonuçlara göre; düzenli fındık tüketiminin vücut ağırlığı ve BMI'ni düşürdüğü, TK düzeylerini azalttığı, HDL-K düzeyini artırdığı ve diğer lipid parametreleri üzerine düzenleyici etkileri olduğu anlaşılmaktadır. Çalışmamızda düzenli fındık tüketimi ile dislipidemik bireylerde total ve serbest karnitin miktarlarını anlamlı olarak değiştirdiği ve bunun fındığın lipid metabolizmasına faydalı etkisini açıklayabileceği gösterilmiştir. Bu yönüyle çalışmamız literatüre önemli bir katkı yapıcıdır. Ancak, bu tip çalışmalar daha fazla bireyde ve daha uzun süreli yapıldığında fındığın lipid düşürücü etkisinde karnitinin rolünü daha iyi ortaya konabilir. Yapılan çalışmalar ile fındığın günlük diyetinde yer alması karnitin düzeyinde artışa ve karnitinin yararlı etkilerinin sağlanmasında faydalı olacağı sonucuna varıldı.

6-SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Dislipidemik bireylerde fındık tüketiminin serum L-karnitin ve iskemi modifiye albumin düzeyleri üzerine etkisinin incelenmesi amacıyla çalışma grubunu oluşturan 17 hiperkolesterolemik bireylerin çalışmanın başlangıç (0.gün), metabolik stabilizasyon diyeti sonu (30.gün), fındık tüketimi sonu (60.gün), fındıksız kontrol diyeti sonu (90.gün) değerleri karşılaştırıldığında elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

*Çalışmaya katılan bireylerin vücut ağırlıkları ve BMI'leri kontrol diyeti yapılan başlangıç döneminde ve fındık tüketilen dönemde azalma göstermiştir.

*Serum lipid değerleri değişimleri karşılaştırıldığında TK değerinde fındık tüketimi ile anlamlı azalma, fındık sonrası dönemde istatistiksel olarak anlamlı artış ve HDL-K değerinde fındık tüketimi ile istatistiksel olarak anlamlı artış bulundu. TG ve LDL-K için fındık tüketilen dönemde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Fındık tüketilen dönem % değişim ve sonrası kontrol diyeti uygulanan dönem % değişim karşılaştırıldığında TK, TG, LDL-K için istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu ve HDL-K için anlamlı fark olmadığı gözlenmiştir.

*Düzenli fındık tüketilen dönemde total karnitin, serbest karnitin değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu ve açil-karnitin, açil/serbest karnitin değerlerinde anlamlı farklılık olmadığı görüldü. Fındık tüketilen dönem ve fındıksız kontrol diyeti uygulanan dönem % değişim karşılaştırıldığında total karnitin, serbest karnitin, açil karnitin, açil/serbest karnitin değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı, oleik asit içeren açil-karnitin değerlerinde anlamlı farklılık olduğu görüldü.

*Metiyonin değerlerinde başlangıç değerine göre meydana gelen artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ancak fındık kullanımı öncesi 30.güne göre fındık sonrası dönemlerde istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü.

*IMA değerlerinde başlangıç değerine göre meydana gelen artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ancak fındık kullanımı öncesi 30.güne göre fındık sonrası dönemlerde istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulundu.

Bu bulgular sonucunda ilaç kullanımı gerektirmeyen hiperkolesterolemik bireylerin günlük enerji ihtiyacının % 18-20'sini geçmeyecek şekilde fındık tüketmelerinin TK, TG, HDL-K, LDL-K değerlerini düzenlemede etkili olduğu, fındık tüketimi ile plazma karnitin düzeyinde artış meydana geldiği ve kan lipid seviyesinin düzenlenmesinde fındığın karnitin miktarının arttırılması yoluyla etkili olabileceği, fındığın karnitin sentezinde esansiyel rol oynayan metiyonin amino asit miktarını değiştirmediği, fındık tüketimi ve karnitin düzeyi artışının serum IMA düzeyi üzerinde etkili olmadığı gözlenmiştir. Konunun aydınlatılmasına yönelik uzun süreli ve daha fazla olgu sayılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

7-ÖZET

DİSLİPİDEMİK BİREYLERDE FINDIK TÜKETİMİNİN SERUM L-KARNİTİN VE İSKEMİ MODİFİYE ALBUMİN DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Kardiyovasküler hastalıklar ve buna bağlı ölümler günümüzde özellikle gelişmiş ülkelerde en önemli sağlık problemlerinin başında gelmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar ve ikincil tedavi çalışmaları kardiyovasküler hastalık riskinin azalması ile sebze, meyve ve sert kabuklu meyvelerin tüketiminin ilişkili olduğunu göstermiştir. Doymuş yağ asidi yönünden fakir, MUFA özellikle oleik asit yönünden zengin, PUFA miktarı yeterli ve antioksidan potansiyeli yüksek olan fındık ve fındık yağına günlük diyetle yer verilmesinin, aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklardan korunmada yararlı olacağı öne sürülmüştür. Karnitin uzun zincirli yağ asitlerinin açil-karnitin yoluyla sitoplazmadan mitokondriye transportunu ve beta oksidasyonunu düzenleyen esansiyel bir kofaktördür. Son yıllarda bu esas fonksiyonun yanında karnitinin α -ketoasitlerin metabolizması, sitozol ve mitokondri arasındaki açil-CoA/CoA oranı, piruvat dehidrogenaz enzim aktivitesi üzerindeki etkileri ile yağ metabolizması yanında glukoz ve keton cismi metabolizmasına etkili olduğu, hücre bütünlüğü sağlamada önemli olduğu ayrıca serbest radikal temizleyici olarak antioksidan etkisi olduğu ortaya konulmuştur. Normal veya dislipidemik bireylerde fındık tüketiminin lipid düzenleyici ve antioksidan etki mekanizmaları tam olarak açıklanamamıştır ve fındığın lipid metabolizması için esansiyel olan L-karnitin seviyelerine etkisini gösteren bir çalışma mevcut değildir. Bu çalışmada dislipidemik şahıslarda fındık tüketiminin kan lipid seviyeleri yanında L-karnitin seviyelerine etkisi araştırıldı. Ayrıca, dislipidemik bireylerde miyokard iskemisinin sensitif markörü olan IMA seviyelerindeki değişim de belirlenerek IMA ile fındık tüketimi, lipid seviyeleri ve L-karnitin arasındaki ilişki incelendi.

Bu çalışmaya NCEP ATP III kriterlerine göre ilaç tedavisi gerektirmeyen hiperkolesterolemik toplam 17 gönüllü birey dahil edildi. Bireylere vücut kitle indeksine, vücut ağırlığına ve belirlenen yağ yüzdelerine göre ideal sınırlara gelebilmeleri için başlangıçtan itibaren bir ay boyunca metabolik stabilizasyon diyeti uygulandı. Takip eden ikinci bir aylık dönemde şahısların diyetlerine günlük enerji ihtiyacının % 18-20'sini karşılayacak şekilde fındık ilave edildi. Son bir aylık dönemde ise bireylere eşdeğer kaloriye karşılık gelen fındıksız kontrol diyeti uygulandı. Bireylerden çalışmanın başlangıcında (0.gün), metabolik stabilizasyon diyeti sonunda (30.gün), fındık diyeti sonunda (60.gün) ve

findıksız kontrol diyeti sonunda (90.gün) olmak üzere 4 farklı zamanda kan örnekleri alındı. Serum total kolesterol, trigliserid, HDL-kolesterol ve LDL-kolesterol tayinleri Roche/Diagnostics Modüler DPP otoanalizörlerinde kendi orijinal kitleri kullanılarak gerçekleştirildi. Plazma L-karnitin (serbest karnitin ve karnitin esterleri) ve amino asitleri tayinleri Applied Biosystems API 3200 tandem MS sistemleri kullanılarak yapıldı. Serum IMA tayinleri için Bar-Or ve ark. tarafından geliştirilen kolorimetrik “Albümin Kobalt Bağlama (ACB)” metodu kullanıldı. Çalışmaya dahil edilen 17 şahıstan 4 farklı dönemde alınan kan örneklerinden elde edilen ölçüm değerleri aritmetik ortalama ve standart sapma ($X \pm SD$) şeklinde ifade edildi.

Dislipidemik bireylerde çalışmanın 4 farklı döneminde ölçülen parametrelerden vücut ağırlığı ($p < 0.001$), BMI ($p < 0.001$), total karnitin ($p < 0.05$), serbest karnitin ($p < 0.05$), açil/serbest karnitin ($p < 0.01$), total kolesterol ($p < 0.001$), LDL-kolesterol ($p < 0.001$), HDL-kolesterol ($p < 0.05$) ve IMA ($p < 0.05$) değerleri dönemler arasında anlamlı olarak farklı bulundu. Ancak açil-karnitin ($p = 0.603$) ve TG ($p = 0.105$) miktarları yönünden anlamlı bir fark yoktu. Fındık tüketiminin çalışma parametreleri üzerine etkisi incelendiğinde (findık dönemi öncesi ve sonrasında elde edilen değerlerin karşılaştırılması ile) total karnitin ($p < 0.05$), serbest karnitin ($p < 0.05$), HDL-kolesterol ($p < 0.05$) miktarlarında anlamlı bir yükselme, total kolesterol ($p < 0.05$), vücut ağırlığı ($p < 0.05$), BMI ($p < 0.05$) değerlerinde ise anlamlı bir azalma olduğu görüldü. Ancak açil-karnitin ($p > 0.05$), TG ($p > 0.05$), LDL-kolesterol ($p > 0.05$) ve IMA ($p > 0.05$) miktarlarında önemli bir değişiklik meydana gelmedi. Fındık tüketimi ile karnitin değerlerinde önemli değişiklik olmasına rağmen karnitin ile ölçülen diğer parametreler arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Fındık tüketimi özellikle doymuş yağ asidi yönünden fakir, MUFA yönünden zengin ve antioksidan potansiyeli yüksek olması nedeniyle aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklardan korunmada yararlı etkileri gösterilmiştir. Çalışmamızda günlük kalorinin % 18-20'sini karşılayacak düzenli fındık tüketiminin serum L-karnitin düzeylerinde önemli oranda artışa neden olduğu gözlemlendi. Buna ilaveten fındık tüketimi ile kan total kolesterol, vücut ağırlığı, BMI miktarları anlamlı olarak azalırken HDL-kolesterol düzeylerinde ise önemli bir artış olduğu görüldü. Bu bulgulara göre sonuç olarak, fındık diyeti sonrası kan karnitin miktarlarının önemli oranda artması fındık tüketiminin lipid metabolizmasına özellikle de kolesterol seviyelerine ve vücut kitlesi üzerine yaptığı olumlu etkileri açıklamaya katkı sağlayabilir.

Anahtar kelimeler: Dislipidemi, Fındık, L-karnitin, IMA

8- SUMMARY

THE EFFECT OF HAZELNUT CONSUMPTION ON SERUM L-CARNITINE AND ISCHEMIA MODIFIED ALBUMIN LEVELS IN DYSLIPIDEMIC INDIVIDUALS

Cardiovascular disease and deaths related with this comes at the beginning of the most important health problems in developed countries. Epidemiological and secondary treatment studies has shown a relation between vegetable, fruit and nuts consumption and a decrease in the risk of cardiovascular disease. It has been suggested that taking nut and nut oil in daily diet which is rich MUFA especially oleic acid and containing no saturated fatty acid and sufficient PUFA and having high antioxidant potential is useful for protection atherosclerotic cardiovascular diseases. Carnitine facilitates fatty acid oxidation by acting as a cofactor in the transport of acyl groups across the inner mitochondrial membrane and regulate the beta-oxidation. In recent years, in addition to this primary function, carnitine plays a role in the α -ketoacids metabolism, modulates the ratio of acyl-CoA/CoA between cytosol and mitochondria. It was known that carnitine had effects on pyruvate dehydrogenase enzyme activity and so that on lipid and also glucose and ketone body metabolism, its antioxidant effect and roles on cell integrity was also demonstrated. Lipid regulating and antioxidant effect mechanism of nut consumption on normolipidemic and dyslipidemic individuals have not been explained yet also there is no study about the effects of the nut on the L-carnitine, which is the essential for lipid metabolism. In this study, effects of nut consumption in dyslipidemic subjects on serum lipid and L-carnitine levels were investigated. Additionally, IMA values, a sensitive marker of myocardial ischemia, were determined and correlation between IMA and nut consumption, lipid levels and L-carnitine was also investigated.

In this study, total 17 hypercholesterolemic volunteers were included who doesn't required drug therapy according to the NCEP ATP III criteria. Individuals were applied metabolic stabilization diet since one month for get ideal limit of body mass index, body weight and fat percentage. Following the second month period we supply hazelnut for

providing 18-20 % of daily energy needs in individual diet. At the last month we apply hazelnut-free control diet which corresponds to equivalent amount. At four different times we get blood samples at the beginning of the study (0. day), at the end of the metabolic stabilization diet (30. day), at the end of the nut diet (60. day) and nut-free control diet (90. day). For determination serum total cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol and LDL-cholesterol the Roche / Diagnostics Modular DPP autoanalyser were used in own original kits. Determination of plasma L-carnitine (free carnitine and carnitine esters) and amino acids were performed with Applied Biosystems API 3200 tandem MS system. We detect the serum IMA according to the study of Bar-Or et. all. in which they used colorimetric "Albumin Cobalt Binding (ACB)" method. The measurements of seventeen individual blood samples obtained from four different periods of time were in the arithmetic mean values and standard deviation ($X \pm SD$).

In dyslipidemic individuals, the parameters including body weight ($p < 0.001$), BMI ($p < 0.001$), total carnitine ($p < 0.05$), free carnitine ($p < 0.05$), acyl/free carnitine ($p < 0.01$), total cholesterol ($p < 0.001$), LDL-C ($p < 0.001$), HDL-C ($p < 0.05$) and IMA ($p < 0.05$) measured in four different period of the study were found significant different between periods. There was no significant difference in acyl-carnitine ($p = 0.603$) and TG ($p = 0.105$) levels. When the parameters were compared before and after the nut consumption, total carnitine ($p < 0.05$), free carnitine ($p < 0.05$), HDL-C ($p < 0.05$) levels were found significant higher and total cholesterol ($p < 0.05$), body weight ($p < 0.05$), BMI ($p < 0.05$) values were lower. No significant difference were obtained in acyl-carnitine ($p > 0.05$), TG ($p > 0.05$), LDL-C ($p > 0.05$) and IMA ($p > 0.05$) levels after nut consumption. Carnitine levels were altered after nut consumption but no significant correlation were seen between carnitine levels and other parameters.

Nut is poor of saturated fatty acids, enriched of MUFA and has a high antioxidant potential so it has protective effects on atherosclerosis. In the present study, nut consumption that supplied 18-20 % of daily calories requirement improved serum L-carnitine levels. In addition, total cholesterol, body weight, BMI levels significantly decreased and HDL-C levels increased. As a result of these findings, increasing serum carnitine levels after nut diet may contribute to explain its positive effects on lipid metabolism, especially cholesterol levels and body weight.

Key Words: Dyslipidemia, Hazelnut, L-Carnitine, IMA

9. KAYNAKLAR

1. Douglas PZ, Peter L, Robert OB, Eugene B: Braunwald's Heart Disease, 7.th Edition, Elsevier Sounders, Pennsylvania, 2005, pp.1-19
2. Jenkins DJA, Popovich DG, Kendall CWC, Vidgen E, Tariq N, Ransom TPP, Wolever TMS, Vuksan V, Mehling CC, Boctor DL, Bolognesi C, Huang J, Patent R: Effect of a Diet High in Vegetables, Fruit and Nuts on Serum Lipids Metabolism, 46(5): 530-537, 1997
3. Bayram F, Şahan S, Kurtoğlu S, Karadeniz T: Sağlık ve beslenme gozuyle fındık. 3. Milli Fındık Şurası Tebliğler Kitabı, Uğur Eğitim Hizmetleri ve Yayımcılık, Ocak 2006, s. 590-595.
4. Durak İ, Koksal İ, Kaçmaz M, Buyukkoçak S, Çimen BMY, Ozturk HS: Hazelnut supplementation enhances plasma antioxidant potential and lowers plasma cholesterol levels. Clinica Chimica Acta, 284: 113-115, 1999
5. Mercanligil SM, Arslan P, Alasalvar C, Okut E, Akgul E, Pınar A, Geyik PO, Tokgozoğlu L, Shahidi F: Effects of Hazelnut-enriched diet on plasma cholesterol and lipoprotein profiles in hypercholesterolemic adults men. European Journal of Clinical Nutrition : 1-9, 2006.
6. Balaban F: Normolipidemik bireylerde fındık tuketiminin aterojenik ve antiaterojenik parametreleruzerine etkileri. KTU Tıp Fakultesi Sağlık Bilimleri Enstitusu, Doktora Tez Çalışması, 2006.
7. Bhagavan NV, Lai EM, Rios PA, Yang J, Ortega-Lopez AM, Shinoda H, Honda SAA, Rios CN, Sugiyama CE, Ha CU: Evaluation of human serum albumin cobalt binding assay for the assessment of myocardial ischemia and myocardial infarction. Clin Chem, 49(4): 581–585, 2003.
8. Bar-Or D, Lau E, Winkler JV :A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia-A preliminary report. J Emerg Med, 19(4): 311–315, 2000.
9. Vaz FM and Wanders RJA: Carnitine biosynthesis in mamals. Biochemical J, 361: 417-429, 2002.
10. Saggerson ED and Carpenter CA: Carnitine palmitoyltransferase in liver and five extrahepatic tissues in the rat. Biochem J, 236(1): 137-41, 1986.
11. Matsuishi T, Stumpf DA, Seliem M, Eguren LA, Chrislip K: Propionate mitochondrial toxicity in liver and skeletal muscle: acyl CoA levels. Biochem Med Metab Biol, 45(2): 244-53, 1991.

12. Stefanutti C, Vivencio A, Lucani G, Di Giacomo S, Lucani E: Effect of L-carnitine on plasma lipoprotein fatty acids pattern in patients with primary hyperlipoproteinemia. *Clin Ter*, 149(2): 115-119, 1998.
13. Gomez-Amores L, Mate A, Miguel-Carrasco JL, Jimenez L, Jos A, Camean AM, Revilla E, Santa-Maria C, Vazquez CM: L-carnitine attenuates oxidative stress in hypertensive rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 18: 533-540, 2007.
14. Di Giacomo C, Latteri F, Fichera C: Effect of acetyl-Lcarnitine on lipid peroxidation and xanthine oxidase activity in rat skeletal muscle. *Neurochemical Research*, 18: 1157–1162, 1993.
15. Özener Ç, İlçöI B, Budak Y, Emerk K, Akoğlu E: Hemodiyaliz hastalarında plazma serbest karnitin düzeyleri ve karnitin tedavisinin lipid profiline etkisi. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 1: 33-36, 1995.
16. Thabet MA, Salcedo JR, Chan JC: Hyperlipidemia in childhood nephrotic syndrome. *Pediatric Nephrology*, 7(5): 559-66, 1993.
17. Burtis AC and Ashwood R: *Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler* (Çev. D. ASLAN), 5. baskı, Palme yayıncılık, 2005, s 462-494.
18. Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR: *Lippincott's Illustrated Reviews*, 3rd edition, Wolters Kluwer Company, 2005, pp. 171-243
19. Ray JG and Rosendaal RF: The role of dyslipidemia and statins in venous thromboembolism. *Current Controlled Trials in Cardiovascular Medicine*, 2(4): 165–170, 2001.
20. Haymore RB, Parks RJ, Oliver GT, Glister CB: Hypertriglyceridemia. *Hospital Physician*, march : 17-24, 2005.
21. Wu JT and Wu LL: Linking inflammation and atherogenesis: Soluble markers identified for the detection of risk factors and for early risk assessment. *Clinica Chimica Acta*, 366(1-2): 74-80, 2006.
22. The World Health Report 2004. Annex Table 2 Deaths by cause, sex and mortality stratum in WHO regionsa estimates for 2002. *Statistical Annex*: 120-125.
23. Scott J: Pathophysiology and biochemistry of cardiovascular disease. *Current Opinion in Genetics and Development*, 14: 271-279, 2004.
24. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report: *Circulation*, 17(24): 3163-3173, 2002.

25. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL: Beyond cholesterol: Modification of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity . *New Engl J Med*, 320: 915-922, 1989.
26. Ross R: The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*, 362: 801-809, 1993.
27. Cheeseman KH, Slater TF: An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull*, 49(3): 481-93, 1993.
28. Yagi K: Increased serum lipid peroxides initiate atherogenesis. *Bio Essays*, 1: 58-60, 1985.
29. Fang YZ, Yang S, Wu G: Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition*, 18(10): 872-879, 2002.
30. Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR: *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry*, 3rd ed, Lippincott Williams and Wilkins, 2005, pp. 355-370.
31. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report: *Circulation*, 107(24): 3256, 2002.
32. Moreno JJ and Mitjavila MT: The degree of unsaturation of dietary fatty acids and the development of atherosclerosis (Review). *Journal of Nutritional Biochemistry*, 14: 182-195, 2003.
33. Kültürsoy H: Koroner Kalp Hastalığı, Primer ve Sekonder Korunma, Argos, 2001, s. 138-140.
34. Tsimikas S, Philis-Tsimikas A, Alexopoulos S, Sigari F, Lee C, Reaven PD: LDL Isolated from Grek Subjects on a Typical Diet or from American Subjects on an Oleate-Supplemented Diet Induces Less Monocyte Chemotaxis and Adhesion When Exposed to Oxidative Stres. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 19: 122-130, 1999.
35. Pehlivanoğlu S: Kalp ve Damar Hastalıklarından Korunmada Fındığın Etkisi, 3. Milli Fındık Şurası Tebliğler Kitabı, Uğur Eğitim Hizmetleri ve Yayımcılık, Ocak 2006, s. 584-586.
36. Hu FB: Plant-based foods and prevention of cardiovascular disease: an overview. *Am J Clin Nutr*, 78 (suppl.): 544-551, 2003.
37. Kris-Etherton PM, Yu-Poth S, Sabaté J, Ratcliffe HE, Zhao G, Etherton TD: Nuts and their bioactive constituents: effects on serum lipids and other factors that affect disease risk. *Am J Clin Nutr*, 70(suppl): 504-11, 1999.

38. Koçyiğit A, Koylu AA, Keleş H: Effects of pistachio nuts consumption on plasma lipid profile and oxidative status in healthy volunteers . *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 16: 202-209, 2006.
39. Jenkins DJA, Kendall CWC, Marchie A, Parker TL, Connelly PW, Qian W, Haight JS, Faulkner D, Vidgen E, Lapsley KG, Spiller GA: Dose Response of Almonds on Coronary Heart Disease Risk Factors: Blood Lipids, Oxidized Low-Density Lipoproteins, Lipoprotein (a), Homocysteine, and Pulmonary Nitric Oxide . *Circulation*, 106: 1327-1332, 2002.
40. Abbey M, Noakes M, Belling GB, Nestel PJ: Partial replacement of saturated fatty acids with almonds or walnuts lowers plasma cholesterol and low densitylipoprotein cholesterol. *Am J Clin Nutr*, 59: 995–999, 1994.
41. Mutlu N: Obez ve normal kilolu bireylerde diyete fındık ilavesinin serum lipid ve serum homosistein düzeyleri üzerine etkisi. Yüksek lisans tezi, Marmara Üniv. Sağlık Bilimleri Enst. İstanbul, 2008, s 14-17.
42. Fraser GE: Nut Consumption, Lipids and Risk of a Coronary Event *Clin Cardiol*, 22 (Suppl. III): 11-15, 1999.
43. Lorgeril M and Salen P: Alpha-linolenic acid and coronary heart disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 14: 162-169, 2004.
44. Morgan WA and Clayshulte BJ: Pecans Lower Low Density Lipoprotein Cholesterol in People with Normal Lipid Levels . *J Am Diet Assoc*, 100: 312-318, 2000.
45. Alper CM and Mattes RD: Peanut Consumption Improves Indices of Cardiovascular Disease Risk in Healthy Adults . *Journal of the American College of Nutrition*, 22(2). 133-141, 2003.
46. Ros E, Nunez I, Perez-Heras A, Serra M, Gilabert R, Casals E, Deulofeu R: A Walnut Diet Improves Endothelial Function in Hypercholesterolemic Subjects. *Circulation*, 109: 1609-1614, 2004.
47. Taner M and Link N: Hyperlipidemia: Part 1. Evaluation and dietary management. *West J Med*, 175: 246–250, 2001.
48. Tzima N, Pitsavos C, Panagiotakos DB, Skoumas J, Zampelas A, Chrysohoou C, Stefanadis C: Mediterranean diet and insulin sensitivity, lipid profile and blood pressure levels, in overweight and obese people; The Attica study. *Lipids in Health and Disease*, 6(22): 1-7, 2007.
49. Mukudem-Petersen J, Oosthuizen W, Jerling JC: A systematic review of the effects of nuts on blood lipid profiles in humans. *The Journal of Nutrition*, 8 June, 2005.

50. Sabat  J: Nut consumption, vegetarian diets, ischemic heart disease risk, and allcause mortality: evidence from epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr*, 70 (Suppl): 500-503, 1999.
51. USDA National Nutrient Database for Standard Reference Release, Nutrition and Diet Data, 18, 2006, www.personalhealthzone.com/nutrition/nutrients/nuts/hazelnuts.html.
52. Yağmur C ve  zer A: Fındığın insan beslenmesi ve sağlığındaki  nemi. 3. Milli Fındık Şurası Tebliğler Kitabı, Uğur Eğitim Hizmetleri ve Yayımcılık, Ocak, 2006, s. 602-607.
53. Baysal A: Fındığın beslenme ve sağlık yönünden  nemi. 3. Milli Fındık Şurası Tebliğler Kitabı, Uğur Eğitim Hizmetleri ve Yayımcılık, Ocak, 2006, s. 587-588.
54. Akurt F: Fındığın beslenme ve sağlık açısından değerlendirilmesi. 3. Milli Fındık Şurası Tebliğler Kitabı, Uğur Eğitim Hizmetleri ve Yayımcılık, Ocak, 2006, s. 596-601
55. Hatipoğlu A, Kanbağlı  , Balkan J, Küçük M, ÇevikbaŐ U, Aykaç-Toker G, Berkkan H, Uysal M: Hazelnut Oil Administration Reduces Aortic Cholesterol Accumulation and Lipid Peroxides in the Plasma, Liver, and Aorta of Rabbits Fed a High-cholesterol Diet. *Biosci Biotechnol Biochem*, 68(10): 2050-2057, 2004.
56. Arslan C: L-Carnitine and its use as a feed additive in poultry feeding a review. *Revue Med Vet*, 157(3): 134-142, 2006.
57. Deniz G: Karnitin: Sentez, metabolizma, fonksiyon ve iskemik kalpte terap tik  nemi. *T Klin J Med Sci*, 19: 55-62, 1999.
58. Rebouche CJ: Kinetics, Pharmacokinetics, and Regulation of L-Carnitine and Acetyl-L-carnitine Metabolism. *Ann N Y Acad Sci*, 1033: 30–41, 2004.
59. Demarquoy J, Georges B, Rıgault C, Royer MC, Claret A, Soty M, Lekounougou S, Le Borgne F: Radioisotopic determination of L-carnitine content in foods commonly eaten in Western countries. *Food chemistry*, 86(1): 137-142, 2004.
60. Evans AM, and Fornasini G: Pharmacokinetics of L-Carnitine. *Clin Pharmacokinet*, 42(11): 941-967, 2003.
61. Evans A: Dialysis-related carnitine disorder and levocarnitine pharmacology. *American Journal of Kidney Disease*, 41(4): 13-26, 2003.
62. Taylor PM : Absorbing competition for carnitine. *J of Phy*, 532(2): 283, 2001.
63. Kelly GS: L-Carnitine: Therapeutic Applications of a Conditionally-Essential Amino Acid. *Alternative Medicine Review*, 3(5): 345-360, 1998.
64. Ahmad S: L-carnitine in dialysis patients. *Seminars in Dialysis*, 14(3): 209–217, 2001.
65. Steiber A, Kerner J, Hoppel CL: Carnitine: a nutritional, biosynthetic and functional perspective . *Molecular Aspects of Medicine*, 25 : 455–473, 2004.
66. Feller AG, Rudman D: Role of carnitine in human nutrition, *J Nutr*, 118: 541-547, 1998.

67. Kerner J, Hoppel C : Genetic disorders of carnitine metabolism and their nutritional management. *Annu Rev Nutr*, 18: 179–206, 1998.
68. Özçakmak B: İsoetretinoin verilen rat modelinde serum, kas karnitin seviyesi ve histopatolojik bulguların değerlendirilmesi, Uzmanlık tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı, Van, 2007, s. 50-53.
69. Sayed-Ahmed MM, Khattab MM, Gad MZ, Mostafa N: L-carnitine prevents the progression of atherosclerotic lesions in hypercholesterolaemic rabbits. *Pharmacological Research*, 44(3): 235-42, 2001.
70. Tanaka Y, Sasaki R, Fukui F, Waki H, Kawabata T, Okazaki M, Hasegawa K, Ando S: Acetyl-L-carnitine supplementation restores decreased tissue carnitine levels and impaired lipid metabolism in aged rats. *Journal of Lipid Research* 45: 729-735, 2004.
71. Diaz M, Lopez F, Hernandez F, Urbina JA: L-Carnitine Effects on Chemical Composition of Plasma Lipoproteins of Rabbits Fed with Normal and High Cholesterol Diets *Lipids*, 35(6): 627-632, 2000.
72. Güneş B, Yalçın SS, Kalkanoğlu HS, Önel S, Dursun A, Coşkun T: The effect of oral L-carnitine supplementation on the lipid profiles of hyperlipidaemic children. *Acta Pædiatrica*, 94: 711–716, 2005.
73. Hong YM, Kim HS, Yoon H: Serum Lipid and Fatty Acid Profiles in Adriamycin-Treated Rats after Administration of L-Carnitine. *Pediatric Research*, 51(2): 249-255, 2002.
74. Kosan C, Sever L, Arisoy N, Çalışkan S, Kasapçopur O: Carnitine supplementation improves apolipoprotein B levels in pediatric peritoneal dialysis patients. *Pediatr Nephrol*, 18: 1184-1188, 2003.
75. Koyuncu G, Aydın A, Adal E, Çakır E, Kavunoğlu G, Çam H: Diyabetik çocuk ve adolesanlarda diyabet süresi, açlık kan şekeri, HbA1c düzeyleri ile serum karnitin fraksiyonları, keton cisimcikleri, serbest yağ asitleri arasındaki ilişkiler. *Türk Pediatri Arşivi*, 37: 206-212, 2002.
76. Derosa G, Cicero AFG, Gandi A, Mugellini A, Ciccarelli L, Roberto F: The effect of L-Carnitine on plasma lipoprotein(a) levels in Hypercholesterolemic patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Clinical Therapeutics*, March: 1429-1439, 2003.
77. Malaguarnera M, Cammalleri L, Gargante MP, Vacante M, Colonna V, Motta M: L-Carnitine treatment reduces severity of physical and mental fatigue and increases cognitive functions in centenarians: a randomized and controlled clinical trial. *Am J Clin Nutr*, 86: 1738–44, 2007.

78. Gate L, Paul J, Ngyue BG, Tew KD, Tagiero H: Oxidative stress induced in pathologies: The role of antioxidants. *Biomed and Pharmacother*, 53: 169-180, 1999.
79. Demircan G, Dıraman E, Demircan S: Kalp hastalıklarında oksidatif stresin rolü. *Türk Kardiyol Dern Arş*, 33: 488-492, 2005.
80. Savitha S and Panneerselvam C: Mitigation of age-depent oxidative damage to DNA in rat heart by carnitine and lipoic acid. *Mechanisms of ageing and development*, 128: 206-212, 2007.
81. Mansour HH: Protective role of carnitine ester against radiation-induced oxidative stres in rats. *Pharmacol Res*, 54: 165-71, 2006.
82. Kabaoglu C, Akısu M, Habif S, Mutaf I, Turgan N, Parıldar Z, Özmen D, Bayındır O: Effects of L-arginine and L-carnitine in hypoxia/reoxygenation-induced intestian injury. *Pediatrics International*, 47: 10-14, 2005.
83. Koudelova J, Mourek J, Drahot Z, Rauchova H: Protective effect of carnitine on lipoperoxide formation in rat brain. *Physiological Research*, 43: 387–389, 1994.
84. Sushamakumari S, Jayadeep A, Kumar JS, Menon VP: Effect of carnitine on malondialdehyde, taurine and glutathione levels in heart of rats subjected to myocardial stress by isoproterenol. *Indian Journal of Experimental Biology*, 27: 134–137, 1989.
85. Önal A, Astarçioğlu H, Örmen M, Atilla K, Sarioğlu S: Sıçandaki renal iskemi reperfüzyon hasarında L-Karnitinin koruyucu etkisi. *Ulus Travma Derg*, 10(3): 160- 167, 2004.
86. Luo X, Reichetzer B, Trines J, Benson LN, Lehotay DC: L-carnitine attenuates doxorubicin-induced lipid peroxidation in rats. *Free Radic Biol Med*, 26(9-10): 1158-65, 1999.
87. Sugio S, Kashima A, Mochizuki S, Noda M, Kobayashi K: Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution. *Protein Engineering*, 12(6): 439-446, 1999.
88. Lassac JP and Sakar B: Characterization of the copper (II) and nickel(II) transport site of human serum albumin. Studies of copper (II) and nickel (II) binding to peptide 1-24 of human serum albumin by ^{13}C and ^1H NMR spectroscopy. *Biochemistry*, 23: 2831–2838, 1984.
89. Sokolowska M, Krezel A, Dyba M, Szewczuk Z, Bal W: Short peptides are not reliable models of thermodynamic and kinetic properties of the N-terminal metal binding site in serum albumin. *Eur J Biochem*, 269: 1323-1331, 2002.
90. Bar-Or D, Curtis G, Rao N, Bampos N, Lau E: Characterization of the Co^{2+} and Ni^{2+} Binding Amino Acid Residues of the N-terminal Human Albumin. *Eur J Biochem*, 268: 42-47, 2001.

91. Fagan GJ, Wayment H., Morris DL, Crosby PA :The Albumin Cobalt Binding Test: Analytical Performance of a New Automated Chemistry Assay for the Detection of Ischemia Modified Albumin (IMA™). *Journal of Clinical Ligand Assay* 25: 178–187, 2002.
92. Chevion M, Jiang Y, Har-El R, Berenshtein E, Uretzky G, Kitrossky N: Copper and iron are mobilized following myocardial ischemia: Possible predictive criteria for tissue injury. *Proc Natl Acad Sci*, 90: 1102–1106, 1993
93. Roy D, Quiles J, Gaze DC, Collinson P, Kaski JC, Baxter GF: Role of reactive oxygen species on the formation of the novel diagnostic marker ischemia modified albumin. *Heart*, 92: 113–114, 2006.
94. Sharma R. and David Gaze: *Am J Kidney Dis*, 47: 493-5002, 2006.
95. Bar-Or D, Winkler JV, Vanbenthuysen K, Harris L, Lau E, Hetzel FW: Reduced albumin-cobalt binding with transient myocardial ischemia after elective percutaneous transluminal coronary angioplasty: a preliminary comparison to creatine kinase-MB, myoglobin, and troponin I. *Am Heart J*, 141: 985–91, 2001.
96. Gunduz A, Turedi S, Mentese A, Karahan SC, Hos G, Tatlt O, Turan I, Ucar U, Russell RM, Topbaş M: Ischemia-modified albumin in the diagnosis of acute mesenteric ischemia: a preliminary study. *American Journal of Emergency Med*, 26: 202-205, 2008.
97. Biberoglu G: Kütle Spektrometresi ve Tıp Alanında Kullanımı. *T Klin Tıp Bilimleri*, 23: 491-498, 2003.
98. Bell FP, Vidmar JT, Raymond LT: L-Carnitine Administration and Withdrawal Affect Plasma and Hepatic Carnitine Concentrations, Plasma Lipid and Lipoprotein Composition and In Vitro Hepatic Lipogenesis from Labeled Mevalonate and Oleate in Normal Rabbits. *American Institute of Nutrition*: 959-966, 1991.
99. Sabate, J: Nut consumption and body weight. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78 (suppl), 2003.
100. Balkan J, Hatipoğlu A, Aykaç-Toker G, Uysal M: Influence on Hazelnut Oil Administration on Peroxidation Status of Erythrocytes and Apolipoprotein B 100 Containing Lipoproteins in Rabbits Fed on a High Cholesterol Diet. *J Agric Food Chem*, 51: 3905-3909, 2003.
101. Berry EM, Eisenberg S, Friedlander Y: Effects Of Diets Rich In Monosaturated Fatty Acids On Plasma Lipoproteins-The Jerusalem Nutrition Study. II Monosaturated Fatty Acids vs Carbohydrates. *Am J Clin Nutr*, 56: 394-403, 1992.

102. Okur G: Fındık tüketiminin hiperkolesterolemik şahısların eritrosit membranı lipid ve protein oksidasyonuna etkisi. KTÜ Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2008.

103. Kalaiselvi T, Panneerselvam C: Effect of l-carnitine on the status of lipid peroxidation and antioxidants in aging rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 9: 575-581, 1998.