65620

KATI ve SIVI YAĞ TÜKETİMİNİN PLAZMA LİPOPROTEİN FRAKSİYONLARI ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Recep GÖKÇE

Dumlupınar Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca
Biyoloji Anabilim Dalında
DOKTORA TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

I. Danışman: Prof. Dr. İdris AKKUŞ
II. Danışman: Yrd. Doç. Dr. Mustafa YÖNTEM

Temmuz - 1997

KATI ve SIVI YAĞ TÜKETİMİNİN PLAZMA LİPOPROTEİN FRAKSİYONLARI ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Recep GÖKÇE

DOKTORA TEZİ

TEMMUZ -1997

Recep GÖKÇE'nin DOKTORA TEZİ olarak hazırladığı "Katı ve Sıvı Yağ Tüketiminin Plazma Lipoprotein Fraksiyonları Üzerine Olan Etkilerinin Araştırılması" konulu bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Tarih: 10.../..10.../1997

Üye: Prof. Dr. İdris AKKUŞ

Üye: Prof. Dr. Adem TATLI

Üye: Yrd. Doç. Dr. Mustafa YÖNTEM

Üye: Doç. Dr. Muhsin KONUK

Üye: Doç. Dr. İsmail KOCAÇALIŞKAN

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .....23.10.1997..... gün ve .....14..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Doç.Dr. İ. Göktay EDİZ

ÖZET

KATI ve SIVI YAĞ TÜKETİMİNİN PLAZMA LİPOPROTEİN FRAKSİYONLARI ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Recep GÖKÇE
Doktora Tezi, Biyoloji Bölümü
I. Danışman: Prof. Dr. İdris AKKUŞ
II. Danışman: Y. Doç. Dr. Mustafa YÖNTEM
Temmuz, 1997

Bu çalışma tereyağı, margarin, ayçiçek yağı, zeytinyağı ve mısırözü yağlarının ateroskleroz riski ve serbest radikallerden etkilenme derecelerini ortaya koymak amacıyla *Avian farms* türü civcivler üzerinde gerçekleştirildi. Bu amaçla, her bir yağ ve kontrol grubu için 30'ar adet olmak üzere toplam 6 gruptan oluşan sıfır yaş 180 adet civciv alındı. Civcivler 45 gün süre ile beslendi ve bu süre içinde yemlerine %5'ten başlayıp %7'ye varıncaya kadar artan oranda yağ ilave edildi. 45 günlük süre sonunda civcivler kesilerek serumlarında total kolesterol, HDL-kolesterol, HDL_2-kolesterol, HDL_3-kolesterol LDL-kolesterol ve reaktif oksijen metabolitleri (d-ROM) seviyesi bakıldı. Bütün analizler ticari kitler kullanılarak spektrofotometrik olarak gerçekleştirildi.

Sonuçta, tereyağı ile beslenen grupta total kolesterol ve HDL kolesterolün en yüksek, d-ROM seviyesinin ise en düşük olduğu görüldü.

Yüksek d-ROM seviyesi okside LDL oluşumu ve dolayısı ile ateroskleroz riskini arttırır. Yüksek HDL-K düzeyi ateroskleroz aleyhine; yüksek kolesterol, düşük HDL_2-K ve yüksek d-ROM düzeyleri ateroskleroz lehinedir. Ayrıca yüksek d-ROM düzeyi diğer birçok hastalığın da sebeplerindendir.

Bu bulgulardan, tereyağının ihtiva ettiği yüksek kolesterol bakımından diğer yağlara göre daha aterojenik, ancak az okside olması bakımından gerek ateroskleroz ve gerekse diğer hastalıklar yönünden daha faydalı olduğu, HDL_2-K bulgularımızdan margarinin de ateroskleroz yönünden önemli bir risk faktörü olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Tereyağı, margarin, ayçiçek yağı, zeytinyağı, mısırözü yağı, T. Kolesterol, HDL-Kolesterol, HDL_2-Kolesterol, HDL_3-Kolesterol, LDL-Kolesterol, d-ROM.

SUMMARY

INVESTIGATION OF EFFECT OF SATURATED AND UNSATURATED FATS ON LIPOPROTEIN FRACTIONS

GÖKÇE Recep

Doctora Thesis: Deparment of Biology

First Supervisor: Prof. Dr. İdris AKKUŞ

Second Supervisor: Assistant Prof. Dr. Mustafa YÖNTEM

July, 1997

This study was carried out on *Avian farms* chickens in order to determine the atherosclerotic effect of butter, margarine, sunflower oil, olive oil and corn oil and the degree of their susceptibility to free radical effects. For this reason, 180 chickens of zero age were used in six groups. One group was taken as control and the other five groups were for each of the oils. The chickens had been fed for 45 days and oils were added to their feed by an increasing rate of 5 to 7%. At the end of that period, the chickens were cut and serum levels of total cholesterol, HDL-cholesterol, HDL_2-cholesterol, HDL_3-cholesterol, LDL-cholesterol and reactive oxygen metabolits (d-ROM) were measured in their serums. All of the analysis were made spectrophotometrically by using commercially available kits.

At the end of the study, total cholesterol and HDL-C levels were highest, whereas d-ROM levels were lowest in butter fed group.

High d-ROM level increases the formation of oxidised LDL and hence the risk of atherosclerosis. High levels of cholesterol and d-ROM and low level of HDL_2-C are in favour of atherosclerosis. High level of HDL-C is against of atherosclerosis. In addition, high d-ROM level is cause of many other diseases.

From these results, butter was concluded to be more atherogenic than the other oils in respect to its high cholesterol content, but also more useful than the others due to its low susceptibility to oxidation which is a significant risk factor for atherosclerosis and other diseases. From our HDL_2-C results, margarine was also concluded to be a significant risk factor for atherosclerosis.

Key Words: Butter, margarine, sunflower oil, corn oil, olive oil, T. Cholesterol, HDL-Chol., HDL_2-C., HDL_3-C., LDL-C., d-ROM.

TEŞEKKÜR

Bu araştırmayı yapmama vesile olan ve tezimin yürütülmesinde azami fedakarlığı gösteren danışman hocalarım Prof. Dr. İdris AKKUŞ (S.Ü. Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı) ve Yrd. Doç. Dr. Mustafa YÖNTEM'e, Prof. Dr. Adem TATLI'ya (DP.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi), tavuk çiftliğinde yer tahsis ederek çalışmamıza önemli katkıda bulunan Beyzade Ltd. Şti. personeli Vet. Hekim Mehmet YILDIRIM ve Vet. Hekim Bilal MERMER'e, literatür konusunda yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Tahir BALEVİ'ye (S.Ü. Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi), analizlerin yapılmasındaki yardımlarından dolayı Dr. Mahmut AY, Dr. Ahmet GÜREL, Dr. İsmail DİKİCİ, Dr. M. Akif BOR, Uzm. İsmail ÖZTOK, Uzm. Bio. Mürsel GÖKÇEN ve Sağlık Teknisyenleri M. Ali YAVUZ, Nazım SÖNMEZ, Mithat KARAKUZU, A. Osman ERŞANLI (S.Ü. Tıp Fakültesi Biyokimya A.D.) ile diğer personele ve Patoloji Laboratuvarındaki arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET iv
SUMMARY v
TEŞEKKÜR vi
İÇİNDEKİLER vii
ŞEKİLLER DİZİNİ ix
ÇİZELGELER DİZİNİ x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ xi
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 2
2.1. Serbest Radikaller 2
2.1.1. Serbest oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türleri 2
2.1.2. Serbest radikallerin etkileri 5
2.2. Lipidler 8
2.2.1. Kolesterol 8
2.2.2. Yağ asidleri 9
2.2.3. Lipoproteinler 10
2.3. İnsan Gıdası Olarak Yağın Önemi 14
2.3.1. Yağ nedir ? 14
2.3.2. Gıda olarak tüketilen önemli yağlar ve özellikleri 15
3. MATERYAL ve METOD 21
3.1. Materyal 21
3.1.1. Hayvan materyali 21
3.1.2. Yem materyali 21
3.2. Metod 22
3.2.1. Deneme düzeni 22
3.2.2. Yemleme 22
3.2.3. Kan alımı 23
3.2.4. Kullanılan cihazlar ve malzemeler 23
3.2.5. Kullanılan kimyasal maddeler 23
3.2.6. Yapılan analizler 24

3.2.7. İstatistiki analiz....26
4. BULGULAR....27
4.1. Bulgulara Ait "t" Testi Sonuçları....27
4.2. Varyans Analizi Sonuçları....33
5. TARTIŞMA....43
5.1. Analiz Metodlarının Tartışılması....43
5.1.1. HDL alt gruplarının tayin metodunun tartışılması....43
5.1.2. d-ROM metodunun tartışılması....44
5.2. Bulguların Tartışılması....45
KAYNAKLAR DİZİNİ....49
ÖZGEÇMİŞ

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil **Sayfa No**

2.1. Linolenik asidden MDA ve diğer peroksidasyon ürünleri oluşumu.....7

4.1. Bütün gruplara ait T. Kolesterol seviyelerini gösterir diyagram.....37

4.2. Bütün gruplara ait HDL-K seviyelerini gösterir diyagram.....38

4.3. Bütün gruplara ait HDL_2-K seviyelerini gösterir diyagram 39

4.4. Bütün gruplara ait HDL_3-K seviyelerini gösterir diyagram 40

4.5. Bütün gruplara ait LDL-K seviyelerini gösterir diyagram 41

4.6. Bütün gruplara ait d-ROM seviyelerini gösterir diyagram.....42

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge **Sayfa No**

2.1. Tereyağının yağ asidi kompozisyonu 15

2.2. Margarinin yağ asidi kompozisyonu 17

2.3. Ayçiçek yağının yağ asidi kompozisyonu 18

2.4. Zeytinyağının yağ asidi kompozisyonu 19

2.5. Mısırözü yağının yağ asidi kompozisyonu 20

3.1. Yem hammaddeleri ve yüzde ağırlıkları 21

3.2. Yemin analizi 22

4.1. Bütün grupların parametrelerine ait toplu sonuçlar 27

4.2. Kontrol grubu ile diğer gruplara ait T. Kolesterol değerlerinin karşılaştırılması 28

4.3. Kontrol grubu ile diğer gruplara ait HDL-Kolesterol değerlerinin karşılaştırılması 29

4.4. Kontrol grubu ile diğer gruplara ait HDL_2-Kolesterol değerlerinin karşılaştırılması 30

4.5. Kontrol grubu ile diğer gruplara ait HDL_3-Kolesterol değerlerinin karşılaştırılması 31

4.6. Kontrol grubu ile diğer gruplara ait LDL-Kolesterol değerlerinin karşılaştırılması 32

4.7. Kontrol grubu ile diğer gruplara ait d-ROM değerlerinin karşılaştırılması 33

4.8. T. Kolesterol parametresine ait bulguların karşılaştırılması 34

4.9. HDL-kolesterol parametresine ait bulguların karşılaştırılması 34

4.10. HDL_2- kolesterol parametresine ait bulguların karşılaştırılması 35

4.11. HDL_3- kolesterol parametresine ait bulguların karşılaştırılması 35

4.12. LDL- kolesterol parametresine ait bulguların karşılaştırılması 36

4.13. d-ROM parametresine ait bulguların karşılaştırılması 36

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltma	Açıklama
ACAT	Açil-kolesterol açiltransferaz
ATP	Adenozin trifosfat
ATPaz	Adenozin trifosfataz
CETP	Kolesterol ester transfer protein
dl	desilitre
DNA	Deoksiribonükleik asid
d-ROM	Reaktif oksijen metabolitleri
DTBA	Dietilentriamin
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asid
HCl	Hidroklorik asid
HDL	Yüksek dansiteli lipoprotein
HDL-K, HDL-C	HDL-kolesterol
$HO^{\bullet}_2$	Perhidroksil radikali
H_2O_2	Hidrojen peroksid
HPLC	Yüksek basınçlı likid kromatografisi
IDL	Orta dansiteli lipoprotein
LCAT	Lesitin-kolesterol açiltransferaz
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
LDL-K, LDLC	LDL kolesterol
$LOO^{\bullet}$	Lipid peroksil radikali
LPL	Lipoprotein lipaz
MDA	Malondialdehid
mg	Miligram
$MgCl_2$	Mağnezyum klorür
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
Mn	Mangan
MUFA	Monoansature yağ asidi

NaOH	Sodyum hidroksid
N	Normalite
$O\cdot_2^-$	Süperoksid radikali
OH	Hidroksil radikali
O-LDL	Okside-LDL
PUFA	Poliansature yağ asidi
R·	Merkezli radikaller
RNA	Ribonükleik asid
RO·	Alkoksil radikalleri
ROO·	Peroksil radikalleri
RS·	Thiyl radikalleri
TG	Trigliserid
VLDL	Çok düşük dansiteli lipoprotein

1. GİRİŞ

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde hayat standardı ve dolayısıyla ortalama insan ömrünün yükselmesiyle birlikte kalp-damar hastalıklarında gözlenen artış, insanları daha sağlıklı beslenmeye zorlamaktadır. Bu hastalıkların başında da ateroskleroz gelmektedir. Günümüzde hekimler bu çeşit hastalara, yağlı yiyeceklerden ve özellikle de kolesterol muhtevasından dolayı hayvansal yağlardan kaçınmalarını tavsiye etmektedirler.

Yağlar, yapılarında bulundurdukları yağ asidleri kompozisyonu bakımından farklılık göstermektedir. Bitkisel yağlar uzun zincirli doymamış yağ asidleri, hayvansal yağlar ise genel olarak doymuş yağ asidleri bakımından zengindir. Hayvansal yağlar kolesterol muhtevaları bakımından kalp-damar hastalıkları için risk oluştururken, sıvı yağlar da yapılarındaki doymamış yağ asidlerinin oksidasyonu sonucu risk oluşturmaktadır. Çünkü, doymamış yağ asidlerinin çift bağları kolayca oksitlenerek serbest radikal oluştururlar. Serbest radikaller, başta yaşlanma ve kanser olmak üzere birçok hastalığa sebep olurlar. Ayrıca okside-LDL oluşmasını netice verirler. Okside-LDL ise ateroskleroz için çok önemli bir risk faktörüdür.

İşte, biz bu çalışmada son yıllarda ateroskleroz için bilinen hiperkolesterolemi ve hiperlipidemi yanında, yağların serbest radikallerden etkilenme ve lipid peroksidasyonuna sebep olma derecelerini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Serbest Radikaller

Prooksidan olarak bilinen reaktif oksijen moleküllerinin (ROM) meydana çıkması, normal aerobik yaşamın bir sonucudur. Prooksidanların düzenli teşekkülü ve enzimatik veya nonenzimatik antioksidanların etkileri dengededir. Oksidatif stres, birçok hastalığın başta gelen sebebidir. Homeostaziste antioksidan kapasitenin devamlı rejenerasyonuna ihtiyaç vardır. Bu olmazsa oksidatif hasar sonucu fizyopatalojik olaylar çoğalır (Bast et al., 1991; Halliwell, 1991; Sies, 1991).

Serbest radikal, eşlenmemiş elektronu bulunan molekül veya atomlardır (Akkuş, 1995; Halliwell, 1991, 1993,1994).

Atomlarda elektronlar orbital olarak bilinen bölgelerde yer alır. Her orbital maksimum karşı yönde dönen iki elektron taşır. Çoğu biyolojik molekül çift elektron ihtiva eder ve radikal değildir. Eşlenmemiş elektronlar, atom veya molekülün kimyasal reaktivitesini değiştirir ve aktif yapar. Bu yüzden radikallerin kimyasal reaktivitesi aşırı derecede yüksektir (Akkuş, 1995; Freeman and Crapo, 1982).

Radikaller değişik yollarla diğer moleküller ile reaksiyona girerler. Eğer iki radikal karşılaşırlarsa tek elektronlarını birleştirebilirler ve bir kovalent bağ yaparlar. Örneğin, bir hidrojen atomu tek bir elektron ile radikaldir ve iki hidrojen atomu kolaylıkla birleşerek diatomik hidrojen molekülüne dönüşebilirler (Freeman and Crapo, 1982; Halliwell, 1991, 1994).

$$H^{\bullet} + H^{\bullet} \longrightarrow H_2$$

Radikaller, çeşitli yollarla nonradikal bileşikler ile reaksiyona girebilirler. Bir radikal, çift elektronlu bir molekülden elektron alabilir veya elektron verebilir. Bir radikal bir nonradikale katılabilir. Bu üç tip reaksiyondan hangisi olursa olsun nonradikal, radikale dönüşür. Böylece bir radikal diğerini meydana getirir (Halliwell, 1991).

2.1.1. Serbest oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türleri

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Bunlar oksijenin kendisi, süperoksid, hidrojen peroksid, geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil radikali olup, ilk dördünün çeşitli reaksiyonları ile sonuncusu meydana gelir.

Oksijenin elektronları o şekilde dağılmışlardır ki, bu elektronlardan iki tanesi eşleşmemiştir. Bu yüzden oksijen bazen bir "diradikal" olarak da değerlendirilir. Oksijenin bu özelliği, onun diğer radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlar. Oksijen, en son suya indirgenir. Bu arada kısmî reaksiyonla, çok sayıda yüksek derecede reaktif ürünler oluşabilir (Bast, et al., 1991).

2.1.1.1. Süperoksid radikali

Hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu, serbest süperoksid radikal anyonu ($O_2^{\cdot -}$) meydana gelir (Halliwell, 1991, 1993,1994).

$$O_2 + e^- \longrightarrow O_2^{\cdot -}$$

Süperoksid, bir serbest radikal olmakla birlikte kendisi direkt olarak fazla zararlı değildir. Asıl önemi, hidrojen peroksid kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır (Halliwell and Gutteridge, 1990; Klebanoff, 1980).

Süperoksid, düşük pH değerlerinde daha reaktif olup oksidan perhidroksil radikali ($HO_2^{\cdot}$) oluşturmak üzere protonlanır. Fizyolojik pH'da protonlanmış formu %1'den azdır. Süperoksid anyonu, hem redükleyici hem de oksitleyici özelliğe sahiptir. Süperoksid ile perhidroksil radikali birbirleriyle reaksiyona girince, biri okside olur, diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda oksijen ve hidrojen peroksid oluşur (Halliwell and Gutteridge, 1990; Klebanoff, 1980).

$$HO_2^{\cdot} + O_2^{\cdot -} + H^+ \longrightarrow O_2 + H_2O_2$$

İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu da süperoksid meydana getirebilir.

$$Fe_2^{+} + O_2 \longrightarrow Fe_3^{+} + O_2^{\cdot -}$$

$$Cu^{+} + O_2 \longrightarrow Cu_2^{+} + O_2^{\cdot -}$$

Bu reaksiyonlar geri dönüşümlüdür (Cheeseman and Slater, 1993).

2.1.1.2. Hidrojen peroksid

Moleküler oksijenin, çevresindeki moleküllerden 2 elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu peroksid oluşur. Peroksid molekülü, 2 hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksidi (H_2O_2) meydana getirir (Cheeseman and Slater, 1993; Klebanoff, 1980). H_2O_2, membranlardan kolayca geçebilen, uzun ömürlü bir oksidandır (Lunec and Blake, 1990).

$$O_2^{\cdot -} + e^- + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2$$

$$O_2 + 2e^- + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2$$

Ancak, biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi süperoksidin dismutasyonu ile olur. İki süperoksid molekülü, iki proton alarak H_2O_2 ve moleküler oksijeni oluştururlar. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden, bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir.

$$2\ O_2^{\cdot -} + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$$

Hidrojen peroksid bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü, süperoksid ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir.

$$H_2O_2 + O_2^{\cdot -} \longrightarrow {}^{\cdot}OH + OH^- + O_2$$

Bu reaksiyona "Haber-Weiss" reaksiyonu adı verilir. Haber-Weiss reaksiyonu ya katalizör varlığında veya katalizörsüz cereyan edebilir. Ancak, katalizörsüz reaksiyon oldukça yavaş ilerler. Demirle katalizlenen ikinci şekli ise çok hızlıdır. Bu reaksiyona "Fenton reaksiyonu" adı verilir. Demir, bu reaksiyonu aşağıdaki şekilde katalizler (Cheeseman and Slater, 1993; Halliwell and Gutteridge, 1990; Lunec and Blake, 1990; Klebanoff, 1980; Sies 1991; Weiss and Lobuglio, 1982).

$$O_2^{\cdot -} + Fe_3^+ \longrightarrow O_2 + Fe_2^+$$

$$Fe_2^+ + H_2O_2 \longrightarrow Fe_3^+ + OH^- + {}^{\cdot}OH$$

EDTA gibi bazı şelatlayıcı ajanlar hidroksil radikal oluşumunu Haber-Weiss reaksiyonu yoluyla stimüle ederken, dietilentriamin pentaasetik asid (DTPA) gibi bazıları inhibe ederler. EDTA, demir iyonlarının lipid peroksidleri ile reaksiyon hızını ise düşürür (Klebanoff, 1980).

2.1.1.3. Hidroksil radikali

Hidroksil radikali ($^{\cdot}OH$), geçiş metalleri varlığında hidrojen peroksidin indirgenmesiyle (Fenton reaksiyonu ile) meydana gelir. Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda oluşur.

$$H - O - H \longrightarrow H. + {}^{\cdot}OH$$

Hidroksil radikali, son derece reaktif bir oksidan radikaldir. Yarılanma ömrü çok kısadır. Oluştuğu yerde büyük hasara sebep olur (Cheeseman and Slater, 1993; Halliwell and Gutteridge, 1990; Klebanoff, 1980; Lunec and Blake, 1990; Sies 1991; Weiss and Lobuglio, 1982).

2.1.1.4. Singlet oksijen

Singlet oksijen ($^1O_2$), ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi, serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olur. Oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin ters yönünde olan başka bir orbilate yer değiştirmesiyle oluşur. Delta ve sigma olmak üzere 2 şekli vardır. Singlet oksijen, uyarılmış elektronların daha düşük enerji seviyelerine inmesiyle ışık yayar. Singlet oksijenin kimyasal bir bileşikle etkileşimi sonucu kemiluminesans meydana gelmesi ve bunun ölçülmesiyle reaktif oksijen türlerinin direkt tayini yapılabilmektedir (Babior, 1984; Halliwell and Gutteridge, 1990; Klebanoff, 1980; Lunec and Blake, 1990; Sies, 1991; Weiss and Lobuglio, 1982).

Serbest oksijen radikalleri dışında karbon merkezli radikaller (R˙), peroksil radikalleri (ROO˙), alkoksil radikalleri (RO˙), thiyl radikalleri (RS˙) gibi önemli radikaller de vardır (Cheeseman and Slater, 1993). Peroksil radikali, poliansatüre yağ asidlerinden meydana gelen yarı ömrü uzun olan bir radikaldir (Sies, 1991).

2.1.2. Serbest radikallerin etkileri

Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler. Mitokondrideki aerobik solunumu ve kapiller permeabiliteyi bozarlar. Hücrenin potasyum kaybını ve trombosit agregasyonunu arttırırlar.

Proteaz, fosfolipaz, elastaz, siklooksijenaz, ksantin oksidaz, lipoksijenaz, triptofan dioksijenaz ve galaktoz oksidaz gibi litik enzimleri aktifleştirirken, alfa-1- antitripsin gibi bazı savunma sistemlerini inaktive ederler (Akkuş, 1995).

2.1.2.1. Serbest radikallerin membran lipidlerine etkileri

Serbest radikaller, savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak oranlarda oluştukları zaman organizmada çeşitli bozukluklara yol açarlar. Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenir, fakat lipidler en hassas olanlarıdır (Cheeseman and Slater, 1993). Membrandaki kolesterol ve yağ asidlerinin doymamış bağları, serbest

radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon oluştururlar (Freeman and Crapo, 1982; Halliwell and Gutteridge, 1984; Lunec and Blake, 1990). Poliansatüre yağ asidleri (PUFA)'nin oksidatif yıkımı, lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Çünkü, kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür (Winrow, et al., 1993).

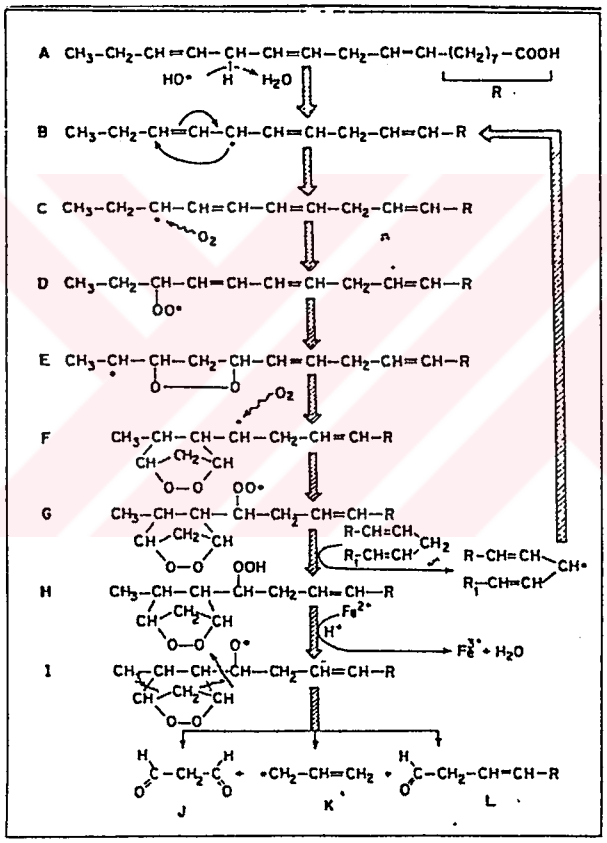
Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan bir serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan poliansatüre yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlar. Bunun sonucu yağ asidi zinciri bir lipid radikali niteliği kazanır. Oluşan lipid radikali dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesiyle dien konjugatları ve daha sonra lipid peroksil radikali meydana gelir. Bu lipid peroksil radikalleri, membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asidlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken, kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksidlerine dönüşürler. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam eder (Deby and Pincemail, 1988; Erden, 1992; Valenzuela, 1990).

Lipid peroksidasyonu toplayıcı reaksiyonlarla sonlandırılabilir ya da otokatalitik yayılma reaksiyonlarıyla devam edebilir (Freeman and Crapo, 1982).

Plazma membranı ve organel lipid peroksidasyonu, daha önce bahsedilen serbest radikal kaynaklarının hepsiyle stimüle edilebilir ve metallerin varlığıyla arttırılır. Bu metaller redoks katalisti olarak görev yaparlar ve süperoksid ve hidrojen peroksidin daha güçlü oksidanlara dönüşümünü katalizler (Freeman and Crapo, 1982; Halliwell and Gutteridge, 1984).

Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan lipid hidroperoksidlerinin yıkımı, geçiş metalleri iyon katalizini gerektirir. Lipid hidroperoksidleri yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehidler oluşur. Bu bileşikler, hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayabilirler (Cheeseman and Slater, 1993; Erden, 1992; Valenzuela, 1990; Winrow, et al., 1993). Üç ya da daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asidlerinin peroksidasyonu, malondialdehid (MDA) meydana getirir ki, bu da tiobarbütirik asidle ölçülebilir. Şekil 2.1'de linolenik asidden MDA ve diğer peroksidasyon ürünleri oluşumu görülmektedir (Deby and Pincemail, 1988; Erden, 1992; Valenzuela, 1990). Bu yöntem lipid peroksid düzeylerinin ölçülmesinde sıklıkla kullanılır. MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir, fakat lipid peroksidasyonunun derecesiyle korelasyon gösterir (Erden, 1992; Freeman and Crapo, 1982; Valenzuela, 1990).

Lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve indirekt olarak reaktif aldehidler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece, birçok doku hasarı ve hastalığa sebep olur (Cheeseman and Slater, 1993). Lipid radikallerinin hidrofobik yapıda olması yüzünden reaksiyonların çoğu membrana bağlı moleküllerle meydana gelir. Membran permeabilitesi ve mikroviskosite ciddi şekilde etkilenir. Peroksidasyonla oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna sebep olur. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Bu etkiler, MDA'nın niçin mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklar (Freeman and Crapo, 1982).



Şekil 2.1. Linolenik asidden malondialdehid ve diğer peroksidasyon ürünleri oluşumu (Deby and Pincemail, 1988; Erden, 1992; Valenzuela, 1990).

A: Başlama, **B:** Dien konjugasyonu ve serbest radikal stabilizasyonu, **C:** Moleküler oksijen saldırısı, **D:** Lipid peroksil radikali, **E:** Lipid endoperoksi radikali, **F:** Molekül içi düzenleme, **G:** Radikal zincir reaksiyonu (ilerleme), **H:** Lipid hidroperoksi parçalanması, **I:** Lipid alkoksil radikali, **J:** Malondialdehid, **K:** Alkil radikali, **L:** Lipid aldehid.

2.2. Lipidler

Lipidler, gerçekten ya da potansiyel olarak yağ asidleri ile ilişkileri olan heterojen bir grup bileşiklerdir. Suda nisbi olarak çözünememe, eter, kloroform ve benzen gibi polar olmayan çözücülerde çözünebilme şeklinde ortak özellikleri vardır. Bu sebeple lipidler katı yağları, mumları ve bunlarla ilişkili bileşikleri ihtiva ederler (Mayes, 1993 a).

Lipidler, sadece enerji değerleri yüksek olduğu için değil, doğal yiyecek maddelerindeki yağlarda bulunan yağda çözünebilen vitaminler ve esansiyel yağ asidleri nedeni ile de diyetin önemli yapı taşlarındandır.

Lipidler, kimyasal yapılarına göre kolesterol, yağ asidleri, açilgliseroller, apolipo-proteinler ve lipoproteinler olmak üzere beş gruba ayrılırlar (Stein and Gary, 1994).

2.2.1. Kolesterol

Kolesterol, yüksek molekül ağırlığına sahip katı bir alkoldür. Dokularda ve plazma lipoproteinlerinde serbest kolesterol halinde ya da uzun zincirli yağ asidleri ile birleşmiş olarak ester-kolesterol halinde bulunur. Birçok dokuda kolesterol, asetil-KoA'dan sentez edilir ve sonunda vücuttan safra içine kolesterol veya safra tuzları şeklinde atılır. Kolesterol vücutta kortikosteroidler, seks hormonları, safra asidleri ve D vitamini gibi diğer steroidlerin ön maddesidir. Hayvan metabolizmasının tipik bir ürünü olduğundan yumurta sarısı, et, karaciğer ve beyin gibi hayvansal kökenli besin maddelerinde bulunur (Matheus and Holdevan, 1990; Mayes, 1993 b; Stein and Gary, 1994). Kolesterol, membranların ve plazma lipoproteinlerinin dış tabakasının gerekli bir yapısal bileşenidir. İnce barsaktaki kolesterol diyet, safra, barsak sekresyonu ve hücrelerden gelir. Normalde ince barsaktaki bütün kolesterol serbest kolesteroldür. Çünkü, diyet içinde bulunan ester kolesterol, pankreas ve ince barsak tarafından salgılanan kolesterol esterazlar tarafından hızlıca hidrolize edilirler. Bu da barsaklardan diğer lipidlerle birlikte emiliminden önce, safradaki kolesterol ve diyetteki serbest kolesterol ile karışır ve şilomikronlar içine katılır. Absorbe olunan kolesterolün %80-90'ı barsak mukozası içinde uzun zincirli yağ asidleri ile esterleşir. Karaciğerde bulunan VLDL, kolesterolü plazmaya taşır. VLDL içindeki kolesterolün büyük bir kısmı, karaciğer tarafından alınıp tutulan VLDL kalıntısı içinde kalır veya LDL'ye çevrilir. Bu da karaciğerde ve ekstrahepatik dokularda bulunan LDL reseptörleri tarafından alınıp tutulur (Mayes, 1993 b). Buna ek olarak lipoproteinler, membranlardan ve diğer lipoproteinlerde bulunan kolesterol ile kolayca dengeye giren serbest kolesterolü de dolaşıma taşır. Total kolesterolün %70 kadarı vasküler kompartmanda esterifiye olur. Esterifikasyon önemlidir, çünkü bu, lipoproteinlerin lipid taşıma

kapasitesini belirler. Reaksiyon plazmada, lesitin-kolesterol açiltransferaz (LCAT), hücre içinde ise, açil-kolesterol açiltransferaz (ACAT) tarafından katalizlenir (Mayes, 1993 b; Stein and Gary, 1994). Ester-kolesterol, kolesterolün birçok dokuda bulunan depo şeklidir. Kolesterol esteri, lipoproteinlerin merkezinde bir yük olarak taşınır. LDL-K, kolesterol esterinin birçok dokuya alınımında bir aracıdır. Serbest kolesterol, dokulardan HDL aracılığı ile ayrılır ve safra asidlerine dönüştürülmek üzere karaciğere taşınır. Kolesterolün yaklaşık1/3'ü burada safra asidlerine dönüştürülür. Safra asidlerinin önemli bir kısmı barsaklardan tekrar emilerek karaciğere gelir. Böylece kolesterolün enterohepatik bir dolaşımı oluşur. Geriye kalan kolesterolün bir kısmı steroid hormanlarının metaboliti tarzında idrarla atılır. Bu miktar çok azdır. Dolayısı ile, kolesterolün sentezi ve alınması kolay, harcanması ve atılması zordur. Fazla alındığında hiperkolesterolemiye sebep olur (Färkkilä and Miettinen, 1990; Stein, 1986).

Kolesterol, safra taşlarının da temel yapıtaşıdır. Besinlerle alınan yağ, protein ve karbonhidratların miktarı, serum kolesterol seviyesi üzerine çok defa önemli bir etkiye sahiptir. Çünkü, kolesterolün %70-80'i endojen kaynaklıdır ve besinler ile alınan miktar azaldığı zaman endojen kolesterol üretimi günlük miktarı karşılamak üzere artar (Donald, 1994; Yardımcı, 1993).

Kolesterolün patolojik olaylardaki temel etkisi, aterosklerozun oluşumunda rol oynayarak serebrovasküler, koroner ve periferik damar hastalıklarına yol açmasıdır (Matheus and Holdevan, 1990; Mayes, 1993 b; Stein and Gary, 1994). Ailesel hiperkolesterolemisi bulunan bir kişide koroner arter hastalığı 10 kat artar (Wiklund, et al., 1990). Yüksek kan kolesterolü ve trigliserid seviyesinin damarlar üzerindeki zararlı etkileri çok genç yaşlardan itibaren başlar. Hiperkolesterolemili kişilerde damar endotelinde yapısal ve fonksiyonel değişiklikler görülür, damar duvarında kolesterol ve lipid birikimi başlar ve erken yaşlarda ateroskleroz gelişir (Kurt ve Aslan, 1993; Stander, 1990; Yardımcı, 1993).

Kolesterolün, hücre zarının yapısına da girdiği belirtilmektedir (Stein,1986).

2.2.2.Yağ asidleri

Yağ asidleri, doymuş ve doymamış yağ asidleri olmak üzere ikiye ayrılır. Uzun hidrokarbon kuyruğuna sahip olan ve tek bağ ihtiva eden yağ asidleri, doymuş yağ asidleridir. Doymamış yağ asidleri ise yapılarında bir ya da birden fazla çift bağ bulundururlar. Genel olarak tabiatta doymamış yağ asidleri, doymuşlara oranla yaklaşık iki kat daha fazla bulunur. Doymamış yağ asidleri yapılarında bir tane çift bağ ihtiva ederlerse monoansatüre yağ asidi

(MUFA), birden fazla çift bağ ihtiva ederlerse poliansatüre yağ asidi (PUFA) olarak adlandırılırlar (Huang, et al., 1990).

Yağ asidleri, başlıca doğal katı ve sıvı yağlarda esterleri halinde bulunurlar. Ancak, plazmada bir transport şekli olan serbest yağ asidi olarak esterleşmemiş halde de bulunabilirler (Mayes, 1993 a).

Yağların büyük bir kısmı diyetten karşılanır. Bununla birlikte insan, yağ asidlerinin bir çoğunu sentezleyebilir. Memelilerin sentez edemediği yağ asidlerinden linoleik asid özellikle bitkisel yağlarda bulunur; prostaglandin sentezinde ve santral sinir sisteminin miyelizasyonunda rol oynar (Mayes, 1993 c; Stein and Gary, 1994). Linoleik asidden karbon zincirinin uzaması (elongasyon) ve çift bağ sayısının artması (desaturasyon) sonucu araşidonik asid meydana gelir (Watkins, 1991). Bazı hayvan türlerinde, özellikle kedide desaturasyon enziminin aktivitesi düşük olduğundan, dönüşümü de yavaş olmaktadır. İnsanlarda ise bu dönüşümün olup-olmadığı hakkında kesin bir bilgi bulunmamaktadır (Balevi, 1996; Leaf and Weber, 1988).

Linolenik asid ise balık yağında bol miktarda bulunur (Watkins, 1991). Ayrıca bitkilerin yeşil yapraklarında da rastlanır ve bitki kloroplastlarında linoleik asidin desatüre edilmesiyle meydana getirilir. Linolenik asidin elongasyon ve daha ileri düzeyde desaturasyonu, hayvanlarda eikosapentaenoik asid (EPA, C:20) ve dokosahekzaenoik asidin (DHA,C:22) üretimini sağlar (Leaf and Weber, 1988).

Karbon sayısı 10'a kadar olan bütün doymuş yağ asidleri ile doymamış yağ asidlerinin tamamı (yapılarındaki çift bağlardan dolayı) oda ısısında sıvı, karbon sayısı 10'dan yukarı olan doymuş yağ asidleri ise katı haldedir. Yağ asidlerinin karbon sayısı arttıkça yağ asidi sertleşmeye ve erime noktası yükselmeye başlar (Huang, et al., 1990).

Uzun zincirli yağ asidleri mitokondride, enerji üretimi için β-oksidasyon olarak bilinen bir dizi reaksiyon sonucu okside olurlar. Oksidasyon sonucu oluşan asetil-KoA, oksalasetatla reaksiyona girerek sitratı meydana getirir. Sitrat, Krebs siklusunun major kompenentidir. β-oksidasyondan meydana gelen kimyasal enerji, metabolik olaylar için salınır ve ATP gibi yüksek enerjili bileşikler haline dönüştürülür (Mayes, 1993 c; Stein and Gary, 1993).

2.2.3.Lipoproteinler

Kompleks lipidler, kanda lipoprotein adı verilen suda çözünür makromolekül kompleksleri halinde taşınırlar. Lipoproteinlerin genel fonksiyonu, çözünmeyen lipidlerin kanda çözünebilir lipid ve protein kompleksleri halinde taşınması için bir araç görevi alması, bu

lipidler arasında trigliseridler, kolesterol esterleri, serbest kolesterol ve fosfolipidlerin bulunmasıdır. Çeşitli lipoproteinlerle ilişkili, apolipoprotein adı verilen yaklaşık on değişik protein yapısı bulunmaktadır (Stein and Gary, 1994).

Lipoproteinlerin genel yapısı, hidrofob lipidlerin (trigliserid ve kolesterol esterleri) bir çoğunu ihtiva eden bir çekirdek ile protein, serbest kolesterol ve fosfolipidlerden (çoğunlukla suda çözünebilir maddelerdir) oluşan bir yüzey tabakasından meydana gelen küresel bir partikül şeklindedir. Lipoproteinlerin yüzeyinde özgül apolipoproteinlerin yer alması, çeşitli lipoproteinlerin geleceğini belirler. Dolayısıyla, lipoproteinlerin metabolizmasını ve lipid anomalileri ile ilişkili hastalıkları anlayabilmek için her apoproteinin lipid metabolizmasının düzenlenmesindeki rolünü dikkate almak gerekmektedir (Mahley, 1993; Tietz, 1987).

Plazma lipoproteinlerinin sentez edildiği başlıca yerler barsak ve karaciğerdir. Lipid taşınmasında çeşitli roller üstlenen başlıca altı lipoprotein sınıfı bulunmaktadır.

Lipoproteinler yoğunluklarına, elektroforetik mobilite ve içerdikleri apoproteinlere göre sınıflandırılırlar (Mahley, 1993).

2.2.3.1. Şilomikronlar

Şilomikronlar, plazma lipoproteinlerinin en büyük olanlarıdır (Mahley, 1993). Yaklaşık %98-99 lipid ve %1-2 proteinden oluşmaktadır. Diyetle alınan yağların transportundan sorumludur. İntestinal epitel hücrelerinden sentez edilir ve salınırlar (Stein and Gary, 1994). Yağlı bir diyetin emilimi süresince TG ve kolesterol esterlerinin, Apo B-48, A-1 ve A-IV ile barsak duvarı içinde birleşmeleriyle oluşurlar. Lenfatikler yoluyla dolaşıma girerler (Bhagavan, 1992; Lewis, 1990; Mayes, 1993 d; Ross, 1992). LPL (lipoprotein lipaz) düzenlemesiyle süratle dolaşımdan temizlenir ve açlıkta kanda bulunmazlar. Görevleri; kolesterol ve trigliseridleri, barsak lümeninden metabolize olacakları ya da depolanacakları yere taşımaktır. Şilomikron artıklarının damar endotelini zedeleyerek aterojenik oldukları düşünülmektedir (Calbreath, 1992; Ross, 1992).

2.2.3.2. Çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL)

Trigliseridden zengin bir lipoproteindir (Stein and Gary, 1994). Plazmada ultrasantrifugasyon ile ayrılan partiküller olup %85-90 lipid ve %10-15 proteinden oluşmaktadır (Mahley, 1993). VLDL, muhtemelen serbest yağ asidleri gibi prekürsöründen karaciğerde sentezlenen TG ve kolesterolün transportunda görev alır (Bhagavan, 1992; Ross, 1992; Stein and Gary, 1994). Plazma VLDL'sinin çoğu karaciğer kökenlidir (Mayes, 1993 d).

Karaciğerin kendi VLDL'sini anlamlı ölçüde metabolize etmediği gösterilmiş olduğundan. karaciğerdeki VLDL'nin ekstrahepatik dokulardaki metabolizmalarından sekonder olarak ortaya çıkmış olması muhtemeldir. VLDL'nin triaçilgliserolleri LPL tarafından hidroliz edilir (Mayes. 1993 d).

2.2.3.3. Orta dansiteli lipoproteinler (IDL)

VLDL'nin yıkım ürünü (Bhagavan, 1992), LDL'nin yapıtaşıdır. Normal koşullarda plazmada çok düşük konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Aterojenik olduğu kabul edilmektedir. IDL, eşit miktarda TG ve kolesterol ihtiva eder. Major apoproteini B ve E'dir (Mahley, 1993; Ross, 1992).

2.2.3.4. Düşük dansiteli lipopreteinler (LDL)

Plazmadaki başlıca kolesterol taşıyıcı lipoproteinlerdir. Plazmadaki toplam kolesterolün yaklaşık %70'i LDL'de bulunmaktadır. LDL, yaklaşık %75 lipid ve %25 proteinden oluşmaktadır (Mahley, 1993). LDL, bir polipeptid zincir olan apoprotein B-100 ihtiva eder. Apo B-100, özellikle karaciğer parankim hücreleri tarafından LDL'nin spesifik tutulumunu kolaylaştıran, LDL için iki temel bağın birisidir (Utermann, 1989).

LDL, kolesterolün vücuttaki dağılımında aktif rol oynar (Lawn, 1993). Kolesterolün periferik dokulara dağılımı, hedef hücrelerin plazma membranı üzerindeki LDL'nin spesifik reseptörüne bağlanmasıyla düzenlenir (Bhagavan, 1992). Hücreler, lipoprotein yüzeyindeki apo B-100'ü bağlayan LDL reseptörleri aracılığı ile kandan LDL'yi alarak kolesterole sahip olurlar (Albers, et al. 1977). LDL'nin yaklaşık %50'si ekstrahepatik dokularda, %50'si de karaciğerde yıkılır (Mayes, 1993 d).

Deneysel çalışmalar LDL'nin kimyasal modifikasyonunun (asetil LDL, asetoasetil LDL, malonaldehid LDL) makrofajlar tarafından kolesterol alınımını arttırdığını göstermişdir. Bu kimyasal modifiye LDL'ler makrofajlarda LDL reseptörlerinden farklı "asetil LDL reseptör" veya diğer adıyla "scavanger reseptörler" tarafından alınırlar. Ancak, bu kimyasal modifiye LDL'lerin insan arter duvarında invivo oluşup-oluşmadığı henüz bilinmemektedir (Kurt ve Aslan, 1993; Lewis, 1990; Mayes, 1993 d; Yardımcı, 1993). LDL oksidasyonunun dolaşımda oluşmadığı tahmin edilmektedir. Zira LDL, plazma içinde okside olursa dakikalar içinde hemen karaciğer tarafından alınır. Buna karşılık arter duvarında antioksidanların yetersiz olduğu mikroçevrede okside-LDL oluşabilir (Mayes, 1993 d; Yardımcı, 1993). Monosit/Makrofajlar ve düz kas hücreleri, üzerlerindeki LDL reseptörü aracılığı ile okside-LDL'yi almakta ve foam hücrelerine dönüşmektedir. Okside-LDL lipoksijenazı uyararak makrofajlardan O_2 salınımına

yol açmakta ve oksidatif zedelenmenin ilerlemesine neden olmaktadır. Böylece okside-LDL, inflamasyona, damar endotelinin zedelenmesine ve tromboza yol açmaktadır (Yardımcı, 1993).

Sigara, LDL'nin oksidasyonuna sebep olmakta ve makrofajlara LDL'nin alınımını uyarmaktadır (Craig, et al. 1990; Scheffler, et al., 1990; Wolf, 1990).

Plazmadan LDL-K'ün eliminasyonunda azalma, plazma LDL-K seviyesinde yükselmeye; LDL-K'ün makrofajlar ve düz kas hücreleri tarafından alınımında artmaya; arteriyel duvarda kolesterolün birikmesine ve neticede prematür ateroskleroza neden olmaktadır (Bergesio, et al., 1992; Henry, 1991; Scanu and Flees, 1990).

2.2.3.5. Yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL) ve alt grupları (HDL_2 ve HDL_3)

HDL yaklaşık %50 lipid, %50 protein ihtiva eder (Mahley, 1993). Hem karaciğer, hem de barsakta sentez edilir ve salınır. HDL_2 ve HDL_3, HDL'nin dansitelerine göre (HDL_2 için 1063-1125, HDL_3 için 1125-1210 g/ml) alt gruplarıdır. HDL alt grupları, kimyasal çöktürme ve ultrasantrifugasyon metodları ile ayrılırlar (Craig, et al., 1990).

HDL, kolesterolün diğer dokulardan karaciğere taşınmasında rol alır. Lesitin kolesterol açil transferaz (LCAT) enzimi, kolesterolün esterleşerek HDL_3 molekülüne alınmasına ve HDL_2'ye dönüşmesine aracılık eder. HDL_2 molekülü de kolesterolün karaciğere taşınmasını sağlar. Çünkü HDL_2-K, yüksek oranda Apo A-1 ihtiva eder (Kurt ve Aslan, 1993).

Klinik olarak HDL-K ve alt gruplarının seviyelerinin düşüklüğü, koroner arter hastalığı riskinin artmasıyla birliktedir (Bhagavan, 1992). Plazma HDL seviyesi arttıkça, arter duvarını da kapsayacak şekilde periferik dokulardan kolesterolün uzaklaştırılması ve karaciğere taşınması artar. Böylece kan HDL seviyesinin yükselmesi aterosklerozdan koruyucu bir etki yapar (Kurt ve Aslan, 1993). HDL-K seviyesini düzenleyen bir faktör olan plazma kolesterol ester transfer protein (CETP), HDL-K içindeki kolesterol esterlerinin ve LDL ile VLDL'deki trigliseridlerin transferini kolaylaştıran hidrofobik bir glikoproteindir. CETP eksikliğinde m-RNA'nın normal fonksiyonunu önleyen bağlı donör tarafındaki bir nokta mutasyonunda, etkilenen şahıslarda plazma HDL-K seviyesi önemli oranda yükselmekle birlikte, LDL-K seviyesi düşer. CETP eksikliği olan ailelerde prematür ateroskleroza ait hiçbir delil yoktur. Bu çalışmalar, CETP'in rolünü ve HDL-K'ün antiaterojenik özelliğini desteklemektedir. Bununla birlikte HDL-K seviyesini yükselten bütün faktörler ateroskleroza karşı önleyici olmayabilir. Çünkü TG'den zengin HDL'nin artışına sebep olan hepatiklipaz yetmezliği prematür ateroskleroz ile birliktedir (Bhagavan, 1992). HDL'nin epidemiyolojisi Amerika'da

geniş bir populasyonda araştırılmıştır. Genetik olduğu kadar çevresel ve sosyoekonomik faktörlerin HDL-K seviyesini etkilediği ve koroner arter hastalığına karşı proflaktik bir ölçümün yapılması gerektiği kanaatine varılmıştır.

Östrojen, HDL-K'ü arttırmakta ve LDL-K'ü azaltmaktadır. Testosteron ise tersi bir etki yapmaktadır. Östrojen ve östrojen-progesteron tedavisi yapılan postmenapozal kadınlarda LDL-K seviyesi düşmekte ve koroner arter hastalığı mortalitesi azalmaktadır (Bush, et al., 1988).

HDL-K, alt grupları ve HDL_2/HDL_3 oranı, farklı çalışmalarda tayin edilmiştir. Bu çalışmalara göre HDL_2'nin esas antiaterojenik lipoprotein olduğu gösterilmiştir (Ortola, et al., 1992; Paul, et al., 1991).

2.3. İnsan Gıdası Olarak Yağın Önemi

Katı ve sıvı yağlar, insan ve hayvan diyetlerinin asli besin unsurlarıdır. Yağlar, gıda maddelerini oluşturan çeşitli grup bileşikler içerisinde enerjice en konsantre kaynağı teşkil ederler. Esansiyel niteliğe sahip çeşitli yağ asidlerini ihtiva ederler. Bu yağ asidleri, hormonlar ve prostaglandinlerin prekürsörüdürler. Yağlar, yemeklerden sonra tokluk hissine katkıda bulunurlar. Gıdaların daha lezzetli olmasına hizmet ederler. Ayrıca yağlar, yağda çözünen vitaminler için taşıyıcı fonksiyona sahiptirler (Işıksoluğu, 1986; Nas ve ark., 1992).

Katı ve sıvı yağlar, pekçok gıdada farklı miktarlarda mevcuttur. Süt ve süt ürünleri, et, tavuk, balık, sert kabuklu meyveler, bazı sebzeler diyet yağının asıl kaynağını teşkil ederler. Pekçok meyve ve sebze, yağları çok az miktarda içerirler. Bu tip gıdalardan yağ doğrudan doğruya alınarak tüketilir. Çeşitli veriler, günlük yağ tüketiminin kalori esasına göre, toplam kalorinin %38'i civarında olduğunu göstermektedir (Nas ve ark., 1992).

2.3.1. Yağ nedir?

Katı ve sıvı yağlar, yağ asidleri ve gliserolün hakim olduğu triesterlerdir. Genelde trigriseridler olarak isimlendirilirler. Bu bileşikler, suda çözünmediği halde pek çok organik çözücüde çözünürler. Sudan daha düşük yoğunluğa, normal oda sıcaklığında sıvıdan katıya kadar değişen bir erime aralığına sahiptirler. Oda sıcaklığında katı formda iseler katı yağlar (fais), sıvı formda iseler sıvı yağlar (oils) olarak tanımlanırlar. Yağların katılık veya sıvılık durumu, onların fiziksel özelliğiyle ilgilidir.

Lipid terimi kimyasal maddelerin farklı gruplarını kapsamaktadır. Lipidler, trigliseridlere ilaveten mono ve digliseridler, fosfatidler, serebrositler, steroller, terpenler, yağ alkolleri, yağ asidleri, yağda çözünen vitaminler (A, D, E, K) ve diğer bazı bileşenleri de ihtiva eden bileşikler topluluğudur (Nas ve ark., 1992).

2.3.2. Gıda olarak tüketilen önemli yağlar ve özellikleri

2.3.2.1. Tereyağı

Evcil kara hayvanlarının sütlerinden elde edilmektedir. %28-31 tek bağlı doymamış yağ asidlerini (MUFA), %1-3 çok bağlı doymamış yağ asidlerini (PUFA) ve %63-70 doymuş yağ asidlerini ihtiva eder. Oleik, palmitik ve stearik asidlere ilaveten düşük molekül ağırlığına sahip yağ asidlerinin geniş bir grubunu, az miktarda olsa bile içerir.

Tereyağı, saf yağı %80'den daha az miktarda içermemelidir. Ürün içindeki yağ kısmı su, kazein, mineraller ve diğer çözünebilir süt katı bileşenlerini içeren sulu bir sistemde plastik matriks olarak işlev görür. Tereyağı içerisinde bulunan yağ dışındaki katı fraksiyon, tereyağı ağırlığının %1'i civarındadır.

Genellikle de tereyağı ağırlığının %1.5-3.0'ü düzeyinde tuz ilave edilir. Ayrıca tereyağı vitamin A ve daha az düzeyde de vitamin D ihtiva eder. Nisbeten kısa zincirli doymuş yağ asidleri içermesiyle karakterizedir.

İnek sütünden elde edilen yağ, en önemli ve belli başlı tereyağıdır. Tereyağı, yemeklik ve kahvaltılık olarak tüketilmektedir (Nas ve ark., 1992).

Tereyağının yağ asidi kompozisyonu çizelge 2.1'de görüldüğü gibidir (Martin, 1986).

Çizelge 2.1. Tereyağının yağ asidi kompozisyonu

Doymuş yağ asidleri	**% ağırlık**	**Doymamış yağ asidleri**	**% ağırlık**
Palmitik asid	25.2	Oleik asid	29.5
Stearik asid	9.2	Linoleik asid	3.6
Diğerleri	25.6	Diğerleri	6.9
Toplam	60.0	**Toplam**	40.0

(Martin, 1986).

2.3.2.2. Margarin

Margarin kelimesi, Yunanca "inci" anlamına gelen "margaron"dan gelmektedir. 1869 yılında III. Napolyon'un açtığı bir yarışmayla tereyağı benzeri ve emülsiyon halinde bir ürün üretilmesi istenmiştir. 1870 yılında "Mage Mouries" tarafından margarin formülü bulunmuştur. Bu formül bugüne kadar çeşitli değişikliklere uğramış, ancak margarin üretiminden hiçbir zaman vazgeçilmemiştir.

Bitkisel margarinler, çeşitli bitkisel yağların kısmî hidrojenasyonu sonucu elde edilen sertleştirilmiş rafine yağlardan veya bu yağlara çeşitli bitkisel rafine yağların karıştırılmasıyla elde edilen ve içerisinde emülsiyon halinde su ve/veya süt veya sıvı süt ürünleri bulunabilen yağlardır. Hayvansal margarinler ise, süt yağı dışında, sıhhatli kasaplık hayvan yağlarının eritilip bu yağların rafinasyonundan sonra değişik fazlardaki yağlar ve/veya yemeklik sıvı veya sertleştirilmiş yağlarla, margarin üretim tekniğine göre üretilen margarinlerdir (Nas ve ark., 1992).

Margarinde esas olarak iki faz mevcuttur: Yağ fazı, çeşitli sıvı ve katı yağların karışımı olup, margarinin tüketildiği sıcaklıkta uygun katılığını sağlayabilmek için gerekli katı yağ nisbetini, yağda çözünen vitaminleri, esanslar, renk maddeleri ve emülsifiye edici maddeleri ihtiva eder. Su fazı ise fermente edilmiş süt, tuz, koruyucu maddeler ve antioksidantları bünyesinde bulundurur.

Kahvaltılık Margarin: Tereyağı kıvamında ve emülsiyon halinde ekmeğe rahatlıkla sürülebilen margarinlerdir. Kahvaltılık margarinlerde aşağıdaki maddeler bulunmaktadır:

1. %82 oranında bitkisel yağ
2. Tuz en çok %0.2
3. %0.2'ye kadar benzoik asid ve renk maddesi
4. %5'e kadar bitkisel lesitin
5. Vitamin

Kahvaltılık margarinin erime noktası en çok 36°C olmalıdır.

Kahvaltılık margarinlere vitamin A ve D, renk maddeleri, lesitin, mono ve digliseridler, koku maddeleri ve koruyucu madde (benzoik asid) ilave edilmektedir (Inklaar and Fortuin, 1969; Nas ve ark., 1992).

Yemeklik (Mutfak) Margarin: Yemeklik margarinler aşağıdaki özellikleri taşıyan margarinlerdir.

1. En az %99 bitkisel yağ içermeli
2. Asidite %0.2 olmalı
3. Erime noktası en çok 36°C olmalı
4. Vitamin ilavesi serbesttir. Ancak ilave edilirse etikette cins ve miktarı belirtilmelidir.
5. Renk maddeleri kullanılabilir.

Yemeklik margarin emülsiyon olmayan bir üründür. Üretimi kahvaltılık margarine göre daha basittir.

Margarinin yağ asidi kompozisyonu çizelge 2.2.'de görülmektedir (Nas ve ark., 1992).

Çizelge 2.2. Margarinin yağ asidi kompozisyonu

Tekli doymamış yağ asidleri (MUFA) (%)	Çoklu doymamış yağ asidleri (PUFA) (%)	Doymuş yağ asidleri (%)
45-66	14.35	18-21

(Nas, v.d., 1992).

2.3.2.3. Ayçiçek yağı

Ayçiçek yağı, *Helianthus annuus* bitkisinin tohumlarından elde edilir. Ayçiçeği tohumları %22-36 arasında yağ ihtiva eder. Dünyada geniş bir tüketim alanı bulan bu yağ, bitkisel yağlar içerisinde ikinci sırada tüketim alanı bulmuştur.

Yağ, kabuğu soyulan tohumlardan hidrolik veya vidalı preslerle presleme veya solvent ekstraksiyonu yoluyla elde edilir. Elde edilen yağ, sortening ve margarin imalatında kullanılabildiği gibi esas olarak kızartma ve salata yağı, açık kehribar rengindedir. Rafine yağları ise, diğer yağların rengine benzer şekilde açık sarıdır. Ham ayçiçek yağı, pamuk tohumu ve mısır yağından az olmakla birlikte, bazı fosfatidleri ve musilajlı maddeleri içerir. Serbest yağ asidi muhtevası ise diğer yağlı tohumlarda olduğu gibi %0.5 ve daha yüksek düzeyde bulunabilmektedir. Ayçiçek yağı, hoşa gitmeyen bir kokuya sahip ise de bu koku deodorizasyon (koku giderme) aşamasında yağdan uzaklaştırılır.

Ayçiçek yağı, yaklaşık %15 doymuş, %85 doymamış yağ asidi ihtiva eder. İklim, sıcaklık, genetik faktörler, tarlada tohumun bulunuş pozisyonu yağın kompozisyonunu önemli derecede etkiler.

Ayçiçek yağı mumlar, hidrokarbonlar, steroller ve çok az miktarda da antioksidantlar içermektedir. Ayçiçek yağının yağ asidi kompozisyonu Çizelge 2.3'te görüldüğü gibidir (Nas ve ark.,1992).

Çizelge 2.3. Ayçiçek yağının yağ asidi kompozisyonu

Doymuş yağ asidleri	**% Ağırlık**	**Doymamış yağ asidleri**	**% Ağırlık**
Palmitik asid	3-6	Oleik asid	14-43
Stearik asid	1-3	Linoleik asid	44-75
Araşhidik asid	0.6-4	Linolenik asid	iz-2
Behenik asid	iz-0.8		
Lignoserik asid	iz-0.4		
Toplam	8.7-14.2	**Toplam**	85-91

(Nas, v.d., 1992).

2.3.2.4. Zeytinyağı

Zeytinyağı, dünyanın en önemli ve en eski yağlarından biridir. Özellikle Akdeniz ülkelerinde kullanım alanı bulmuştur. Zeytinyağı esas olarak kızartma ve salata yağı olarak tüketilmektedir. Ayrıca sabun yapımı, tekstil yağları üretimi ve sulfonatlı bileşiklerin üretiminde de kullanılabilmektedir.

Zeytinyağı, sürekli yeşil kalan *Olea europa* ağacının meyvesinden ezme ve presleme yoluyla elde edilmektedir. Tam meyvede kuru maddede %35-70 yağ bulunmaktadır. Meyve pulpunda ise kuru maddede %75'in üzerinde yağ mevcuttur. Yağ, genellikle yeşilimsi-sarı renkte olup, kendine özel bir aroma ve kokuya sahiptir. Diğer bitkisel yağlardan farklı olarak iyi hammaddeden uygun metodlarla elde edilen kaliteli zeytinyağı rafinasyon, koku giderme veya diğer işleme muameleleri yapılmaksızın gıda olarak tüketilebilmektedir. Ancak, düşük kaliteli zeytinyağları rafine edilerek ve yüksek kaliteli yağlarla karıştırılarak tüketime sunulurlar.

Yağlarda presleme genelde iki kademede gerçekleştirilmektedir. İlk presleme sonucunda yüksek kalitede "virgin" yağı olarak isimlendirilen zeytinyağı elde edilir. Daha sonraki presleme işlemlerinde daha düşük kalitelere sahip yağlar üretilir. Ticaretteki zeytinyağları farklı kaynaklardan elde edilen ve farklı kaliteye sahip stok yağlarının karışımıdır. Presleme sonucu posada kalan yağ solvent ekstraksiyonu ile çıkarılmaktadır. Bu yağ genellikle yemeklik yağ olarak kullanılmayıp, sabun üretimi veya diğer endüstriyel amaçlarla kullanılmaktadır. Ekstraksiyonu iyi bir şekilde yapılan posa zeytinyağları, uygun rafinasyon teknikleri uygulanarak yenebilir yağ olarak da kullanıma sunulurlar.

Aroması yüksek, düşük kaliteli yağlar pamuk tohumu ve soya fasülyesi yağı gibi daha hafif aromaya sahip yağlarla karıştırılabilir.

Farklı yörelerden elde edilen zeytinyağlarının iyot sayıları birbirinden çok az farklılıklar gösterebilmektedir. Linoleik asid muhtevasının düşüklüğünden dolayı oksidasyona karşı diğer yağlardan daha stabildir.

Zeytinyağının yağ asidi kompozisyonu çizelge 2.4'te görülmektedir (Nas ve ark., 1992).

Çizelge 2.4. Zeytinyağının yağ asidi kompozisyonu

Doymuş yağ asidleri	**% Ağırlık**	**Doymamış yağ asidleri**	**% Ağırlık**
Miristik asid	0.1-1.2	Oleik asid	65-85
Palmitik asid	7-16	Linoleik asid	4-15
Stearik asid	1-3		
Arahşidik asid	0.1-0.3		
Toplam	9-19	**Toplam**	81-91

(Nas, vd., 1992)

2.3.2.5. Mısırözü yağı

Mısır, önemli bir tarla ürünü olmakla birlikte çok az bir kısmı mısır yağı eldesinde kullanılmaktadır. Mısırözü yağı, mısırın (*Zea mays*) yaş veya kuru öğütülmesi sonucu elde edilen bir yan ürünüdür. Mısırözü yağı, salata yağı ve margarin olarak yemeklik maksatlarla kullanılırken, gıda dışı uygulamalarda da çok önemli oranda kullanılmaktadır. Yüksek düzeyde

çoklu doymamış ve az miktarda doymuş yağ asidi muhtevasından dolayı yemeklik olarak önemli bir kaynaktır.

Mısırözü yağında oleik ve linoleik asidler yaklaşık 1:2 oranında bulunur ve yağ asidlerinin %80'inden fazlasını oluştururlar. Linolenik asid, yok denecek kadar az veya eser miktarda bulunur. Palmitik asid %8.1'lik seviyesiyle en fazla bulunan doymuş yağ asididir. Tamamen doymuş yağ asidlerinden oluşan trigliserid bulunmaz (Nas ve ark., 1992).

Mısırözü yağının yağ asidi kompozisyonu Çizelge 2.5'te görülmektedir (Martin, 1986).

Çizelge 2.5. Mısırözü yağının yağ asidi kompozisyonu

Doymuş yağ asidleri	**% Ağırlık**	**Doymamış yağ asidleri**	**% Ağırlık**
Palmitik asid	8.1	Oleik asid	30.1
Stearik asid	2.5	Linoleik asid	56.3
Diğerleri	0.1	Diğerleri	2.9
Toplam	10.7	**Toplam**	89.3

(Martin, 1986).

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Hayvan materyali

Her grupta 30'ar adet *Avian farms* hibrit civcivin bulunduğu 6 grupta, toplam 180 adet civciv kullanıldı. Çalışma Konya'da özel bir tavuk çiftliğinde gerçekleştirildi. Civcivlerde ateroskleroz daha çabuk geliştiği ve lipid metabolizması bozuklukları daha çabuk görülebildiği için çalışmamızda civciv kullanıldı (Fuhrmann, H. and Sallmann, H.P., 1995 a, b; Klaus, A.M., et al., 1995).

3.1.2. Yem materyali

Çizelge 3.1'de karışımı ve Çizelge 3.2'de analizi verilen rasyon, özel bir yem fabrikasında itina ile hazırlandı.

Çizelge 3.1. Yem hammaddeleri ve yüzde ağırlıkları

Yem Hammaddeleri	**%**
Mısır	40
Buğday	25
ATK (Ayçiçek tohumu küspesi)	8.20
SFK (Soya fasülyesi küspesi)	20
Balık unu	5
Mermer tozu	0.30
DCP (Dikalsiyum fosfat)	0.70
Lizin	0.25
Metionin	0.01
Mineral (1)	0.10
Tuz	0.30

1: Mineral karması (her kg'ında), **Mn:** 80.000 mg, **Fe:** 35.000 mg, **Zn:** 50.000 mg, **Cu:** 5.000 mg, **I:** 2.000 mg, **Co:** 400 mg, **Se:** 150 mg

Çizelge 3.2. Yemin analizi

Ağırlık	**100**
Kuru madde	89.20
Ham protein	20.93
Ham selüloz	4.91
Ham kül	5.31
Ham yağ	2.83
Met-Sis	0.73
Lizin	1.01
Kalsiyum	0.90
Fosfor	0.68
Metabolik enerji	2830 k. Kal/kg

3.2. Metod

3.2.1. Deneme Düzeni

Denemenin başlangıcında 200 adet sıfır yaş civciv satın alınarak tavuk çiftliğinde önceden dezenfekte ederek hazırladığımız yerde beslenilmeye başlandı. İlk hafta bütün civcivler birarada bulundu. Bu süre içinde 20 tanesi patojen olmayan sebeplerle öldü.

İkinci haftanın başında civcivler Tesadüfi Örnekleme Metoduyla, her grupta 30 adet civciv olacak şekilde 6 gruba ayrıldı. Her bir grup, ayrı ayrı bölmelere yerleştirildi. Bölmelerin tüm şartlarının (büyüklük, ışık alma, ısınma, havalanma, yemlik ve suluklar) eşit olması sağlandı. Çalışmaya eylül ayının ikinci yarısından sonra başlanıldığından geceleri soba yakılarak civcivler için uygun ısının varlığı sağlandı.

3.2.2. Yemleme

Bütün civcivler denemenin ilk haftasında sadece, Çizelge 3.1'de verilen yem karışımıyla beslendi. İkinci haftadan itibaren yağların kullanılmasına başlandı. Buna göre kontrol grubu tüm deneme süresince Çizelge 1'de verilen yem karışımıyla beslendi. Diğer gruplardan 1.

grubun yemine tereyağı, 2. grubun yemine margarin, 3. grubun yemine ayçiçek yağı, 4. grubun yemine zeytinyağı, 5. grubun yemine de mısırözü yağı karıştırılarak hazırlandı. Rasyona ikinci ve üçüncü haftada %5, dördüncü ve beşinci haftada %6, altıncı ve yedinci haftada %7 oranında yağ ilave edildi. Tereyağı ve margarinin yanmamasına özen gösterildi. Bunun için kısık ateşte eritildikten hemen sonra yeme karıştırıldı. Yemleme ad libitum olarak yapıldı.

Kan alınacak gruplar önceden tespit edilerek 16 saat aç bırakıldı. Kan alımı, günde 2 grup olmak üzere 3 günde tamamlandı.

3.2.3. Kan alımı

Vena axillaris'den 8-10 ml kan düz tüpe alındı. Pıhtılaştıktan sonra soğutmalı santrifüjde +4°C'de 5000 devir/dakika 20 dakika santrifüj edildikten sonra serumları ayrıldı. Bütün parametreler bu serumlarda aynı gün çalışıldı. Analizler, S.Ü. Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı'nda yapıldı.

3.2.4. Kullanılan cihazlar ve malzemeler

- Ayarlanabilir Otomatik Pipetler (50-1000 µl): Oxford, İrlanda
- Disposable plastik enjektör (10 ml'lik): Almanya
- Hassas Terazi: Bosch-2000, D-7455 (Almanya)
- Muhtelif ebatlarda cam ve polipropilen tüpler: Teknik Cam, Türkiye
- Otoanalizör: Technicon RA-XT (A.B.D)
- Soğutmalı Santrifüj: Hettich Universal 30 RF (Almanya)
- Vorteks: Nüve-NM 110 (Türkiye)

3.2.5. Kullanılan kimyasal maddeler

- Dekstran sulfat (m.a.50.000), Sigma (A.B.D)
- Hidroklorik asid (HCl), Merck (Almanya)
- Mağnezyum klorid ($MgCl_2 .6H_2O$) E. Merck, D-6000 Darmstadt (Almanya)
- Sodyum hidroksid (NaOH), Merck, 535 C 549562 (Almanya)

3.2.6. Yapılan analizler

Kolesterol tayinleri: Total kolesterol, HDL-kolesterol ve alt grupları ile LDL-kolesterol şu şekilde çalışıldı:

500 µl reaktife 5 µl serum ilave edildi, 5 dk 37 ^{0}C'de inkübe edildi. 500 nm dalga boyunda okunarak otoanalizör tarafından sonuçlar otomatik olarak hesaplandı.

3.2.6.1. Total kolesterol tayini

Enzimatik kolorimetrik metodla çalışan Biotrol marka ticari kit kullanılarak Technicon RA-XT otoanalizörde gerçekleştirildi (Cholesterol enzymatique color II. Biotrol assistance, Commendestients France. Cat No: A 01275). Tayin prensibi aşağıdaki gibidir.

Prensip: Serum örnekleri kolesterol ester hidrolaz, kolesterol oksidaz, peroksidaz, hidroksi benzoat ve 4-amino antipirin ihtiva eden kitdeki çalışma solüsyonu ile reaksiyona sokulur.

$$\text{Kolesterol ester} \xrightarrow{\text{Kolesterol ester hidrolaz}} \text{Serbest kolesterol} + \text{R-COOH}$$

$$\text{Kolesterol} + O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{Kolesterol oksidaz}} \text{Kolest-4-en-3-one} + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + \text{4-Aminoantipirin} + \text{Fenol} \xrightarrow{\text{Peroksidaz}} \text{Renkli bilesik} + 4\ H_2O$$

3.2.6.2. HDL-kolesterol ve alt gruplarının tayini

Warnick ve arkadaşları (Warnick, et al., 1982)'nın gerçekleştirdiği çift presipitasyon metoduyla çalışıldı. Bunun için önce litresinde 10 gr dekstran sulfat (mol ağ. 50.000) ve 0.5 mol $MgCl_2 .6H_2O$ ihtiva eden çalışma solüsyonu I; yine litresinde 10 gr dekstran sulfat ve 1.5 mol $MgCl_2 .6H_2O$ olacak şekilde çalışma solüsyonu II hazırlandı. Solüsyonların pH'sı 7.0 olacak şekilde 0.1 N HCl veya NaOH ile ayarlandı. Çalışılacağı gün hazırlandığı için içerisine prezervatif konulmadı.

Önce 1 ml serum tüpe aktarıldı, üzerine 100 µl I.çözeltiden ilâve edilip vorteksle karıştırıldıktan sonra oda ısısında 15 dakika bekletildi. Sonra 1500 dev/dk'da soğutmalı santrifüjde 4^{0}C'de 30 dakika santrifüj edildi. Santrifügasyon sonunda tüpün üzerindeki süpernatandan deney küvetlerine alınarak kolesterol tayin edildi. Tayin edilen bu kolesterol

total HDL-K idi. Kalan süpernatandan 0.5 ml alınıp başka bir tüpe aktarıldı. Üzerine 50 µl çözelti II'den ilave edildi ve vorteksle karıştırıldıktan sonra oda ısısında 15 dakika bekletildi. Sonra 1500 dev/dk'da soğutmalı santrifüjde 4°C'de 30 dakika santrifüj edildi. Bu şekilde HDL_2-K çöktürüldü. Süpernatandan kolesterol tayin edildi. Tayin edilen kolesterol, HDL_3-K idi. Total HDL-K'den HDL_3-K çıkartılmak suretiyle HDL_2-K bulundu.

Prensip:

Serum + Çöktürücü reaktif ⟶ Presipitant (LDL+VLDL) + Süpernatan (HDL)

(fosfotungustik asid + Mg^{++})

3.2.6.3. LDL-kolesterol tayini

Boehringer marka ticari kit kullanılarak technicon RA-XT marka otoanalizörde çalışıldı (LDL Cholesterol (PVS method) Boehringer Mannheim GmbH Diagnostic. Cat No: 726290).

Prensip: Serumda bulunan LDL polyvinil sulphate (PVS) ilavesi ile çöktürülür. Santrifüj edildikten sonra süpernatanda kalan kolesterol tayin edilir. Süpernatan kolesterolü total kolesterolden çıkartılarak LDL-kolesterol hesaplanır.

3.2.6.4. d-ROM tayini

Diacron marka ticari kit kullanıldı. Analiz, RA-XT marka otoanalizörde aşağıdaki gibi çalışıldı (d-ROM's. Diacron S.r.l. Diagnostics. Division, Via Zircone n.8-58100 Grosseto, Italy):

500 µl reaktife 5 µl serum ilave edildi, 10 dk 37 ^{0}C'de inkübe edildi. 500 nm dalga boyunda okundu ve standartla karşılaştırılarak sonuçlar hesaplandı.

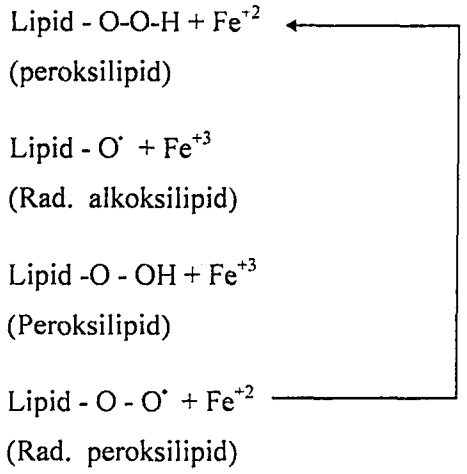
$$\text{Numunenin konst.} = \frac{\text{Numunenin optik dansitesi}}{\text{Standardın optik dansitesi}} \text{ x Standart konsant.}$$

d-ROM'un prensibi aşağıdaki şekildedir:

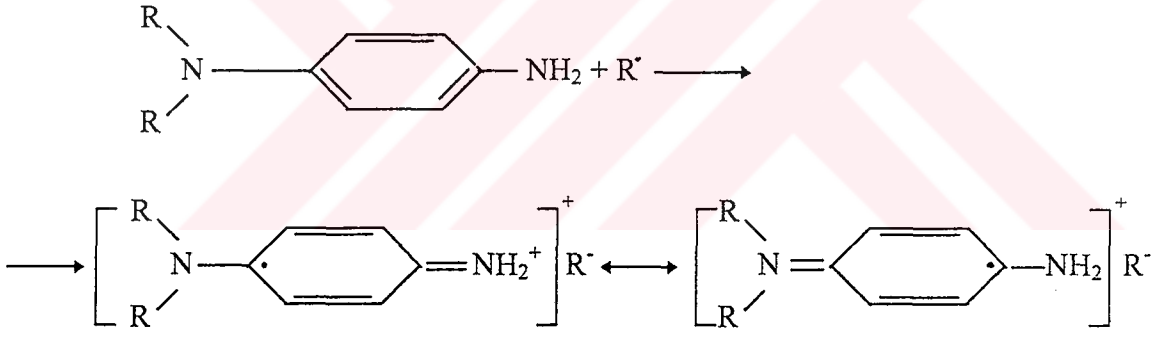
Bu metod, geçiş metallerinin şelat formlarının transportu ve proteinlerde depolanma neticesinde ortaya çıkan ve serbest radikal reaksiyonunu FENTON reaksiyonuna göre katalizleme esasına dayanır.

$$H_2O_2 + Fe^{+2} \longrightarrow Fe^{+3} + OH^- + OH^-$$

Ya da aşağıdaki şemaya göre radikalik üreme şeklinde ifade edilebilir.



Ortaya çıkan radikallerin miktarı direkt olarak plazmadaki peroksidlerin miktarıyla orantılıdır. Bu ortaya çıkan radikaller, aminoaromatik moleküller tarafından aşağıdaki gibi bağlanırlar.



3. 2. 7. İstatistiki analiz

Bulgular, "İstatistiki olarak kantitatif ortalamaların incelenmesi" metodu ile değerlendirildi (Düzgüneş ve ark., 1983). Bu maksatta bütün parametrelerin aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları bulunarak yağlı rasyonla beslenen gruplara ait bulgular kontrol grubuna ait bulgularla karşılaştırılmak suretiyle t ve p değerleri hesaplandı. Ayrıca, IBM marka bilgisayarda Windows altında çalışan SPSS paket istatistik proğramı kullanılarak bütün gruplar ve bulgular için varyans analizi yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. Bulgulara Ait "t" Testi Sonuçları

Bütün gruplara ait parametrelerin aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları çizelge 4.1'de, kontrol grubu ile diğer gruplara ait bulguların karşılaştırılması da Çizelge 4.2,3,4,5,6,7'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Bütün grupların parametrelerine ait toplu sonuçlar (mg/dl)

Grup	T.Kolest.	HDL-K	HDL_2-K	HDL_3-K	LDL-K	d-ROM
Kontrol	148.81±19.61	46.60±18.99	26.08±11.92	25.43±8.49	98.20±18.05	28.63±14.39
Tereyağı	160.71±22.49	57.96±14.47	16.00±5.09	43.50±10.40	98.85±19.45	42.58±18.35
Margarin	145.41±25.71	48.00±13.07	12.69±4.09	35.61±8.33	91.13±23.40	47.11±19.86
Ayçiçek y.	140.81±17.06	39.32±10.16	16.11±4.77	26.11±6.48	98.71±14.83	51.94±22.03
Zeytinyağı	154.43±15.43	50.18±13.47	25.18±10.58	25.04±4.89	100.86±17.16	50.40±36.92
Mısırözü y.	141.33±18.74	45.64±13.88	23.29±12.79	25.19±6.51	90.24±19.69	71.52±32.76

Çizelge 4. 2. Kontrol grubu ile diğer gruplara ait T. Kolesterol değerlerinin karşılaştırılması

Parametre	Grup	n	$\bar{x} \pm SD$	t	p
Total Kolesterol	Kontrol	30	148.80±19.61	2.15	0.025
	Tereyağı	28	160.71±22.49		
				0.54	NS
	Margarin	22	145.41±25.71		
				1.61	NS
	Ayçiçek yağı	26	140.81±17.06		
				1.21	NS
	Zeytinyağı	28	154.43±15.43		
				1.47	NS
	Mısırözü yağı	27	141.33±18.74		

NS: Önemsiz

Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi tereyağı grubuna ait T. Kolesterol değeri, kontrol grubuna ait T. Kolesterol değerine göre önemli derecede ($p<0.025$) yüksek bulunmuştur. Diğer gruplara ait T. kolesterol değerlerinde ise istatistiki açıdan önemli bir fark bulunamadı.

Çizelge 4. 3. Kontrol grubu ile diğer gruplara ait HDL-Kolesterol değerlerinin karşılaştırılması

Parametre	Grup	n	$\bar{x} \pm SD$	t	p
HDL Kolesterol	Kontrol	30	46.60±18.99	2.42	0.01
	Tereyağı	24	57.96±14.47		
				0.29	NS
	Margarin	20	48.00±13.07		
				1.80	0.05
	Ayçiçek yağı	28	39.32±10.16		
				0.82	0.4
	Zeytinyağı	28	50.18±13.47		
				0.22	NS
	Mısırözü yağı	28	45.64±13.88		

NS: Önemsiz

Çizelge 4.3'de görüldüğü gibi tereyağı grubuna ait HDL-kolesterol değeri, kontrol grubuna ait HDL-kolesterol değerine göre önemli derecede ($p<0.01$) yüksek, ayçiçek yağı grubuna ait HDL-kolesterol değeri, yine kontrol grubuna göre önemli derecede ($p<0.05$) düşük bulunmuştur. Diğer gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunamadı.

Çizelge 4. 4. Kontrol grubu ile diğer gruplara ait HDL_2-Kolesterol değerlerinin karşılaştırılması

Parametre	Grup	n	$\bar{x} \pm SD$	t	p
HDL_2 Kolesterol	Kontrol	24	26.08±11.92	3.52	0.001
	Tereyağı	20	16.00±5.09		
				4.15	0.001
	Margarin	16	12.69±4.09		
				3.44	0.001
	Ayçiçek yağı	19	16.11±4.77		
				0.29	NS
	Zeytinyağı	28	25.18±10.58		
				0.78	NS
	Mısırözü yağı	24	23.29±12.79		

NS: Önemsiz

Çizelge 4.4'de görüldüğü gibi kontrol grubuna ait HDL_2-kolesterol değeri tereyağı, margarin ve ayçiçek yağı gruplarına ait HDL_2-kolesterol değerlerine göre önemli derecede ($p<0.001$) yüksek bulunmuştur. Diğer gruplar arasında istatistiki olarak önemli bir fark bulunamadı.

Çizelge 4. 5. Kontrol grubu ile diğer gruplara ait HDL_3-Kolesterol değerlerinin karşılaştırılması

Parametre	Grup	n	$\bar{x} \pm SD$	t	p
HDL_3 Kolesterol	Kontrol	28	25.43±8.49	6.9	0.001
	Tereyağı	24	43.50±10.40		
				3.99	0.001
	Margarin	18	35.61±8.33		
				0.34	NS
	Ayçiçek yağı	28	26.11±6.48		
				0.19	NS
	Zeytinyağı	28	25.04±4.89		
				0.12	NS
	Mısırözü yağı	26	25.19±6.39		

NS: Önemsiz

Çizelge 4.5'de görüldüğü gibi tereyağı ve margarin grubuna ait HDL_3-kolesterol değerleri, kontrol grubuna göre önemli derecede ($p<0.001$) yüksek bulunmuştur. Diğer gruplara ait HDL_3-kolesterol değerleri ise, istatistiki bakımdan önemsiz bulundu.

Çizelge 4. 6. Kontrol grubu ile diğer gruplara ait LDL-Kolesterol değerlerinin karşılaştırılması

Parametre	Grup	n	$\bar{x} \pm SD$	t	p
LDL Kolesterol	Kontrol	28	98.20±18.05	0.13	NS
	Tereyağı	24	98.85±19.45		
				1.14	NS
	Margarin	17	91.13±23.40		
				0.11	NS
	Ayçiçek yağı	27	98.71±14.83		
				0.56	NS
	Zeytinyağı	28	100.86±17.16		
				1.54	0.05
	Mısırözü yağı	25	90.24±19.69		

NS: Önemsiz

Çizelge 4.6'da görüldüğü gibi mısırözü yağı grubuna ait LDL-kolesterol değeri, kontrol grubuna göre önemli derecede ($p<0.05$) düşük bulunmuştur. Diğer gruplar arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark bulunamadı.

Çizelge 4. 7. Kontrol grubu ile diğer gruplara ait d-ROM değerlerinin karşılaştırılması

Parametre	Grup	n	$\bar{x} \pm SD$	t	p
d - ROM	Kontrol	30	28.63±14.39	3.18	0.001
	Tereyağı	26	42.58±18.35		
				3.93	0.001
	Margarin	23	47.11±19.86		
				4.68	0.001
	Ayçiçek yağı	24	51.94±22.03		
				2.99	0.005
	Zeytinyağı	28	50.40±36.92		
				6.51	0.0001
	Mısırözü yağı	27	71.52±32.76		

Çizelge 4.7'de görüldüğü gibi kontrol grubuna ait d-ROM değeri, yağ gruplarına göre önemli derecede düşük bulunmuştur. Anlamlılık kontrol-zeytinyağı karşılaştırmasında $p<0.005$, kontrol-mısırözü yağı karşılaştırmasında $p<0.0001$, kontrolle diğer gruplar arasında ise $p<0.001$ şeklindedir.

4.2. Varyans Analizi Sonuçları

Grupların aritmetik ortalamalarına göre, herbir parametre için küçükten büyüğe doğru sıralanışı ile istatistiki açıdan önemlilik durumları aşağıdaki tablolarda ayrı ayrı görülmektedir.

Çizelge 4.8. T. Kolesterol parametresine ait bulguların karşılaştırılması

			Grup						F	p
Grup	**n**	$\bar{x}$	**3**	**5**	**2**	**0**	**4**	**1**	4.17	0.014
Ayçiçek yağı (3)	26	140.81								
Mısırözü yağı (5)	27	141.33								
Margarin (2)	22	145.41								
Kontrol (0)	30	148.81								
Zeytinyağı (4)	28	154.43								
Tereyağı (1)	28	160.71	*	*						

* : Çizelge 4.8'de görüldüğü gibi, tereyağı grubuna ait T. kolesterol değeri, ayçiçek ve mısırözü yağı gruplarına ait T. kolesterol değerlerine göre önemli derecede ($p<0.01$) farklı (yüksek) bulunmuştur. Diğer gruplara ait T. kolesterol değerleri arasındaki fark önemsizdi.

Çizelge 4.9. HDL-K parametresine ait bulguların karşılaştırılması

			Grup						F	p
Grup	**n**	$\bar{x}$	**3**	**5**	**0**	**2**	**4**	**1**	4.67	0.0005
Ayçiçek yağı (3)	28	39.32								
Mısırözü yağı (5)	28	45.64								
Kontrol (0)	30	46.60								
Margarin (2)	20	48.00								
Zeytinyağı (4)	28	50.18								
Tereyağı (1)	24	57.96	*	*						

* : Çizelge 4.9'da görüldüğü gibi, tereyağı grubuna ait HDL-K değeri de ayçiçek ve mısırözü yağı gruplarına ait HDL-K değerlerine göre önemli derecede ($p<0.001$) farklı (yüksek) bulunmuştur. Diğer gruplara ait HDL-K değerleri arasındaki fark önemsizdi.

Çizelge 4.10. HDL_2-K parametresine ait bulguların karşılaştırılması

			Grup						F	p
Grup	**n**	$\bar{x}$	**2**	**1**	**3**	**5**	**4**	**0**	7.33	0.00001
Margarin (2)	16	12.69								
Tereyağı (1)	20	16.00								
Ayçiçek yağı (3)	19	16.11								
Mısırözü yağı (5)	24	23.29	*							
Zeytinyağı (4)	28	25.18	*	*	*					
Kontrol (0)	24	26.08	*	*	*					

*: Çizelge 4.10.'da görüldüğü gibi, kontrol grubu ve zeytinyağı grubuna ait HDL_2-K değeri, tereyağı ve ayçiçek yağı gruplarına ait HDL_2-K değerlerine göre;

Mısırözü yağı grubuna ait HDL_2-K değeri de margarin grubuna ait HDL_2-K değerine göre önemli derecede ($p<0.00001$) farklı (yüksek) bulunmuştur.

Çizelge 4.11. HDL_3-K parametresine ait bulguların karşılaştırılması

			Grup						F	p
Grup	**n**	$\bar{x}$	**4**	**5**	**0**	**3**	**2**	**1**	24.89	0.00001
Zeytinyağı (4)	28	25.04								
Mısırözü yağı (5)	26	25.19								
Kontrol (0)	28	25.43								
Ayçiçek yağı (3)	28	26.11								
Margarin (2)	18	35.61	*	*	*	*				
Tereyağı (1)	24	43.50	*	*	*	*	*			

* : Çizelge 4.11.'de görüldüğü gibi, tereyağı grubuna ait HDL_3-K değeri, diğer bütün gruplara ait HDL_3-K değerlerine göre;

Margarin grubuna ait HDL_3-K değeri de zeytinyağı, mısırözü yağı, kontrol grubu ve ayçiçek yağı grubuna ait HDL_3-K değerlerine göre önemli derecede ($p<0.00001$) farklı (yüksek) bulunmuştur.

Çizelge 4.12. LDL-K parametresine ait bulguların karşılaştırılması

			F	p
GRUP	**n**	$\bar{x}$	1.36	0.24
Mısırözü yağı (5)	25	90.24		
Margarin (2)	17	91.13		
Kontrol (0)	28	98.20		
Ayçiçek yağı (3)	27	98.71		
Tereyağı (1)	24	98.85		
Zeytinyağı (4)	28	100.86		

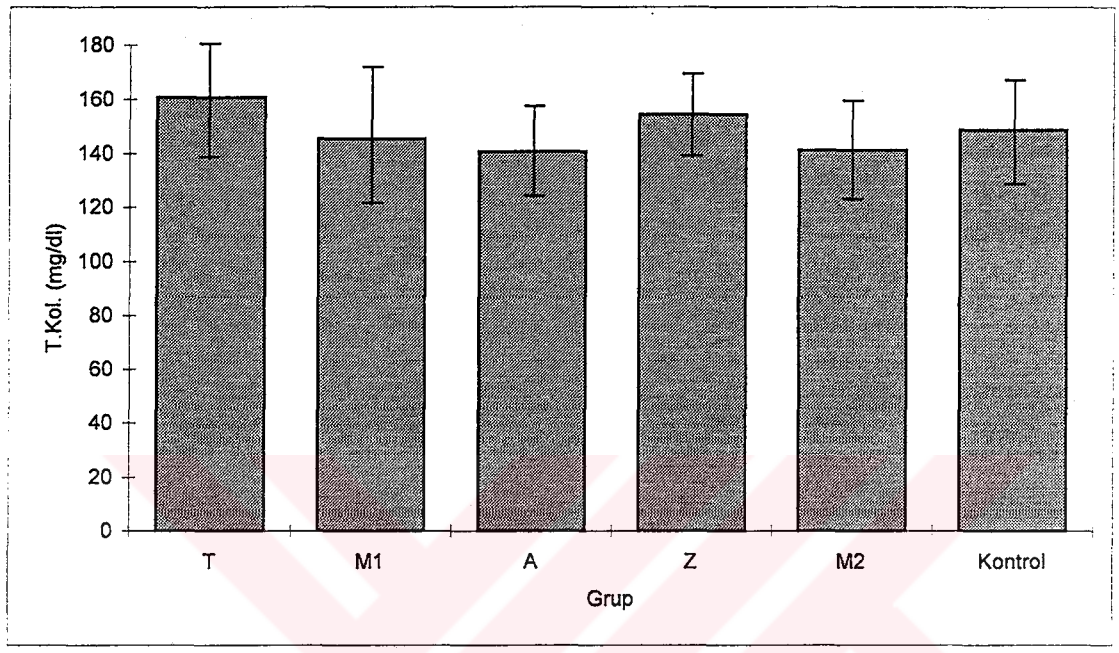
LDL-K değerleri arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunamadı.

Çizelge 4.13. d-ROM parametresine ait bulguların karşılaştırılması

			Grup						F	p
Grup	**n**	$\bar{x}$	**0**	**1**	**2**	**4**	**3**	**5**	8.44	0.00001
Kontrol (0)	30	28.63								
Tereyağı (1)	26	42.58								
Margarin (2)	23	47.11								
Zeytinyağı (4)	28	50.40	*							
Ayçiçek yağı (3)	24	51.94	*							
Mısırözü yağı (5)	27	71.52	*	*	*	*				

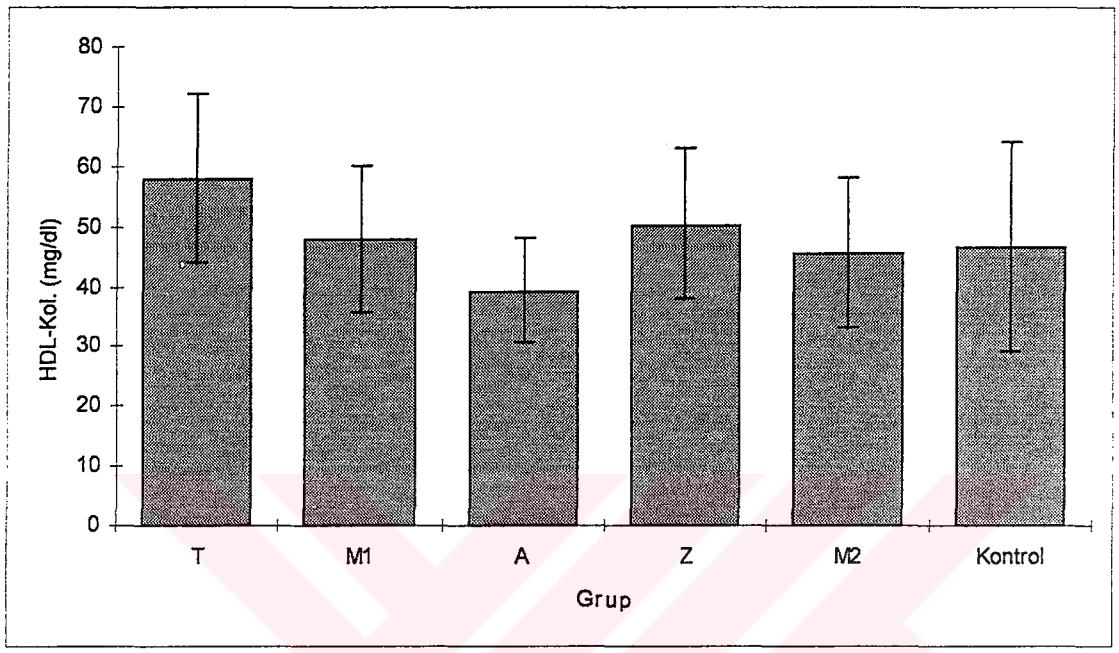
*: Çizelge 4.13'de görüldüğü gibi mısırözü yağı grubuna ait d-ROM değeri kontrol, tereyağı, margarin ve zeytinyağı gruplarına ait d-ROM değerlerine göre; ayçiçek yağı ve zeytinyağı gruplarına ait d-ROM değeri de kontrol grubuna göre önemli derecede ($p<0.00001$) farklı (yüksek) bulunmuştur.

Yemlerine yağ karıştırılarak beslenen civciv grupları ve kontrol grubuna ait her bir parametre için ayrı ayrı diyagram çizilmiş olup, bunlar aşağıdaki şekillerde gösterilmiştir.



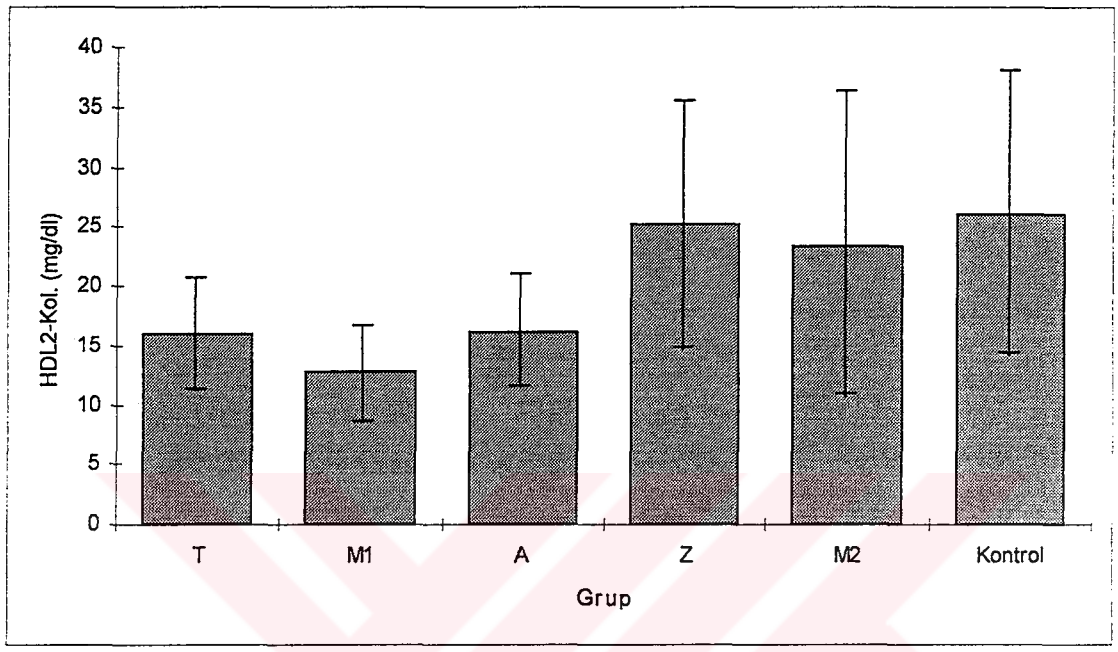
Şekil 4.1. Bütün gruplara ait T. kolesterol seviyelerini gösterir diyagram

T: Tereyağı, **M1:** Margarin, **A:** Ayçiçek yağı, **Z:** Zeytinyağı, **M2:** Mısırözü yağı



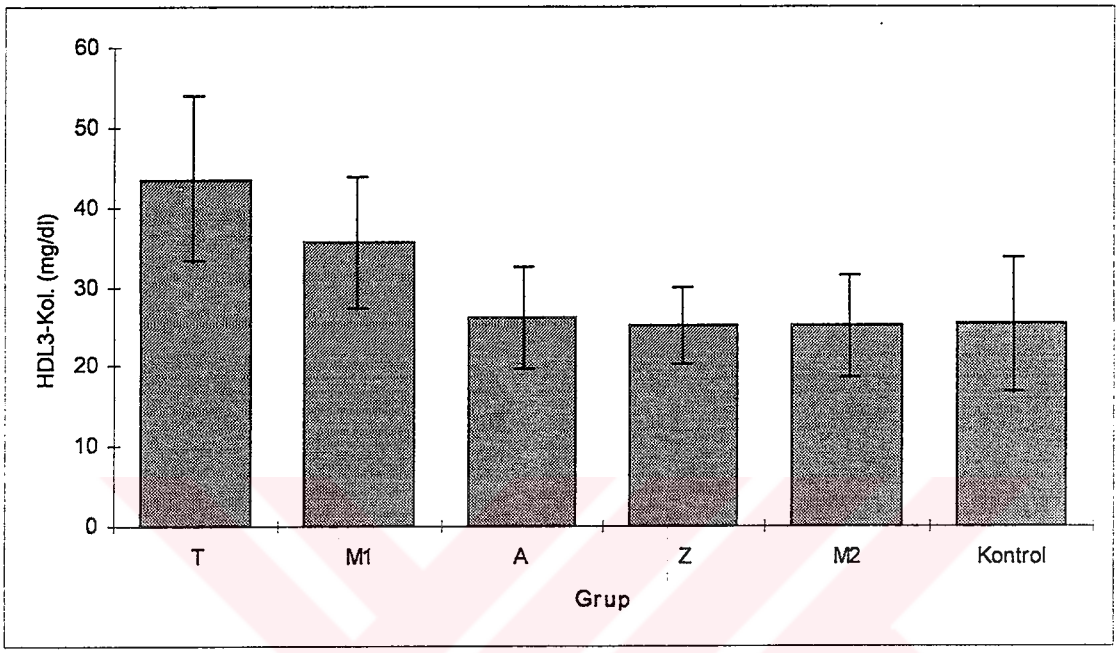
Şekil 4.2. Bütün gruplara ait HDL-kolesterol seviyelerini gösterir diyagram

T: Tereyağı, **M1:** Margarin, **A:** Ayçiçek yağı, **Z:** Zeytinyağı, **M2:** Mısırözü yağı



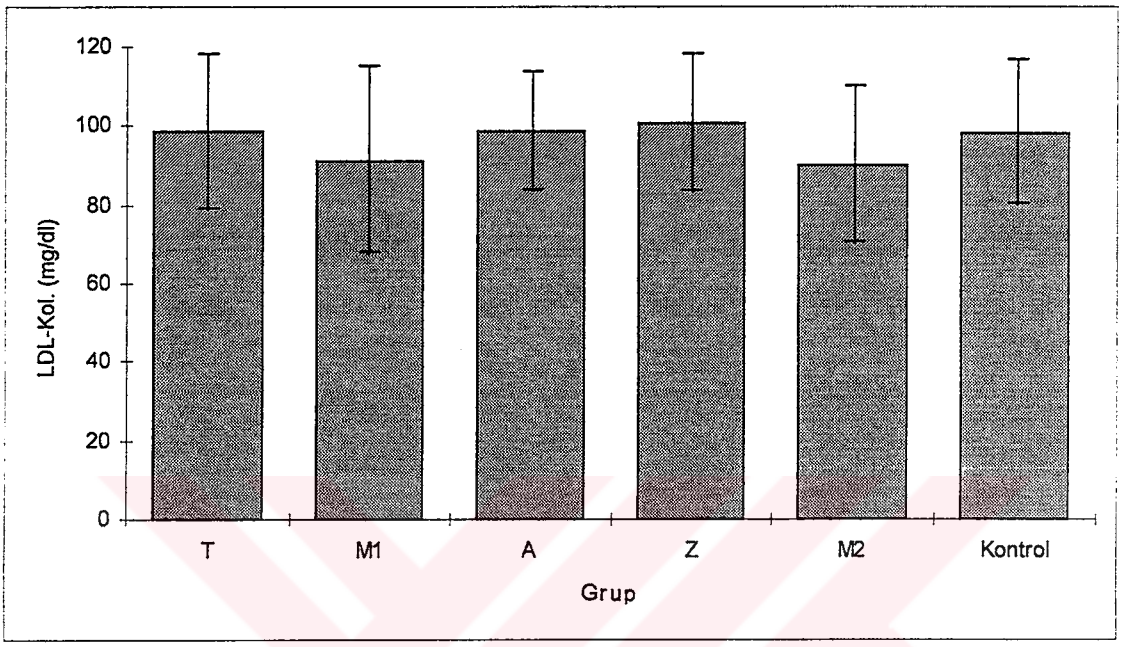
Şekil 4.3. Bütün gruplara ait HDL_2-kolesterol seviyelerini gösterir diyagram

T: Tereyağı, **M1:** Margarin, **A:** Ayçiçek yağı, **Z:** Zeytinyağı, **M2:** Mısırözü yağı



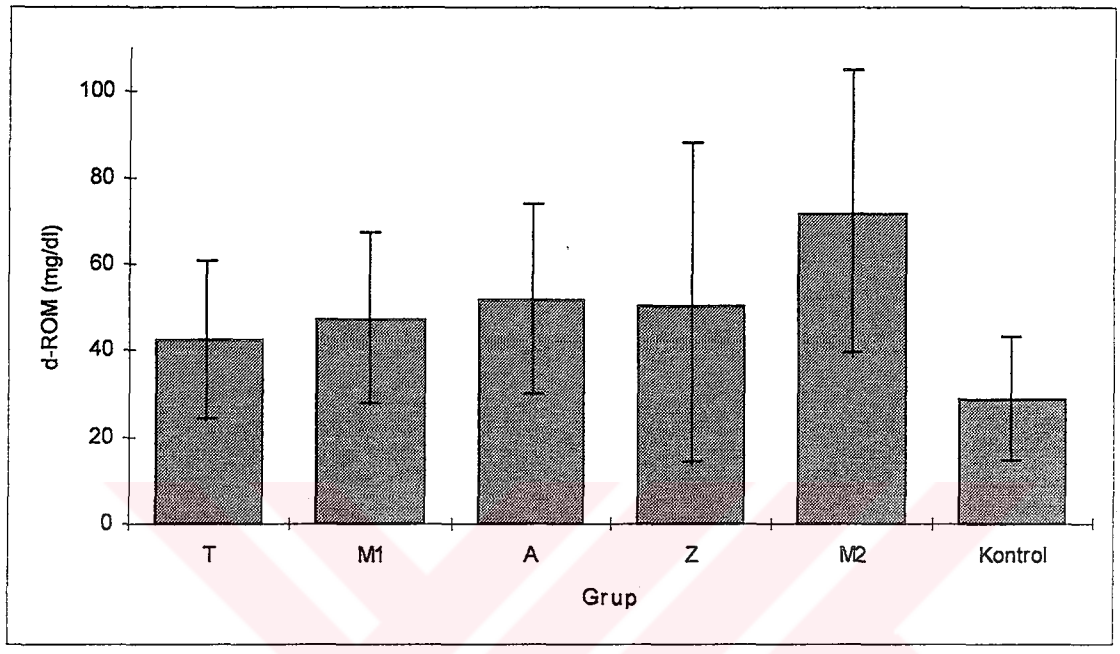
Şekil 4.4. Bütün gruplara ait HDL_3-kolesterol seviyelerini gösterir diyagram

T: Tereyağı, **M1:** Margarin, **A:** Ayçiçek yağı, **Z:** Zeytinyağı, **M2:** Mısırözü yağı



Şekil 4.5. Bütün gruplara ait LDL-kolesterol seviyelerini gösterir diyagram

T: Tereyağı, **M1:** Margarin, **A:** Ayçiçek yağı, **Z:** Zeytinyağı, **M2:** Mısırözü yağı



Şekil 4.6. Bütün gruplara ait d-ROM seviyelerini gösterir diyagram

T: Tereyağı, **M1:** Margarin, **A:** Ayçiçek yağı, **Z:** Zeytinyağı, **M2:** Mısırözü yağı

5. TARTIŞMA

5.1. Analiz Metodlarının Tartışılması

Çalışmamızda, HDL alt grupları hariç diğer bütün parametreler ticarî kitler kullanılarak rutin metodlarla gerçekleştirildi. HDL alt grupları tayini, kullanılan kitler ve tayin metodları ile d-ROM metodu aşağıda tartışılmıştır.

5.1.1. HDL alt gruplarının tayin metodunun tartışılması

HDL alt gruplarını tayinde en yaygın kullanılan ve güvenilir metod ultrasantrifugasyondur (Olmos, et al., 1992). Ancak bu metodun pahalı oluşu, zaman alması ve laboratuvarda bulunmaması, yeni metodların geliştirilmesini zorunlu kılmıştır (Gidez, et al., 1982). Bu amaçla son yıllarda yaygın olarak kullanılan ve kimyasal bir metod olan çift presipitasyon yöntemi geliştirilmiştir (Buring, et al., 1992; Durrington, et al., 1986; Ferrer, et al., 1992; Gidez, et al., 1982; Luc, et al., 1991; Mc Namara, et al., 1994; Olmos, et al., 1992; Schmidt, et al., 1985). Yapılan çalışmalar, bu yöntemle elde edilen sonuçların, ultrasantrifugasyonla elde edilen sonuçlara çok yakın olduğunu ve her iki yöntem arasında oldukça yüksek bir korelasyon bulunduğunu göstermiştir (Akman ve ark., 1994).

Biz bu çalışmada, Warnick ve ark. (Warnick, et al., 1982)'nın çift presipitasyon metodunu kullandık. Bu metoda göre çift presipitasyon işleminde birinci çöktürücü olarak litresinde 10 gr dekstran sulfat (m.a. 50.000) ve 0.5 mol $MgCl_2$ ihtiva eden çözelti, ikinci çöktürücü olarak da, yine litresinde 10 gr dekstran sulfat (m.a 50.000) ve 1.5 mol $MgCl_2$ ihtiva eden çözelti kullanıldı. Hazırlanan çözeltilerin pH'sı 7.0 olacak şekilde ayarlandı. Birinci ve ikinci çöktürmeler için numuneler 1500 dev/dak'da 4^0C'de 30 dakika süre ile santrifüj edildi.

HDL alt gruplarının tayininde araştırmacılar farklı çöktürücüler ve farklı santrifugasyon işlemleri de kullanmışlardır. Nitekim Gidez ve ark. (Gidez, et al., 1982), ilk çöktürücü olarak heparin Mn^{+2}'li çözeltiyi, ikinci çöktürücü olarak da dekstran sulfat (m.a. 15.000) $MgCl_2$'lü çözeltiyi kullanmışlardır. Bu araştırmacılar birinci çöktürme işlemini 2700 dev/dak'da 4^0C'de bir saat, ikinci çöktürme işlemini ise yine 2700 rpm'de 4^0C'de yarım saatte gerçekleştirmişlerdir.

Ortola ve ark. (Ortola, et al., 1992) ise, ilk çöktürücü olarak litresinde 20 gr dekstran sulfat (m.a. 50.000) ve 0.6 mol $MgCl_2$, ikinci çöktürücü olarak da litresinde 20 gr dekstran sulfat (m.a. 50.000) ve 3 mol $MgCl_2$ kullanmışlardır. Bu araştırmacılar da birinci çöktürme

işlemini 1200 dev/dak'da 30 dakika, ikinci çöktürme işlemini 1200 dev/dak'da 60 dakikada gerçekleştirmişlerdir.

Warnick ve ark. (Warnick, et al., 1982) 'nın, kendi metodlarını Gidez ve ark. (Gidez, et al., 1982)'nın metodu ve ultrasantrifugasyonla karşılaştırdıkları çalışmalarında, her üç metodla elde edilen sonuçların son derecede uyumlu olduğunu göstermişlerdir. Bu yüzden biz de Warnick ve ark. (Warnick, et al., 1982) 'nın metodunu kullandık.

HDL-K ve HDL_3-K tayinleri yukarıdaki çöktürme işlemi ile ayrılan fraksiyonlarda, biotrol marka ticari kit kullanılarak gerçekleştirildi (Cholesterol libre enzymatique color. Biotrol assistance, Commandes Clients France. Cat. no: A 01371). Burada dikkat edilmesi gereken bir husus, dekstran sulfat ihtiva eden numunelerde serbest kolesterol tayin ederken, tampon olarak kullanılan potasyum tuzlarının kolorimetrik ölçümü interfere etmesidir. Dolayısı ile tampon olarak ya potasyum tuzları dışında bir tampon ya da düşük konsantrasyonlu potasyum tamponu kullanmak (0.1 mol ve altı olarak bildirilmiştir) gerekir (Gidez, et al., 1982). Bizim kullandığımız ticarî kitteki potasyum konsantrasyonu 0.1 mol/lt'dir. Bu potasyum konsantrasyonlarında meydana gelen interferansın önemsiz olduğu bildirilmiştir (Olmos, et al., 1992).

5.1.2. d-ROM metodunun tartışılması

Serbest radikalleri doğrudan ölçmek zordur. Onun için bunların yerine oksidasyon ürünleri ölçülür. Bu ürünlerden en çok ölçüleni ise MDA'dır. MDA ise, en hassas şekilde HPLC (yüksek basınçlı likid kromatografisi) ile ölçülür. Ayrıca, manuel metodlarla da MDA ölçülebilmektedir (Holley and Cheeseman, 1993; Jain, et al., 1989). Ancak, HPLC her yerde bulunamayan ve pahalı bir sistem olduğundan bunun yerine çoğunlukla manuel metodla MDA tayini tercih edilmektedir (Pryor and Castle, 1984; Slater, 1984). Fakat, bu ölçüm metodu da çok hassas değildir. Bu yüzden, bunun yerine serbest oksijen radikallerini veya ürünlerini doğrudan ölçebilen daha basit ve güvenilir metodların gelişmesine çalışılmaktadır. Çalışmamızda kullandığımız d-ROM kiti böyle bir ölçüm metodur. Bu kit, 1996 yılında imal edilerek piyasaya sürüldüğünden, daha çoğu araştırmacı tarafından bilinmemektedir. Ancak, kit prospektüsünde bu metodun 400 sağlıklı kişi ile değişik hastalıkları olan 2000 kişide test edildiği ve olumlu sonuçlar alındığı, d-ROM testiyle birlikte her türlü klinik analiz laboratuvarlarının, serbest radikaller tarafından perokside olmuş ve plazmada bulunan bütün elementlerin miktarlarını çok kısa bir zaman içerisinde ölçmek suretiyle hastalarının okside durumlarını değerlendirebilecekleri belirtilmektedir.

Gerek bizim yaptığımız ön çalışmalar, gerekse kiti geliştiren kişilerin yaptıkları çalışmalar bu kitin MDA ölçümünden daha sağlıklı sonuçlar verdiğini göstermektedir. Biz de bu yüzden çalışmamızda MDA tayini yerine bu kiti kullanmayı tercih ettik. Kitin kullanımı hem ucuz, hem gayet kolay ve hem de sonuçları güvenilirdir.

5.2. Bulguların Tartışılması

Yemlerine belli oranlarda yağ ilave ettiğimiz 5 ayrı grup ile yağsız yem verilerek (kontrol grubu) beslenen civcivlere ait bulgular Çizelge 4.1'de verilmiştir. Çizelgeden de görüldüğü gibi, tereyağı grubuna ait serum kolesterol seviyesi, diğer bütün gruplarınkine göre önemli oranda yüksek bulunmuştur ki, bu beklenen bir bulgudur. Çünkü, bilindiği gibi, hayvansal yağlar kolesterol bakımından zengindir. Literatürde çalışmamıza benzer herhangi bir çalışmaya rastlayamadık. Ancak, tereyağının % 60-70 oranında doymuş yağ asidi ihtiva ettiği (Martin, 1986; Nas ve ark., 1992), kolesterolün birincil hayvansal katı yağ sterolü olduğu (Nas ve ark., 1992) ve doymuş yağ asidi bakımından zengin diyetle beslenenlerin kanlarında kolesterol seviyesinin önemli derecede yüksek çıktığı kaydedilmiştir (Dyerberg, 1986; Martin, 1986).

Yapılan varyans analizinde de tereyağı ile beslenen grubun serum kolesterol seviyesi, diğer bütün gruplarınkine göre daha yüksek bulunmuştur.

Yemlerine margarin, ayçiçek yağı, zeytinyağı ve mısırözü yağı ilâve edilen grupların serumlarında belli seviyede kolesterol bulunmasının sebebi, civciv yemlerindeki çeşitli hammaddelerden (balık unu gibi) kaynaklanmaktadır. Ayrıca, bitkisel yağlarda da eser miktarlarda kolesterol bulunduğu (Nas ve ark., 1992) ve organizmada da önemli miktarda sentezlendiği bildirilmiştir (Martin, 1986; Yenson, 1984).

Kontrol grubundaki kolesterol varlığı da yine yem hammaddeleri ve organizmada sentezlenmesinden kaynaklanmaktadır.

Kolesterol ve doymuş yağ asidlerinden zengin diyet, düşük dansiteli lipoprotein (LDL) seviyelerini arttırarak aterogenezi hızlandırır. Makrofajlar, üzerlerindeki LDL reseptörleri vasıtasıyla kolesterol ve lipidleri alırlar. Böylece dokular, biriken kolesterolden temizlenmiş olurlar. Aterosklerotik lezyonlarda bu yol fazlaca kullanılır ve köpük hücreleri meydana gelir (Ak ve oto, 1988; Esterbauer, et al., 1993; Halliwell, 1993; Liu, et al., 1992). Damar duvarlarında biriken kolesterol ve lipidler, burada okside olarak kolesterolün oksidasyon ürünlerine (oksisterollere), LDL ise okside-LDL 'ye (O-LDL) dönüşür. O-LDL, lipoksijenazi

uyararak makrofajlardan oksijen radikali salınımına yol açar. Bu olay, zedelenmenin ilerlemesine sebep olur.

Oksisteroller, hücre membranlarına girerek, membranların yapı ve fonksiyonlarını bozarlar. Düz kas hücrelerinde Na-K'ATPaz aktivitesine bağlı iyon taşınımının aksamasıyla hücre içi kalsiyum birikimi olur ve kasılma meydana gelir. Bu da aterosklerotik bölgede kan akımının daha da azalmasına yol açar. Oksisterolleri taşıyan LDL, doğal LDL'den çok daha kuvvetli bir aterojenik maddedir (Yardımcı, 1993).

Gruplara ait serum HDL-Kolesterol (HDL-C) seviyeleri Çizelge 4.3 ve 4.9'da karşılaştırılmıştır. Bu çizelgeden de görüldüğü gibi, tereyağı grubuna ait HDL-C seviyesi diğer gruplarınkine göre istatistiki açıdan önemli oranda yüksek bulunmuştur. Bilindiği gibi, serum HDL-C seviyesinin yüksek olması organizmanın lehine bir durumdur. Çünkü yapılan araştırmalar, kanda HDL-C seviyesi arttıkça arter duvarını da kapsayacak şekilde periferik dokulardan kolesterolün uzaklaştığını ve karaciğere taşınmasının arttığını, böylece kan HDL-C seviyesinin yükselmesiyle ateroskleroza karşı koruyucu bir etkinin oluştuğunu göstermiştir (Kurt ve Arslan, 1993; Martin, 1986). Neticede koroner kalp hastalığının görülme riski de azalır (Mahley, 1993).

Bulgularımız, tereyağının HDL-C artışı ile antiaterojenik bir etkiye sahip olduğu şeklinde bir izlenim vermektedir. Bu bulgu, tereyağının ihtiva ettiği yüksek kolesterolden dolayı aterojenik olduğu tarzındaki bilgilere ters düşmektedir. Yâni, tereyağının aterojenik etkisinin HDL-C artışı ile bertaraf edildiği anlaşılmaktadır. Ancak, HDL-C'ün asıl antiaterojenik fraksiyonunun HDL_2-C olduğu, HDL_3-C'ün ise bu hususta herhangi bir etkisinin olmadığı bilinmektedir (Ortola, et al., 1992; Paul, et al., 1991).

Çizelge 4.4 ve 4.10'da görüldüğü gibi çalışmamızda tereyağı grubuna ait HDL_2-C seviyesi, diğer gruplarınkine göre çok daha düşük bulunmuştur. Bu da tereyağının diğer yağlara göre daha aterojenik olduğunu göstermektedir. Öte yandan, bu bulgumuzun diğer önemli bir özelliği, aterosklerotik risk yönünden HDL-C alt fraksiyonlarının total HDL-C'ye göre daha anlamlı olduğunu göstermesidir. Çünkü, bulgularımızdan anlaşılacağı gibi sadece total HDLC'ye bakılırsa tereyağının antiaterojenik olduğu söylenebilir. Ancak, HDL-C alt fraksiyonlarının tayini bunun böyle olmadığını âşikâr bir şekilde göstermektedir.

Literatürde bu konuda yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlayamadık. Dolayısı ile çalışmamız bu konuda yapılmış ilk çalışma mahiyetindedir.

Öte yandan HDL_2-C bulgularına göre margarinin en aterojenik etkiye sahip bir yağ olduğu sonucu ortaya çıkmaktadır. Margarinin bu etkisinin nereden kaynaklandığı bilinmemektedir. Dolayısı ile daha ileri düzeyde araştırılması gerektiği kanaatindeyiz.

Çizelge 4.7 ve 4.13'de tüm gruplara ait d-ROM değerleri karşılaştırılmıştır. Bu çizelgeden görüldüğü gibi, tereyağlı rasyonla beslenen civcivlere ait d-ROM seviyesi diğer yağlarla oluşturulan rasyonla beslenen gruplara göre oldukça düşük bulunmuştur ki, bu da oldukça önemli bir bulgudur. Çünkü, d-ROM seviyesi hangi yağın serbest radikallerden ne oranda etkilendiğini göstermektedir. Ayrıca, yemlerinde yağ kısıtlaması yapılan kontrol grubunda d-ROM düzeyinin diğer tüm gruplarınkinden çok daha düşük olduğu görülmektedir. Bu da diyette yağ kısıtlamasının, serbest radikal oluşumu bakımından önemli olduğunu göstermektedir.

Yağların oksitlenmesi, yağın doymamışlığı ile ilgilidir (Nas ve ark., 1992). Doymamışlık ne kadar fazla ise oksitlenme de o kadar fazla olur. Bulgularımız da bu şekildedir. Çünkü, doymamışlık bakımından sıvı yağlar mısırözü>ayçiçek>zeytinyağı şeklindedir. d-ROM bulgularımız da buna uymaktadır. Zeytinyağı, oleik asid bakımından zengindir. Oleik asidin hem peroksidasyona karşı dirençli olduğu hem de gerek in vivo gerekse in vitro şartlarda muhtemelen serbest demiri tutmak suretiyle lipid peroksidasyonunu engellediği kaydedilmiştir (Mirella, et al., 1993). E vitamini bakımından mısırözü ve ayçiçek yağları, zeytinyağından daha zengindirler. Ancak, bulgularımızdan anlaşıldığına göre bu miktardaki E vitamini, adı geçen yağlı peroksidasyona karşı korumak için yeterli değildir. Dolayısı ile bu yağlara dışarıdan belli miktarda antioksidan katılmasının faydalı olacağı kanaatindeyiz.

Oksidasyon, organizmadaki diğer lipidlerin oksidasyonunu da arttırır. Bunlardan özellikle LDL oksidasyonu önemlidir. Çünkü, LDL oksidasyonu aterosklerozun başta gelen sebeplerindendir (Gey, et al., 1991; Halliwell, 1993; Hennekens and Gaziano, 1993; Liu, et al., 1992). LDL oksidasyonu, LDL muhtevasındaki doymamış yağ asidlerinin lipid peroksidasyonu olayı ile yıkılarak birçok aldehidin ve diğer peroksidasyon ürünlerinin oluştuğu bir serbest radikal olayı olup, LDL fosfolipidlerindeki poliansatüre yağ asidlerinin peroksidasyonu ile başlar. O-LDL'nin aterojenik olaya 4 mekanizma ile katıldığı bildirilmiştir (Esterbauer, et al., 1993; Steinberg,1991):

1. O-LDL, makrofajlar tarafından kolesterol birikmesi sonucunda "scavanger reseptörler" aracılığıyla alınır, böylece köpük hücresi ve lezyon oluşumuna katılır.

2. O-.LDL, monositler için düz kas hücreleri ve endotelden salınan faktörler gibi kimyasal çekici bir maddedir. Makrofajların damar duvarına göç etmelerini hızlandırır. Ayrıca

O-LDL, makrofajların damar duvarından plazmaya geçişini engelleyerek arter duvarındaki kalış süresini de uzatır.

3. O-LDL, arter duvarındaki hücreler için sitotoksikdir. Hücresel hasar, endotel hasarı oluşturabilir.

4. O-LDL'nin, EDRF (endotel kaynaklı gevşetici faktör) aracılığıyla olan düz kas gevşemesini inhibe ettiği bilinmektedir.

Sonuç Olarak,

1.Tereyağı, muhtevasındaki yüksek kolesterol yönünden ateroskleroz için önemli bir risk faktörüdür.

2. Tereyağı tüketiminde serum HDL-C seviyesi diğer yağlara göre daha yüksektir. Bu durum tereyağının, ateroskleroz yönünden koruyucu olduğu izlenimini vermektedir. Ancak, aynı grupta asıl antiaterojenik fraksiyon olan HDL_2-C'ün düşük olması yine tereyağının aterojenik rolünü göstermektedir ve ateroskleroz riski yönünden HDL-C'ün alt fraksiyonları tayininin daha önemli olduğu anlaşılmaktadır.

3. Tereyağı, kolesterol yönünden diğer yağlara göre aterojenik ise de, lipid peroksidasyonuna olan direnci bakımından diğer yağlara, özellikle de sıvı yağlara göre daha avantajlıdır. Çünkü, lipid peroksidasyonu da O-LDL oluşumu ile aterojenitenin önemli bir sebebidir. Ayrıca, lipid peroksidasyonu diğer birçok hastalığın da önemli sebeplerindendir.

4. Bütün bu bulgulardan tereyağının aterojenik olduğu anlaşılmakla beraber, diğer yağların da aynı riski taşıdıkları hatta bu riskin belki de daha fazla olduğu söylenebilir.

5. Bulgularımızdan, lipid peroksidasyonu yönünden yağların Mısırözüyağı> Ayçiçek yağı>Zeytinyağı>Margarin>Tereyağı şeklinde sıralandığı anlaşılmaktadır.

6. İncelenen yağlarda en düşük HDL_2-C düzeyi margarin grubunda bulunmuştur. Bu, margarinlerin de aterojenik etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

7. Yağların aterojeniteye olan etkilerinin yukarıdaki bulgular ışığında daha geniş populasyonlarda araştırılması faydalı olacaktır.

8. Ateroskleroz riski açısından kan kolesterölü ile okside- LDL'den hangisinin daha önde geldiğinin ve böylece yağ tüketiminin nasıl ayarlanması gerektiğinin araştırılmasının faydalı olacağı kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Ak, A. ve Oto, A., 1988, Oksijen serbest radikalleri, Türkiye Klinikleri Kardiyoloji Dergisi, 1,1, 35-39.

Akkuş, İ., 1995, Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza basım, yayım ve dağıtım A.Ş., Konya, 157 s.

Akman, Ş., Kökcan, E., Güçlü, A., Önkol, M. ve Karaca, L., 1994, Çöktürme yöntemleri ile HDL alt gruplarının ayrılması ve miktarının, belirlenmesi, XII. Ulusal Biyokimya Kongresi, Kongre Özet Kitabı, İstanbul, C-103.

Albers, J.J., Adolphson, J.L. and Hazzard, W.R., 1977, Radioimmunoassey of human plasma Lp (a) lipoprotein, J. Lipid Res., 18, 331-338.

Babior, B.M., 1984, Oxidants from phagocytes: Agent of defence and destruction, Blood, 64, 959-966.

Balevi, T., 1996, Tavuk rasyonlarına katılan çeşitli yağların performansa ve ürünlerin yağ asidi kompozisyonlarına etkileri, Doktora tezi, S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 73 s.

Bast, A., Haenen, G.R.M.M. and Doelman, C.J.A., 1991, Oxidants and antioxidants: State of the art., Am. J. Med., 91, 3, 2-13.

Bhagavan, N.V., 1992, Medical Biochemistry, Jones and Bartlett Publishers, London, 447-467.

Bergesio, F., Monzani, G. and Ciuti, R., et. al., 1992, Lipids and apolipoproteins change during the prossesion of chronic renal failure, Clinical Nephrology, 35, 5, 264-270.

Buring, J.E., O'connor, G.T. and Goldhaber, S.Z., 1992, Decreased HDL_2 and HDL_3 cholesterol, Apo A-I and Apo A-II and increased risk of myocardial infarction, Circulation, 85, 1, 22-29.

Bush, T.L., Fried, L.P and Barret-Connor, E., 1988, Cholesterol, lipoproteins and coronary heart disease in women, Clinical Chemistry, 34, 8 B, 60-70.

Calbreath, D.F., 1992, Clinical Chemistry a Fundamental Textbook, WB., Saunders Company, Philadelphia, 279-303.

Cheeseman, K.H. and Slater, T.F., 1993, An introduction to free radical biochemistry, Br. Med. Bull., 49, 3, 479-480.

Craig, W.Y., Palomaki, G.E., Johnson, M.A. and Haddow, J.E., 1990, Cigarette smoking-associated changes in blood lipoprotein levels in the 8-to 19-years old age group: A metaanalysis, Pediatrics, 85, 2, 155-157.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Deby, C. and Pincemail, J., 1988, Oxygen toxicity, free radicals and defense mechanisms, Recent Result in Pharmacology and Clinic, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 56-70.

Donald, A., 1994, Kolesterol ölçümleri, risk ihtimallerinin hesaplanması için yeterli mi? XII. Ulusal Biyokimya Kongresi, Kongre Özet Kitabı, İstanbul, A - 03.

Durrington, P.N., Hunt, L. and Ishola, M., 1986, Serum apolipoproteins A-I and B and lipoproteins, in middle aged men with and without previous myocardial infarction, Br. Heart. J., 56, 206-212.

Düzgüneş, O., Kesici, T. ve Gürbüz, F., 1983, İstatistik Metodları-I, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 25-84.

Dyerberg, J., 1986, Linolenate-derived polyunsaturated fatty acids and prevention of atherosclerosis, Nutrition Reviews, 44, 4, 125-134.

Erden, M., 1992, Serbest radikaller, Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi, 12, 201-207.

Esterbauer, H., Wag, G. and Puhl, H., 1993, Lipid peroxidation and it's role in atherosclerosis, British Medical Bulletin, 49, 566-576.

Esterbauer, H., Rotheneder, M.D., and Srienal, G., 1991, Role vitamin E in preventing the oxidation of low-density lipoprotein, Am. J. Clin. Nutr., 53, 314-324.

Färkkilä, M. and Miettinen, T.A., 1990, Lipid metabolism in bik acid malabsorption, Ann. Med., 22, 5-13.

Ferrer, M., Game, G.L., and Adams, P.C., 1992, A simple sensitive technique for classification of apolipoprotein (a) isoform by sodium dodecyl sulphate-polyacrilamide gel electrophoresis, Clin. Chem. Acta, 207, 15-25.

Freeman, B.A. and Crapo, J.D., 1982,Free radicals and tissue injury, Lab. Invest, 47,412-426.

Fuhrmann, H. and Sallmann, H.P., 1995 a, The influence of dieatry fatty acids and vitamin E on plasma prostanoids and liver microsomal alkane production in brolier chickens with regard to nutritional encephalomalacia, J. Nutr. Sci. Vitaminol, 41, 1353-1361.

Fuhrmann, H. and Sallmann, H.P., 1995 b, Phospholipid fatty acids of brain and liver are modified by α-tocopherol and dieatry fat in growing chicks, Bri. of Nutr., 76, 109-122.

Gey, K.F., Puska, P. and Jordon, P., 1991, Inverse correlation between plasma vitamin E and mortality from ischemic heart disease in cross-curtural epidemiology, Am. J. Clin. Nutr., 53, 326-334.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Gidez, L.I., Miller, G.J. and Burstein, M., 1982, Seperation and quantitation of subclasses of subclasses of human plasma high densty lipoproteins by simple precipitation procedure, J. Lipid Res., 23, 1206-1223.

Halliwell, B., 1991, Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry and role in human, Am. J. Med., 91, 3, 14-22.

Halliwell, B., 1993, Free radicals and vascular disease: How much do we know?, British Med. J., 307, 885-886.

Halliwell, B., 1994, Free radicals, antioxidants and human disease: Curiosity, cause, or consequence?, The Lancet, 344, 721-724.

Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C, 1990, Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview, Methods Enzymol, 186, 1-85.

Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C, 1984, Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage and antioxidant therapy, The Lancet, June 23, 1396-1397.

Hennekens, C.H. and Gaziano, J.M., 1993, Antioxidants and heart disease: Epidemiology and clinical evidence, Clin. Cardiol, 16, I-10, I-15.

Henry, J.B., 1991, Clinical diagnosis and management by laboratory methods In: Lipid and dislipoproteinemia, 18 th, ed, WB., Saunders Company, Philadelphia, 188-214.

Holley, A. and Cheeseman, K.H., 1993, Measuring free radical reactions in vivo, British Med. Bull., 49, 3, 494-505.

Huang, Z., Leibovitz, H., Lee, C.M. and Millar, R., 1990, Effect o dietary fish oil on omega-3 fatty acid levels in chicken eggs and thigh flesh, Am. Che. Soc., 38, 3, 743-747.

Inklaar, P.A. and Fortuin, J., 1969, Determining the emülsifying and emulsion stabilizing capacity of protein meat additives, Food Technol, 23, 103.

Jain, S.K., Mc. Vie, R., Duett, J. and Herbst, J.J., 1989, Erythrocite membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes, Diabetes, 38, 1539-1543.

Klaus, A.M., Fuhrmann, H. and Sallmann, H.P., 1995, Peroxidative and antioxidative metabolism of the brolier chicken as influenced by dieatry linoleic acid and vitamin E, Arch., Geflügelle, 59, 2, 135-144.

Klebanoff, S.J., 1980, Oxygen metabolism and toxic properties of phagocytes, Ann. Int. Med., 93, 480-489.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Işıksoluğu, M., 1986, Beslenme, Milli Eğitim Basımevi, 421 s.

Kurt, İ. ve Arslan N., 1993, Ateroskleroz patogenezinde lipoproteinlerin rolü ile ilgili yeni görüşler, T. Klin. Tıp Bilimleri Dergisi, 13, 137-141.

Lawn, R.M., 1993, Lipoprotein (a) kolesterol taşınımını gerçekleştirmekte ve kan pıhtılarıyla bağlanarak kalp krizi riskinin artmasına neden olmaktadır. Bu protein ve diğer kan proteinleri arasındaki karşılaştırma, olayın niçin ve nasıl gerçekleştiği hakkında bilgi vermektedir, (Çev. M. Kiremitçi), Bilim Teknik Dergisi, 300-303.

Leaf, A. and Weber, P.C., 1988, Cardiovascular effects of omega-3 fatty acids, The New Engl. J. of Med., 318, 9, 549-557.

Lewis, B., 1990, Hiperlipidemia, In: Cohen, R.D., Lewis, B. and Denman, A.M., The metabolic and molecular basis of acquired disease, WB., Saunders, London, 860-920.

Liu, K., Cuddy, E. and Pierce, G.N., 1992, Oxidative status of lipoproteins in coronary disease patients, Am. Heart Journal, 123, 2, 285-290.

Luc, G., Bard, J.M. and Lussier-Cacan, C.S., 1991, High-density lipoprotein particles in octogenerians, Metabolism, 140, 12, 1238-1243.

Lunec, J. and Blake, D., 1990, Oxygen free radicals. Their relevance to disease processes, In: Cohen, R.D., Lewis B. and Albert K., The Metabolic and Molecular Basis of Acquired Disease, Balliere Tindall, London, 189-212.

Mahley, R.W., 1993, Aterogenezin Hücresel ve Moleküler Biyolojisi, Kolesterol Taşınması ve Lipoprotein Metabolizması, (Çev. O. Gökdemir ve K. E. Palaoğlu), 191 s.

Martin, D. W., Mayes, P.A. and Rodwell, V.W., 1986, Harper'in Biyokimyaya Bakışı, (Çev. N. K. Menteş ve G. Menteş), Bornova-İzmir, 442 s.

Matheus, C.K. and Holdevan K. E., 1990, Biochemistry, The Benjamin/Cummings Publishing Company California, 604-643.

Mayes, P.A., 1993 a, Lipids of Physiologic Significance, In: Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A. and Rodwell, V.W., Harper's Biochemistry, 23rd ed., Lange Medical Publication, London, 142-153.

Mayes, P.A., 1993 b, Cholesterol synthesis, transport and excretion, In: Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A. and Rodwell, V.W., Harper's Biochemistry, 23rd ed., Lange Medical Puplication, London, 267-278.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Mayes, P.A., 1993 c, Biosynthesis of fatty acids, In: Murray, R.K.,Granner, D.K., Mayes, P.A. and Rodwell, V.W., Harper's Biochemistry, 23rd ed., Lange Medical Puplication, London, 212-231.

Mayes, P. A., 1993 d, Lipid transport and storage, In: Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A. and Rodwell, V.W., Harper's Biochemistry, 23rd ed., Lange Medical Publication, London, 250-265.

Mc Namara, J.R., Haung, C. and Massoy T., 1994, Modification of the dextran-Mg^{+2} high-density lipoprotein cholesterol precipitation method for use with previously frosen plasma, Clin. Chem., 40, 2, 233-239.

Nardini, M., Scaccini, C., Massimo, D'Aquino, M., Benedetti, P.C., Paola, Di Felice, M. and Tomassi, G., 1993, Lipid peroxidation in liver microsomes of rats fed soybean, olive and coconut oil, J. Nutr., Biochem., 4, 39-43.

Nas, S., Gökalp, H.Y. ve Ünsal, M., 1992, Bitkisel Yağ Teknolojisi, Atatürk Üniversitesi Yayınları, 1-184.

Olmos, J.M., Lasuncion, M.A. and Herrera, E., 1992, Dextran sulphate complexes with potassium phosphate to interfere in determinations of high-density lipoprotein cholesterol, Clin. Chem., 38, 2, 233-237.

Ortola, J., Castineiras, M.J. and Fuentes, A., 1992, X. Biological variation data applied to the selection of serum lipid ratios used as risk markers of coronary heart disease, Clin. Chem., 38, 1, 56-59.

Paul, S.B., Robert, I.L. and Bsil, M.R., 1991, Lipids and dislipoproteinemi, In: John, B.H., eds., Clinical Diagnosis Management By Laboratory Methods, 18th ed., WB., Saunders Company, Philadelphia, 188-288.

Pryor, W.A., and Castle, L., 1984, Chemical methods for the detection of lipid hydroperoxides, Methods in Enzimology, 105, 293-299.

Ross, R., 1992, The pathogenesis of atherosclerosis In: Braunwald, E., ed., Heart Disease A Textbook of Cardiovascular Medicine, 4th WB., Saunders Company, Philadelphia, 1106-1160.

Scanu, A.M., and Flees, G.M., 1990, Lipoprotein (a) heterogenity and biological relevance, J. Clin. Invest, 85, 1709- 1715.

Scheffler, E., Huber, L., Fruhbis, J., Schultz, I., Ziegler, R. and Dresel, H.A., 1990, Alteration of plasma low densty lipoprotein from smokers, Atherosclerosis, 82, 261-265.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Schmidt, S.B., Wasserman, A.G. and Muesing, R.A., 1985, Lipoprotein and apolipoprotein levels in angiographically defined coronary atherosclerosis, Am. J. Cardiol, 55, 1459-1462.

Sies, H., 1991, Oxidative stress: From basic research to clinical application, Am. J. Med., 91. 3, 31-38.

Slater, T.F., 1984, Overview of methods used for detecting lipid peroxidation, Methods in Enzimology, 105, 283-293.

Stander, S., 1990, Atherogenesis and the role of lipoproteins, Scand J. Clin. Lab. Invest, 50, suppl 199, 14-16.

Stein, E.A., and Gary, L.M., 1994, Lipids, Lipoproteins and apolipoproteins, In: Garl A.B., Edward, R.A. eds., Tietz, Text book of Clinical Chemistry: 2nd ed., WB.. Saunders Company, Philadelphia, 1002-1093.

Stein, E.A., 1986, Lipids, lipoproteins, In: "Text-book of Clinical Chemistry" Ed. Tietz, N.W., WB., Saunders Company, Philadelphia, 829-900.

Steinberg, D., 1991, Antioxidants and atherosclerosis, Circulation, 84, 3, 1420-1425.

Tietz, N.W., 1987, Fundamentals of Clinical Chemistry, 3th ed., WB., Saunders Company, Philadelphia, 449 p.

Utermann, G., 1989, The mysteries of lipoprotein (a), Science, 246, 904-910.

Valenzuela, A., 1990, The biological significance of malondialdehyde determination in the assessment of tissue oxidative stress. Life Scien., 48, 301-309.

Warnick, R.R., Benderson, J.M. and Albers, J.J., 1982, Quantitation of high-density lipoprotein subclass after seperation by dextran sulphate and Mg^{+2} precipitation, Clin. Chem., 28, 7, 1574.

Watkins, B.A., 1991, Importance of essential fatty acids and their derivatives in poultry, J. Nutr., 121, 1475-1485.

Weiss, S.J. and Lobuglio, A.F., 1982, Phagocyte-generated oxygen metabolited and cellular injury, Lab. Invest., 47, 5-18.

Wiklund, O., Angelin, B. and Oloffson, S.O., et all., 1990, Apolipoprotein (a) and ischemic heart disease in familial hypercholesterolemia, Lancet, 335, 1360-1363.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Winrow, V.R., Winyard, P.G., Morris, C.J. and Blake, D.R., 1993, Free radicals in inflammation: Second messengers and metiators of tissue destruction, Br. Med. Bull., 49, 3, 506-522.

Wolf, N., 1990, Atherosclerosis:Pathogenesis and factor affecting its progression, In: Cohen, R.D., Lewis, B., Alberti, K.G.M.M. and Denman, A.M. eds., The Methabolic and Molecular Basis of Acquired Disease, WB. Saunders, London, 1531-1538.

Yardımcı, S., 1993, Damar sisteminin yaşlanması, aterosklerozun etyopatogenezi ve korunma önlemleri, Türk J. Cardiol, 6, 217-225.

Yenson, M., 1984, İnsan Biyokimyası, Beta Basım-Yayım Dağıtım A.Ş. İstanbul, 837 s.

Yia-Herttuala, S., 1991, Macrophages and oxidized low density lipoproteins in the pathogenesis of atherosclerosis, Ann. Med., 23, 561-567.

ÖZGEÇMİŞ

1959 yılında Adana, Saimbeyli İlçesi Naltaş köyünde doğdu. İlkokulu aynı köyde, ortaokulu Saimbeyli Ortaokulu'nda, Lise öğrenimini de Mersin'de bitirdi. 1985 yılında S.Ü. Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği bölümüne girerek 1989 yılında mezun oldu. Aynı yıl S.Ü. Biyokimya (Tıp) Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans proğramını kazandı ve 1992'de bitirdi. 1994 yılında Dumlupınar Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü doktora proğramını kazandı.

Halen, S.Ü. Tıp Fakültesi Patoloji Laboratuvarında Sağlık Teknisyeni olarak çalışmaktadır. Evli ve 4 çocuk babasıdır.