

**ERİTROSİT MEMBRANI LİPİT BİLEŞİMİ ÜZERİNE
SİGARANIN ETKİSİ**

**DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

98030

2000-TOKAT

**TC. YATIRIM MENKUL DEĞERLER A.Ş.
BULUNMAYAN MENKUL DEĞERLER**

GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ERİTROSİT MEMBRANI LİPİT BİLEŞİMİ ÜZERİNE
SİGARANIN ETKİSİ

DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

Bu tez , 14.../...5...../2000 tarihinde aşağıda belirtilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

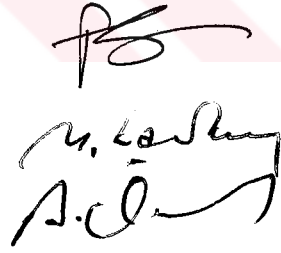
Ünvanı , Adı ve Soyadı

İmza

Başkan : Prof. Dr . Fehmi SERİM

Üye : Doç. Dr. Mustafa KAVUTÇU

Üye : Doç. Dr. Adem ÖNAL



ONAY:

Bu tez , 23.../...03/2000 tarih ve06...sayılı Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen jüri üyelerince kabul edilmiştir.

...../...../2000

Doç. Dr. Ergün DEMİR
Enstitü Müdürü



ÖZET**ERİTROSİT MEMBRANI LİPİD BİLEŞİMİ ÜZERİNE
SİGARANIN ETKİSİ**

Mustafa TOKER
Gaziosmanpaşa Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı

Doktora Tezi
2000, 65 sayfa

Danışman: Prof. Dr. Fehmi SERİM

Juri : Prof. Dr. Fehmi SERİM

Juri : Doç.Dr. Mustafa KAVUTCU

Juri: Doç.Dr. Adem ÖNAL

Bu araştırmada; sigaranın eritrosit membranı lipidleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Membran akışkanlığında önemli bir kriter olan COL/PL ve SM/PC oranları üzerine etkileri 20'şer kişilik üç gurup arasında karşılaştırıldı. Eritrosit membran fosfolipid tayini ince tabaka kromatografisi ile, membran kolesterol tayini ise kolesterol oksidaz metoduyla enzimatik olarak belirlendi.

Sigara içen fabrika işçilerinin membran total fosfolipid ortalama değeri $3,407 \pm 0,308$ mg/ 10^{10} hücre, total kolesterol $1,480 \pm 0,104$ mg/ 10^{10} hücre, KOL/PL oranı ise $0,438 \pm 0,049$ olarak fosfolipid fraksiyonlarının % olarak ortalama değerleri ise PC $30,748 \pm 1,430$, PE $24,590 \pm 2,548$, PS $18,674 \pm 2,998$, SM, $26,137 \pm 1,249$, SM/PC oranı ise $0,851 \pm 0,050$ olarak bulundu.

Sigara içmeyen fabrika işçilerinin; ortalama total fosfolipid değeri $3,136 \pm 0,162$ mg/ 10^{10} hücre, total kolesterol $1,194 \pm 0,098$ mg/ 10^{10} hücre, COL/PL $0,381 \pm 0,031$, fosfolipid fraksiyonlarının % olarak ortalama değerleri ise PC $33,142 \pm 1,742$, PE $29,638 \pm 2,289$, PS $14,188 \pm 1,041$, SM $22,888 \pm 1,512$ ve SM/PC oranı $0,693 \pm 0,061$ olarak bulundu.

Kontrol gurubu kişilerin; ortalama total fosfolipid miktarı $3,098 \pm 0,267$ mg/ 10^{10} hücre, total kolesterol, $1,163 \pm 0,086$ mg/ 10^{10} hücre, COL/PL oranı ise $0,378 \pm 0,034$ dür. Fosfolipid fraksiyonlarının % olarak ortalama değerleri ise; PC $33,444 \pm 1,816$, PE $29,555 \pm 2,118$, PS $14,378 \pm 1,012$, SM $22,707 \pm 1,219$ ve SM/PC oranı ise $0,681 \pm 0,055$ olarak bulundu.

İstatistiksel değerlendirme sonuçlarına göre, sigara içenlerle diğer iki gurubun tüm parametre değerleri arasında anlamlı bir farklılık ($p < 0.05$) varken, sigara içmeyen işçiler ile kontrol gurubu arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Sigara içiminin devamı halinde kolesterol ve fosfolipid değerleri ile, COL/PL ve SM/PC oranlarındaki değişimin membran akışkanlığını olumsuz yönde etkilediği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Sigara, Eritrosit Membran, Fosfolipid, Lipid

ABSTRACT**THE EFFECT OF CIGARETTE ON ERYTHROCYTE MEMBRANES
LIPIDS COMPOSITION****Mustafa TOKER****Gaziosmanpaşa University
Graduate School of Natural and Applied Science Department of Chemistry****Ph.D Thesis
2000,65 page****Supervisor: Prof. Dr. Fehmi SERİM**

Jury	: Prof. Dr. Fehmi SERİM
Jury	: Doç. Dr. Mustafa KAVUTÇU
Jury	: Doç. Dr. Adem ÖNAL

In this study, the effect of smoking on the human erythrocyte membrane lipid composition was studied. The ratios of COL/PL and SM/PC, which are the significant criteria for erythrocyte membrane fluidity, were compared between smokers and non-smokers control of each was consist of 20 subjects. The amount of erythrocyte membrane phospholipid was determined by the method of Thin layer Chromatography. Determination of membrane cholesterol level was performed (the method of cholesterol oxidase) enzymatically.

The average membrane phospholipid values for smokers who have been working in Tokat Cigarette Factory, was $3,407 \pm 0,308$ mg/10¹⁰ cell. Total cholesterol values were $1,480 \pm 0,104$ mg/10¹⁰ and the ratio of KOL/PL were $0,438 \pm 0,049$. The average of phospholipid fraction values as percentages were PC $30,748 \pm 1,430$, PE $24,590 \pm 2,548$, PS $18,674 \pm 2,998$, SM $26,137 \pm 1,249$ respectively and the ratio of SM/PC was $0,851 \pm 0,050$.

The values for total phospholipid ,total cholesterol, KOL/PL for non-smokers workers in cigarette factory were $3,136 \pm 0,162$, $1,194 \pm 0,098$, $0,381 \pm 0,031$ respectively. The average of phospholipid fraction value as percentages were PC $33,142 \pm 1,742$, PE $29,638 \pm 2,289$, PS $14,188 \pm 1,041$, SM $2,888 \pm 1,512$, and the ratio of SM/PC $0,693 \pm 0,061$ respectively.

The total values for phospholipid, cholesterol and COL/PL ratio for those in control group were $3,098 \pm 0,267$, $1,163 \pm 0,086$, $0,378 \pm 0,034$ respectively. The average of persantage valve for phospholipid fraction were PC $33,444 \pm 1,816$, PE $29,556 \pm 2,118$, PS $14,378 \pm 1,012$, SM $22,707 \pm 1,219$ and the ratio of SM/PC $0,681 \pm 0,055$ respectively.

From the results obtained for all criteria for smokers ,non- smokers and those in control group, a significant difference was found. On the other hand ,the difference between non-smokers and control group subjects was nonsignificant. The continuation of smoking is thought to change COL/PL and SM/PC ratios that will have a negative effect on membrane fluidity.

Key words : Cigarette ,Erythrocyte membrane, Phospholipids, Lipid

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım esnasında yakın ilgi ve desteklerini gördüğüm danışman hocam Prof. Dr. Fehmi SERİM'e, Doç. Dr. Adem ÖNAL'a Yrd. Doç. Dr. Necmettin YILMAZ'a teşekkür ederim. Laboratuvar çalışmalarında yardımlarını gördüğüm Yrd. Doç. Dr. Mehmet AKTAŞ'a, Dr. İbrahim DEMİRTAŞ'a, Arş. Gör. Mahfuz ELMASTAŞ'a teşekkür ederim.

Kan örneklerinin analizlerinin yapılmasına imkan sağlayan Karşıyaka Devlet Hastahanesi Başhekim'i Opr. Dr. Şaban DÖNMEZOĞLU'na ve laboratuvar personeline teşekkür ederim.

Tez yazımında yardımlarını gördüğüm Yrd. Doç. Dr. Orhan UZUN'a, Yrd. Doç. Dr. Adem EROĞLU'na, Yrd. Doç. Dr. Hayati SARI'ya, Dr. Ömer IŞILDAK'a, Arş. Gör. Osman ÖZSOY'a ve Fen-Edebiyat Fakültesi Dekanlık özel kalemi Emine YILDIZ'a teşekkür ederim.

Çalışmalarında kullandığım kan örneklerini aldığım Sigara Fabrikasındaki işçilere, Fabrika Müdür Yard. Sezai EKENOĞLU'na, Fabrika Doktoru Ali ÇELİK'e ve Sendika yetkililerine teşekkür ederim.

Çalışmalarına maddi finansman sağlayan Gaziosmanpaşa Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı yetkililerine teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince bana maddi ve manevi destek veren Eşime ve çocuklarıma teşekkür ederim.

Bu Tez Gaziosmanpaşa Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığınca 95/36 No'lu Proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	<u>SAYFA</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
ÇİZELGELER LİSTESİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ	4
2.1. Biyolojik Membranlar	4
2.1.1. Membran Lipitleri	6
2.1.1.1. Fosfolipitler	7
2.1.1.1.1. Fosfoliseritler	8
2.1.1.1.1.a. Fosfatidilkolin	9
2.1.1.1.1.b. Fosfatidiletanolanın	11
2.1.1.1.1.c. Fosfatidilserin	12
2.1.1.1.2. Sfingomiyelinler	12
2.1.2. Membran Proteinleri	13
2.1.3. Membran Akışkan Mozaik Modeli	14
2.2. Eritrositlerin Yapısı ve Fonksiyonları	15
2.2.1. Eritrositlerin Membran Yapısı	16
2.3. Tütün	22
3. MATERYAL VE METOD	26
3.1. Materyal	26
3.2. Metod	26
3.2.1. Kan Hücrelerinin Ayrılması	26
3.2.2. Eritrosit Paketinin Hazırlanması	26
3.2.3. Membran Total Lipit Ekstraktının Hazırlanması	27
3.2.4. Fosfolipitlerin Ayrılması	28
3.2.5. Fosfolipit Miktarlarının Belirlenmesi	30
3.2.6. Eritrosit Membran Kolesterol Tayini	31

3.3. İstatistiksel Metodlar	33
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	34
4.1. Eritrosit Membran Total Kolesterol, Total Fosfolipit Değerleri İle İlgili Sonuçlar	34
4.2. Eritrosit Membran Fosfolipit Fraksiyonlarının Sonuçları	38
4.3. İstatiksel Sonuçlar	40
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	49
6. KAYNAKLAR	50
7. ÖZGEÇMİŞ	57



ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>SAYFA</u>
2.1. Biyolojik Membranların Yapısı	5
2.2. Hücre Membranında Fosfolipitlerin Yerleşimi	8
2.3.. Eritrosit Membranında Yer Alan Fosfolipitlerin Molekül Formülleri (R1,R3 Yağ Asidi Birimleri)	11
3.1. Kolesterol Standart Grafiği	32
4.1. Total Kolesterol, Total Fosfolipit, Kol/Pk, Su/Pc miktarlarının gruplar arası karşılaştırılması	36
4.2. Fosfolipit Fraksiyonlarının Gruplar arası karşılaştırılması	37

ÇİZELGELER LİSTESİ

	SAYFA
2.1. Membran lipidlerinin hidrofobik ve hidrofilik birimleri	6
2.2. Eritrosit Membran Lipit Miktarları	17
2.3. Eritrosit Membran Fosfolipit Fraksiyonlarının Dağılımı	18
2.4. Margarin Kullanan ve Kullanmayan Kişilerin Eritrosit Membran Fosfolipit Değerleri	19
4.1. Sigara İçen, İçmeyen ve Kontrol Grubu Kişilerin Total Kolesterol ve Total Fosfolipit Değerleri	34
4.2. Sigara İçen, İçmeyen ve Kontrol Grubu Kişilerin KOL/PL ve SM/PC Oranı Değerleri	35
4.3. Sigara İçen, İçmeyen ve Kontrol Grubu Kişilerin Fosfolipit Fraksiyonları Değerleri	39
4.4. Verilerin Grup Ortalama Değerleri ve Varyans Analizi Sonuçları	40
4.5. Verilerin Korelasyon Değerleri	41
4.6. Sigara İçen işçilerin lipit parametreleri arasındaki korelasyon değerleri	42
4.7. Sigara içmeyen işçilerin parametreleri arasındaki korelasyon değerleri	43
4.8. Kontrol grubu işçilerin lipit parametreleri arasındaki korelasyon değerleri	44

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ**SİMGELER:**

μg	: Mikrogram
μL	: Mikrolitre
n	: Örnek sayısı
ng	: Nanogram
P	: Fosfor
p	: Önemlilik Düzeyi
r	: Korelasyon Katsayısı
X	: Matematik ortalama
Σ	: Toplam

KISALTMALAR:

BHT	: Bütillenmiş Hidroksi Toluen
CBC	: (Cell Blood Counter) Kan Hücreleri Sayımı
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetat
HDL	: (High Dencity Lipoprotein) Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
LDL	: (Low Dencity Lipoprotein) Düşük Yoğunluklu Protein
KOL	: Kolesterol
PC	: Fosfatidilkolin
PE	: Fosfatidiletanolamin
PL	: Fosfolipid
PS	: Fosfatidilserin
SD	: (Standart Deviation) Standart Sapma
SM	: Sfingomiyelin
TLC	: (Thin Layer Chromatography) İnce Tabaka Kromatografisi
VLDL	: (Very Low Dencity Lipoprotein) Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

1. GİRİŞ

Sigara; bağımlılık yapan keyif verici bir madde olup, günümüzde insan sağlığını tehdit eden tehlikelerden en büyüğüdür. İnsanları bir yandan bedenlen yıkıma uğrattırken, diğer yandan da ruh sağlığını ve psikolojik yapısını olumsuz yönde etkilemektedir.

Sigara tütün bitkisinin (*Nicotiana tabacum*) bir çok aşamalardan geçerek kurutulan ve fermantasyona tabi tutulan yapraklarından elde edilir. Tütün, puro, enfiye ve çiğneme ile kullanıldığı gibi pipo ile de içilebilmektedir. İster pipo, ister puro, ister düşük nikotinli sigara her nasıl ve ne şekilde kullanılırsa kullanılsın zarar yönünden sonuç değişmez. Fakat sigara şeklinde kullanılışı vücuda en zararlı olan tütün kullanma alışkanlığıdır.

Sigara dumanında oldukça fazla sayıda kimyasal madde tespit edilmiştir. Bunlardan hiç birisi insan bedenine faydalı değildir, hepsi zararlıdır. En zararlıları ise nikotin, zift, karbon monoksit, amonyak, endosülfan ve birçok kanserojen maddelerdir

Sigara ayrıca, serbest oksijen radikallerinin oluşumuna, lipit peroksidasyonunun artmasına ve malondialdehit düzeyinin yükselmesine neden olmaktadır. Bunlar da bir çok hastalık için önemli bir risk faktörüdür. Oksijen kaynaklı bu serbest radikaller aerobik organizmalarda sürekli oluşan reaktif ve kısa ömürlü moleküllerdir. Bu serbest radikallerin zararlı etkileri molekülde, organelde veya hücre düzeyinde görülebilmektedir. Bu değişiklikler enzim inaktivasyonunu, membran yıkımını ve hücrenel fonksiyonu etkilemektedir. Genel olarak hücrede DNA ve membran hasarı meydana getirerek gen değişimi yoluyla kanser, yaşlanma ve diğer bir çok patolojik bozukluğa neden olmaktadır (Yavuzer , 1995, Arıcıoğlu 1995).

Nikotin tıbbi amaçla kullanılmaz. Bir insana 100 -120 mg kadar nikotin damar içerisinden bir anda verilecek olursa o kişinin ölümüne sebep olur. Bu miktar, iki paket sigarada bulunan nikotin miktarıdır. Nikotin idrarla kotinin olarak atılır.

Yapılan epidemiyolojik çalışmalar pekçok hastalık ve rahatsızlığın kötü beslenme, kirli çevre ile sigara ve alkol gibi bağımlılık yapan maddelerden ileri geldiğini göstermektedir (Özyazıcı, 1996). Bunların insan organizmasının en önemli unsuru olan kan üzerinde olumsuz bir çok etkileri olmaktadır.

Eritrositlerde doymamış yağ asitleri, moleküler oksijen ve demir iyonlarının bol miktarda bulunması bu hücreleri aerobik ortamda oluşan oksijen radikallerinin zararlı etkilerine duyarlı yapmaktadır. Oksidan bir maddeye maruz kalan eritrositlerde hem membran lipitleri hem de membran proteinleri bir takım değişikliklere uğramaktadır. Oksidan maddelerin neden olduğu hasar, membran proteinleri ve lipitlerinin yanısıra sitozolik proteinlerin yapılarında da tahribata neden olmakta ve bu nedenle hücrenin hayati fonksiyonlarını olumsuz yönde etkilemektedir. Oksitlenen kolesterol ve fosfolipitlerin yapılarında bulunan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyon ürünleri membran yapısını bozan başlıca maddelerdir. Herhangi bir nedenle lipit bileşenlerinde meydana gelen oksidatif hasar protein bileşenlerini de etkilemektedir. Oluşan hasarın boyutları son derece önemlidir. Çünkü, bir çoğu enzim olan bu proteinlerin hasara uğramaları sonucu kendilerini yenileyememelerinin yanında fonksiyonlarını kaybetmesi de söz konusudur. Serbest radikaller membran lipitlerinin ve proteinlerinin irreversible zararından doğrudan sorumludur (Yavuzer, 1996).

Sigara, eritrositlerin yüzey şeklini değiştirerek ve membran permeabilitesini etkileyerek membranın kimyasal ve biyolojik aktivitesini değiştirir. Hücre membranlarının yapısındaki ve akışkanlığındaki bir değişim membran geçirgenliğini, membran yapısındaki enzimlerin fonksiyonlarını ve hormon reseptörlerini etkilemektedir (Onat, 1996; Gözükara, 1994, Geoffrey, 1997).

Hücreye ulaşan bütün kimyasal ve elektriksel enformasyon plazma membranı yoluyla olmaktadır. Hormonlar hücre membranındaki reseptörleri uyararak kendi etkilerini hücreye ulaştırırlar. Bir çok ilaçlar ancak hücre yüzeyi ile temas ettiklerinden etkilerini gösterirler. Bir çok enzimlerin aktiviteliri plazma membranında olmaktadır. Hücrenin davranışındaki bozukluklar (örneğin kanser) genellikle membran bozukluklarından ileri gelir (Noyan, 1986).

Sigara dumanında bulunan karbon monoksit kandaki hemoglobinlerle birleşerek kalbin ve vücudun tüm organlarına giden oksijen miktarını azaltır. Sigara içmek aynı zamanda trombositlerin istenmeyen şekilde birbirlerine yapışmalarına ve kümeler teşkil ederek çabuk yıkımlarına da neden olur. Ateroskleroz meydana gelir, damarlar sertleşir ve elastikiyetleri azalır. Kan akışını zorlaştırır ve miktarını azaltır. Kişinin kalp-damar sistemine ve diğer bütün organlarına zarar verir (Bulton, 1991).

Sigara koroner kalp hastalığı ve damar sertliğini artırıcı etki gösterir. Bu da plazmada artış gösteren serbest yağ asitleri ile plazmada azalış gösteren HDL (High Density Lipoprotein)'den kaynaklanır (Mjos and Tromst, 1988).

Sigaranın insan eritrositlerinin yüzey şeklini ve membran permeabilitesini etkilediği bilinmektedir. Hücre membranlarının akışkanlığındaki bir değişim membran geçirgenliğini, membran yapısındaki enzimlerin fonksiyonlarını ve hormon reseptörlerini etkilemektedir (Onat, 1996 ve Gözükara, 1994).

Biyolojik hayatın devamı önce kana; kanın sağlığı ve hayatiyeti de yeterli derecede canlı ve akıcı kıvamının korunmasına bağlıdır. Eritrosit membran yapısındaki fosfolipit miktarı, çeşitleri ve yerleşimi membran fonksiyonları ile yakından ilgili olup membran transportunu, pompaları ve enzimleri etkileyerek akışkanlıkta önemli rol oynamaktadır(Geoffrey, 1997).

Bu nedenlerden dolayı yapılan bu araştırmada sigaranın; eritrositlerin membran yapısında bulunan lipit komponentlerinden fosfolipitler üzerine olan etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Böylece sigaranın eritrosit membranlarının yapılanmasında ve fonksiyonlarını yerine getirmesinde çok önemli rolü olan fosfolipit dağılımına olan etkisinin bir dereceye kadar açıklığı kavuşturulmuş olması beklenmektedir.

2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

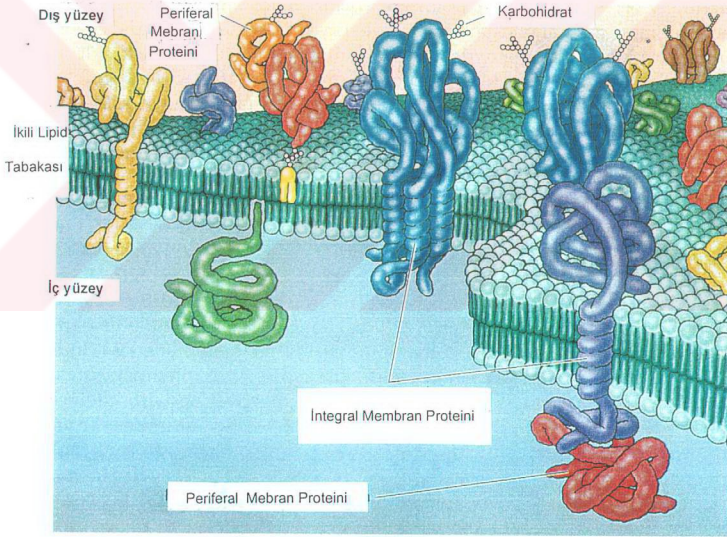
2.1. BİYOLOJİK MEMBRANLAR

Biyolojik membranlar hücreyi, hücre çekirdeğini ve diğer organelleri çevreleyen birimlerdir. Membranlar dinamik bir yapıya sahip olup hemen hemen bütün hücresel aktivitelerde önemli fonksiyonları vardır. Hücre membranları lipid ve protein moleküllerinden oluşmuştur. Bu membranların fonksiyonları, lipid ve protein bileşimleri ile bunların , membranda yer alışları ve birbirleriyle bağlantı kurmalarına göre değişir. Membranların yürüttüğü bu fonksiyonlar şu şekilde özetlenebilir (Noyan, 1986, Onat1996, Geoffrey, 1997).

1. Plazma membranı hücreyi bağımsız birimler halinde çevreden ayırır ve hücreye şekil verir,
2. Seçici geçirgenlik görevi yapar,
3. Hücrenin iç ortamını regüle eder,
4. Çeşitli maddelerin hücre içine veya dışına taşınmasını sağlar,
5. Biyolojik haberleşmeyi (hormonal ve sinirsel) sağlar,
6. Birçok enzimatik aktivitenin gerçekleşmesini sağlar,
7. Üreme, büyüme ve hareket gibi hücrenin birçok davranışını kontrol eder,
8. İmmunolojik özellik gösterir.

Hücre memranı canlıdan canlıya ve bir canlının değişik doku ve organlarında az çok farklılık göstermekle beraber 75-100Å^o kalınlığındadır. Membranların esas yapısını lipid ve protein molekülleri oluşturur. Az miktarda da karbohidrat mevcuttur. Karbohidratlar lipid ve proteinlere bağlı olarak glikolipid ve glikoprotein şeklinde bulunur. Membranlarda % 40 - 50 lipid, % 50 - 60 protein bulunur. Bu oranlar fonksiyonlarına bağlı olarak hücreden hücreye değişmektedir. Memelilerin plazma membranlarında yaklaşık %50 lipid, %50 protein bulunur (Noyan, 1986, Geoffrey, 1997).

Biyolojik membranları oluşturan lipid molekülleri iki tabaka halinde sıralanmışlardır (lipid bilayer, bimoleküler tabaka). Protein molekülleri ise lipid tabakalarının dışına tutunmuş veya içine gömülmüş durumdadır. Lipid molekülleri polar yapıya sahiptir. Bu moleküllerin suya afinitesi olan bir hidrofilik baş grubu, bir de sudan kaçan hidrofobik hidrokarbon kuyruk grubu vardır. Bu özelliklerinden dolayı kolayca bimoleküler tabaka oluştururlar. Bimoleküler tabakanın oluşumunda en önemli faktör hidrofobik etkileşimlerdir. Lipid moleküllerinin polarize olmuş hidrofilik baş kısmı membranın ekstraselüler ve sitosolik dış yüzeylerine dönük, hidrofobik hidrokarbon zincirleri ise bimoleküler tabakanın iç tarafına dönük olarak sıralanırlar (Resim 2.1).



Resim 2. 1. Biyolojik Membranların Yapısı. (The Cell- A. Molecular Approach, 1997, Sh, 470)

2.1.1. Membran Lipidleri

Biyolojik membranların yapısında başlıca fosfolipidler, glikolipidler ve kolesterol bulunur. Membranların lipid miktarı hücreden hücreye, alınan diyet ve çevre faktörlerine bağlı olarak değişmektedir (Dugan, 1986). Fosfolipid ve glikolipidler benzer konformasyona sahiptirler. Molekül yapılarında polar (hidrofilik) ve polar olmayan (hidrofobik) gruplar içerdiklerinden dolayı fosfolipidler amfipatik moleküllerdir (Tablo 2.1) (Keha ve Kürevioğlu, 1997, Onat 1996). Fosfolipit ve glikolipitlerin polar baş gruplarının suya afinitesi olduğu, hidrokarbon kuyruk kısımları ise sudan kaçtıkları için membranda lipid ikili tabakayı spontan olarak meydana getirirler. Böylece hücre membranı hücre dışındaki sulu ortam ile hücre içindeki sulu ortam arasında bir set oluşturur ki, bu durum hücre membranı fonksiyonu için gerekli özelliği kazandırmış olur (Noyan, 1986).

Tablo 2. 1. Membran lipidlerinin hidrofobik ve hidrofilik birimleri

Membran lipidleri	Hidrofobik birim	Hidrofilik birim
Fosfoliseridler	Yağ asidi zincirleri	Fosforilalkol
Sphingomiyelin	Yağ asidi ve sfingozin	Fosforilkolin
Glikolipid	Yağ asidi ve sfingozin	Bir veya daha ↑ şeker birimi
Kolesterol	Hidroksil grubu	OH dışındaki kısım

Yağ asitleri; Fosfolipitteki gliserol veya sfingozine bağlı olarak bulunur. Lipidlere kovalent olarak bağlı bulunan yağ asitleri kimyasal veya enzimatik olarak serbest hale getirilebilir.

Yağ asitlerindeki çift bağlardan dolayı hücre membranları oksijene karşı çok hassastır. Ancak membranlar; E vitamini, askorbik asit (C vitamini) ve glutatyon gibi bazı doğal antioksidanlarla otooksidasyona karşı korunur. Yağ asitlerinin zincir uzunluğu ve doymamışlık derecesinin membran akışkanlığı üzerinde büyük etkisi vardır. Membran lipidlerinde yağ asidi bileşimi, membran fonksiyonu ve alınan besine bağlı olarak değişmektedir (Strayer, 1988, Geoffrey, 1997). Miyelin kılıfıda uzun zincirli doymuş

yağ asitleri fazla iken, buna karşılık eritrosit membranlarında orta uzunluktaki doymuş yağ asitleri daha fazla miktardadır. Bu farklılık biyolojik zarların özelliklerinin belirlenmesinde önemlidir. Yağın zarda paketlenme yeteneği zincir uzunluğu ile orantılı olarak artmaktadır (Strayer,1988).

İnsan ve hayvan hücre membranlarında bulunan önemli bir bileşik de kolesteroldür. Kolesterol serbest veya esterleşmiş şekilde bulunan bir steroldür. Serbest kolesterol hücre zarlarının önemli bir bileşenidir. Esterleşmiş kolesterol ise genellikle serumda bulunmakla beraber ateroskleroz plaklarında da bulunur. Membranın dış yüzeyinde iç yüzeyine oranla iki misli daha fazla bulunur. Hidroksil grubunu su/lipid fazına yerleştiren kolesterolün hidrofobik kısmı lipid tabakasında çözünmektedir. Membran akışkanlığının membran kolesterol içeriği ve kolesterol/fosfolipit (KOL/PL) oranı ile yakından ilişkisi bulunmaktadır(Onat, 1996).

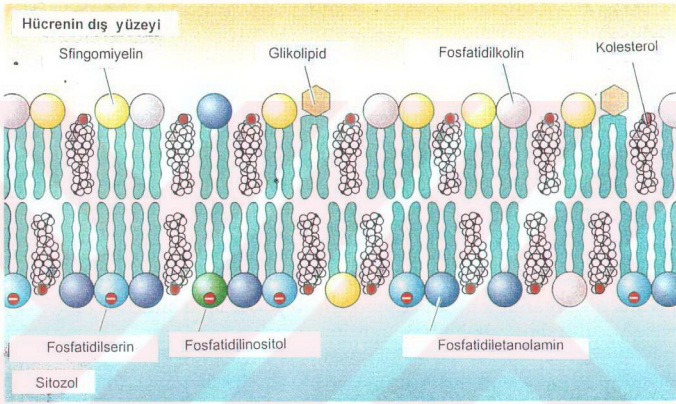
Kolesterol, lipid ikili tabakasının oluşumunda ve sağlamlığında önemli rol oynar. Bimoleküler tabakanın dayanıklılığı kolesterol miktarı ile orantılıdır(Lehninger, 1982).

2.1.1.1. Fosfolipidler

Fosfolipidler; biyolojik membranların en önemli bileşeni olup, bütün hayvan ve bitki hücre membranlarında bulunur. Fosfolipidler gliserol ve sfingozin alkollerinden türetilmişlerdir. Gliserolden türetilenlere fosfogliseridler, sfingozinden türetilenlere ise sfingomiyelinler denir. Lipoproteinlerin yapısında bulunan fosfolipitler amfipatik özellikte olduklarından, trigliseritler ve kolesterol esterleri gibi polar olmayan lipidlerin plazma içinde çözünür halde tutulmasını sağlar. Trigliseritlerde olduğu gibi fosfolipitlerin de yağ

asidi içeriği diyetle alınan yağın cinsinden ve miktarından oldukça etkilenir (Thomson,1991).

Fosfolipit çeşitleri, Farklı hücre ve organellere göre değişiklik gösterir. Eritrosit membranlarında daha çok fosfatidilkolin, fosfatidiletanolamin, fosfatidilserin ve sfingomyelin bulunur (Clark et al, 1997) (Resim 2.2). Eritrosit membranlarındaki önemli fosfolipidlerin molekül formülleri şekil 2.3'de görülmektedir.



Resim 2.2. Hücre membranında fosfolipitlerin yerleşimi(The Cell- A. Molecular Approach, 1997)

2.1.1.1.1. Fosfolipitler

Bir gliserol omurgası, iki yağ asidi zinciri ve bir de fosforlanmış alkolden yapılmışlardır. Bu şekilde oluşan bileşik fosfatidat (PA) olarak isimlendirilir. Membranlarda serbest fosfatidat eser miktarda bulunur. Fosfatidat diğer fosfolipitlerin biyosentezinde kullanılan bir ara bileşiktir. Bundan dolayı biyolojik önemi vardır (Murray, 1988, Lakar, 1996). Fosfatidatın yapısında bulunan fosfat grubunun değişik alkollerle

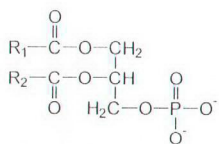
esterleşmesi sonucunda birbirinden farklı fosfogliseridler meydana gelir. Eritrosit fosfogliseridlerinin yapısında yer alan alkoller; kolin, etanolamin, serindir. Fosfatidat molekülünün bu alkollerle esterleşmesiyle fosfatidilkolin (PC), fosfatidiletanolamin (PE), fosfatidilserin (PS) meydana gelir (Şekil 2.3). Fosfogliseridler amfipatik, polar lipidlerdir. Polar çözücülerde kolay çözüldükleri halde asetonda çözünmezler. Basit lipid ve glikolipidlerden ayırt edilmelerinde bu özelliklerinden faydalanılır (Christie, 1970). Fosfogliseridlerde en az bir tane doymamış yağ asiti bulunur. Genellikle birinci karbona bağlı yağ asidi doymuş, ikinci karbona bağlı yağ asidi ise doymamıştır. İçerdikleri yağ asitlerinin farklılığından dolayı kimyasal olarak birbirinden farklı özellikte çok sayıda fosfogliserid bulunur. Örneğin insan eritrosit membranlarında bu sayı 150 - 200 kadardır. Fosfogliseridlerin organizmanın gelişmesinde önemli rolü vardır. Ayrıca, fosfolipid metabolizması ile kan pıhtılaşması arasında da bir ilişki bulunmaktadır. Fosfatidilkolin ve fosfatidiletanolamin kanın pıhtılaşmasını hızlandırırken, fosfatidilserin geciktirici bir etkiye sahiptir (Murray, 1993; Yenson, 1978).

Membranlarda en fazla fosfatidilkolin, fosfatidiletanolamin, fosfatidilserin, fosfatidilinositol ve kardiolipin bulunur (Geoffrey, 1997).

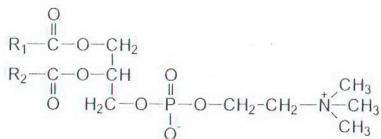
Hücre membranların lipid akışkanlığı yağ asidi bileşimi farklı olan diyetlerle değişebilir. Membran akışkanlığında sfingomiyelin/fosfatidilkolin ve kolesterol/fosfolipit oranları önemli rol oynamaktadır. Bu oranlardaki artış membran lipid akışkanlığını azaltmaktadır (Hagve, 1993, Popp - Snijders, 1984, Berlin, 1989).

a. Fosfatidilkolin (Lecitin)

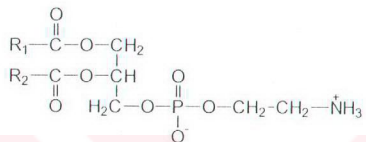
Gliserolün 3 nolu karbonuna bağlı fosfatın -OH grubu ile kolinin esterleşmesi sonucu oluşur. Dokularda fosfatidiletanolaminden sentezlenir. pH 7 civarında (+) yüke sahiptir. pH 7' nin biraz altında ve üstünde ise net elektrik yükü sıfır (0) dir.



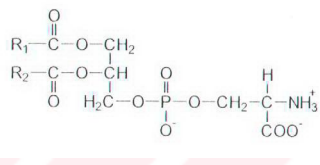
Fosfatidat



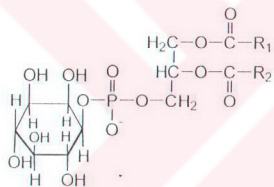
Fosfatidilkolin (PC)



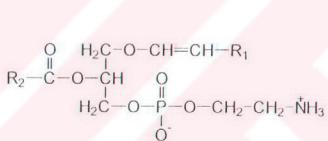
Fosfatidiletanolamin (PE)



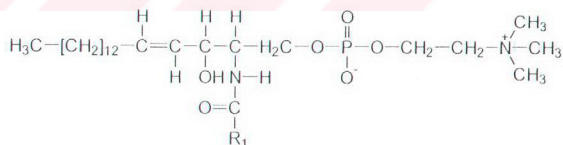
Fosfatidilserin (PS)



Fosfatidilinositol (PI)



Plazmalojen (Fosfatidil etanolamin)



Sfingomiyelin (SM)

Şekil 2.3' Bazı fosfolipidlerin molekül formülleri. R₁, R₂: yağ asidi birimleri.

En çok plazma membranlarında bulunur. Vücutun kolin deposunun büyük bir kısmını oluşturur (Murray, 1993). Kolin, sinir iletimi ve labil metil gruplarının depoları olarak önem gösterir. Dipalmitoil fosfatidilkolin, çok etkili bir yüzey aktif madde olup, akciğerlerin iç yüzeylerinin, yüzey gerilimine bağlı olarak yapışmasını önler. Prematüre bebeklerdeki noksanlığı "Respiratuvar Distress Sendromu" na neden olur. Hayvansal orijinli fosfatidilkolin'in 1. pozisyonunda doymuş yağ asitleri fazla olmasına karşılık 2. pozisyonunda birden fazla çift bağa sahip 18, 20 ve 22 karbonlu yağ asitleri yer alır. İlaçlarda da hiperkolesterolemi, damar sertliği, psoriasis vb. hastalıkların tedavisinde lipotropik etki gösterir. Keza lesitin, yağda çözünen vitaminlerin vücutta daha iyi kullanılmasını sağlar. Ayrıca, fosfatidilkolinin fosforu kemiğin oluşumunda yararlıdır. Fosfatidilkolinlerde doymamış yağ asitlerinin varlığı fizyolojik olarak önemlidir. Enzimatik olarak parçalanması sonucu meydana gelen lizofosfatidilkolin şiddetli hemolitik olup eritrositleri parçalar. Nieman-Pick hastalığında fosfatidilkolin, fosfatidiletanolamin ve sfingomiyelinin beyin, karaciğer, dalak, kemik iliği ve lenf nodülleri gibi çeşitli dokularda fazla miktarda depolandığı tespit edilmiştir (Aras ve Ersen, 1975).

b. Fosfatidiletanolamin (Sefalin)

Fosfatidattaki fosforik asidin -OH grubuna bir amino alkol olan etanolamin bağlanmıştır. Organizmada serin amino asidinin dekarboksilasyonu sonucu sentezlenir. Biyolojik membranlardaki miktarı fosfatidilkolinden sonra gelir. Hayvan ve bitki hücrelerindeki miktarı fazladır. Bakterilerde de en sık rastlanan başlıca fosfogliseriddir. Hayvan dokularında çoklu doymamış yağ asit içeriği genellikle fosfatidilkolinden fazladır. Mikroorganizmalarda N-metil ve N,N-dimetil türevleri yaygındır. Bitki dokularında az miktarda N-açilfosfatidiletanolamin bulunur. Bu lipid türüne sığır beyinde de rastlanmıştır. Yağ asitleri bileşimine göre türevleri vardır. Biyolojik fonksiyonları da fosfatidilkoline benzerlik gösterir (Strayer, 1988; Yenson, 1978).

c. Fosfatidilserin

Serin amino asidi içerir. L-serinin -OH grubunun fosfatidatla esterleşmesi sonucu meydana gelir. Zayıf asidik karakterdedir. Baş kısmı bir α -amino ve iki asidik grup bulundurduğundan pH 7 civarında net elektrik yükü (-1) dir. Beyin ve eritrosit membran lipidlerinin başlıca bileşenidir. Bazı hayvan, bitki ve bakterilerde az miktarda bulunur. Organizmada fosfatidilkolin, fosfatidiletanolamin ve fosfatidilserin birbirine dönüşmektedir.

2.1.1.1.2. Sfingomiyelinler

Sfingomiyelinin omurgasını, sfingozin oluşturur. Bu özelliği ile diğer fosfolipidlerden farklılık gösterir. Sfingozin uzun ve doymamış bir hidrokarbon zinciri içeren bir amino alkoldür. Sfingozinin amino grubu bir yağ asidi ile amid bağı oluştururken, primer -OH grubu da fosforil kolin veya fosforil etanolamin ile esterleşmiştir. Sfingomiyelinin yapısında yer alan yağ asidi genellikle 24 karbonlu olan lignoserik asit olmakla beraber palmitik ve stearik asit de olabilir. Sfingomiyelinler memelilerin birçok hücre membranlarında bulunur. En çok sinir sistemi miyelin kılıfında ve eritrosit membranlarında yer alır. Ayrıca bitkilerde de çok karışık şekillerine rastlanmıştır. Nieman-Pick hastalığında; karaciğer, dalak, akciğer ve lenf bezleri hücrelerinde sfingomiyelin miktarı artmaktadır. Fosfolipid ve sfingolipidler, multiple skleroz ve lipidozlarla da ilgilidir (Murray, 1993; Aktaş, 1996).

2 . 1 . 2. Membran Proteinleri

Membran proteinleri; membranların spesifik fonksiyonlarını yerine getirmelerinde etkili bileşiklerdir. Proteinler membranların dinamik fonksiyonlarından sorumludur. Transport, haberleşme ve enerji dönüşümü gibi görevler membran proteinleri tarafından yürütülür. Membranların tür ve fonksiyonlarına göre membran proteinlerinin miktarı, çeşitleri, dağılımı, membranda yer alışları ve birbirleriyle bağlantı kurlmaları farklılık gösterir (Noyan, 1993). Mitokondri ve kloroplastların iç membranlarında protein miktarı %75, plazma membranlarında %50, bazı sinir liflerinin etrafında yalıtkanlık vazifesi gören miyelin kılıfında ise protein miktarı %18 gibi oldukça düşük düzeydedir. Plazma membranlarındaki protein çeşitleri de farklı sayıdadır. Genel olarak 20 - 30 farklı sayıda protein olmakla beraber, bazı özelleşmiş membranlarda bu sayı 1 - 2 arasındadır. Mesela, retina hücre membranında sadece rodopsin bulunur. Eritrosit membranlarında ise 20 çeşit protein vardır (Karol, 1990).

Membran proteinleri, periferik ve integral proteinler olmak üzere iki gruba ayrılır. Periferik proteinler, bimoleküler tabakanın dış ve iç yüzeylerine tutunmuş halde bulunurlar. Integral proteinler ise lipit tabaka içine gömülmüş durumdadır "Bkz Resim 2.1" Periferik proteinler integral proteinlere non-kovalent etkileşmelerle bağlanmış olup, ortamın iyonik gücünü değiştirmek suretiyle membrandan kolayca ayrılabilirler. İntegral proteinler ise lipidlerin karbohidrat zincirleri ile kuvvetli etkileşmiş haldedir. İntegral proteinlerin bimoleküler tabakanın içine gömülü kısmı büyük ölçüde apolardır.

2. 1. 3. Membranların Akışkan – Mozaik Modeli

Membran yapısının temeli; iki tabakalı bir lipid ile bunların arasında yer alan proteinlerden meydana gelmektedir. Membranlar statik ve katı bir yapıda olmayıp, membran bileşenleri membran düzleminde sürekli hareket halindedir. Membran bileşenlerinin bu özelliklerinden yararlanan Jonathan Singer ve Gert Nikolson'un 1972 de yaptıkları çalışmaları ile biyolojik membranların yapısını "Akışkan – Mozaik" modeli ile açıklamışlardır. Bu modelin özellikleri şunlardır (Geoffrey, 1997).

1. Polar yapıdaki fosfolipid ve glikolipidler membranda ikili tabaka meydana getirirler. Polar hidrofilik baş kısımları membranın dış yüzeyine dönüktür. Doymuş ve doymamış yağ asitlerinden meydana gelen hidrofobik kuyruk kısımları ise membranın iç kısmına dönüktür.

2. Membran lipidlerinin çok az bir kısmı membran proteinleri ile etkileşir ve onların aktivitesi için gereklidir.

3. Membran proteinleri membran düzleminde difüze olurlar.

Biyolojik membranların dinamik yapı ve fonksiyonları membran akışkanlığı ile yakından ilgilidir. Membranın ana yapısını iki tabakalı polar lipidler oluşturur. Proteinler ise lipid ikili tabakanın içinde adeta çakıl taşları gibi yerleşmişlerdir (Bkz.Resim 2. 1) Bimoleküler tabakayı oluşturan lipidler akışkan özelliğe sahiptir. Bu akışkanlıkta yağ asidi içeriğinin, cinsinin, kolesterol/fosfolipit (COL/PL) ve sfingomiyelin/fosfatidilkolin (SM/PC) oranlarının önemli rolü vardır. Bu oranlardaki artış lipid akışkanlığını azaltmaktadır. Fosfolipit yapısında yer alan yağ asitlerinin doymamışlığının artması lipid akışkanlığını artırmaktadır. Memeli hücre membran lipidlerinde, genel olarak doymamış yağ asitleri hakimdir. Memelilerdeki doymamış yağ asitleri; palmitoleat, oleat, linoleat veya linolenat'tan türetilir (Onat, 1996). Bu yağ asitleri normal vücut sıcaklığında akıcı haldedirler. Bimoleküler tabakanın arasına gömülmüş olan protein molekülleri lipid hareketini bir dereceye kadar kısıtlar. Membran lipid ve protein molekülleri membran düzleminde lateral olarak difüze olabilirler. Bir taraftan diğer tarafa dönme

serbestisi yoktur. Proteinlerin hareket hızları membranların fonksiyonlarına bağlı olarak değişmektedir (Strayer, 1988).

Biyolojik membranların akışkanlığını etkileyen iki önemli faktör vardır. Bunlardan birisi membrandaki yağ asitlerinin doymuşluk derecesi ve karbon zinciri uzunlukları, ikincisi ise kolesteroldür. Kolesterol miktarına bağlı olarak kolesterol/fosfolipit oranı da membran akışkanlığında çok önemli role sahiptir. Membranların akışkanlığı; membran tipi, alınan diyet, çevre faktörleri ile ilgili olarak değişiklik gösterir (Murray, 1993).

Membranların akışkanlığı lipit bileşenlerine bağlıdır. Biyolojik membranlarda lipid fazı geçişi olmaktadır (Murray, 1993; Popp-Snijders et al., 1986). Lipidlerin yapısında bulunan yağ asit zincirleri membrana esnek bir yapı kazandırmak amacıyla ileri derecede bir düzenlenme ve sıralanmaya tabi tutulurlar. Isı arttıkça yan zincirler daha ziyade sıvıyı andıran veya akışkan bir yapılanmayı benimseyerek düzenli halden düzensizliğe doğru bir geçişe uğrarlar. Uzun zincirli ve doymuş yağ asitlerinin geçiş ısısı (yapının düzenliden düzensizliğe doğru geçişe uğradığı ısı) daha yüksektir. Cis yağ asitleri akışkanlığı artırıcı özellik gösterir. Membran fosfolipidlerinde genellikle, en az bir cis çift bağı olan, en az bir tane doymamış yağ asidi vardır. Kolesterol, akışkanlığın ara fazlarını oluşturarak yağ asitlerinin birbiri ile temasını önler ve membran akışkanlığını sabit tutar. Yüksek kolesterol/fosfolipit oranlarında geçiş ısıları tamamen ortadan kalkar (Murray, 1993; Tong et al., 1994).

2. 2. Eritrositlerin Yapısı ve Fonksiyonları

Kan, ekstraselüler bir sıvı ve bu sıvı içerisinde özelleşmiş hücrelerden meydana gelmektedir. Ergin bir insanda hücreler arası sıvının 1/3 üni kan teşkil eder. Kanın % 55'i plazma, % 45'i de hücrelerden oluşmuştur. Kan hücreleri eritrositler, lökositler ve trombositlerdir. Plazma ve hücrelerin özgül ağırlıkları farklıdır. Bu özelliklerinden yararlanılarak kan hücreleri ve plazması santrifügasyon ile birbirinden kolayca ayırılabilir. Santrifüj sonucunda eritrositler en altta kalın bir tabaka oluşturur.

1mm³ kanda 4,5 - 5,5 milyon eritrosit bulunur. Eritrositler fetusta ilk olarak sacculus vitellinustaki kan adacıklarında, fetal hayatın 3. - 5. aylarında karaciğer ve dalakta, 5. aydan sonra kırmızı kemik iliğinde yapılır. Görünümleri bikonkav disk şeklinde ve çekirdeksiz olup kolayca şekil değiştirebilme özelliğine sahiptirler. Bu özellikleri sayesinde en ince kılcal damarlardan kolayca geçebilirler. Disk biçimindeki bu yapı sayesinde eritrosit membranı fazla gerilmeden şişebilir. Böylece geniş bir yüzey alanı oluşturarak O₂ ve CO₂ taşıma kapasitesini artırır. Eritrositler O₂, CO₂, Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, Na⁺, K⁺, CO₃⁻, Cl⁻ gibi iyonlar ile hemoglobin, organik ve inorganik fosfat gibi maddelerin taşınmasında önemli rol oynar. Ayrıca piridin nükleotidleri, glutatyon ve birçok enzimleri de bulundurur (Noyan, 1986; Gözükara, 1993).

Organizmada eritrosit yapımı hipoksi tarafından uyarılır. Hipoksi böbreklerden eritropoetin hormonunun salgılanmasına neden olur. Eritropoetin de kemik iliğini eritrosit yapımı yönünde uyarır. Eritrositlerin birçok hastalıklarda, değişik şekil ve büyüklükte oldukları, ayrıca sayı bakımından da artış veya azalış gösterdikleri bilinmektedir. Bu durum birçok hastalıkların tanısında önemli bir kriterdir (Gezer,1993).

2. 2. 1. Eritrositlerin Membran Yapısı

Eritrosit membranlarında kimyasal olarak birbirinden farklı 100 -150 lipid, 20 kadar da protein bulunur. Spesifik lipid ve protein molekülleri birbirine membranın ana iskeletini oluşturacak şekilde bağlanmışlardır (Bkz. Resim 2.1).

İnsan eritrosit membranlarında bulunan başlıca lipidler; fosfolipidler ve kolesteroldür. Eser miktarda da glikolipid bulunur. Fosfolipidler majör ve minör olmak üzere iki gruptur. Başlıca majör fosfolipidler; fosfatidilkolin, fosfatidiletanolamin, sfingomiyelin ve fosfatidilserindir. Minör fosfolipidler ise eser miktardadır. Bunlar lizofosfatidilkolin, fosfatidilinositol, fosfatidik asit ve poligliserofosfolipidlerdir (Strayer, 1988, Van Deenen,1974; Fellmann et al., 1993). Eritrosit membranları 10¹⁰ hücre başına; 4.80 - 5.07 mg total lipid; 2.73 - 3.16 mg fosfolipid, 1.13 - 1.34 mg kolesterol

içerir (Van Deenen *et al.*, 1974). Bunların % cinsinden miktarları ise; fosfolisidler % 58, kolesterol % 25, sfingolipidler % 18 kadardır (Datla, 1987; Geoffrey, 1997).

Değişik araştırmacılara göre $\text{mg}/10^{10}$ hücre cinsinden lipid miktarları tablo 2.2'de gösterilmiştir (Van Deenen, 1974). Fosfolipid miktarı ve çeşidi türden türe değişmektedir. İnsan eritrosit membranlarında %28.3 - 29.5 fosfatidilkolin, %26.7 - 31.5 fosfatidiletanolamin, %24.1 - 26.9 sfingomyelin, %12.7 - 14.8 fosfatidilserin, %0,6 fosfatidilinositol, %1 - 1.9 fosfatidat, %0,6 - 2.2 poligliserofosfolipid, %1 - 1.4 oranında da lizofosfatidilkolin bulunur. Fosfatidilkolin, Fosfatidiletanolamin ve Fosfatidilserin eritrosit membran lipidlerinin %50 sini oluştururken, Sfingomyelin %23, kolesterol ise %18'ini oluşturur (Muray, 1993; Geoffrey, 1997).

Tablo 2. 2. Bazı Araştırmacılara göre eritrosit membranı lipid miktarları ($\text{mg}/10^{10}$ hücre)

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

İnsan eritrosit membran fosfolipid fraksiyonlarının dağılımı ise değişik araştırmacılara göre Tablo 2.3'te verilmiştir (Yılmaz, 1995).

Tablo 2.3. İnsan Eritrosit Membran Fosfolipid Fraksiyonlarının Dağılımı

	Philips ve Dodge	Neerhout	Rouser et al.	Broekhyuse
Sfingomiyelin	25.5	24.1	26.9	25.8
Fosfatidilkolin	29.2	29.5	28.9	28.3
Fosfatidiletanolamin	27.7	31.5	27.2	26.7
Fosfatidilserin	14.8	13.1	13.0	12.7
Fosfatidilinositol	0,6	-	-	-
Fosfatidat	-	1.0	1.3	1.9
Poligliserofosfolipid	1.1	-	2.2	0,6
Lizofostidilkolin	1.0	1.2	1.1	1.4

Diyetinde margarin kullanan ve kullanmayan kişilerin eritrosit membran fosfolipid değerleri üzerine yapılmış olan bir çalışmada elde edilen değerler Tablo 2.4'te verilmiştir. (Aktaş, 1995)

Tablo 2.4. Diyetinde Margarin Kullanan ve Kullanmayan Kişilerin Eritrosit Membran Fosfolipid Değerleri (% olarak)

	N	Margarin kullanmayanlar	Margarin kullananlar
Fosfotidilkolin (%)	30	32.95±2.78	31.00±1.57
Fosfatidiletanolamin (%)	30	28.23±1.96	25.57±1.60
Fosfatidilserin (%)	30	14.41±0,97	16.23±1.57
Sifingomiyelin (%)	30	22.84±2.00	25.28±1.09
Sif.miyelin/Fosfa.kolin	30	0,69±0,02	0,81±0,05
Fosfa.etanol/Fosfa.serin	30	1.96±0,14	1.58±0,11
Fosfa.kolin/Fosfa.etanol	30	1.17±0,08	1.21±0,04
Sif.miyelin/Fosfa.serin	30	1.59±0,20	1.57±0,12
Fosfolipid(mg/10 ¹⁰ hücre)	30	3.13±0,12	2.93±0,13
Kolesterol(mg/10 ¹⁰ hücre)	30	1.29±0,09	1.17±0,10
Kolesterol/Fosfolipid	30	0,41±0,03	0,39±0,04

İnsan eritrosit membranlarının yağ asidi içeriği fosfolipid çeşitlerine göre farklılık göstermektedir. İnsan eritrositlerinde farklı 35 yağ asidi bulunmuştur. Yaklaşık olarak %18 doymuş, %42 tekli doymamış ve %40 da çoklu doymamış yağ asidi vardır. Fosfotidilkolinde palmitat ve linoleat çok fazla yer alırken; 23:0, 24:0, 22:4, 24:1, 22:5 yağ asitleri az miktarda bulunur. Fosfatidilserinde 18:0, 20:4 fazla miktarda bulunurken; 23:0, 24:0, 24:1 ve 20:0 yağ asitleri az miktarda yer alır. Fosfatidiletanolaminde Oleat ve Araşidonat daha fazla orandadır. Sifingomiyelinde ise 20 karbon atomundan fazla karbona sahip yağ asitleri %50'den fazladır. Bunların içinde 24:0 ve 24:1 yağ asidi en fazla bulunanlardır.

Eritrosit membranları hem lipid, hem de protein bileşimi bakımından asimetrik yapıya sahiptir. Ekstraselüler tabakada yüklü gruplar daha fazladır. Glikolipid ve glikoproteinlerin karbohidrat birimleri membranın dış yüzeyindedir. Fosfatidilkolin ve sfingomiyelin dış yüzeyde, fosfatidiletanolamin ve fosfatidilserin iç tarafta bulunur. Kolesterol, her iki tabakada bulunmakla beraber dış yüzeyde daha fazladır “Bkz Resim 2. 2”. Eritrosit membranlarında yer alan $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPaz}$ sistemi tek yönlü çalışarak Na^+ u hücre dışına atarken K^+ u içeri alır (Gözükara, 1994; Strayer, 1988; Geoffrey, 1997).

Eritrosit membran proteinlerinin çoğu glikoprotein yapısındadır. Spektrin, aktin, ankirin ve gliseraldehit-3-fosfodehidrogenaz başlıca periferel proteinlerdir. Integral proteinlerden anyon kanalı ve glikoforin bulunur.

Hücre membranlarının lipid akışkanlığı yağ asidi kompozisyonu farklı olan diyetlerle değişebilir. Membran akışkanlığında SM / PC ve KOL / PL oranları da önemli rol oynamaktadır. SM / PC ve KOL / PL oranlarındaki artış membran lipid akışkanlığını azaltmaktadır (Hagve, 1993; Popp-Snijders, 1984; Berlin, 1989).

Sorensen (1990) yapmış olduğu çalışmada plazma protein, total fosfolipit, total kolesterol ve eritrosit membran fosfolipit fraksiyonlarının ısı ve mevsim değişiminden etkilenmediğini bildirmiştir.

İnsan ve hayvanlardaki plazma, eritrosit ve platelet fosfolipidlerinin alınan diyetle ilgili olarak değişebileceği belirtilmiştir (Dougherty, 1987).

De Lucchi ve arkadaşları (1988) yaptıkları çalışmada eritrosit membranlarının kolesterol, fosfolipid ve fosfolipidlere bağlı yağ asitlerinin diyetle modifiye edilebileceğini göstermişlerdir.

Corrochen ve arkadaşları (1994) değişik diyet uyguladıkları araştırmalarında; margarin kullanan şahıslarda KOL/PL oranını $0,41\pm 0,03$ ve SM/PC oranını $0,81\pm 0,05$, margarin kullanmayan kişilerde KOL/PL oranını $0,39\pm 0,04$, SM/PC oranını $0,69\pm 0,02$, zeytinyağı kullananlarda ise KOL/PL oranını $0,85\pm 0,05$ olarak bulmuşlardır.

Aktaş (1996) yapmış olduğu çalışmada, margarin kullanan insanlarda total kolesterolü $1,29\pm 0,09$, total fosfolipidi $3,13\pm 0,12$, KOL/PL oranını $0,41\pm 0,03$, fosfolipit

fraksiyonları değerlerini ise (% olarak) PC $31,00 \pm 1,57$, PE $25,57 \pm 1,60$, PS $16,23 \pm 1,57$, SM $25,28 \pm 1,09$ olarak, margarin kullanmayan insanlarda ise total kolesterolü $1,18 \pm 0,05$, total fosfolipidi $2,93 \pm 0,13$, KOL/PL oranını $0,40 \pm 0,04$ olarak, fosfolipit fraksiyonlarını ise; PC $32,95 \pm 2,78$, PE $28,23 \pm 1,96$, PS $14,41 \pm 0,97$, SM $22,84 \pm 2,00$ şeklinde bildirmiştir.

Dougherty et al (1987) diyet lipid kompozisyonunun plazma, eritrosit ve platelet lipidlerini etkilediğini göstermişlerdir (Dougherty ,1987).

Owen ve Mc. Intyre (1978) membranların fosfolipid seviyelerindeki değişimlere eritrositlerin özelliklerinin de yol açabileceğini ifade etmişlerdir .

Pagnan ve arkadaşları (1988) üç hafta süre ile zeytinyağınca zengin bir diyet uygulayarak eritrosit membranlarının lipid profilini etkilediğini göstermişlerdir.

Berlin ve arkadaşları (1989) yaptıkları çalışmada alınan diyetin eritrosit membran lipidlerinde değişiklik meydana getirdiğini tespit etmişlerdir.

2.3. Tütün

Kökeni Amerika Kitası olup sıcak ve ılıman bölgelerde yetişen keyif verici bir kültür bitkisidir. Tütünün Amerika'dan Avrupa ve Asya'ya yayılışı 16. Yüzyılın ortalarında olmuştur. Tütün, ülkemize ise 1601-1605 yıllarında girmiştir (Anonim, 1988).

Tütün Tubiflorales takımının Solanaceae familyasının *Nicotiana* cinsine mensuptur. *Nicotiana* cinsine dahil 75 kadar tür bulunmaktadır. Yapılan sitogenetik çalışmalar bilinen türlerin çoğunun alt tür olduğunu ortaya koymuştur. Bu türlerden sadece *N. tabacum* ve *N. rustica* türleri sigara, puro, pipo ve diğer tütün mamullerinin yapımında yapraklarından faydalanılan kültür formlarıdır. *Nicotiana tabacum* türüne ait çeşitler genelde sigara, puro ve pipo tütünlerinin hammaddesini oluştururken, *Nicotiana rustica* türü ise; pipo, çiğneme ve enfiye tütünü olarak kullanılmaktadır (Yılmaz, 1997, Anonim, 1988).

Tütünün genel olarak değerlendirilen kısmı yaprağıdır. Tütün yaprağının yakılması ile elde edilen dumanı kullanılır. Bununla beraber yaprağın çiğnenmesi veya öğütülerek elde edilen tozunun burundan çekilmesi şeklinde de kullanılmaktadır.

Tütün yapraklarının öz suyundan *Folia nicotiana* denilen bir madde elde edilir. Bu madde veterinerlikte parazitleri öldürmek için, tıpta ise kalp hastalıkları, kulak uğultusu ve baş dönmesi gibi hastalıkların giderilmesine yarayan ilaçların yapımında kullanılır. Tütünden elde edilen Caramine maddesi solunum ve dolaşım bozukluklarını giderici ilaçların yapımında, Phytin maddesi ise verem hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır (Yılmaz,1997, Anonim, 1995).

Tütün yaprağının içeriğini teşkil eden kimyasal maddeler organik ve inorganik olmak üzere iki kısımdan ibarettir. Organik maddeler işlenmiş kuru yaprağın yaklaşık % 75-90'ını kapsar. Bunlar da azotlu ve azotsuz olmak üzere iki kısımdır. Azotlu olanlar alkaloitler, aminoasitler, amonyak, albumin ve nitratlı bileşiklerdir. Bu bileşikler yaprak kalitesini olumsuz yönde etkileyen ve kaliteyi düşüren bileşiklerdir. Azotsuz bileşikler ise;

karbonhidratlar, glikozitler, polifenoller, pektinler, organik asitler ve aromatik maddelerdir. Bunlar kaliteyi olumlu yönde etkilemektedir.

İnorganik bileşikler ise; kuru maddenin % 10-25'ini oluşturur. İnorganik maddelerin çoğu yanma sonucu oluşan külde kalır. Tütünün kül oranı % 8-20 arasında değişir. Bunlar içim esnasında tütünün tat ve koku özelliğine belirgin bir etkide bulunmazlar. Ancak tütünün yanma şekli ve hızı üzerinde etkileri bulunmaktadır. Tütün külünde en fazla Ca^{2+} , K^+ ve Mg^{2+} iyonları bulunur. Diğer inorganik maddeler ise Na^+ , Fe, P, S ve Cl'dur. Bu inorganik maddeler tütünün kurutulması, depolanması ve fermantasyonu esnasında miktar olarak değişime uğramazlar. Ancak diğer inorganik maddelerde meydana gelen kayıplardan dolayı oransal olarak bir yükselme gösterirler (Koç, 1996, Er, 1994).

Tütünde birçok zararlı madde bulunmaktadır. Bunları şu şekilde sıralayabiliriz: Nikotin, Dithiocarbamate(CS_2), BHC ve BHC izomerleri, Endosülfan, Endrin, Carbary, Lindan, Toxaphen, Clorobenzen, 9-metilenfloreol, 1-clore-2,2-(p-chlorophenil), Metilfloran, Aseton, Hidrojen siyanür, Amonyak, Üretan, Metanol, Toluen, Karbonmonoksit, Piren, Arsenik, Fenol, Bütan, Dibenzakridin, Kadmiyum, Naftalin, Polonyum-210, DDT, DDE, DDC, DDD, DTC, DTE' dir. Nikotin hariç diğerleri, tütünlerin üretim, depolama ve fermentasyon devrelerinde hastalık ve diğer zararlılardan etkilenmemesi için tarımsal mücadelede kullanılan kimyasal maddelerdir. Tarımsal mücadelede kullanılan bu ilaçların kalıntıları sigaraya geçmekte ve bunlarda insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir (Domanski, 1974, Güvener, 1976).

Nikotin, tütün yapraklarına keyif verici özellik kazandıran azotlu organik bileşiklerden biridir. Bitkinin köklerinde sentezlenip diğer kısımlara taşınan zehirli bir alkaloiddir. Nikotin ilk defa 1828 yılında izole edilmiştir. Saf nikotin renksiz ve kokusuz bir sıvıdır. Formülü $C_{10}H_{14}N_2$ dir. Tütünde nikotinden başka nikotiana grubundan olan Narnikotin $C_9H_{12}N_2$, Nikotein $C_{10}H_{12}N_2$, Nikotellin $C_{10}H_{15}N_2$ ve izonikotin $C_8H_{11}N_2$ alkaloidleri de bulunmaktadır. Nikotin ve saydığımız diğer alkaloidler tütün dumanının zehirli olmasına sebep olmaktadır. Nikotin oranı belli bir düzeyi aştığında içen kişinin bünyesinde toksik etki meydana getirmektedir. Eğer bir insanın bünyesine 3-4 mg gibi düşük dozlarda nikotin verilirse 40 dakika içerisinde aşırı bir zafiyet ve yorgunluk, çehrede

solgunluk, vücutta üşüme ve dermansızlık, mide bulantısı ve bağırsakların büzülmesi gibi olumsuz durumlar ortaya çıkmaktadır. Tütünün içerdiği nikotin miktarı % 0,008-3 arasında değişmektedir. Genel olarak ince dokulu ve narin tütünler kaba yapılı tütünlere göre daha az nikotin içermektedir. Nikotin, kurutulmuş yapraklarda tütünün çeşidine bağlı olarak serbest veya bağlı halde bulunmaktadır. Duman pH'sı alkali olan tütünlere nikotin serbest halde asidik karakterli tütünlere ise; bağlı tuzlar halinde bulunmaktadır. Serbest haldeki nikotin ağızdan kolayca absorbe edildiğinden içilen tütündeki serbest nikotin miktarına bağlı olarak kandaki nikotin miktarı da artmaktadır. Serbest nikotin oranı tütün dumanının pH'sı ile doğru bir ilişki içerisinde.

Sigaradaki nikotin vücutta bazı değişikliklere uğradıktan sonra idrarla kotinin şeklinde atılır. İstanbul'da ilkokul öğrencileri üzerinde yapılan bir araştırmada ; şu sonuçlar elde edilmiştir (Dağlı ve ark. 1992).

1. Evinde hiç sigara içilmeyen çocukların idrarlarındaki kotinin miktarı 237 ngr/ml.
2. Sadece babalarının sigara içtiği çocukların idrarlarındaki kotinin miktarı 400 ngr/ml.
3. Ane ve babanın her ikisinde sigara içtiği çocukların idrarlarındaki kotinin miktarı 484 ngr/ml.

Sigara içimi eritrosit ve lökosit sayılarını önemli düzeyde artırmaktadır. Bu artış kadınlarda daha yüksek orandadır. Sigara içenlerde Trigliserit (TG) ve Total kolesterol (T.COL) miktarları artar, HDL₁, HDL₂ ve HDL₃ kolesterol miktarları ise azalır. Bu durum atherosklerozis riskini artırmaktadır (Lars et al 1985).

Sigara içenlerin serum lipit peroksit seviyeleri içmeyenlere göre daha yüksektir. Buna karşılık serum antioksidan seviyeleri ise düşüktür. Bu durumun oksidatif strese neden olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca uyarılmış lipid peroksidasyonu Ca⁺⁺-ATP' az aktivitesini azaltmakta , membran rijitliğini artırmakta ve eritrositleri hemoliz etmektedir(Al Senaidy et al, 1997)

Sigara içimi ile yüksek miktarda serbest radikal alınmaktadır, buna karşın diyetle antioksidan vitaminlerin alınımının da artması gerekir. Ancak tam tersi olarak alınan vitaminler azalmaktadır (Bulton 1991).

Sigara içenlerde görülen hastalıkların hemen hepsi az oranda olmak üzere pasif içici kişilerde de görülmektedir. Sigaranın sebep olduğu hastalıklardan meydana gelen ölümlerin 1/ 100' ü pasif içicilerde de görülmektedir. Sigara içen bir erkek ile evlenen bir bayanın akciğer kanserine yakalanma riskinin %30 daha fazla olduğu kanıtlanmıştır. Aynı sonuç aksi durum için de geçerlidir (Özyazıcı, 1996).

Latha ve arkadaşları (1993), nikotin uyguladıkları fare'ler üzerinde yaptıkları çalışma sonucu serum total kolesterol fosfolipit ve trigliserit düzeylerini şu şekilde tespit etmişlerdir; Nikotin uygulanan farelerde serum kolesterol 83.34 ± 2.25 mg/dL., trigliserit $8.43 \pm 0,22$ mg/dL, fosfolipit 148.3 ± 3.48 mg/dL, kontrol grubunda ise serum kolesterol 62.5 ± 1.56 mg/dL, trigliserit $6.38 \pm 0,15$ mg/dL, fosfolipit 131.0 ± 3.27 mg/dL olarak bulunmuşlardır. Nikotin uygulanan farelerle kontrol grubu farelerin her üç parametre değerlerinde de önemli düzeyde ($p<0,01$) bir farklılık olduğunu bildirmişlerdir.

Craig ve arkadaşları (1989), sigaranın serum lipit ve lipoprotein düzeylerine etkisinin araştırılması konulu çalışmalarında yayımlanmış 54 çalışmanın sonucunu analiz ederek şu sonuçları çıkarmıştır; Sigara içenlerin total kolesterol $0,250 \pm 0,016$ µg/ml, totalfosfolipit $0,135 \pm 0,009$, trigliserit $0,232 \pm 0,029$, sigara içmeyenlerde ise total kolesterol $0,115 \pm 0,017$, totalfosfolipit $0,095 \pm 0,006$, trigliserit $0,217 \pm 0,027$ µg/ml'dir. Tüm analizler sonunda sigara içenlerin içmeyenlere göre çok daha yüksek serum kolesterol, trigliserit ve fosfolipit düzeylerine sahip olduklarını açıklamışlardır. Her üç parametre değerlerinde de içenlerle içmeyenler arasında önemli bir farklılık ($p<0,001$) olduğunu bildirmişlerdir.

Muscat et al(1991), sigara içen kadın ve erkekler üzerinde yapmış oldukları araştırmada; sigaranın serum kolesterol, trigliserit ve fosfolipit düzeylerini önemli ölçüde artırdığını ve içenlerle içmeyenlerin parametre değerleri arasında önemli bir farklılık olduğunu ($p<0,001$) açıklamışlardır .

3. MATERYAL VE METOT

3. 1. Materyal

Araştırma, Tokat Sigara Fabrikası'nda çalışan işçilerin kan örnekleri üzerinde yapılmıştır. İşçiler 20' şer kişilik iki grup olarak seçilmiştir. Birinci grup, sigara içen fabrika işçileri ; ikinci grup ise, sigara içmeyen fabrika işçileridir. Her iki grup da fiilen tütünle uğraşmakta olup; imalat ve ambalaj kısımlarında çalışmaktadır. Kontrol grubu olarak da fabrikayla ilgisi olmayan ve sigara içmeyen 20 örnek seçilmiştir.Örnekleme yapılan şahısların tümü erkek olup, yaş ortalamaları 30 ± 5 'dir. Bunların seçiminde ciddi bir hastalık taşımamalarına dikkat edilmiştir. Sigara içenler günde 1-1.5 paket içtiklerini ve en az 5 yıldan beri kullandıklarını ifade etmişlerdir.

Seçilen bu kişilerin en az 12 saat hiçbir şey yememeleri ve içmemeleri sağlandıktan sonra her birinden steril enjektörler kullanılarak 10'ar ml. kan alındı ve EDTA'lı tüplere aktarıldı.

3.2. Metod

3.2.1.Kan Hücrelerinin Ayrılması

Alınan kan örnekleri 1-2 saat içinde laboratuara getirilerek 2280 x g.'de 30 dakika santrifüj edilerek plazma ve kan hücrelerinin ayrılması sağlandı. Ayrılan plazma, fosfolipid ve kolesterol tayini için -20°C 'de muhafaza edildi. Kan hücreleri ise saf eritrosit paketinin hazırlanmasında kullanıldı.

3. 2. 2. Eritrosit Paketinin Hazırlanması

Plazması ayrılan kan hücrelerinden eritrosit paketi hazırlandı. Bu işlem şu şekilde yapıldı; Önce kan hücreleri 3 defa 1:5 oranında % 0,9'luk NaCl ile yıkandı. Böylece

lökosit ve trombositleri uzaklaştırılan kan hücrelerinden saf eritrosit paketi elde edilmiş oldu. Sonra bu eritrositlerin CBC (Ceel Blood Counter) laboratuvarında Hemalaser otomatik kan sayım cihazı ile eritrosit sayımı yapıldı.

3. 2. 3. Eritrosit Membran Total Lipid Ekstraktının Hazırlanması

Membran total lipid ekstraktını hazırlamak için, daha önceden yıkama çözeltisi ile temizlenen teflon kapaklı bir tüpe sırasıyla;

Cam tüpe pipetle 0.5 ml. saf eritrosit konularak üzerine 0.5 ml damıtık su katıldı ve Vorteks karıştırıcı ile hemoliz edilip 15 dk. bekletildi,

Hemolizata yavaşça ve çalkalayarak 5.5 ml İzopropil Alkol konuldu ve tüpün ağzı kapatılarak 1 saat inkübe edildi,

İnkübasyon süresince tüpler her 15 dakikada bir çalkalandı,

Koyu renkli kümecikler haline gelen hemolizata 3.5ml Kloroform konuldu ve tekrar 1 saat inkübasyona bırakıldı,

İnkübasyon sonucu 500 x g'de 10 dk. santrifüj edildi ve süpernatan kısmı ayrıldı,

Total lipidleri içeren süpernatan faz temiz bir cam tüpe alındı,

Ekstraksiyon sırasında meydana gelebilecek oksidasyonu önlemek için, eritrosit paketine 0,1g/l BHT (Bütillen Hidroksi Toluen) çözeltisinden 3 damla ilave edildi (Rose and Oklander, 1965; Pagnan et al., 1989).

3. 2. 4. Membran Lipidlerinin Total Fosfolipid ve Fosfolipid Fraksiyonlarına Ayrılması

Total lipid ekstraktından İnce Tabaka Kromatografisi (TLC) metodu ile total fosfolipid ve fosfolipid fraksiyonları ayırımı yapıldı. Bunun için, 20 cm x 20 cm. ebadında alüminyum tabaka hazır Silica Jel plakları kullanıldı. Bu plaklar, kullanılmadan hemen önce etüvde 110 °C 'de 1 saat bekletilerek nemi giderilmek suretiyle aktifleştirildi (Kates, 1991).

Kullanılmaya hazır hale getirilen bu plaklara, lipid ekstraktından 1 ml ekim yapıldı. Ekimin birinci aşamasında lipid ekstraktında bulunan lipid fraksiyonlarının fosfolipidlerden ayrılması sağlandı. İkinci aşamada ise fosfolipidler fraksiyonlarına ayrıldı. Fraksiyonlarına ayrılan bu fosfolipidler, fosfolipid standartlarıyla karşılaştırılarak fosfolipidlerin cinsleri belirlendi.

Total fosfolipid miktarının belirlenmesi için sırasıyla şu işlemler uygulandı:

Küçük özel bir cam tüpe lipid ekstraktından 1ml. koyarak azot gazı basıncı altında çözücüsü uçuruldu.

Üzerine 0,5 ml. Kloroform : metanol (2:1) karışımı ilave edilerek tekrar çözüldü.

Bu lipid çözeltisi Pasteur fırınında aktifleştirilen TLC plağına ekildi.

Plak bir müddet açıkta bekletilerek kurutuldu. Böylece ekim noktasındaki kloroform : metanol çözeltisi uçurulmuş oldu.

Sonra ekim yapılan plak ; içinde Petrol eteri : Dietil eter : glacial asetik asit (30:20:1) çözeltisi bulunan TLC yürütücü tankına yerleştirilerek tankın kapağı sıkı bir şekilde kapatıldı.

Bu çözelti, fosfolipidleri ekim noktasında durdurup lipidleri yürütmek suretiyle fosfolipidlerin lipidlerden ayrılmasını sağladı.

Bu işlem esnasında plak'ın ekim noktasının çözeltiye yakın olacak şekilde yürütücü tankına yerleştirilmesine özen gösterildi.

Kısa bir süre sonra, fosfolipidlerin dışındaki diğer lipidler plak'ın üst kısmına doğru yürürken fosfolipidler toplu halde ekim noktasında kaldı.

Sonra plak tanktan çıkarılarak açıkta bekletilmek suretiyle yürütücü çözeltisi uçuruldu.

Fosfolipid fraksiyonlarını ayrı ayrı elde etmek için de; aynı işlemler sırasıyla tekrar yapıldı. Lipidler fosfolipidlerden ayrıldıktan sonra plak 90° döndürülerek ve yine ekim noktası çözeltiliye yakın olacak şekilde içerisinde : kloroform : metanol : glisial asetik asit: su (25:15: 4: 2) çözeltilisi bulunan tanka yerleştirildi ve tankın kapağı sıkı bir şekilde kapatıldı. Yaklaşık iki saat sonra, fosfolipidler ekim noktasından yukarı doğru hareket ederek fraksiyonlarına göre birbirinden ayrıldı. Plaklar tanktan çıkarılarak kurutuldu. Fosfolipid standartları da aynı koşullarda ve aynı şekilde birbirlerinden ayrıldı.

Bu işlemlerden sonra plaklar UV lambası altında incelenmek suretiyle fosfolipidlerin ve fosfolipid fraksiyonlarının yerleri belirlendi. Fosfolipid standartlarının yürütüldüğü plakla karşılaştırılarak fosfolipidlerin cinsleri belirlendi ve yerleri işaretlendi. Daha sonra, bu fosfolipidler ve fosfolipid fraksiyonları tek tek plaktan kazınmak suretiyle temiz bir santrifüj tüpüne alındı.

Her bir tüpe 1 ml. kloroform : metanol (2:1) çözeltilisi ilave edilerek 2500 rpm.de 5dk. santrifüj edildi. Bu şekilde silika jel tüpün dibine çöktürülerek fosfolipidlerin ve fosfolipid fraksiyonlarının jelden ayrılması sağlandı. Fosfolipidleri ve Fosfolipid fraksiyonlarını içeren süpernatant kısmı temiz bir tüpe aktarıldı. Bu işlem 4 kez tekrarlanmak suretiyle fosfolipidlerin jelden tamamen ayrılması sağlandı. Bu şekilde elde edilen örnekler fosfor tayini için hazır hale getirilmiş oldu (Philips and Dodge,1967).

3. 2. 5. Fosfolipid Miktarlarının Belirlenmesi

İnce Tabaka Kromatografisi (TLC) ile elde edilen total fosfolipid ve her bir fosfolipid fraksiyonunun miktarı fosfor tayini yapılarak belirlendi.

Bu işlem, Barlet'in modifiye mikroprosedürüne göre yapıldı (Kates, 1991). Bunun için; %72'lik perklorik asit, %5'lik amonyum molibdat, amidol (2,4-Diaminofenol dihidrochloride) reaktifi ve standart fosfat çözeltisi kullanıldı. Amidol reaktifi, 0,5 gram amidolün 100 ml. %20'lik sodyum metabisülfid çözeltisinde çözülmesiyle hazırlandı. Standart fosfat çözeltisi ise şu şekilde yapıldı: Önce 1.097 gram KH_2PO_4 'ı 250 ml. saf suda çözerek stok çözelti elde edildi. Daha sonra bu stok çözelti saf su ile seyreltilerek ml'de 1 μg , 2 μg ve 4 μg fosfor bulunan standart çözeltiler elde edildi.

Total fosfor tayini için; temiz bir tüpe, ince tabaka kromatografisi ile elde edilen saf total fosfolipid ekstraktından 1 ml. alındı. Azot gazı basıncı altında kloroform - metanol çözücüsü buharlaştırılarak saf fosfolipid elde edildi. Tüpün içerisindeki bu fosfolipid üzerine 0,4 ml. perklorik asit ilave edildi. 4 dakika bekletildikten sonra tüpe 4.2 ml. damıtık su, 0,2 ml. amonyum molibdat ve 0,2 ml. amidol reaktifi katılarak Vorteksle iyice karıştırıldı. Tüpün ağzı kapatıldıktan sonra kaynar su banyosunda 7 dakika inkübasyona bırakıldı. Su banyosundan alınan tüp oda sıcaklığında 15 dakika soğutuldu. Sonra spektrofotometre cihazında köre karşı 830 nm'de absorbansı okundu. Aynı işlem fosfat standartları için de yapıldı. Örnekteki fosfor miktarı Beer formülü ile hesaplandı (Kates, 1991). Sonuçlar $\text{mg}/10^{10}$ hücre olarak verildi.

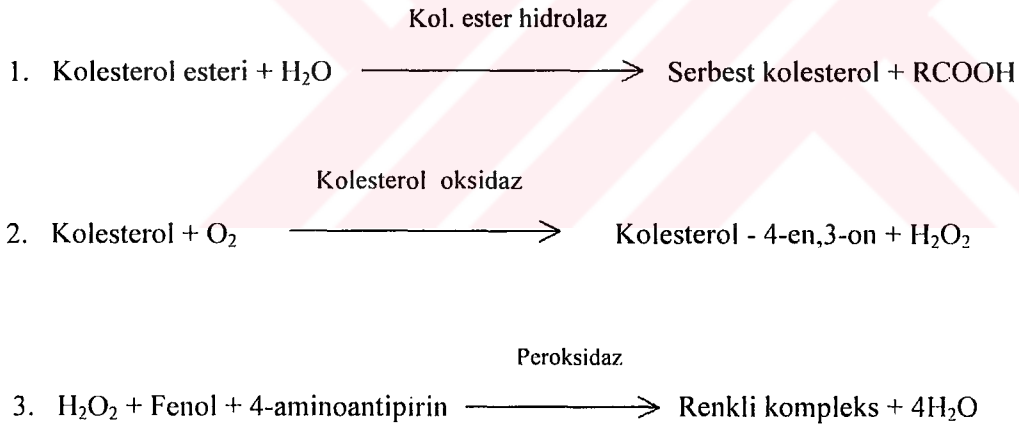
$$\mu\text{g P} = \frac{\text{Örnek absorbansı} \times \text{Standartın fosfat miktarı}}{\text{Standartın absorbansı}}$$

Her bir fosfolipid fraksiyonunun miktarı da yukarıda anlatıldığı gibi belirlendi. Sonuçlar (%) olarak hesaplandı.

3. 2. 6. Eritrosit Membran Kolesterol Tayini

Eritrosit membranındaki kolesterol miktarı enzimatik olarak belirlendi. Bu metod,kolesterol ester bağlarının enzimatik olarak hidroliz edilmesi esasına dayanır. Önce ester kolesterol, kolesterol ester hidrolaz enzimi ile serbest kolesterole çevrilir. Oluşan serbest kolesterol, kolesterol oksidaz enzimi ile kolesterol 4-en,3-on ve peroksit moleküllerine çevrilir. Daha sonra peroksit, peroksidaz katalizörlüğünde fenol ve 4-aminoantipirin ile tepkimeye girerek kırmızı renkli kompleks (kinonim) meydana gelir. Rengin şiddetiyle kolesterol konsantrasyonu doğru orantılıdır (Stein, 1986; Naioto, 1989; Ott, 1982).

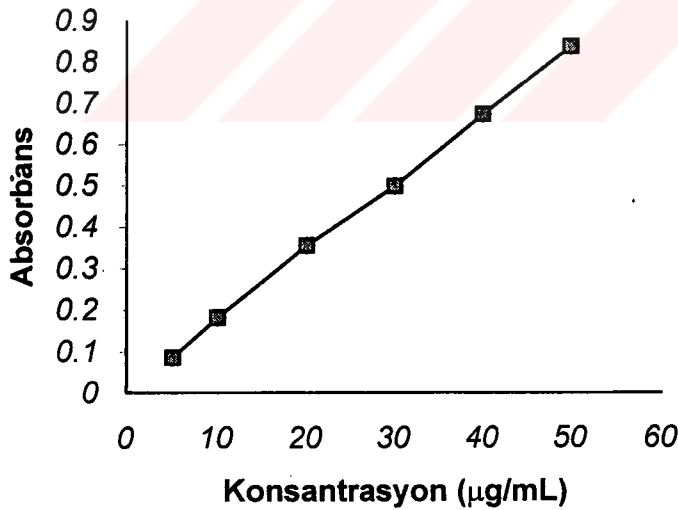
Reaksiyonlar ;



Tayin için, belirli bir hacim total lipid ekstraktı alınarak çözücü faz azot gazı altında uçuruldu. Tüpün dibinde kalan lipid numunesi üzerine 1 ml. kolesterol reaktifi ilave edildi ve 37°C'da su banyosunda 10 dakika inkübasyona bırakıldı. Inkübasyondan sonra 500nm dalga boyunda absorbansı okundu. Absorbansa karşılık gelen kolesterol konsantrasyonu, standart grafiğinin verdiği formül ($y = a + bx$) yardımıyla bulundu. Kolesterol miktarı mg cinsinden hesap edildi. Sonuç $\text{mg}/10^{10}$ hücre olarak verildi. Ayrıca kolesterolün total fosfolipide oranı da (COL / PL) hesaplandı.

Standart grafiği için; konsrasyonu 0,5 µg/ml olan kolesterol standardı kullanıldı. Bu stok çözeltilerden 10 µl., 20 µl., 40 µl., 60 µl., 80 µl. ve 100 µl. olarak herbirine toplam hacim 0,1 ml. olacak şekilde damıtık su ilave edildi. Bu şekilde, 5 µg, 10 µg, 20 µg, 30 µg, 40 µg ve 50 µg konsrasyonlarında kolesterol standartları hazırlandı. Her tüpe 1 ml. kolesterol reaktifi ilave edilerek 37°C’de su banyosunda 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra 500 nm dalga boyunda absorbansları okundu. Elde edilen absorbans değeri 0.0860, 0.1820, 0.3350, 0.4985, 0.6730, 0.8375’dir. Bu değeri konsrasyona karşı grafiğe geçirilerek “Kolesterol standart grafiği” elde edildi. Hazırlanan grafiğe göre numunenin 500 nm’de ölçülen absorbansına karşılık gelen kolesterol konsrasyonu hesaplanmıştır (Stein, 1986; Naioto, 1989; Ott, 1982).

Şekil 3.1’de ölçümler sonucu elde edilen kolesterol standart grafiğinin bir doğru haline getirilmiş şeklini göstermektedir. Bu doğrunun denklemi regrasyon analizi ile $y = 0.0967 + 0.0167 X$ olarak bulunmuştur. Ölçümle bulunan absorbans değeri bu denklemde yerine konularak kolesterol miktarları hesaplanmıştır.



Şekil 3.1 Ölçümler sonucu elde edilen kolesterol standart grafiğinin bir doğru haline getirilmiş şekli

3.3. İstatistiksel Metotlar

Yapılan çalışma sonuçlarının değerlendirilmesi "İstatistiksel olarak kantitatif bulguların incelenmesi" metodu ile yapılmıştır (Snecador, 1971). Sigara fabrikasında çalışan, sigara içen ve içmeyen işçiler ile kontrol grubundaki kişilerin kan örnekleri üzerinde yapılan araştırma sonucu elde edilen hücre membran lipid değerlerinin karşılaştırılmasında Varyans Analizi yapılmış ve gruplar arasındaki farklılığın belirlenmesinde Duncan Testi uygulanmıştır. Farklı lipid fraksiyonları arasındaki ilişkiler ise Korelasyon Analizi ile belirlenmiştir.



4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA

Sigara içen, içmeyen ve kontrol grubuna seçilen 20' şer kişiden alınan kan örneklerinin eritrosit membran total kolesterol, total fosfolipit ve fosfolipit fraksiyonları değerleri bulunmuştur. Bu değerlerin birbirleriyle karşılaştırılması Şekil 4.1 ve 4.2'de verilmiştir.

4.1. Eritrosit Membran Total Kolesterol ve Total Fosfolipit değerleri İle İlgili Sonuçlar

Sigara fabrikasında çalışan sigara içen, içmeyen ve kontrol grubu olarak seçilen kişilerden alınan kan örneklerinin eritrosit membran total kolesterol ve total fosfolipit değerleri Tablo 4.1'de, kolesterol / total fosfolipid ve sfingomyelin /fosfatidil kolin oranları ise Tablo 4.2'de verilmiştir. Buna göre sigara içen kişilerin eritrosit membran total kolestrol, total fosfolipit, kolesterol / total fosfolipid ve sfingomyelin /fosfatidil kolin değerleri sigara içmeyenlerden ve kontrol grubundan fazla bulundu.

Tablo 4.1. Sigara içen ve içmeyen İşçiler ile Kontrol Grubu Kişilerin Eritrosit Membran Total Kolesterol ve Total Fosfolipit Değerleri(mg/10¹⁰ hücre).

n	Sigara İçenler		Sigara İçmeyenler		Kontrol Grubu	
	T.Kol.	T.Fos.	T.Kol.	T.Fos.	T.Kol.	T.Fos.
1	1.32	3.35	1.25	3,05	1,10	2.92
2	1.38	3.46	1.06	2,90	1,20	3,20
3	1.51	3.38	1.22	3,21	1,13	3,08
4	1.39	3.45	1,36	3,38	1,05	2,85
5	1.44	4.05	1,33	3,18	1,18	2,76
6	1.49	3.65	1,08	3,35	1,22	3,21
7	1.38	3.22	1,31	3,20	1,35	3,18
8	1.66	3.65	1,27	3,15	1,22	3,65
9	1.49	2.94	1,34	3,36	1,17	3,70
10	1.58	3.61	1,17	2,85	1,05	3,05
11	1.36	3.40	1,13	2,92	1,23	2,95
12	1.52	3.25	1,30	3,05	1,30	3,15
13	1.57	3.62	1,10	3,30	1,12	2,80
14	1.46	3.27	1,05	2,98	1,02	2,72
15	1.55	3.18	1,12	3,06	1,11	3,02
16	1.47	4.10	1,14	3,17	1,25	2,98
17	1.34	3.00	1,20	2,95	1,07	3,45
18	1.62	3.20	1,18	3,14	1,13	3,25
19	1.66	3.05	1,12	3,19	1,21	2,94
20	1.40	3.30	1,14	3,32	1,15	3,10
X	1.48	3.41	1,19	3,14	1,16	3,09
SD	0,10	0,31	0,09	0,16	0,09	0,26

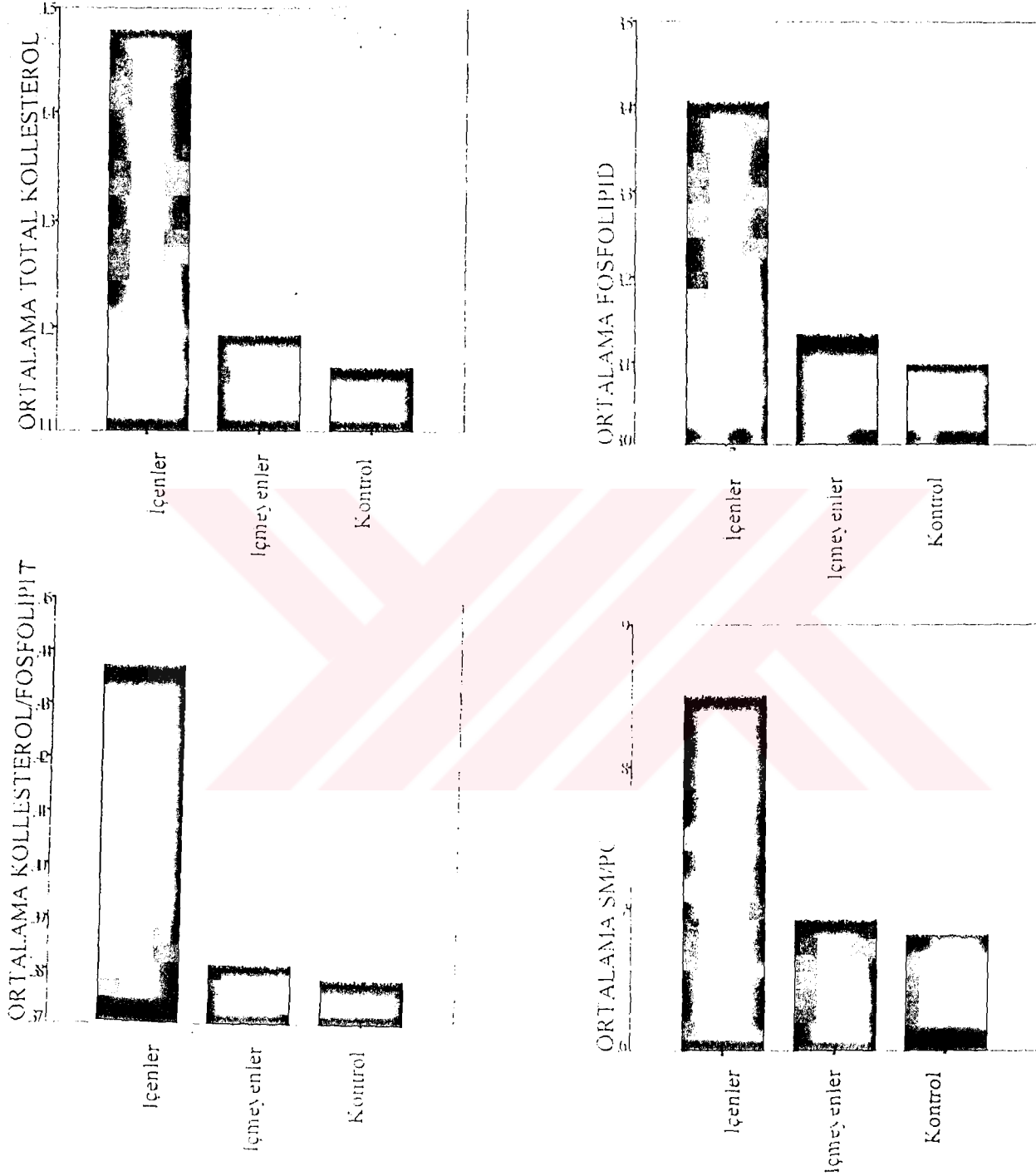
Tablo 4.2. Sigara İçen ve İçmeyen İşiler ile Kontrol Grubu Kişilerin COL/PL ve SM/PC değerleri

n	Sigara İçenler		Sigara İçmeyenler		Kontrol Grubu	
	COL/PL	SM/PC	COL/PL	SM/PC	COL/PL	SM/PC
1	0,394	0,857	0,410	0,698	0,377	0,701
2	0,399	0,895	0,366	0,761	0,375	0,623
3	0,447	0,882	0,380	0,612	0,367	0,615
4	0,403	0,728	0,402	0,784	0,368	0,656
5	0,356	0,841	0,418	0,611	0,428	0,717
6	0,408	0,875	0,322	0,738	0,380	0,694
7	0,429	0,827	0,409	0,719	0,425	0,574
8	0,455	0,792	0,403	0,688	0,334	0,712
9	0,507	0,857	0,399	0,749	0,316	0,741
10	0,438	0,904	0,411	0,592	0,344	0,576
11	0,400	0,757	0,387	0,659	0,417	0,654
12	0,468	0,876	0,426	0,605	0,413	0,646
13	0,434	0,831	0,333	0,728	0,400	0,711
14	0,446	0,882	0,352	0,665	0,375	0,685
15	0,487	0,799	0,366	0,689	0,368	0,761
16	0,359	0,838	0,360	0,651	0,419	0,739
17	0,447	0,898	0,407	0,703	0,329	0,686
18	0,506	0,910	0,376	0,770	0,348	0,736
19	0,544	0,898	0,351	0,783	0,412	0,749
20	0,424	0,878	0,343	0,651	0,371	0,652
X	0,438	0,850	0,380	0,690	0,380	0,680
SD	0,049	0,050	0,030	0,060	0,030	0,060

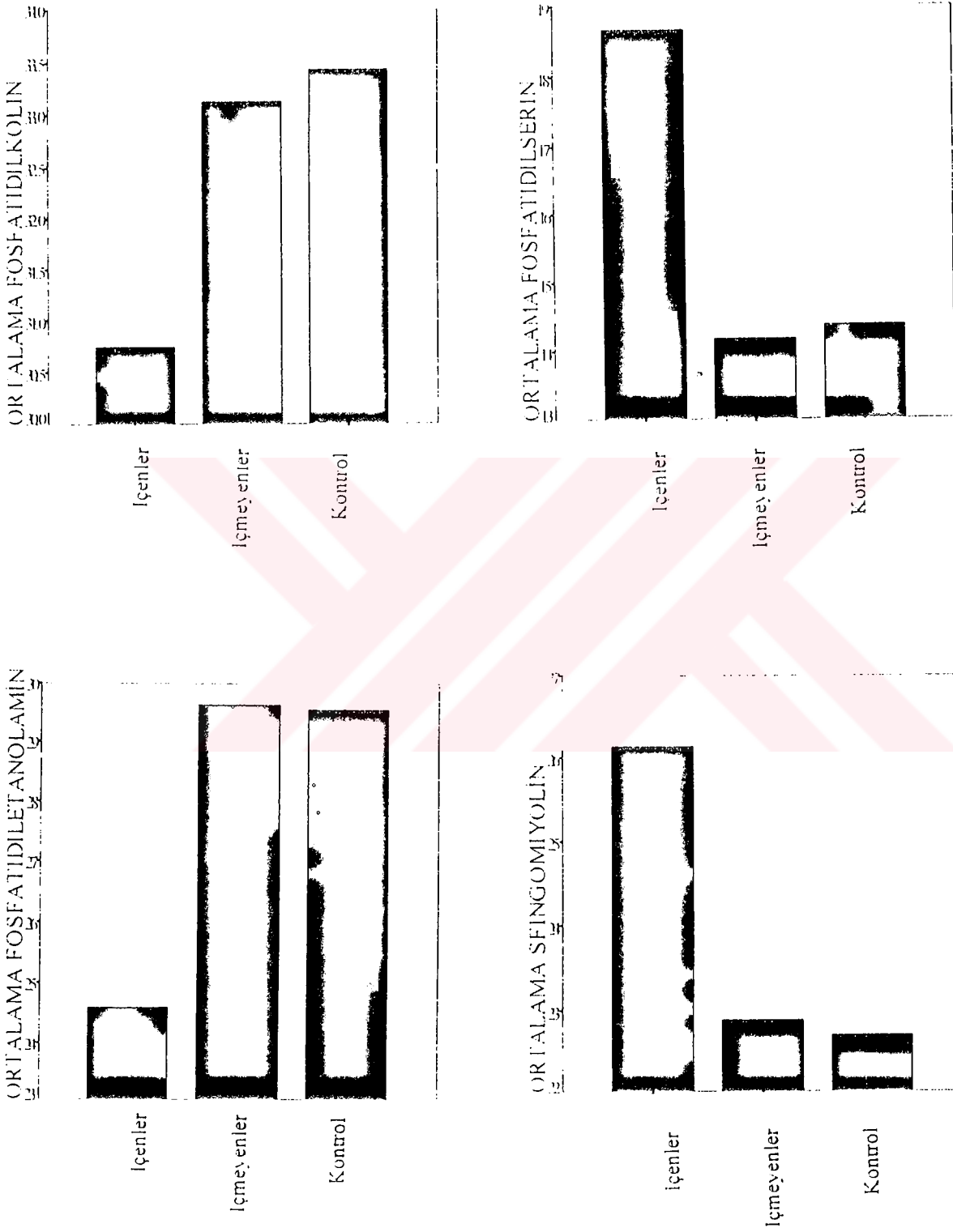
Sigara içen kişilerin eritrosit membran; Total kolesterol; 1.660-1.320 mg/10¹⁰ hücre, ortalama değer 1.479 ± 0,104 mg/10¹⁰ hücre, total fosfolipid; 4.100-2.940 mg/10¹⁰ hücre ortalama değer 3.407 ± 0,308 mg/10¹⁰ hücre, Kolesterol/Fosfolipid 0,544-0,356, ortalama değer 0,437 ± 0,048' dir.

Sigara içmeyen kişilerin eritrosit membran; Total kolesterol 1.360-1.050 mg/10¹⁰ hücre, ortalama değer 1.194 ± 0,098 mg/10¹⁰ hücre, Total fosfolipit 3.380-2.850 mg/10¹⁰ hücre, ortalama değer 3.136 ± 0,162 mg/10¹⁰ hücre, Kolesterol/Fosfolipit 0,426-0,322 mg/10¹⁰, ortalama değer 0,381 ± 0,031' dir.

Kontrol grubu kişilerin eritrosit membran; Total kolesterol 1.350-1.020 mg/10¹⁰ hücre, ortalama değer 1.163 ± 0,086 mg/10¹⁰ h., Total fosfolipit 3.700-2.720 mg/10¹⁰ hücre, ortalama değer 3.098 ± 0,267 mg/10¹⁰ hücre, Kolesterol/ Fosfolipit 0,428 - 0,316, ortalama değer 0,378 ± 0,034' dir.



Şekil 4.1. Total Kolesterol , Total Fosfolipit, Kolesterol/Fosfolipit, Sfingomiyelin/Fosfatidil kolin miktarlarının Sigara içenler , içmeyenler ve kontrol gruplarına göre karşılaştırılması



Şekil 4. 2. Fosfolipit fraksiyonlarının (PC, PE, PS ve SM) miktarlarının sigara içenler, içmeyenler ve kontrol gruplarına göre karşılaştırılması

4.2. Eritrosit Membran Fosfolipit Fraksiyonlarının Sonuçları (% olarak)

Eritrosit membran fosfolipid fraksiyonlarının sonuçları tablo 4.3' de verilmiştir. Buna göre; sigara içen fabrika işçilerinin fosfatidilserin, sfingomiyelin, kolesterol/fosfolipid ve sfingomiyelin/fosfatidilkolin değerleri sigara içmeyen işçiler ile kontrol grubu kişilerinkinden fazla , fosfatidilkolin ve fosfatidiletanolamin değerleri ise az bulundu.

Sigara içen kişilerin eritrosit membran; Fosfatidilkolin 33.18-28.14 arasında, ortalama değer $30,747 \pm 1.429$, Fosfatidiletanolamin 27.72-16.63, ortalama değer 24.59 ± 2.55 , Fosfatidilserin 29.23-14.95, ortalama değer 18.67 ± 2.99 , Sfingomiyelin 27.76-23.18, ortalama değer 26.14 ± 1.25 , Sfingomiyelin/Fosfatidilkolin 0,91-0,73, ortalama değer $0,85 \pm 0,05$ ' dir.

Sigara içmeyen kişilerin eritrosit membran; Fosfatidilkolin 36.63-29.98, ortalama değer 33.14 ± 1.74 , Fosfatidiletanolamin 34.48-26.54, ortalama değer 29.64 ± 2.29 , Fosfatidilserin 15.94-11.94, ortalama değer 14.19 ± 1.04 , Sfingomiyelin 25.13-19.79, ortalama değer 22.89 ± 1.51 , Sfingomiyelin/Fosfatidilkolin 0,78-0,59, ortalama değer $0,69 \pm 0,06$ ' dir.

Kontrol grubu kişilerin eritrosit membran; Fosfatidilkolin 38.14-31.06. ortalama değer 33.44 ± 1.82 , Fosfatidiletanolamin 34.61-26.65, ortalama değer 29.56 ± 2.12 , Fosfatidilserin 16.32-17.84, ortalama değer 14.38 ± 1.01 , Sfingomiyelin 24.71-20,60, ortalama değer 22.71 ± 1.22 , Sfingomiyelin/Fosfatidilkolin 0,76-0,57, ortalama değer $0,68 \pm 0,06$ ' dir.

Tablo 4.3. Sigara İçen ve İçmeyen İşçiler ile Kontrol Grubu Kişilerin Fosfolipit Fraksiyon Değerleri (% olarak)

N	Sigara İçenler				Sigara İçmeyenler				Kontrol grubu			
	PC	PE	PS	SM	PC	PE	PS	SM	PC	PE	PS	SM
1	30,0	23,97	20,37	25,70	30,36	32,50	15,94	21,20	32,98	28,05	15,85	23,12
2	30,71	25,41	16,37	27,51	32,85	27,24	14,91	25,00	34,57	29,07	14,80	21,55
3	29,14	27,47	17,68	25,71	36,63	26,54	14,44	22,39	34,20	29,55	15,19	21,05
4	33,18	23,03	19,63	24,17	32,05	29,31	13,51	25,13	35,41	28,11	13,49	22,89
5	30,79	24,00	19,32	25,90	32,41	34,48	13,33	19,79	31,84	30,60	14,71	22,85
6	30,78	24,90	17,37	26,94	32,20	30,47	13,55	23,78	34,29	27,14	14,75	23,82
7	30,98	23,51	19,86	25,64	33,88	26,55	13,17	24,35	38,14	27,08	12,89	21,90
8	33,14	22,28	17,87	26,25	34,31	28,69	13,40	23,61	32,88	30,20	13,50	23,42
9	31,82	25,60	15,31	27,27	31,98	28,84	15,20	23,97	33,31	27,51	14,47	24,71
10	30,36	24,93	17,24	27,46	34,65	32,92	11,94	20,50	36,12	28,22	14,84	20,83
11	30,64	27,72	18,46	23,18	32,71	31,41	14,30	21,57	31,52	32,98	14,91	20,60
12	31,67	21,80	18,78	27,76	34,37	28,66	15,17	20,78	33,08	32,72	12,84	21,36
13	32,36	24,83	15,93	26,88	32,80	28,81	14,46	23,90	31,06	34,61	15,05	22,08
14	28,19	26,94	20,00	24,86	33,07	29,19	15,74	22,00	33,05	31,11	13,19	22,65
15	32,69	26,23	14,95	26,13	33,94	28,26	14,42	23,38	31,33	28,09	15,71	23,84
16	30,21	26,84	17,62	25,33	34,98	29,82	12,60	22,70	31,28	29,27	16,32	23,13
17	29,59	16,63	17,19	26,59	34,64	27,52	13,65	24,29	35,01	26,65	14,32	24,02
18	30,10	26,32	19,48	27,38	29,98	32,41	14,52	23,09	32,82	29,81	13,20	24,17
19	30,46	22,94	29,23	27,36	30,21	31,90	14,24	23,65	32,04	30,14	13,81	24,01
20	28,14	26,44	20,81	24,71	34,82	27,24	15,27	22,68	33,94	30,19	13,73	22,14
X	30,75	24,59	18,67	26,14	33,14	29,64	14,19	22,89	33,44	29,56	14,38	22,71
SD	1,43	2,55	2,99	1,25	1,74	2,29	1,04	1,51	1,82	2,19	1,01	1,21

4.3. İstatistiksel Sonuçlar

Sigara fabrikasında çalışan, sigara içen ve içmeyen işçiler ile kontrol grubu kişilerden alınan kan örnekleri üzerinde yapılan araştırmada elde edilen hücre membran lipid değerlerinin karşılaştırılmasında varyans analizi ve gruplar arasındaki farklılığın belirlenmesinde Duncan Testi uygulanmıştır (Tablo 4.4). Bu istatistiksel analizler Exper bilgisayarında windows için SPSS 6.1 istatistiksel programı kullanılarak yapıldı. Farklı lipid fraksiyonları arasındaki ilişkiler korelasyon analizi ile bulunmuştur(Tablo 4.5 – 4.8).

Tablo 4.4. Sigara İçen, İçmeyen İşçiler ile Kontrol Grubu Kişilerin Eritrosit Membran; Total Kolesterol, Total Fosfolipid ve Fosfolipid Fraksiyonu değerlerinin varyans analizi ve Duncan Testi sonuçları:

Parametreler	N	Sigara içenler	Sigara içmeyenler	Kontrol grubu	p Değeri
T. Kolesterol Mg/10 ¹⁰ hücre	59	1.48±0,10 *	1.19±0,98	1.16±0,09	p<0,05
T. Fosfolipid Mg/10 ¹⁰ hücre	59	3.41±0,31 *	3.14±0,16	3.09±0,26	p<0,05
F. kolin %	59	30,75±1.43 *	33.14±1.74	33.44±1.82	p<0,05
F. etanolamin %	59	24.59±2.55 *	29.64±2.29	29.56±2.19	p<0,05
F. serin %	59	18.67±2.99 *	14.19±1.04	14.38±1.01	p<0,05
S. miyelin %	59	26.14±1.25 *	22.89±1.51	22.71±1.21	p<0,05
Kol./Fos.	59	0,438±0,049 *	0,38±0,03	0,38±0,03	p<0,05
SM./PC	59	0,850±0,050 *	0,69±0,06	0,68±0,06	p<0,05

*İşaretili değerler diğer değerlerden ; Duncan testine göre farklılığın önemli olduğunu gösterir.

Tablo 4.4.'de görüldüğü gibi sigara içenlerin total kolesterol, total fosfolipid, fosfatidilserin, sifingomiyelin, kolesterol/fosfolipid ve sifingomiyelin/fosfatidilkolin parametrelerinin ortalama değerleri sigara içmeyen işçiler ile kontrol grubu kişilerin ortalama değerlerinden fazla ve anlamlı derecede farklı($P<0,05$), fosfatidilkolin ve fosfatidiletanolamin değerleri ise diğer iki gruptan düşük ve anlamlı derecede farklı($P<0,05$), bulundu. Sigara içmeyen işçiler ile kontrol grubu kişilere ait bütün parametre değerleri arasında anlamlı bir farklılık görülmedi.

Tablo 4.5. Sigara içen ve içmeyen işçiler ile kontrol grubu kişilere ait parametre değerleri arasındaki ilişkiler (r : Korelasyon katsayısı, p : anlamlılık düzeyleri)

Parametreler	n	T.Kol.	T.Fos.	F.Kolin	F.Etanol	F.Serin	S.Miy.	Kol/Fos	SM/PC
	60	P	P	p	P	p	P	p	P
T. Kolesterol	r	--	0,209	0,099	0,002	0,041	0,000	0,000	0,000
T.Fosfolipid	r	0,487	--	0,005	0,004	0,000	0,000	0,000	0,000
F. kolin	r	-0,452	-0,215	--	0,206	0,000	0,000	0,000	0,000
F.etanolamin	r	-0,566	-0,385	0,166	--	0,000	0,000	0,000	0,000
F. serin	r	0,627	0,265	-0,580	-0,593	--	0,000	0,000	0,000
S. miyelin	r	0,679	0,454	-0,493	-0,754	0,554	--	0,000	0,000
COL./PL	r	0,778	0,165	-0,356	-0,367	0,526	0,448	--	0,000
SM./PC	r	-0,684	0,408	-0,807	-0,602	0,665	0,908	0,484	--

Tablo 4.5.'de görüldüğü gibi sigara içen ve içmeyen işçilerle kontrol grubu kişilerin Fosfolipit - kolesterol/ fosfolipit, Fosfolipit–Fosfatidilkolin, Fosfatidilkolin – Fosfatidiletanolamin, Kolesterol – Fosfolipid ve Kolesterol – Fosfatidilkolin dışında tüm değerler arasında korelasyon olduğu ($p<0,05$) görülmüştür.

Tablo 4.6. Sigara içen işçilerin lipit parametreleri arasındaki korelasyon değerleri
(r : Korelasyon katsayısı, p : anlamlılık düzeyleri)

Parametreler	n	PL	COL/PI	PC	PE	PS	SM	SM/PC	T.Kol.
	20	P	P	p	P	P	p	P	P
PL	R	--	0,000	0,650	0,323	0,411	0,468	0,337	0,892
COL/PL	R	-0,754	--	0,663	0,614	0,236	0,030	0,179	0,003
PC	R	0,108	0,104	--	0,338	0,212	0,472	0,003	0,198
PE	R	0,233	-0,120	-0,226	--	0,589	0,176	0,734	0,679
PS	R	-0,195	0,277	-0,292	-0,128	--	0,777	0,458	0,514
SM	R	-0,172	0,487	0,170	-0,315	-0,068	--	0,002	0,018
SM/PC	R	-0,227	0,313	-0,633	-0,081	0,176	0,654	--	0,426
T.Kol	R	0,033	0,624	0,300	0,099	0,155	0,523	0,189	--

Tablo 4.6'da görüldüğü gibi sigara içen işçilerin lipit parametreleri arasındaki korelasyon şu şekildedir.

Parametreler	r	p	Anlamlılık düzeyi(p<)
Fosfolipit- COL/PL	-0,754	0,000	0,001
COL/PL – Sfingomiyelin	0,487	0,030	0,05
COL /PL – T. Kolesterol	0,624	0,003	0,01
Sfingomiyelin – SM/PC	0,654	0,002	0,01
Fosfatidilkolin – SM/PC	-0,633	0,003	0,01
T.Kol – Sfingomiyelin	0,523	0,018	0,05

Tablo 4.7. Sigara içmeyen işçilerin lipit parametreleri arasındaki korelasyon değerleri (r : Korelasyon katsayısı, p : anlamlılık düzeyleri)

Parametreler	n	PL	COL/PI	PC	PE	PS	SM	SM/PC	T.Kol.
	20	P	P	p	P	P	p	P	P
PL	R	--	0,186	0,551	0,512	0,920	0,110	0,114	0,157
COL/PL	R	-0,308	--	0,691	0,501	0,463	0,135	0,171	0,000
PC	R	-0,142	0,095	--	0,006	0,194	0,676	0,001	0,991
PE	R	-0,156	0,160	-0,588	--	0,403	0,006	0,711	0,835
PS	R	0,024	-0,174	-0,303	-0,198	--	0,959	0,486	0,567
SM	R	0,369	-0,346	-0,099	-0,591	-0,012	--	0,000	0,684
SM/PC	R	0,364	-0,318	-0,667	-0,087	0,165	0,806	--	0,765
T.Kol	R	0,329	0,796	-0,003	0,050	-0,143	-0,097	-0,071	--

Tablo 4.7’de görüldüğü gibi sigara içmeyen işçilerin lipit parametreleri arasındaki korelasyon şu şekildedir.

Parametreler	r	p	Anlamlılık düzeyi(p<)
F.etanolamin-F.kolin	-0,588	0,006	0,01
SM/PC-F.kolin	-0,667	0,001	0,01
S.miyelin-F.etanolamin	-0,591	0,006	0,01
SM/PC-S.miyelin	0,806	0,000	0,001
T.Kol.-Kol/PL	0,796	0,000	0,001

Tablo 4.8. Kontrol grubu kişilerin lipit parametreleri arasındaki korelasyon değerleri
(r : Korelasyon katsayısı, p : anlamlılık düzeyleri)

Parametreler	n	PL	COL/PL	PC	PE	PS	SM	SM/PC	T.Kol.
	20	P	P	p	P	p	P	P	P
PL	R	--	0,002	0,263	0,071	0,405	0,109	0,827	0,271
COL/PL	R	-0,651	--	0,337	0,051	0,811	0,096	0,720	0,012
PC	R	0,263	-0,227	--	0,005	0,072	0,345	0,000	0,895
PE	R	-0,412	0,442	-0,597	--	0,661	0,053	0,728	0,639
PS	R	-0,197	0,058	-0,410	-0,105	--	0,960	0,284	0,499
SM	R	0,369	-0,383	-0,223	-0,439	-0,012	--	0,000	0,572
SM/PC	R	0,052	-0,086	-0,768	0,083	0,252	0,793	--	0,666
T.Kol	R	0,259	0,550	0,032	0,112	-0,160	-0,134	-0,103	--

Tablo 4.8’de görüldüğü gibi kontrol grubu kişilerin lipit parametreleri arasındaki korelasyon şu şekildedir.

Parametreler	r	p	Anlamlılık düzeyi(p<)
Fosfolipit-Kol/PL	-0,651	0,002	0,01
F.etanolamin-Kol/PL	0,442	0,048	0,05
F.etanolamin-F.kolin	-0,597	0,005	0,01
S.miyelin-F.etanolamin	-0,439	0,049	0,05
SM/PC-F.kolin	-0,768	0,000	0,001
SM/PC-S.miyelin	0,793	0,000	0,001
T.kolesterol-Kol/PL	0,550	0,012	0,05

Eritrosit membranları içerdiği birimler ve bu birimlerin miktar ve dizilimi tüm ayrıntılarına kadar aydınlatılmıştır. Membrandaki hareketler, membran kolesterolünün fosfolipidler ile olan değişimleri ve bu değişim sonucunda ortaya çıkan etkiler incelenerek çeşitli mekanizmalarla açıklanmıştır (Chopman, 1985; Philips, 1987). Sigara içimine bağlı olarak membran fosfolipidleri, kolesterolü ve kolesterol ile fosfolipidler arasındaki oranların nasıl değiştiği araştırılmıştır.

Eritrosit membran kolesterolünü değişik araştırmacılar farklı miktarda bulmuşlardır. Şöyle ki; Reed ve arkadaşları $1.13 \text{ mg}/10^{10}$ hücre, Ways ve Hanahan 1.27 , Von Gestel ve arkadaşları 1.13 , Neerhaud 1.33 , Goffried 1.32 , Cooper $1.34 \text{ mg}/10^{10}$ hücre olarak tayin etmişlerdir (Van deenen 1974).

Ott ve arkadaşları ise farklı metotlarla yaptıkları araştırmalarda $1.24 - 1.49 \text{ mg}/10^{10}$ hücre arasında bulmuşlardır (Ott, 1982). Uydu ise; kontrol grubunda $1.19 \pm 0,06 \text{ mg}/10^{10}$ hücre, hiper kolesterolemik kişilerde $1.34 \pm 0,16 \text{ mg}/10^{10}$ hücre, hipertiroidili kişilerde ise; $1.49 \pm 0,19 \text{ mg}/10^{10}$ hücre olarak bulmuştur (Uydu, 1994).

Eritrosit membran fosfolipid fraksiyonlarının dağılımı yüzde cinsinden değişik araştırmacılar tarafından oldukça farklı bildirilmiştir. Dodge ve Philips'e göre Fosfatidilkolin 29.2 , fosfatidiletanolamin 27.5 , Fosfatidil serin 14.8 ve sfingomiyelin 25.4 . Rouser ve arkadaşları; Fosfatidilkolin 28.9 , fosfatidiletanolamin 27.2 , fosfatidilserin 13.0 , ve sfingomiyelin 26.9 . Gjone ve arkadaşları; Fosfatidilkolin 27.4 , fosfatidiletanolamin 29.0 , fosfatidilserin 14.0 , ve sfingomiyelin 25.9 . Broekhyuse; Fosfatidilkolin 28.3 , fosfatidiletanolamin 26.7 , fosfatidilserin 12.7 , ve sfingomiyelin 25.8 olarak, Neerhout'a göre ise; fosfatidilkolin 29.5 , fosfatidiletanolamin 31.2 , fosfatidilserin + fosfatidilinositol 13.1 , sfingomiyelin 24.1 ; Jaffe ve Gottfried'e göre de fosfatidilkolin 28.1 , fosfatidiletanolamin 29.5 , fosfatidilserin + fosfatidilinositol 13.8 ve sfingomiyelin ise 26.9 olarak bulunmuştur (Van Deenen, 1974). Rehman fosfatidilkolini 31.96 , fosfatidiletanolamini 26.88 , fosfatidilserini 26.03 , sfingomiyelini 15.11 olarak bulmuştur (Rehman, 1991). Peuchant ve

arkadaşları eritrosit membran fosfolipid fraksiyonlarının dağılımını şöyle bildirmişlerdir (Peuchant, 1959); Fosfatidilkolin 24.34, fosfatidiletanolamin 35.54, fosfatidilserin 15.30, sfingomiyelin 21.07'dir.

Bu değerler, araştırma sonucu elde edilen kontrol grubu değerleri ile uygunluk göstermektedir.

Latha ve arkadaşları nikotin uyguladıkları fare'ler üzerinde yaptıkları çalışma sonucu serum total kolesterol fosfolipit ve trigliserit düzeylerini şu şekilde tespit etmişlerdir; Nikotin uygulanan ratlarda serum kolesterol 83.34 ± 2.25 mg/dL, trigliserit $8.43 \pm 0,22$ mg/dL, fosfolipit 148.3 ± 3.48 mg/dL, kontrol grubunda ise serum kolesterol 62.5 ± 1.56 mg/dL, trigliserit $6.38 \pm 0,15$ mg/dL, fosfolipit 131.0 ± 3.27 mg/dL olarak bulunmuşlardır.

Nikotin uygulanan farelerle kontrol grubu farelerin her üç parametre değerlerinde de önemli düzeyde ($p < 0,01$) bir farklılık olduğunu bildirmişlerdir (Latha, 1993).

Craig ve arkadaşları "sigaranın serum lipit ve lipoprotein düzeylerine etkisinin araştırılması" konulu çalışmalarında yayınlanmış 54 çalışmanın sonucunu analiz ederek şu sonuçları çıkarmıştır; Sigara içenlerin total kolesterol $0,250 \pm 0,016$, totalfosfolipit $0,135 \pm 0,009$, trigliserit $0,232 \pm 0,029$, sigara içmeyenlerde ise total kolesterol $0,115 \pm 0,017$, totalfosfolipit $0,095 \pm 0,006$, trigliserit $0,217 \pm 0,027$. Tüm analizler sonunda sigara içenlerin içmeyenlere göre çok daha yüksek serum kolesterol, trigliserit ve fosfolipit düzeylerine sahip olduklarını açıklamışlardır. Her üç parametre değerlerinde de içenlerle içmeyenler arasında önemli farklılık ($p < 0,001$) olduğunu bildirmişlerdir(Craig, 1989).

Muscat ve arkadaşlarının (1993) sigara içen kadın ve erkekler üzerinde yapmış oldukları araştırmada; sigaranın serum kolesterol trigliserit ve fosfolipit düzeylerini önemli ölçüde artırdığını ve içenlerle içmeyenlerin parametre değerleri arasında önemli bir farklılık olduğunu ($p < 0,001$) tespit ettiler.

Araştırmamızda sigara içen fabrika işçilerinin eritrosit membranlarının total fosfolipit, total kolesterol, fosfatidilserin ve sifingomiyelin değerleri sigara içmeyen işçilere ve kontrol grubuna göre $p < 0,01$ düzeyinde ileri derecede bir artış, fosfatidilkolin ve fosfatidiletanolamin değerlerinde ise $p < 0,01$ düzeyinde ileri derecede bir azalış göstermiştir. Elde ettiğimiz bütün parametre değerlerinde sigara içmeyen işçilerle kontrol grubu kişiler arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir “Bkz.Tablo 4.4”.

Eritrosit membran fosfolipid fraksiyonlarının ilgili literatürlerde verilen miktarları farklılık göstermekte ise de, en fazla bulunma sıralaması (PC>PE>SM>PS) sonuçlarımızla uyum içindedir. Araştırmamızda sigara içen kişilerdeki fosfatidilkolin ve fosfatidiletanolamin değerlerinin sigara içmeyen ve kontrol grubuna göre azalışı; sentezlerinin azalmasından ve fosfolipaz A gibi enzim aktivitelerinin artmasından kaynaklanabilir. Fosfatidilserindeki artış ise fosfatidiletanolamin ve fosfatidilkolinin fosfatidilserine dönüşmesinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Szymanska, 1986).

1951 yılından beri eritrosit ve plazma kolesterolü üzerinde bir çok çalışma yapılmıştır. Buna göre insan eritrositlerinde bir kolesterol havuzu bulunduğu serbest kolesterolün plazma ile eritrositler arasında değişim gösterdiği bildirilmiştir (Van Deenen, 1974).

Yapılan araştırmada sigara içen ve içmeyen işçiler ile kontrol grubu kişilerin tüm parametreleri arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p < 0,05$). Sigara içmeyen işçiler ile kontrol grubu kişilerin ise tüm parametreleri arasında anlamsız bir fark gözlenmiştir “Bkz. Tablo 4.4”. Bu durum, fabrikada çalışıp da sigara içmeyen işçilerin sigaranın zararlı etkisinden etkilenmediğini göstermektedir.

Kontrol grubu kişilere ait elde ettiğimiz parametre değerleri literatürlerde bildirilen değerlerle uyum içindedir. Literatürlerde sigara içenlere ait bu parametre değerlerine rastlanmamıştır.

Yapılan çalışma, sigara içmenin eritrosit membran lipid bileşenleri üzerine olumsuz etkide bulunduğunu göstermiştir. Bu durum hücre fonksiyonlarının yerine getirilmesinde çok önemli role sahip olan membran yapısının bozulmasına ve akışkanlık kıvamının giderilmesine sebep olmaktadır. Bu durum bir çok ciddi patolojik bozuklukların göstergesi olabilir.



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sigara içen işçilerin sigara içmeyen işçilere ve kontrol grubuna göre ;

1. Total fosfolipid, total kolesterol, fosfatidilserin ve sfingomiyelin değerleri ($p<0,01$) düzeyinde anlamlı bir artış göstermiştir.
2. Fosfatidilkolin ve fosfatidiletanolamin değerleri anlamlı bir azalış göstermiştir ($p<0,01$).
3. Membran akışkanlığında rol oynayan COL/PL ve SM/PC oranlarında anlamlı bir artış belirlenmiştir ($p<0,01$).

Bu sonuçlar ışığı altında ;

1. Membran lipidleri plazma lipidlerinden etkilendiği için plazma parametrelerinin,
2. Plazma lipoproteinlerinin fosfolipid ve kolesterol düzeylerinin,
3. Membran fosfolipid yağ asitlerinin araştırılması da önerilir.

KAYNAKLAR

- AKTAŞ, M., 1996,** Margarin Kullanan ve Kullanmayan Kişilerin Eritrosit Membran Fosfolipit değerleri, KTÜ. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Yayınlanacak,
- AL SENAİDY ET AL., 1997,** Effect of smoking on serum of lipit peroksidaes and assantial fat-soluble antioksidants. Nut. And Health, Vol. 12, pp. 55-65
- ANONİM, 1988.** Tütünün Avrupaya gelişi, Tekel Dergisi Sayı 1, Yıl: 2; S:8. İstanbul.
- ARAS, K., 1975,** Klinik Biyokimya, Hacettepe Taş Kitapçılık Ltd. Şti. Ankara
- BAHATTIN M.D., 1993.** „Cigarette Smoking and Lipoproteins in Cord Plasma”. Jpn. Hearh J. 34: 759: 62.
- BERLIN, E., BHATHENA, S. J, JUDD, J. T., NAIR, P. P., JONES, D. Y., and TAYLOR,P. R. 1989.** Dietary Fat and Hormonal Effects on Erythrocyte Membrane Fluidity and Lipid Composition in Adult Women. Metabolism,38:790–796,
- BHAGAVAN,N.V., 1992**Medical Biochemistry. Jones and Barlet Publishers, pp 432 - 40.
- BULTON ET AL., 1991,** British Journal of Nutrition, 65, pp. 321-325
- CRAIG Y., 1989.** “Cigarette smoking and serum lipid and lipoprotein concentrations: an analysis of published data”. Br. Med. D. pp. 744 – 48 Chopmon, D., Hayword, J. A.: New biophysical techniques and their aplication to the study of membranes. Biochem J, 228: 281 - 295, 1985.
- CLARK, M. J., SWITZER, L. R., and JR., 1997,** Experimental Biochemistry. 2nd Edit. W.hücreFreeman and Company, New York, pp. 182 483.
- CORROCHER, R., PAGNAN, A., AMBRISIO, G. B., FERRARI, S., OLIVIERI, O., GUARINI, P., BASSI, A., PICCOLO, D., GANDINI, A., AND GIRELLI D., 1992.** Effects induced by olive oil-rich diet on erythrocytes membrane lipids and sodium-potassium transports in postmenopausal hypertensive women. J Endocrinol

Invest, 15:369– 376. Christie, W. W.: Lipid Analysis. Isolation, separation identification and structural analysis of lipids. Pergamon Press. New York, 1970, pp-70.

DATLA, D. B., 1987. A comprehensive Introduction To Membrane Biochemistry. Floral Publishing, Meclison, pp. 55 - 89.

DE-LUCCHI, C., PITA, M. L., FAUS, M. J., PERIAGO, J. L., GIL, A. 1988 Influences of Diet and Postnatal Age on the Lipid Composition of Red Blood Cell Membrane in Newborn Infants. Ann Nutr Metab, 32: 231- 239

DOUGHERTY, R. M., CLAUDIO GALLI, B. A., ANNA IERRO-LUZZ, M. D., and LACONO, J. M. 1987 Lipid and phospholipid fatty acid composition of plasma, red blood cells, and platelets and how they are affected by dietary lipids: A study of normal subcets from Italy, Finland, and the USA. Am J Clin Nutr, 45:443 - 455.

DUPONT, J., 1994. WHITE, P., J., AND FELDMAN, E. B. 1991. Saturated and Hydrogenated Fats in Food in Relation to Health. J Am Col Nutr., 10, No. 6: 577 - 592.

ELKELES, R.S., 1983, “Effects of smoking on oral fat tolerance and high density lipoprotein cholesterol”. Clinical Science. 65, 669-672.

ER, C. 1994. Tütün, ilaç ve baharat bitkileri A.Ü. Ziraat Fak. Yayınları, No. 1359, Ankara.

ERICKSON, B. A., COOTS, R. H., MATTSON, F. H., KLIGMAN, A. M. 1964. The effect of partial hydrogenation of dietary fats, of the ratio of polyunsaturated to saturated fatty acids, and of dietary cholesterol upon plasma lipids in man. J Clin Invest, 43, No: 11.

FELLMANN, P., HERVE, P., DEVAUX, P. F., 1993. Transmembrane distribution and translocation of spin-labeled plasmalogens in human red blood cells. Chem Phys Lipids 66, 225 – 230.

GEOFFREY, M., 1997. The Cell-A molecular Approach. Asm Press Washington, D.C.

GÖZÜKARA, E.M., 1994. Biyokimya 2. Baskı. Evin Matbaası, Malatya. s. 258-271.

GEZER, S., 1993. Hematoloji. Anadolu Üniv. Tıp Fak. Yayınları. No. 720, Eskişehir.

- HAGVE, T. A., LIE.Q, AND GRONN, M., 1993.**The Effect of Dietary (n-3) Fatty A
Acids on Osmotic Fragility and MembraneFluidity of Human erythrocytes. Scand
J. Clin LabInvest, 53 (suppl 215): 75 – 84.
- HEGART, K., ET AL, 1982.** Effect of cigarette smoking on HDL phosphkdiplids. Biohem
Biophys Res commun. 104; Ap. 212-219.
- HESSEL, E., AGREN, J. J., PAULITSCHKE, M., HANNIEN, O., HANNIEN, A. and
LERCHE, D. 1990.** Freshwater fish diet affects lipid composition, deformability
and aggregation properties of erythrocytes. Atherosclerosis, 82: 37-42.
- KALRA, J., 1991.** “Increased production of oxygen free radicals in cigarette smokers”. İnt.
J. Exp. Path. 72, pp 1-7.
- KAROL, S., 1990.** Hücre Biyolojisi. Gündüz Matbaacılık, Ankara, s. 138.
- KATES. M., 1991.** Techniques of Lipidology. 2nd edition. Isolation, analysis, and
identification of lipids. Elsevier Science publishers, Amsterdam, pp.100 - 426.
- KEHA, E.E., KÜFREVİOĞLU,Ö.I., 1993.** Biyokimya. Derya Kitabevi, Trabzon, s.164-
168.
- KESHAVAN, M. S., MALLİNGER, A. G., PETTEGREW, J. W., AND DİPPOLD, C.,
1993.,** Erythrocyte Membrane Phospholipids in Psychotic Patients. Psychiatry Res,
49: 89 – 95.
- KOÇ, H., 1995,** Keyf Bitkileri GOÜ Ziraat Fakültesi yayınları, Tokat
- LAKER, M.F. 1996,** Clinical Chemistry for medical ştudents. (çeviri. Engin Ulukaya)
Nobel-Güneş Tıp Kitabevi Ltd.Şti. Bursa.
- LARS, A., 1985,** Plasma HDL cholesterol and the subclasses HDL₂ and HDL₃ In Smokers
And non-smokers. Artery 13 (1) : 7-18.
- LATHA, M.S., 1993.** Effect of nicotine administration on lipid metabolism in rats İndian J
Med Res (B) 98, February, pp 44-49.

- LEHNINGER, A.L., 1982.** Principles of Biochemistry. Worth Puplicher, New York, pp. 303 - 327.
- LOSCHÍAVO, C., FERRARI, S., APRILI, F., GRUGOLINI, L., FACCINI, G., and MASCHIO, G., 1990.** Modification of serum and membrane lipid composition induced by diet in patients with chronic renal failure. *Clin Nephro*, 34: 267 – 271.
- MAGOT, T., FREIN, Y., GIRAUD, F., CHERUY, A., 1985.** Improved Procedure for Extraction of Lipid From Human Erythrocytes. *Biochem Biophys Acta*, 834: 331-335.
- MARGARET, J., 1991.** “A comparision of the diets of non-smokers and smokers”. *British Journal of Addicition* 86, 71-81.
- MJØS, M.D., 1988.** “Lipid effects of smoking”. *American Heatrh J.*, 115: 27276.
- MOFFATT, J., 1988.** “Effects of cessation of smoking on serum lipids and high density lipoprotein-cholesterol”. *Atherosclerosis*. 74. pp. 85-85.
- MURRAY, R. K., MAYES, P. A., GRANNER, D. K., RODWELL, V. W., 1993.** Harper’*in Biyokimyası* (Çev. G. Menteş, B. Ersöz). Barış Kitabevi, s. 546 - 554.
- MUSCAT, E., 1991.** “Cigarette smoking and plasma cholesterol. *American Heart*” *Journal*. X Jaunary pp. 141- 47
- NAIOTO,H.K., 1989.** Lipids. *Clinical Chemistry, Theory, Analysis and correlation*. L. A . Kaplan, A. J. Pasce (Eds.) Mosby Company, Missouri, pp. 968- 1004.
- NOYAN, A., 1986.** Fiziyoloji. 2. Baskı. Anadolu Üniversitesi Yayınları, Metaksan Limited Şirketi, Beytepe-Ankara, s. 32-670.
- ONAT, T., EMERK, K., 1996,** Temel Biyokimya, 1. Baskı Saray Medikal Yayıncılık San. Ve Tic. Ltd. Şti. İzmir
- OWEN, J. S., AND MC INTYRE, N.,1978** Erythrocyte Lipid Composition and sodium Transport in Human Liver Disease. *Biochim Biophys Acta*, 510: 168–176.

- OTT, P., BINGGELI, Y., AND BRODBECK, U. 1982,** A rapid and sensitive assay for determination of cholesterol in membrane lipid extracts. *Bioch Biophys Acta*, 685: 211 – 213.
- ÖZYAZICI, A., 1996,** Alkollü İçkiler, sigara ve diğerleri. MEB Halk Eğitim Serisi, No:4 Ank.
- PAGNAN, ET AL., 1989,** Effect of an olive-oil-rich diet on erythrocyte membrane lipid composition and cation transport systems. *Clin. Sci.*, 76, pp.87-93
- PEUCHANT, E., WOLFF, R., SALLES, C., AND JENSEN, R., 1989.** One-Step Extraction of Human Erythrocyte Lipids Allowing Rapid Determination of Fatty Acid Composition. *Analytical Biochemistry*, 181: 341 – 344.
- PHILIPS, G. B., AND DODGE, J. T., 1967.** Composition of phospholipids and of phospholipid fatty acids of human plasma. *J Lipid Res.*, 8: 676 - 681,
- PHILIPS, M. C., JOHNSON, W. J., ROTHBALT; G. H., 1987.** Mechanism and consequences of cellular cholesterol exchange and transfer. *Biochim Biophys Acta*. 906: 223 – 276.
- POPP-SNIJDERS, C., SCHOUTEN, J. A., DEJONG, A. P., and VAN DER VEEN, E. A., 1984.** Effect of dietary cod-liver oil on the lipid composition of human erythrocyte membranes. *Scand J Clin Lab Invest*, 44: 39 – 46.
- POPP-SNIJDERS, C., SCHOUTEN, J. A., VAN DER MEER, J., and VAN DER VEEN, E. A. 1986,** Fatty fish-induced changes in membrane lipid composition and viscosity of human erythrocyte suspensions. *Scand J Clin Lab Invest*, 46: 253-258.
- POPP-SNIJDERS, C., SCHOUTEN, J. A., VON BLITTERWIJK, W. J., and VAN DER VEEN, E. A., 1986.** Changes in membrane lipid composition of human erythrocytes after dietary supplementation of (n-3) polyunsaturated fatty acids. Maintenance of membrane fluidity. *Bioch Biophys Acta*, 854: 31– 37.

- REHMAN, S., 1991.** Rapid isocratic method for the separation and quantification of major phospholipid classes by high-performance liquid chromatography. *J Chromatog*, 567,pp, 29–37.
- ROSE, G., OKLANDER, M. 1965,** Improved Procedure for Extraction of Lipid From Human Erythrocytes. *J Lipid Res.* 6: 428 – 431.
- SHANMUGASUNDARAM, K. R., VISVANATHAN, A., DHANDAPANI, K., SRINIVASAN, N., RASAPPAN, P., GILBERT, R., ALLADI, S., KANCHARLA, S., and VASANHY, N., 1986.** Effect of high-fat diet on cholesterol distribution in plasma lipoproteins, Cholesterol esterifying activity in leucocytes, and erythrocyte membrane components studied: Importance of body weight. *Am J Clin Nutr* 44: 805– 815.
- SHEKELLE, R.B.,SHRYORCK, A.M, PAUL, O., LEPPER, M., STAMLER, J., LIU, S. AND RAYNOR, W., 1981.** diet, serum, cholesterol, and death from coronary heart disease. *N Engl J Med.* 304: 65 - 70
- STEIN, E.A., 1986,** Lipids, Lipoproteins. In Tietz, *Textbook of Clinical Chemistry.* W.B. Saunders Company. Philadelphia, pp. 968-1004
- STRAYER, L., 1988.** *Biochemistry.* Third Edition, W.hücreFreeman and Company, New York, pp. 285 - 549.
- SCOTT, M.G., 1994.** Effects of Cigarette Smoking on Plasma Lipids. *Clinical Chemistry* Vol. 40 No. 7 pp. 1350-1
- SNECADOR, G.W.,COCHRAN, W. G., 1971,** *Statistical Methods.* 4rd Edit, Iowa, pp.102-198.
- SORENSEN, P., 1990.** Phospholipids and fatty acid esters from flounder (*Platichthys Flesus* L.) Erythrocyte plasma membrane and changes of the lipids from the membrane as a reslut of long term temperature acclimation. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 96 B No. 3 pp. 571-76.

- SZYMANSKA, G., MAX, A., MELZNER, I., SARZALA, M. G., and RÜDEL, R., 1986.** The Lipid Composition of Erythrocyte Ghosts from a Patient with Congenital Paramyotonia. *Gen Physiol Biophys*, 5: 179-186
- THURM, V., 1978.** Studies on pesticide Residues in tobacco Products. *Coresta*. 1, 8430.
- TOMPSON, G.R., 1991.** Plazma Lipidleri ve Lipoproteinler. *Hiperlipidemi el kitabı*. E. Tamuğur (Çev.) Uycan Yayınları A. Ş., İstanbul, s. 3-30.
- TONG, P., THOMAS, T., AND WILKINSON, R., 1994.** Membrane fluidity is different in intact erythrocytes and ghost membranes. *Biochem Med Metab Biol*, 52:132– 135.
- VAN DEENEN, L. L. M., and de Gier, J., 1974.** Lipid of the red cell membrane: In the *Red Blood Cell*. 2nd. Academic Press. D. M. Surgener (ed.) New York, pp. 148– 214.
- WILLET, W., 1983.** “Effects of cigarette smoking on fasting triglyceride, total cholesterol, and HDL-cholesterol in women”. *Am. Heart J.* 105: 417.
- YAVUZER, S., 1995,** Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Savunma Sistemleri. Ankara Üniv. Tıp Fak. Fiziyojji ABD. Ders Notları, Ankara
- YAVUZER, S., 1995,** Serbest Radikallerle Hücre Yaralanması. Ankara Üniv. Tıp Fak. Fiziyojji ABD. Ders Notları, Ankara
- YENSON, M., 1978.** İnsan Biokimyası. 6. Baskı. Beta Basım Yayım Dağıtım A .Ş., İstanbul, s. 255 - 270.
- YILMAZ, G., 1998,** Keyf Bitkileri. GOÜ Ziraat Fakültesi Yayınları, Tokat
- YILMAZ, N., 1995,** Margarin Kullanan ve Kullanmayan Kişilerin Eritrosit Membran Yağ Asitleri Bileşiminin İncelenmesi, KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Trabzon
- YIĞIT, Y., 1976.** Türk Tütünlerinde Organiklerle Pestisit Kalıntıları. Tübitak Yayınları No: 15.

ÖZGEÇMİŞ

1954 yılında Tokat'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Tokat'da tamamladı. 1971-72 Eğitim Öğretim yılında Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümüne kayıt yaptırdı ve 1976 yılında mezun oldu. Ekim 1976 da Akçadağ Öğretmen Lisesinde Biyoloji öğretmeni olarak göreve başladı. Askerlik görevini Cumhurbaşkanlığı Muhafız Alayında yaptı. Askerlik görevinden sonra Sağlık Bakanlığı bünyesinde çeşitli illerde Biyolog olarak görev yaptı. Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans yaptı. 1993 te Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümüne Öğretim Görevlisi olarak girdi. Halen bu görevde bulunmaktadır.

Evli ve üç çocuk babasıdır.