

I

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR BİLGİ	3
2.1.Lipidler	3
2.1.1. Lipidlerin tanımı	3
2.1.2. Yağ asitlerinin genel yapısı ve sınıflandırılması	3
2.1.2.1. Yağ asitlerinde izomeri.....	4
2.1.2.2. Trans yağ asitleri.....	6
2.1.3. Lipoproteinler	7
2.1.4. Kolesterol	9
2.2. Hücre Zarı.....	9
2.2.1. Hücre zarının yapısı.....	9
2.2.2. Hücre zarındaki yapısal lipidler.....	10
2.3. Plazma Membranı Na/K ATPaz'ı	11
2.4. Trans Yağ Asitlerinin Hücre Zarına Etkisi	13
3. MATERYAL VE METOD	15
3.1. Materyal	15
3.1.1. Vakaların Oluşturulması ve Gruplandırma	15
3.1.2. Numunelerin Alınışı ve Hazırlanışı.....	17
3.1.3. Kullanılan Cihazlar:.....	18
3.1.4. Kullanılan Reaktifler:	18
3.1.5. Kullanılan Çözeltiler;	19
3.2. Metod	20
3.2.1. Karaciğer dokusu Na/K ATPaz enzim aktivitesi tayini	20
3.2.2. Serumda trigliserit, total kolesterol, LDL kolesterol, HDL kolesterol, Apo-A ve Apo-B tayinleri	21
3.2.3. Serumda HDL ₂ kolesterol ve HDL ₃ kolesterol tayini.....	21
3.2.4. Karaciğer dokusunda ve serumda yağ asit kompozisyonunun tayini.....	21
4. BULGULAR	24
5.TARTIŞMA VE SONUÇ	27
6. ÖZET	34
7. SUMMARY	35
8. KAYNAKLAR	36
9. ÖZGEÇMİŞ	41
10. TEŞEKKÜR	42

1. GİRİŞ

Canlı organizmada enerjinin depo edilmiş biçimi olarak kullanılan lipitler yağ asitlerinin türevleridir. Yağ asitlerinin büyük bir kısmı organizmada hücre sel yapı elemanı olarak yağ açıl esterleri şeklinde, az bir kısmı ise serbest halde bulunmaktadır. Lipitler birçok organizmada başlıca depo enerji şeklidir. Fosfolipitler ve steroller biyolojik zarların temel yapıtaşlarıdır (Nelson ve Cox, 2005). Lipoproteinler hücre zarı hem de stoplazmadaki mitokondrilerde görülen önemli hücre sel yapıtaşları olup kanda lipitlerin taşınmasında görev alırlar(Murray ve ark, 2004).

Doğal olarak meydana gelmiş yağlarda çift bağlar genellikle cis konfigürasyonundadır. Trans yağ asitleri(TFA) trans konfigürasyonunda bir veya birden fazla çift bağ bulunan mono veya çoklu doymamış yağ asitleridir (Taşan ve Dağlıoğlu, 2005).

Diyetle alınan TFA çeşitli hastalıklarının oluşmasında önemli yer tutar. İnsan diyetindeki toplam enerjinin %30'dan fazlasının yağlardan gelmesi ve özellikle trans yağ içeriği yüksek gıdaların tüketiminin çok olması kalp hastalıklarına yakalanma riskini artırmaktadır.

TFA lar, doymuş yağ asitlerine benzer metabolize edilirler ve doymuş yağ asitleri gibi LDL (alçak yoğunluklu lipoprotein) kolesterol düzeyini yükseltirken HDL (yüksek yoğunluklu lipoprotein) kolesterol düzeyini düşürürler (Murray ve ark, 2004). Son zamanlarda yapılan birçok çalışmada doymuş yağ asitlerinin diyeti ile TFA ların diyeti karşılaştırıldığında, ikisinin de plazma trigliserit konsantrasyonunda artışa ve HDL kolesterol seviyesinde bir azalmaya sebep olduğu belirtilmiştir (Rivelesse ve ark 2003, Rasmussen ve ark, 2006).

Doymuş yağ asitleri zar akışkanlığını azaltırken, doymamış yağ asitlerinin cis izomerleri akışkanlığı artırma, trans izomeri azaltma eğilimi gösterirler (Gürdöl ve Ademoğlu, 2006). Hücre zar akışkanlığındaki değişiklikler membranın lipit bileşimine ileri derecede bağlıdır. Akışkanlık bileşimindeki yağ asidi ve kolesterol tarafından kontrol edilir. Akışkanlık üzerine ısı ve bileşimin etkileri de araştırılmıştır. Hücreler dış şartlar değiştiğinde sabit bir akışkanlığı sağlamak için lipid bileşimini yeniden düzenlediği tespit edilmiştir (Nelson ve Cox, 2005).

Hücre zarındaki trans yağ asidi konsantrasyonu arttıkça viskozite artar, akışkanlık azalır. Hücre zarındaki TFAların artışı reseptör ve enzim aktivitesinde de değişikliklere neden olabilmektedir.

Bu çalışmada, diyet ile alınan trans-9 18:1 octadecanoik asit izomerinin, hücre zar akışkanlığı üzerine etkisi sonucu meydana gelen değişikliklerin, karaciğer hücre zarı Na/K ATP'az enzim aktivitesi ve lipid metabolizması ile ilişkilerini araştırdık.

2. LİTERATÜR BİLGİ

2.1.Lipidler

2.1.1. Lipidlerin tanımı

Lipidler, birbirleriyle kimyasaldan ziyade fiziksel nitelikler yönünden ilişkili heterojen bir grup bileşiktir. Bunların ortak özellikleri suda görece çözünmeyip, eter, kloroform ve benzen gibi polar olmayan çözügenlerde çözünmelidir (Murray ve ark, 2004).

Endojen olarak organizmada sentezlenebilen bu bileşikler hayvansal ve bitkisel besinlerle de ekzojen olarak sağlanmaktadır. Lipidler yapılarında bulunan yağ asidi çeşitlerine göre değişik fonksiyonlar üstlenirler. Bunlar şöyle özetlenebilir.

- Lipidler yüksek enerjili bileşiklerdir. Organizmanın enerji deposu olarak iş görür ve metabolik yakıt sağlarlar.
- Deri altında ve bazı organların çevresinde ısı yalıtıcısı ve koruyucu olarak görev yaparlar.
- Biyolojik membranlarda fonksiyonel ve yapısal bileşikler olarak yer alırlar.
- Elektriksel yalıtıcı olarak etki ederek, miyelinli sinirler boyunca depolarizasyon dalgalarının yayılmasını sağlarlar. Bu nedenle sinir dokusunun içinde bulunan lipid bileşenleri fazladır.

Lipidler kimyasal yapılarına göre yağ asitleri, açilgliseroller, kolesterol, apolipoproteinler ve lipoproteinler olmak üzere beş gruba ayrılır.

2.1.2. Yağ asitlerinin genel yapısı ve sınıflandırılması

Doğada bulunan ve yapıları bugüne kadar açıklanan 200 kadar yağ asidi vardır. Bugüne kadar yapısı açıklanan yağ asitleri en az iki ve en çok yirmi altı karbon atomu içerirler (Gürdöl ve Ademoğlu, 2006).

Doğada bulunan yağ asitlerinin farklı yapılarına karşın, belirli gruplar halinde incelendiğinde kendi aralarında homolog seriler oluşturdukları görülür.

Genel bir kaide olarak, zincir yapısı dallanma göstermeyen ya da düz zincirli yağ asitleri şeklinde adlandırılan yağ asitleri yapılarında çift sayıda karbon atomu içerirlerken, zincir yapısı dallanma gösteren izo-yağ asitlerinin içerdiği karbon atomu sayısı çift ya da tek sayıda olabilmektedir. Ancak yağ asitlerinin zincir yapısındaki farklılıklar sadece düz ya da dallanmış yapıda olmaları ile sınırlı değildir. Substitüe, doymuş, doymamış veya halkalı yapıda olup olmamalarına göre de farklılıklar ortaya çıkabilmektedir.

- Düz zincirli yağ asitleri
 - Doymuş yağ asitleri
 - Doymamış yağ asitleri
 - Çift bağ içeren yağ asitleri (Alken yapısında olanlar)
 - Üçlü bağ içeren yağ asitleri (Alkin yapısında olanlar)
- Substitüe olmuş yağ asitleri
- Halka içeren (siklik) yağ asitleri
- Dallanmış zincirli (izo-) yağ asitleri

2.1.2.1. Yağ asitlerinde izomeri

Organik bileşiklere özgü olan izomeri yağ asitlerinde de fiziksel ve kimyasal özellik farklılıklarına neden olan tüm izomeri şekilleri söz konusudur. Yağların değişik koşullarda hidrojenasyonu sırasında, zincirde farklı yerlerde bulunan çift bağların doyması ya da yağların oksidatif tepkimeler sırasında doymamış bağların metil ve karboksil yönünde kayması ile ortaya çıkmaktadır (Saldamlı, 2005).

Doymamış yağ asitlerinde belirlenen önemli izomeri çeşitleri yerel (pozisyon) ve uzay (geometrik) olarak iki grupta incelenir (Saldamlı, 2005).

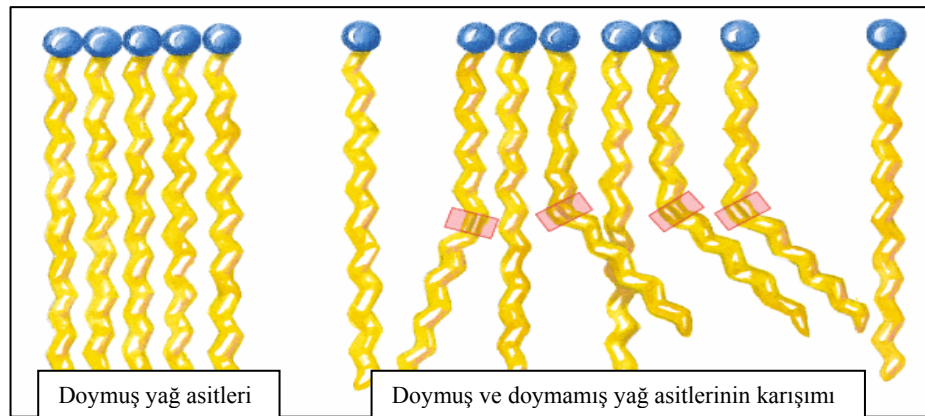
Yerel izomeri şekillerinde zincir üzerindeki belirli atom veya işlevsel grupların farklı yerleşim göstermesinden doymamış yağ asitlerindeki çift ya da üçlü doymamış bağların aynı sayıda olmalarına karşın zincir üzerindeki yerlerinin farklı karbon atomları olmasından kaynaklanmaktadır.

Zincir izomeri olarak adlandırılan birinci izomeriye, izovalerik asitle aynı kapalı formülle gösterilen kaproik asitin molekül yapısı ve buna bağlı özellikleri birbirinden çok farklı olması örnek olarak gösterilebilir (Saldamlı, 2005).

Geometrik izomeri çift bağlar ucundaki karbon atomlarına bağlı karbon atomlarının konfigürasyonuna göre şekillenir; cis ve trans olarak iki izomer oluşur (Mensink ve Katan, 1990).

Cis konumda bu iki komşu karbon çift bağın aynı tarafındadırlar. Çift bağla birbirine bağlı atomlar bu bağın eksenini etrafında dönmediklerinden, cis izomeri durumunda yağ asidinin zinciri bu noktada bükük olur ve zincirin hareket serbestisi azalır. Bir zincirde ne kadar çok cis konumlu çift bağ olursa zincirin esnekliği o derece azalır. Çok sayıda cis bağ olan yağ asitleri serbestçe hareket edebildikleri bir ortamda oldukça eğri bir biçimleri olur. Örneğin, bir tane çift bağlı oleik asitte bir "köşe" bulunur; linolenik asit, iki çift bağıyla belirgin bir eğriliğe sahiptir; alfa-linolenik asit ise üç cis bağından dolayı çengel görünümlü olmayı tercih eder. Hareket serbestisi olmayan ortamlarda, örneğin yağ asitleri lipit zarında fosfolipitlerin parçası iken veya yağ damlacıklarındaki trigliseritlerin parçası iken, cis bağları yağ asitlerinin sıkı istiflenmelerine engel olur, bu da lipit zarının veya yağ damlasının ergime sıcaklığını azaltır (Saldamlı, 2005).

Trans konumda çift bağlı karbonlara komşu iki karbon çift bağın karşı taraflarında yer alırlar. Bu yüzden zincir fazla eğilmez ve bu tür yağ asitlerinin şekilleri doymuş yağ asitlerine benzerler. (Şekil 2.1.) Çift bağ cis pozisyonunda ise hidrokarbon zincirine 30°C'lik açı yapar (Gürdöl ve Ademoğlu, 2006).



Şekil 2.1. Doymuş ve doymamış yağ asitlerinin kümelenmesi (Nelson ve Cox, 2005).

2.1.3. Lipoproteinler

Lipidler plazmanın sulu yağısından dolayı sınırlı olarak çözündüklerinden, taşınmaları için stabilize edilmeleri gerekir. Lipoproteinler kanda lipidleri taşıyan özel komplekslerdir. Her bir lipoprotein sınıfı, farklı miktarlarda bulunan benzer bileşenlerden oluşur.

Lipoproteinler hidrofobik iç kısmı ve hidrofilik yüzeyi ile makromoleküler bileşiklerdir. İç kısmı triaçilgliserol ve kolesterol esterleri içerir. Amfipatik moleküllerden olan yüz kısmı ise, kolesterol fosfolipidler ve apoproteinlerden oluşur.

Kan plazmasında dört önemli lipoprotein vardır, bunlar %50-90 oranında lipid ihtiva ederler. Lipoproteinler yoğunluklarına göre sınıflandırılırlar. Lipidler proteinlerden daha az yoğunluğa sahiptir. Bu nedenle bir lipoproteinin lipid miktarı ne kadar fazla ise dansitesi o kadar düşüktür (Tablo 2.1). Klinik ölçümlerde plazma lipoproteinleri, yapılarındaki proteinler nedeniyle elektroforetik olarak α , pre β ve β 'ya göç eden partiküller olarak ayrılır(Gürdol ve Ademoğlu, 2006).

Tablo 2.1. Lipoproteinlerin sınıflandırması

Tipi	Yoğunluk(gr/cm ³)	Apoprotein
Şilomikron	<0.94	Apo,A,B,C
Çok Düşük Dansiteli Lipoproteinler(VLDL)	0.940-1.006	Apo,B,C,E
Düşük Dansiteli Lipoproteinler(LDL)	1.006-1.063	Apo,B
Yüksek Dansiteli Lipoproteinler(HDL)	1.063-1.210	Apo,A

Şilomikronlar: İnsan lipoproteinlerinin en büyük sınıfı olup, ince bağırsaklardan dokulara triaçilgliserol ve kolesterol taşıyan lipoproteinlerdir.

Çok Düşük Dansiteli Lipoproteinler(VLDL): Karaciğerden dokulara triaçilgliserol, kolesterol ve kolesterol esterleri taşıyan lipoproteindir.

Düşük Dansiteli Lipoproteinler(LDL): Çok düşük dansiteli lipoproteinlerin lipid kısımlarının parçalanmasıyla meydana gelirler. Kolesterolün periferik dokulara dağılımı, hedef hücrelerin plazma membranı üzerindeki LDL spesifik reseptörüne bağlanmasıyla düzenlenir (Bhavagan ve ark, 1992). Karaciğer dışındaki dokularda kolesterol sentezini düzenler. Yapısında en fazla kolesterol bulunduran lipoproteindir.

Yüksek Dansiteli Lipoproteinler(HDL): Yapılarında protein ve fosfolipit fazla miktarda bulunur. Hem karaciğer hem de bağırsakta sentezlenip salınır. HDL₂ ve HDL₃ alt gruplarıdır. HDL alt grupları, ultrasantrifügasyon ve kimyasal çöktürme ile ayrılır (Luc ve ark, 1991).

Bu lipoproteinler apoprotein bir kabukla ve polar lipidlerle çevrilmiş hidrofobik lipidlerin bir halkasından ibarettir. Apoproteinlerin 8 tipinin özellikleri bilinmektedir. Bunlar, Apo A-I, A-II, B, C-I, C-II, C-III, D ve E olup çözünebilir yüksek hidrofobik lipidlerle kompleks haldedirler. Bu yapıların protein komponentleri, spesifik yerlere partiküler lipidlerin girmesini ve çıkmasını organize ederler.

Plazma lipoproteinleri, karaciğer ve bağırsak tarafından sentez edilir ve salgılanırlar. Şilomikronlar triaçilgliserol yönünden zengindirler ve %2 den daha az bir protein içeriğine sahiptirler. Şilomikronlardaki triaçilgliseroller, birkaç dakika içerisinde adipoz dokunun kapillarlarında ve diğer periferik dokularda lokalize olmuş lipazlar tarafından hidrolize edilirler. Kalıntı kolesterol olarak bilinen kolesterol artıkları karaciğer tarafından toplanır. Çok düşük dansiteli lipoproteinler, öncelikle karaciğer tarafından sentez edilir. VLDL, endojen olarak sentezlenmiş triaçilgliserollerini adipoz dokulara bırakırlar. Kolesterol kalıntıları, kolesterol esterleri yönünden zengin olan LDL ile taşınırlar. LDL'nin rolü, kolesterolü periferik dokulara taşımak ve bu yerlerde kolesterol sentezini düzenlemektir. Karaciğerde sentezlenen HDL fosfolipid ve kolesterol yönünden zengindirler. HDL'nin rolü kolesterolü periferik dokulardan karaciğere taşımaktır.

2.1.4. Kolesterol

Plazma ve intrasellüler membranların başlıca bileşeni olan kolesterolün plazma düzeyi sağlıklı kişilerde 150-200mg./100ml. dir. Plazmada total kolesterolün $\frac{3}{4}$ ester, $\frac{1}{4}$ serbest halde bulunur ve lipoproteinlerin içinde taşınır. Bireylerin kan kolesterol derişiminin belirlenmesinde kalıtsal etmenler en büyük rolü oynar. Kan kolesterolünün azaltılmasında etkili çevresel ve besinsel etmenler arasında en yararlı olanı, beslenmede kullanılan doymuş yağ asitlerinin yerine doymamış yağ asitlerinin geçirilmesidir (Murray ve ark, 2004).

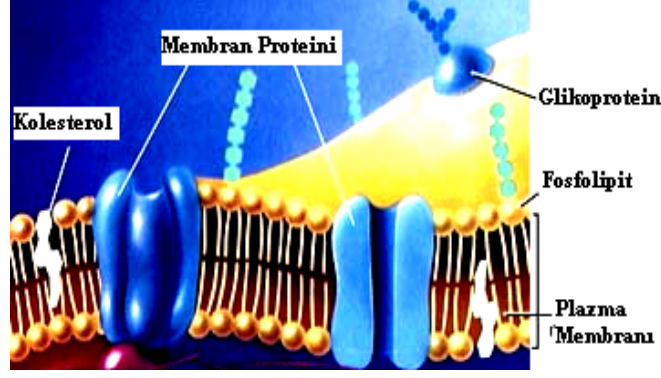
Doymamış yağ asitlerinin kolesterol düşürücü etkisi; LDL reseptör sayısının bu yağ asitleriyle artış yönünde düzenlenmesi, doymuş yağ asitleriyle de azalış yönünde düzenlenmesi nedeniyle, LDLnin katabolik hızındaki artışa bağlı olarak kolesterolün plazmadan dokulara geçişinde artmadan kaynaklandığı konusunda kanıtlar bulunmaktadır (Murray ve ark, 2004).

2.2. Hücre Zarı

2.2.1. Hücre zarının yapısı

Hücre zarı hücreyi saran, bulunduğu çevreden ayıran ince ve elastik bir yapıda 7,5-10 nanometre kalınlığındadır. Hücreyi kesintisiz kuşatarak hücreye şekil kazandırır. Hücre zarı, hücre membranı ya da plazmalemma olarak isimlendirilir.

Biyolojik zarlar lipid ikili tabakadan oluşur. Her iki tarafta periferik ve integral proteinler bulunur. Zar lipidleri ikili tabakanın iki tekli tabakası arasında asimetrik olarak dağılmıştır, fakat bu asimetri zar proteinlerinde olduğu gibi şart değildir (Şekil 2.2.). Örneğin, plazma zarında belirli lipidler tipik olarak öncelikle dış tekli tabakada ve diğerleri iç tekli tabakada bulunur, fakat nadiren bir lipid bir tarafta bulunabilir diğer tarafta bulunmayabilir (Nelson ve Cox, 2005). Lipid çift tabakasının meydana gelmesinde en etkili güç hidrofobik etkileşimlerdir. Bu etki sulu ortamda proteinlerin tutulmasında da önemli role sahiptir. Hidrokarbon kuyruklar arasında van der Waals bağları vardır. Ayrıca polar baş gruplarla su molekülleri arasında hidrojen bağları ve elektrostatik etkileşimler vardır.



Şekil 2.2. Hücre zarının yapısı (www.genetikbilimi.com).

Zarların biyolojik etkinlikleri önemli fiziksel özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Zarlar esnektir, kendi kendini tamir edebilir ve seçici olarak polar katılara geçirgendir. Esneklikleri hücre büyümesi ve hareket esnasında hücreye şekil değiştirebilme olanağı sağlar. Kırılma ve tekrar yapışabilme kabiliyetleri ile iki zar eksositozda olduğu gibi füzyon (birleşme) veya endositozda olduğu gibi tek zarlı bölüm hücresel yüzeylerde büyük yarıklar oluşturmadan iki bölüm oluşturmak için füzyon (bölünerek ayrılma) yapabilirler (Nelson ve Cox, 2005).

Hücre zarı aynı zamanda yüklü parçacıklara karşı seçici-geçirgenlik göstermesi, sinir iletiminin temelini oluşturan elektriksel özellikleri açısından da uygundur.

2.2.2. Hücre zarındaki yapısal lipidler

Biyolojik membranların ana yapısını, polar moleküllerin ve iyonların geçişinde bir engel olarak rol oynayan çift tabakalı lipidler oluşturur. Hücre membranını oluşturan lipid tabakasının son derece önemli bir görevi vardır. Hücrenin hayatta kalması, hücre zarının hem içeriden hem de dışarıdan su geçirmemesine bağlıdır. Aynı zamanda %70'i su olan hücreye, suyun da sürekli olarak giriş-çıkış yapması gereklidir. (Nelson ve Cox, 2005).

Hücrede bulunan lipidlerin çoğundaki hidrokarbon zinciri uzunluğu, genellikle 16 ila 18 karbon atomu kadardır. Bu zincir uzunluğu birkaç nedenden dolayı en ideal değerdedir.

18 karbondan daha uzun zincirler biyolojik kullanım açısından hiç çözünür değildir, su içinde hiçbir şekilde hareket edemezler. 16 karbondan daha az olanlar da çok fazla çözünürdür. Bu uzunluktaki zincirlerden oluşan lipitler de ya sıvıdırlar ya da canlılardaki metabolizma süreçlerinin gerçekleştiği sıcaklıklarda sıvıya yakın haldedirler (Saldamlı, 2005).

Plazma zar lipitlerinin %50-60 kadarını fosfolipidler, %20 kadarını kolesterol geri kalanını da glikolipidler oluşturur. Lipid çift tabakanın çatısını amfipatik moleküller olan fosfolipidler ve glikolipidler kurar. Çift tabaka oluşumuna katılmayan kolesterol membran akışkanlığının düzenlenmesinde rol oynar (Gürdol, Ademoğlu, 2006).

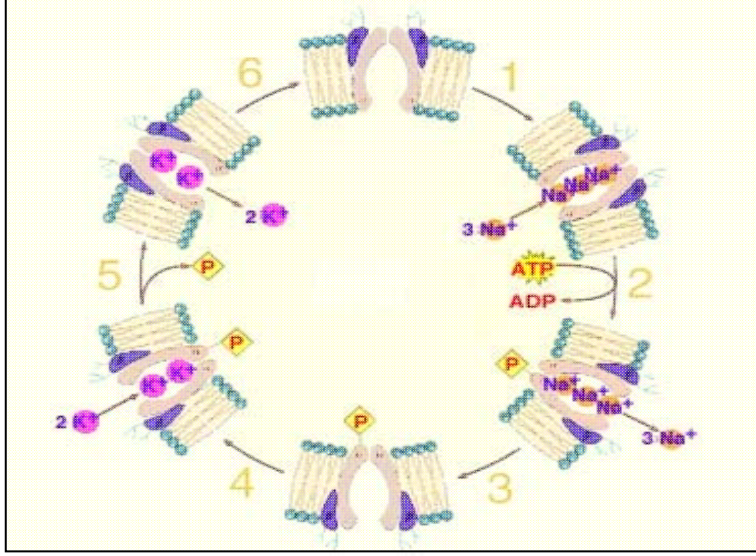
Zarlarda en sık bulunan sterol, hemen sadece memeli hücresi plazma zarlarında bulunan, ama daha az miktarda mitokondriler, golgi aygıtı ve çekirdek zarlarında yer alan kolesteroldür. Genelde plazma membranının dış tarafına doğru gidildikçe daha bol bulunur. Fosfolipid tabakalarının arasında hidroksil grubu sulu fazda diğer sterol kısmı zarın içine doğru yerleşmiştir (Murray ve ark, 2004). Yüksek ısılarda esnek olmayan sterol halkası fosfolipidlerin açıl zincirleri ile etkileşir. Bunların hareketlerini kısıtlar ve böylece membranın akışkanlığı azalır.

2.3. Plazma Membranı Na/K ATPaz'ı

1957 yılında Jens Skou ATP yi hidroliz eden bu enzimi keşfetmiştir. Bu enzim tüm memeli hücrelerin membranlarında bulunmaktadır. Sodyum pompası hücre membranının iki tarafındaki iyon gradientlerinin düzenlenmesi ve korunmasında sorumlu ana protein olarak karşımıza çıkar ve bu nedenle hücrelerin düzgün çalışması, membran potansiyelinin ve ozmotik dengenin korunması için mutlaka gereklidir (Köksoy, 2002).

Hemen hemen tüm hücre çeşitlerinde hücre içi sodyum derişimi düşük, potasyum derişim yüksektir ve Na/K ATPaz enzimi plazma membranın bir tarafından öbür tarafına aktif transport sağlar. Birçok hayvan hücresi hücre içi potasyum konsantrasyonu 120Mm ve 160Mm arasında korunurken, hücre içi sodyum konsantrasyonu genellikle 10Mm'den daha azdır (Wills, 1985).

Na/K ATPaz yapısı ve enzimatik özellikleri iyi tanımlanmış bir aktif transport sistemidir. Na,K-ATPaz iki subüniteden meydana gelen ve bir ATP molekülünün hidrolizinden açığa çıkan enerjiyi kullanarak 3 Na⁺ iyonunun hücre dışına, 2 K⁺ iyonunun hücre içine translokasyonunu sağlayan integral membran proteinidir. Şekil 2.3.'de bu mekanizma şematize edilmiştir.



Şekil 2.3. Na/K ATPaz'ın mekanizması (<http://sports.ankara.edu.tr>)

Tüm hücreler ürettikleri ATP'nin büyük bir yüzdesini hücre içi Na⁺ ve K⁺ konsantrasyonlarını sağlamak için kullanırlar. ATP hidrolizinden sağlanan enerji, Na⁺ ve K⁺'un elektrokimyasal bir gradientle endergonik transportunu sağlar. Bu olayın gerçekleşmesi hakkında ortaya atılan bir görüşe göre; Na/K ATPaz enzimi transport olayı esnasında sodyum varlığında ATP tarafından fosforile edilir. Na/K ATPaz iki önemli komponentten oluşur.

Çalışmalara göre ATP, Na/K ATPaz' sadece Na varlığında fosforile eder. Aynı zamanda Aspartil Fosfat deposu da yalnızca K varlığında hidroliz için substrat olur. Bu da enzimin iki tane konformasyonel bölgeden oluştuğunu ispatlar. Bu iki bölge E₁ ve E₂'dir. Bu iki bölgenin, değişik görevlere sahip farklı alt bölümleri vardır. Değişik katalitik aktivite ve değişik bağlanma spesifiteleri göstermeleri örnek olarak verilebilir (Montgomery ve ark., 1993).

E1 kapalı, içe bakan ve yüksek afiniteli Na bağlayıcı bölüme sahiptir ($K_m=0,2$ mM, bu da intraselüler sodyumunkinden küçük) ve Na^+ ile bağlandığı zaman aktive ürün E1-P' nin oluşması için ATP ile reaksiyona girer. E2-P dışa bakan yüzde ve yüksek K bağlayıcı affiniteli bölümdür ve K bağlandığı zaman P_i+E2' yi oluşturmak için hidrolize olur.

2.4. Trans Yağ Asitlerinin Hücre Zarına Etkisi

Trans yağ asiti içeren çeşitli gıda maddeleri çok eski çağlardan bu yana insan beslenmesinde yer almaktadır. Beslenmedeki TFA'nın ana kaynağı margarinlerdir ve margarinlerde %15-27 oranında trans yağ asidi bulunmaktadır. Trans yağ asidi tüketiminin birçok olumsuz etkileri bulunmaktadır.

Bu etkilerle ilgili 1996 yılında AOCS (Amerikan yağ kimyası derneği)'nin ABD Chicago'da düzenlenen sempozyumunda TFA ile ilgili olumsuzluklar şu şekilde sıralanmıştır.

—Alınan miktara bağlı olarak HDL kolesterol miktarını düşürür, LDL kolesterol miktarını arttırır. Toplam kolesterol miktarını %20-30 arttırır.

—Diyabet riskini yükseltir.

—Bağışıklık sistemini etkiler.

—Hücre boyutu, hücre sayısı, lipid sayısı ve yağ asidi bileşiminde değişikliğe sebebiyet verir.

— Gerekli yağ asidi eksikliğini arttırır. Düşük kilo ile doğuma neden olur.

— Alyuvarların insüline tepkisini azaltır, böylece şeker hastalarında potansiyel olarak istenmeyen etkiler oluşturur.

TFA, cis-doymamış yağ asitlerinden çok doymuş yağ asitlerine benzer metabolize edilirler ve doymuş yağ asitleri gibi LDL kolesterol düzeyini yükseltirken HDL kolesterol düzeyini düşürürler. Kan kolesterolündeki yükseliş ile kalp-damar hastalıkları arasındaki ilişki incelendiğinde kalp-damar rahatsızlıkları olanlarda çoğunlukla kandaki LDL ile taşınan kolesterolün yüksek olduğu gözlenmiştir. HDL'nin kanda yükselmesi durumunda ise kolesterol karaciğere taşınarak safra ve benzeri ürünlere indirgenmekte ve böylece damar sertliği olasılığı azalmaktadır.

Bilinen alışmalarda TFAnın tüketimeinin HDL kolesterol konsantrasyonunun dūřürdüęü, LDL kolesterol konsantrasyonu ve trigliserit düzeyini artırdığı görülmüştür (Linchtenstein ve ark 2003, Zock ve ark 1992, Sundram ve ark 1997, Wijendran ve ark 1992).

Doymamış yağ asitlerinin trans formunun cis formuna göre vücutta oksidasyonu zor olduğundan vücutta kullanım oranı az, birikme oranı çok fazladır. Yapılan çalışmalarda trans-9 18:1 elaidik asitin tüm vücuttaki kullanım oranı cis formuna göre çok düşük olduğu görülmüştür. Trans 18:1 izomerleri trans 18:2 izomerlerine göre vücutta daha az bulunur. Alınan trans yağ asidi miktarı arttıa esansiyel yağ asitlerinin eksikliğinin arttığı görülmüştür (Greyt, 1998)

Kolesterol, zar akışkanlığında spesifik ve karmaşık bir etkiye sahiptir. Geçiř ısısını belirgin bir şekilde etkilemediği fakat absorpsiyon hızını dūřürdüęü ve geçişi uzattığı da görülmektedir. Bu, kolesterolün, geçiş ısısının üstünde zarı pekiştirdiği ve altında ise zarın oluşmasındaki düzenliliği engellediği, hipotezinin ortaya atılmasına yol açmıştır (Murray ve ark, 2004).

Yapılan son çalışmalar beslenme alışkanlıklarının önemini vurgulamaktadır. Yeterli ve dengeli beslenme programı içinde yüksek MUFA (tekli doymamış yaę asidi) alımı kan kolesterolü, LDL kolesterol, VLDL kolesterol, TG (trigliserit) düzeylerini dūřürmekte, HDL kolesterol düzeyini ise yükseltmektedir. Doymuř yaę asitlerinin ve TFAların ise plazma trigliserit konsantrasyonunda artışa ve HDL kolesterol seviyesinde bir azalmaya sebep olduğu belirtilmiştir. TFAların ana kaynağı olan margarinlerin olumsuz etkilerinden dolayı beslenmeden çıkarılması gerektiği dūřünülmektedir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Vakaların Oluşturulması ve Gruplandırma

Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edilen 6 aylık ortalama 300g. ağırlığında Sprague Dawley cinsi erkek 45 rat iki hafta süreyle 20 ± 1 °C oda ısısında, %35–40 nisbi nemde ve saatte 15 kez oda hava değişimi yapılan odalarda her kafeste 5 hayvan olacak şekilde yağsız rat pellet yemi ile beslendi ve önlerinde devamlı su bulunduruldu. Kullanılan rat yeminde kullanılan hammaddeler tablo 3.1'de, kullanılan rat yeminin bileşimi tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Rat yemi bileşiminde kullanılan hammaddeler

Tahıllar ve tahıl ürünleri
Nişasta sanayi yan ürünleri
Mermer tozu
Yağlı tohum küspeleri
DCP
Sodyum bikarbonat
Tuz
Melas
Sentetik aminoasitler
Vitamin ve mineral premiksler
Küf önleyici ve antioksidanlar

Kullanılan yemin özellikleri

- Yüksek kaliteli protein kaynakları kullanılmıştır.
- Esansiyel aminoasitlerce zengindir.
- Sindirilebilirliği yüksektir.
- Yağ haricinde ratların tüm besin madde ihtiyaçlarını karşılar.

Tablo 3.2. Kullanılan rat yeminin bileşimi

Kuru Madde	En az	%88	
Ham Protein	En az	%23	
Ham selüloz	En çok	%5	
Ham kül	En çok	%8	
HCl'de Çöz. Kül	En çok	%1	
Kalsiyum	En az- En çok	%1-1,3	
Fosfor	En az	%0,9	
Sodyum	En az- En çok	%0,5-0,6	
NaCl	En çok	%1	
Lizin	En az	%1,35	
Metiyonin	En az	%0,45	
Sistin	En az	%0,35	
Vit.A	En az	15000	IU/kg
Vit.D	En az	3300	IU/kg
Vit.E	En az	40	mg/kg
Vit.B2	En az	5	IU/kg
Vit.B12	En az	20	mcg/kg
Vit.K3	En az	5	mg/kg
Metabolik Enerji	En az	3100	kcal/kg.

Ratların beslenmesi Destallats ve ark. çalışmalarındaki periyoda göre yapıldı (Destallats ve ark. 2005). İki haftalık yağsız rat pellet yemi ile beslenmeden sonra ratlar rastgele iki gruba ayrıldı. Aynı ortamda çalışmaya devam edildi.

1. Grup (kontrol grubu): 20 sağlıklı rata yağsız diyetle 10 gün daha devam edildi.
2. Grup (çalışma grubu): 25 sağlıklı rata rasyonlarına ilaveten sabahları gavaj yoluyla 50mg/gün elaidik asit izomeri (trans-9 18:1 oktadecenoik asit izomeri) 10 gün süreyle verildi.

3.1.2. Numunelerin Alınışı ve Hazırlanışı

Tüm ratların 24.gün sonunda Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde eter inhalasyonu yapılarak, kalpten kanları alındı ve hipovolamik şok neticesinde yaşamları sonlandırıldı.



Alınan kan numuneleri jelli biyokimya tüpüne alındı. Kan alımını takiben serum örneği 3000 devir/dakika toplam 10 dakika santrifüj edilerek elde edildi. Serum numuneleri ikiye ayrılıp bir kısım numuneler GS (gaz kromatografi) ile yağ asit kompozisyonu tayini, ikinci kısım numuneler trigliserit, total kolesterol, HDL kolesterol HDL₂ kolesterol, HDL₃ kolesterol, Apo-A ve Apo-B tayinleri çalışılmak üzere -80°C'de saklandı.

Karaciğer loblarından doku örnekleri alındı. Çalışma için serum fizyolojik içeren cam tüplere konuldu ve tüpler kodlanarak etiketlendi.



Selçuk Üniversitesi Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'nda serum fizyolojik içindeki karaciğer dokularında Harik ve ark. metodu kullanıldı. Karaciğer dokusundan 1g. tartılarak üzerine 0,32 M sukroz ve 0,5mM EDTA içeren 5 ml. tris-HCl tamponu (pH=7,4) ilave edilip homojenize edildi. Homojenat +4°C'de 3000rpm. de 10dk. santrifüj edildi. Oluşan süpernatant alınıp, +4°C'de 11000 rpm.de 90 dk. santrifüj edildi. Oluşan pellete 1ml.tris-HCl tamponu ile muamele edildi. İki kısma ayrıldı. Bir kısım GS ile yağ asit kompozisyonu çalışılmak üzere, ikinci kısım Na⁺/K⁺ ATPaz aktivitesi çalışılmak üzere -80°C'de saklandı.

3.1.3. Kullanılan Cihazlar:

1. Soğutmalı santrifüj: Hettich Universal 30RF
2. Homojenizatör: Microson XL Ultrasonic Cell Disruptor
3. Hassas Terazî: Nüve-NM 110
4. Vorteks: Nüve 400
5. Gaz kromografi: Hewlett-Packard Agilent model 6890N
6. Benmari: Nüve 400

3.1.4. Kullanılan Reaktifler:

Elaidic Acid (Trans-9 18:1 oktadecenoik asit), cat no: sigma E-4637

1. Karaciğer dokusu Na/K ATPaz tayini için:

Tris, cat no: sigma 8168

HCl, cat no: sigma 920-1

NaCl, cat no: sigma 9625

MgCl₂, cat no: sigma 8266

Na₂ATP, cat no: sigma A7699

SDS, cat no: sigma L 4509

EDTA, cat no: sigma E-1644

2.HDL₂ kolesterol ve HDL₃ kolesterol ölçümleri için:

Dekstran sülfat, cat no: D-8787 -5G.(Ma:50000)

MgCl₂.6H₂O, cat no: sigma M 0250

3.Gaz Kromatografisi ile yağ asit kompozisyonunun tayini için;

KOH, cat no: merk B 415

n-hekzan, cat no: merk K 606

Kloroform, cat no: merk K630

Bortriflorür-metanol kompleksi, cat no: merk S624

NaCl, cat no: sigma 9625

3.1.5. Kullanılan Çözeltiler;

1. Karaciğer dokusu Na/K ATPaz tayini için;

0,1N HCl çözeltisi: Bir miktar distile su üzerine 8,3ml. HCl asit ilave edilip son hacim litreye tamamlandı.

0,08M Tris çözeltisi: Bir miktar distile su içerisinde 9,688g. tris çözüldükten sonra son hacim litreye tamamlandı.

Yıkama Çözeltisi: Bir miktar distile su içerisine 26,56ml. 0,1N HCl, 0,08M tris çözeltisi eklendi. 9,125g. NaCl tartılıp çözeltiliye ilave edilip son hacim litreye tamamlandı.

10mM pH=7,4 tris tamponu: Bir miktar distile su üzerine 42,5ml. 0,1N HCl'den, 50ml. 0,08M tris çözeltisinden eklenip son hacim litreye tamamlandı.

Medium çözeltisi: Bir miktar distile su içerisinde 5,85g. NaCl, 0,3728g. KCl, 1,2198g. $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, 0,0372g. EDTA ve 1,65g. Na_2ATP çözüldü. Üzerine 159,41ml. HCl ve 187,54ml. 0,08M tris ilave edilip son hacim litreye tamamlandı.

%10'luk Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) çözeltisi: 10g. SDS tartılıp bir miktar suda çözüldü ve son hacim 100ml'ye tamamlandı.

2. HDL₂ kolesterol ve HDL₃ kolesterol tayini için:

Dekstran sülfat solüsyonu: 10g. Dekstran sülfat ve 0,5 mol MgCl₂.6H₂O (Ma:203,5 olduğuna göre, 101,75g.) bir miktar suda çözülüp son hacim litreye tamamlanır.

Dekstran sülfat solüsyonu: 10g dekstran sülfat ve 1,5 mol MgCl₂.6H₂O (Ma:203,5 olduğuna göre, 305,25g.) bir miktar suda çözülüp son hacim litreye tamamlanır.

3. Serum ve karaciğer dokusu yağ asit kompozisyonu tayini için:

%2'lik metanolik NaOH çözeltisi: 20 g. NaOH üzerine litreye tamamlanıncaya kadar methanol ilave edildi.

%6'lık KOH çözeltisi: 6g. KOH üzerine 100ml.ye tamamlanıncaya kadar distile su ilave edildi.

Kloroform/hekzan (1/4) karışımı: 250ml. kloroform ile 750ml. hekzan karışımı hazırlandı.

3.2. Metod

3.2.1. Karaciğer dokusu Na/K ATPaz enzim aktivitesi tayini

Selçuk Üniversitesi Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'nda daha önceden homojenize edilmiş -80°C'de saklanmış numuneler çözüldü ve Harik ve ark. metoduna göre tayin edildi. Bu numunelerden 200 µl. alındı ve üzerine 800 µl. medium çözeltisi ilave edildi. 37°C'de 10dk. inkübe edildi. Daha sonra su banyosundan çıkarılarak hiç bekletilmeden reaksiyonu durdurmak için 50 µl %10'luk SDS ilave edildi. Alt üst edilerek süpernatandan Boehringer-Mainkeimin photometer 5010marka spektrofotometrede, Diasis Diagnostic Systems marka inorganik fosfor ve Spinreact marka mikroprotein ticari kitleri kullanılarak Sistem Tıbbi Tahliller Laboratuvarı'nda inorganik fosfor ve mikroprotein tayini yapıldı. Sonuç µ mol Pi.mg protein⁻¹.10 dk⁻¹ olarak hesaplandı.

3.2.2. Serumda trigliserit, total kolesterol, LDL kolesterol, HDL kolesterol, Apo-A ve Apo-B tayinleri

TG, HDL kolesterol, total kolesterol tayinleri Nakiboğlu Hastanesi Dade Behring marka, RXL HM model biyokimya otoanalizörlerinde yapılmıştır.

Apo-A ve Apo-B tayinleri Meram Devlet Hastanesi Dade Behring marka PRO-SPEC model nefelometre ile human kiti ile yapılmıştır.

3.2.3. Serumda HDL₂ kolesterol ve HDL₃ kolesterol tayini

HDL₂ kolesterol ve HDL₃ kolesterol tayinleri çift presipitasyon yöntemine dayanan Warnick ve arkadaşlarının metodu kullanıldı. Nakiboğlu Hastanesi Dade Behring marka, RXL HM model biyokimya otoanalizörlerinde HDL kolesterol ölçümü yapıldı.

Bu metotta 1ml. serum üzerine 100 μ l, litresinde 10g. dekstran sülfat ve 0,5mol MgCl₂.6H₂O solüsyonu ilave edilip karıştırıldıktan sonra santrifüjde 3200 rpm de santrifüj edilip, süpernatandan HDL kolesterol tayin edildi. Aynı süpernatandan 0,5 ml. alınıp üzerine 50 μ l, litresinde 10 g. dekstran sülfat ve 1,5mol MgCl₂.6H₂O içeren solüsyon karıştırılıp santrifügasyon tekrarlandı. İkinci santrifügasyonda HDL₂ kolesterol çöktürüldüğü için, bulunan kolestrol HDL₃ kolesterol oldu. Aradaki farktan HDL₂ kolesterol hesaplandı.

3.2.4. Karaciğer dokusunda ve serumda yağ asit kompozisyonunun tayini

Karaciğer dokusu ve serum yağ asit kompozisyonlarının analizleri Selçuk Üniversitesi Biyoloji Bölümünde HP (Hewlett Packard) Agilent marka, 6890N model, FID (Flame Ionization Detector, alev iyonlaştırıcı dedektör) dedektörlü otomatik injektörlü gaz kromatografi cihazı ile gerçekleştirildi.

Karaciğer ve serum numunelerinin yağ asit esterlerinin hazırlanmasında Folch ve ark. (1957)'nin metodlarından yararlanıldı. Yağ asitlerinin gaz kromatografik analizleri için Moss ve ark. (1974) metodundan yararlanılarak gerçekleştirildi. Yağ asitlerinin metilleştirilmesinde BF₃-CH₃OH (bortriflorür-methanol) kompleksi kullanıldı.

Sabunlaştırma:

1. Kapaklı deney tüpündeki çözücü N₂ gazı altında uçuruldu.
2. Kapaklı deney tüpündeki kolonlara 10ml. metanolde %6'lık KOH çözeltisi konulup, sürekli karıştırılarak 95°C'de 1 saat sabunlaştırıldı. Kapaklı deney tüpü çalkalanarak köpürtülüp N₂ gazı altında uçuruldu.
3. Kalan kısım ayırma hunisine alınıp, üzerine 10ml. Kloroform/hegzan(1/4) karışımı ilave edilerek karışım 100 kez çalkalandı. Bu işlem 3 kez tekrarlandı.
4. Faz oluşuktan sonra alttaki faz ikinci bir ayırma hunisine alındı ve pH'sı ölçüldü. pH 'sı 2 oluncaya kadar 8N'lik H₂SO₄ damla damla ilave edildi. Üzerine 10ml. kloroform/hegzan ilave edilip 100 kez çalkalanıp üstteki faz alındı. Bu işlem 3 kez tekrarlandı.

Metilleştirme:

1. Ayrılan faz küçük cam tüpe alınıp çözücü N₂ gazı altında uçuruldu.
2. 2. 3ml. BF₃-CH₃OH ilave edilip benmaride 95°C'de 15 dakika bekletildi.
3. Benmariden alınan tüp soğutulup ayırma hunisine alındı. Üzerine 5ml. doymuş NaCl, 5ml. kloroform/hegzan(1/4) ilave edilip huni 100 kez çalkalanıp dinlendirildi.
4. Üstteki kalan çözücü metilleşmiş yağ asitleri temiz bir deney tüpüne alınır.
5. Tüpteki çözücü 2-3ml. kalacak şekilde N₂ gazı altında uçuruldu.
6. Numune ependorfa aktarılarak -30°C'de çalışılincaya kadar saklandı.

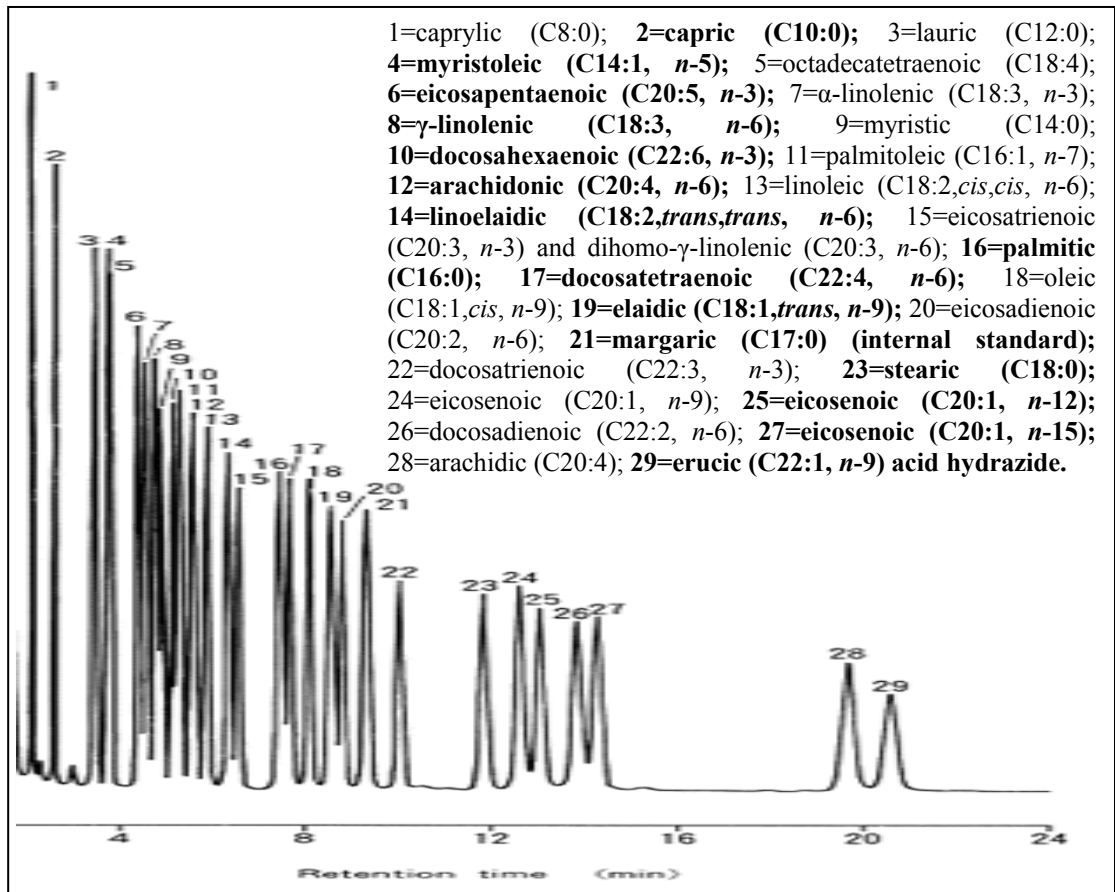
Gaz kromatografi cihazının injektör bloğu sıcaklığı 240°C, dedektör bloğu sıcaklığı 250°C, fırın sıcaklığı ise 160°C olarak ayarlandı. Kolona sıcaklık programı uygulandı. Kolon fırın sıcaklığı 160°C'den başlayıp 2 dakika devam etti, dakikada 4°C artarak 185°C'ye ulaşıldı ve dakikada 1°C artarak 200°C'ye ulaşip bu sıcaklıkta 46,75 dakika daha bekletildi. Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanıldı, akış hızı dakikada 1mililitre ve hava akış hızı dakikada 30mililitre olarak ayarlandı.

Analiz için metilleştirilmiş yağ asidi numunelerinden bir mikrolitre gaz kromotografi cihazına injekte edildi. Gaz kromotografi cihazında numuneler 3 tekrarlı olarak analizlendi.

Kromotogramdaki piklerin hangi yağ asidine ait olduğu standartların bağıl alıkonma zamanları (relative retention time) ile karşılaştırılarak belirlendi. Tablo 3.3'de örnek bir standart yağ asit kompozisyonu kromotogramı gösterilmiştir.

Kromotogramdaki piklerin % alan miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları hesaplanarak tablo halinde verildi.

Tablo 3.3. Gaz komotografisi serum standart yağ asit kompozisyonu kromotogramı



4. BULGULAR

Diyet ile trans-9 18:1 oktadecenoik asit verilen çalışma grubu ile kontrol grubunun karaciğer dokusu yağ asit kompozisyonlarının gaz kromotografi ölçümü ile hesaplanan alan değerleri tablo 4.1’de verildi.

Tablo:4.1.Çalışma ve kontrol grubunda karaciğer dokusu yağ asit kompozisyonunu

Yağ Asidi (% alan)	Kontrol $x \pm SD$	Çalışma $x \pm SD$
C 14:0	0,49 ± 0,37	0,49 ± 0,45
C 15:0	0,31 ± 0,06	0,35 ± 0,26
C 15:1	0,16 ± 0,07	0,19 ± 0,20
C 16:0	17,60 ± 1,65	18,38 ± 3,79
C 16:1t	0,23 ± 0,14	0,23 ± 0,09
C 16:1	1,35 ± 0,55	1,02 ± 0,50
C 17:0	0,67 ± 0,09	0,70 ± 0,15
C 17:1	0,44 ± 0,11	0,38 ± 0,13
C 18:0	21,29 ± 1,23	21,58 ± 2,16
C 18:1 t9	0	0,35 ± 0,32
C 18:1	9,62 ± 0,58	9,35 ± 1,82
C 18:2 6n	15,52 ± 0,72	16,69 ± 1,86
C 18:3 3n	0,33 ± 0,07	0,29 ± 0,14
C 18:3 6n	0,14 ± 0,08	0,17 ± 0,07
C 20:1	0,23 ± 0,13	0,33 ± 0,41
C 20:2	0,20 ± 0,09	0,17 ± 0,11
C 20:4 6n	25,52 ± 2,19	23,39 ± 4,41
C 20:5	0,34 ± 0,18	0,29 ± 0,28
C 22:4	0,38 ± 0,14	0,46 ± 0,15
C 24:1	0,26 ± 0,14	0,23 ± 0,12
C 22:5	0,78 ± 0,37	0,72 ± 0,30
C 22:6	2,45 ± 0,42	2,91 ± 0,67
Diğer yağ asitleri	1,24 ± 0,70	1,32 ± 0,95
TOPLAM	99,87 ± 0,70	99,99 ± 0,95

Serumda ve karaciğer dokusunda, çalışma ve kontrol grubunun yağ asit kompozisyonları incelendi ve çalışma grubunda trans-9 18:1 yağ asidinin olduğu belirlendi. Çalışma grubundaki C18:2 6n değerinde artış, C20:4 6n değerinde azalış belirlendi (p<0,05).

Aynı ratlardan alınan serum numunelerinde ölçülen HDL, HDL₂, HDL₃, LDL kolesterol, trigliserit, total kolesterol değerleri tablo 4.2’de verildi.

Tablo 4.2.Kontrol ve çalışma grubunda HDL, HDL₂, HDL₃, LDL kolesterol, trigliserit, total kolesterol değerlerinin karşılaştırılması

<i>(mg/dl)</i>	<i>Kontrol x ± SD</i>	<i>Çalışma x ± SD</i>	<i>t</i>	<i>P</i>
<i>HDL kolesterol</i>	29,11 ± 3,62	24,55 ± 3,98	3,84	0,000
<i>HDL₂ kolesterol</i>	25,21 ± 3,07	21,05 ± 4,06	3,73	0,001
<i>HDL₃ kolesterol</i>	3,89 ± 1,45	3,64 ± 1,14	0,63	0,534
<i>LDL kolesterol</i>	16,60 ± 9,46	21,8 ± 10,9	-1,65	0,107
<i>Total kolesterol</i>	61,4 ± 11,7	59,6 ± 12,3	0,48	0,636
<i>Trigliserit</i>	78,6 ± 13,0	79,0 ± 13,0	-0,10	0,92

HDL kolesterol ve HDL₂ kolesterol değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmış olduğu belirlendi (p<0,05). HDL₃, total kolesterol ve trigliserit değerlerinde istatistiksel açıdan bir fark bulunmadı (p>0,05).

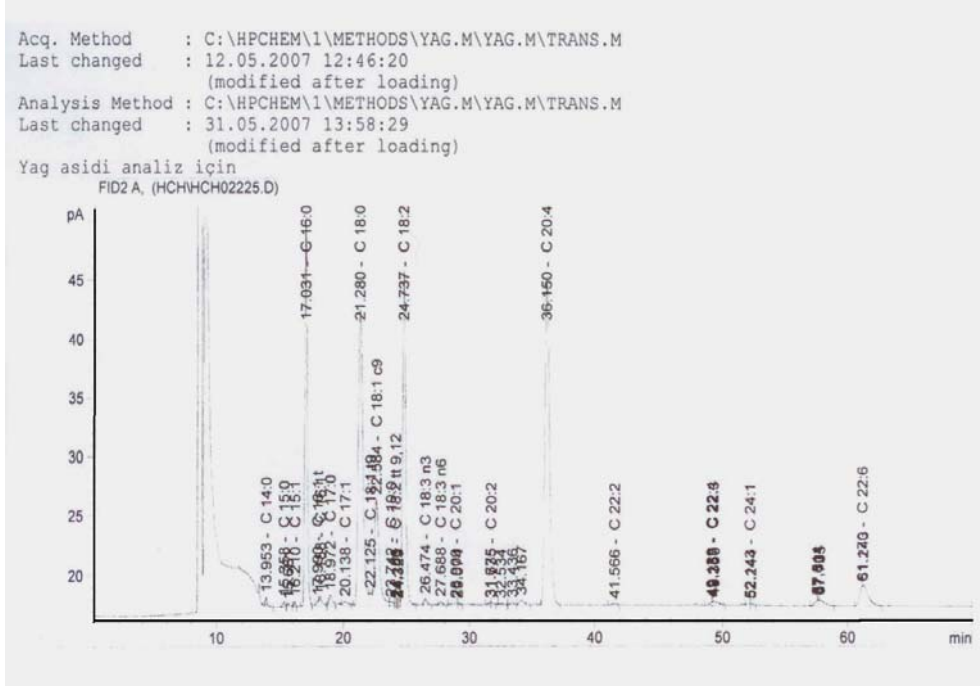
Tablo 4.3.Kontrol ve çalışma grubunda Na/K ATPaz (μ mol Pi.mg protein⁻¹.10 dk⁻¹) değerlerinin karşılaştırılması

	<i>Kontrol x ± SD</i>	<i>Çalışma x ± SD</i>	<i>t</i>	<i>P</i>
<i>Na/K ATPaz</i>	2,930 ± 0,714	2,971 ± 0,500	-0,21	0,837

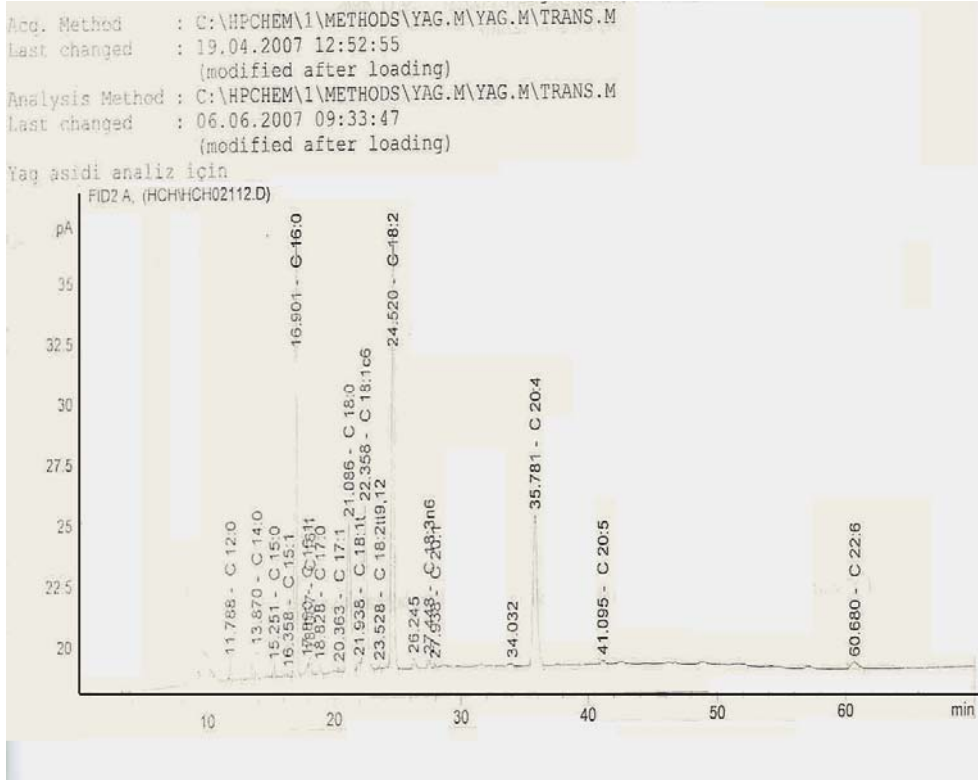
Tablo 4.3’de gösterilen Na/K ATPaz aktivitesi değerleri karşılaştırıldığında kontrol ve çalışma grupları arasındaki fark anlamlı bulunmadı (p>0,05).

Trans-9 18:1 yağ asidi alımı ile HDL kolesterol, HDL₂ kolesterol, HDL₃ kolesterol, LDL kolesterol, trigliserit, total kolesterol, Na/K ATPaz aktivitesi arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p>0,05).

Apo-A ve Apo-B değerleri veteriner kiti bulunamadığı için human kiti ile çalışılmış. Sonuçlar kayda değer bulunamamıştır.



Karaciğer dokusu çalışma grubu gaz kromotogramı



Serum numunesi çalışma grubu gaz kromotogramı

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Doymuş ve trans yağların insan sağlığı ve beslenme üzerindeki etkileri araştırmalara yol açan konulardır. Çeşitli bilimsel çalışmalarda, trans izomerlerinin insan sağlığı üzerine olumsuz etkilerinin bulunduğu belirtilmektedir(Lichtenstein ve ark. 2003, Rozenn ve ark. 2006).

TFA doğal olarak geviş getiren hayvanların süt ve etinde az miktarda biyohidrojenizasyon yoluyla bulunmaktadır. Ruminant hayvanlar tarafından tüketilen yağlardaki ester bağları mikrobiyal lipazlar tarafından katalizlenen reaksiyon ile hidroliz edilir. Bu oluşum doymamış yağ asitlerinin biyohidrojenasyonu için gereklidir. Oksijensiz ortamda, bakteriler yağ asitlerinin çift bağlarını metabolizma sırasında üretilen hidrojen için akseptör olarak kullanır. Bu işlem, doymamış yağ asitlerinin doymasına ve TFA'nin oluşmasına yol açmaktadır (Sanders, 1988).

Trans yağ içeriği yüksek yağların büyük çaplı ticari üretimleri, gelişen margarin endüstrisiyle başlamıştır. Margarin ve şorteningler genellikle kısmi hidrojenasyon yöntemiyle elde edilen bitkisel yağlardan üretilmektedir. Hidrojenasyon işlemleri süresince, doymamış yağ asitlerinin trans izomerleri meydana gelmektedir.

Taşan ve Dağlıoğlu (2005), yaptıkları çalışmada bitkisel yağlara uygulanan hidrojenasyon işlemi o yağın kimyasal fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirdiğini belirtmişlerdir. Hidrojenasyon koşullarına bağlı olarak üç tip reaksiyon meydana geldiğini açıklamışlardır. Hidrojen, cis-karbon-karbon çift bağına ilave edilip hidrojen ile doymuş hale getirilebilir. Cis formu hidrojen almadan trans formuna izomerize olabilir veya çift bağın yağ asidi molekülü boyunca hareketiyle pozisyon izomeri oluşabileceği belirtilmektedir.

Duchateau ve ark (1996), yaptıkları çalışmada rafine sıvı yağlarda trans izomerler kısmi hidrojenize edilmiş yağlardaki izomerlerden tip ve miktar bakımından farklı olduğunu belirtmektedirler. Kısmi hidrojenize bitkisel yağlarda trans-C_{18:1} en fazla bulunan yağ asidi olduğunu, rafine sıvı yağlarda ise daha çok di ve trienoik TFA bulunduğunu belirtilmektedir.

Rozenn ve ark (2006), çalışmalarında yaşlı yetişkin kalp hastalarından alınan plazma numunelerinde total lipid ve trans yağ asidi miktarını GC ile tayin etmişler ve ölçümlerde 5 trans 18:1 yağ asidi izomeri, 3 trans 18:2 yağ asidi izomeri ve 2 trans 16:1 izomeri belirlemişlerdir. Yaşlı yetişkinlerdeki kalp hastalıklarında, ani kalp ölümünün ilk başta geldiğini belirtmişler ve kırmızı kan hücre membranlarında trans 18:1 yağ asidi izomerini yüksek düzeyde bulunduğunu, trans 18:1 yağ asit izomerlerinin alımı ile ani kalp ölümü arasında ilişki olduğunu belirtmişlerdir.

Larque ve ark (2000), trans yağ asidi alımıyla rat sütündeki trans yağ asidi miktarının nasıl değiştiğini araştırmışlar ve sütlerde yapılan GC analizleri sonucunda, kontrol grubuna göre total trans yağ asidi miktarında artış olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte trans yağ asidi alımı olan grupta trans 18:1 yağ asidi ve cis/trans 16:1 yağ asidi izomerlerinin miktarında yükselme olduğunu belirtmişlerdir.

Dlouhý ve ark (2003), koroner kalp hastalarında deri altı yağlarında GC yöntemiyle yağ asit kompozisyonunu araştırmışlar ve diyetdeki trans 18:1 yağ asidi ile koroner kalp hastalığı arasında ilişki olduğunu belirtmişlerdir.

Hayvanlar üzerinde gerçekleştirilen çeşitli çalışmalar göstermiştir ki, TFA desaturaz aktivitesini engellemekte ve bu durum 18:2 n-6'nın biyolojik olarak önemli metabolit araşidonik aside (20:4 n-6) dönüşmesinde bozuklukla sonuçlanmaktadır (Anderson ve ark 1975, Lawson ve ark 1983, Mahfouz ve ark 1984).

Çalışmamızda trans-9 18:1 octadecenoik asit izomerinin alımının rat serumundaki ve karaciğer dokusundaki yağ asit kompozisyonunu nasıl etkilediğini inceledik. Çalışma grubunda trans-9 18:1 yağ asidi belirlenirken kontrol grubunda rastlanmaması, trans-9 18:1 oktadecenoik asit izomerinin vücutta sentezlenmeyip diyetle alındığını göstermektedir. Çalışma grubundaki C18:2 6n değerindeki artış ve C20:4 6n değerindeki azalış, trans-9 18:1 oktadecenoik asit izomerinin desaturaz aktivitesini etkilediğini, C18:2 6n yağ asidinin C20:4 n6 yağ asidine dönüşümünü engellediğini göstermektedir.

Serumlardaki yağ asit kompozisyonları incelendiğinde karaciğer dokusu ile orantılı trans-9 18:1 oktadecenoik asit içerdiği görüldü. Karaciğer dokusu ve serum yağ asit kompozisyonunun paralel olduğu belirlendi.

Zock ve Katan (1997) araştırmalarında, TFA(trans yağ asidi)'ların LDL kolesterol ve lipoprotein(a) seviyelerini yükselttiği, HDL kolesterol seviyesini ise düşürdüğü, bunun sonucunda da koroner kalp hastalığı riskinin yükseldiği belirtiliyor. Özellikle fast-food zincirlerinde kullanılan kızartma yağlarının %30'un üzerinde TFA bulunduğuna dikkat çekerek, yağ üreticilerinin bu tip ürünlerde de TFA içeriğini olabildiğince düşürmeleri gerektiği belirtmişlerdir.

Ascherio ve Willett (1997) araştırmalarında, TFA tüketiminin ABD'de yılda 30.000 erken ölüm vakası ile ilişkilendirilebileceği ileri sürülüyor. Bu rakamın epidemiyolojik çalışma sonuçları ile uyumlu olduğunu vurgulayan araştırmacılar, beslenme açısından bilinen herhangi bir yararı olmayan TFA'ların tüketiminin resmi politikalar ile kısıtlanması gerektiğini belirtiyorlar.

TFA'lardan alınan enerjinin (%2) doymamış yağ ile değiştirilmesi ile koroner hastalık riskinin %53 oranında azaltılmaktadır. Aynı şekilde, doymuş yağlardan alınan enerjinin (%5) doymamış yağlarla değiştirilmesi de, koroner hastalık riskini %42 oranında azaltmakta olduğu belirlenmiştir (Hu ve ark 1997).

Pedersen ve ark (1998) çalışmalarında, Norveç'te 1958 yılında 15g/gün olan TFA tüketiminin 30 yılda 4g/gün'e düştüğü belirtilirken, en az bunun kadar önemli ve çok daha fazla miktarlarda tüketilen doymuş yağlara da kalp sağlığı açısından dikkat edilmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

Tüketilen yağ ile koroner kalp hastalıklarından kaynaklanan ölüm vakaları arasındaki ilişkinin ortaya konulmasından sonra yapılan çalışmalarda doymuş/doymamış yağ asitleri arasındaki oranın ve kolesterolün lipit metabolizmasındaki etkisi ve kalp hastalıklarıyla ilişkisi net bir şekilde belirlenmiştir (Zyriax ve Windler, 2000).

Kandaki toplam kolesterol konsantrasyonundaki veya LDL kolesterol miktarındaki artışın kalp damar hastalıklarına yakalanma riskini artırdığı, HDL kolesterol miktarındaki artış ise bu riski düşürdüğü belirlenmiştir (Feldman, 1999).

Doymuş ve TFAların alımı ile plazma lipit düzeylerinin artışı arasında ilişki olduğunu, cis doymamış yağ asitleri yerine doymuş ve TFAlar geldiğinde her ikisin de nispeten total ve LDL kolesterol düzeylerini artırdığını ileri sürmüşlerdir (Mersink

ve Katan 1990). Doymuş yağ asitleri yerine TFA geldiğinde, HDL kolesterol düzeyinin azaldığı, trigliserit düzeyinin yükseldiği ve total kolesterolün HDL kolesterole oranının azaldığını belirtmişlerdir (Lichtenstein ve ark. 2003).

Peter ve ark (1992) yaptıkları çalışmada diyetle alınan TFAların serum LDL kolesterol düzeyine ve serum HDL kolesterol düzeyine nasıl etki ettiklerini araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada, LDL kolesterolün yükseldiğini, HDL kolesterolün düştüğünü ve HDL/LDL oranının azaldığını, trigliserit düzeyinin fazla değişmediğini belirtmişlerdir.

Wijendran ve ark (2003), çalışmada, gerbillerin belirli diyetsel SFA'ların (özellikle 16:0 ve 18:0) trans-18:1 ile değiştirilmesine karşı lipoprotein yanıtlarını karşılaştırmışlardır. Belirli bir biçimde, trans yağ diyetleri, 18:0 yönünden zengin olan diyetle karşılaştırıldığında plazma TC düzeyini yükselmiş ve hem 16:0 yönünden zengin hem de 18:0 yönünden zengin diyetlerle karşılaştırıldığında plazma TG düzeyini büyük oranda yukarı çekilmiştir. Plazma TG ve VLDL (çok düşük yoğunluklu lipoprotein) kolesterol düzeylerindeki belirgin artış göstermektedir ki, TFAnin neden olduğu lipeminin önemli bir yönü, gerbillerde bozulmuş TG metabolizmasıyla sonuçlanması olduğunu belirtmişlerdir.

Trans yağ diyetleriyle beslenen gerbillerde artan karaciğer trans-18:1 ve trans-18:2 CE ve daha düşük cis-18:1n-9 CE yüzdesi, 18:0 yönünden zengin diyetle beslenen gerbillere karşılaştırıldığında göstermektedir ki, ACAT(Açıl-KoA-kolesterol açıltransferaz), trans yağ asidi tüketimi esnasında hem trans-18:1 hem de cis-18:1'den yararlanmışır. TFA, gerbillerde diyetsel 16:0 veya 18:0'le değiştirildiğinde, plazma TG ve karaciğer ağırlığında önemli bir artışa neden olmuştur. Bundan başka, TFAnin olumsuz lipemik etkileri, 16:0 ve 18:0'le karşılaştırıldığında zaman içerisinde daha da kötüleşmeye devam etmiştir. Bu durum TFAnin alımının sürdürülmesi halinde Tip II diyabet mellitus ve CHD için bilinen bir risk faktörü olan hipertrigliseridemiye yol açarak TG metabolizmasına zarar verebileceğini göstermektedir (Wijendran ve ark 2003).

Trans yağ asidinin neden olduğu hipertrigliserideminin temelini oluşturan mekanizma iyi karakterize edilmemiştir. Bir olasılık, bastırılmış hepatik reseptörü aracılığıyla TG yönünden zengin lipoproteinlerin alımı nedeniyle bozulmuş TG

klerensi ve/veya 18:0 veya 16:0'ya bağlı olarak adipoz ve iskeletsel kas vasıtasıyla bozulmuş VLDL-TG dışarı atılmasıdır. İkinci bir olasılık, trans-18:1 iskeletsel kasta ve adipozda insülin faaliyetini azaltmıştır ve asilasyon stimulating protein (ASP) aktivitesini zayıflatmıştır, yağ asitlerinin başarısız geri dönüşümüne neden olmuş ve hipertrigliseridemiye yol açmıştır. Aslında, Matthan ve ark.(2001) tarafından gerçekleştirilen yeni bir çalışmada, TFA'nın ASP aktivitesine zarar verdiği, bu durumun, adipoz dokunun VLDL TG alımını azalttığı ve orta derecede hiperkolesterolemik postmenapozal kadınlarda plazma TG seviyesini yükselttiği bildirilmiştir (Wijendran ve ark 2003).

Çeşitli klinik çalışmalarda yüksek trans yağ asidi alımıyla birlikte plazma TG düzeyinde önemli bir artış gözlenirken, diğer çalışmalarda (Roos ve ark 2001, Almendingen ve ark 1995) bu tür bir etki belirtilmemiştir.

Görüldüğü gibi yapılan birçok klinik ve epidemiyolojik çalışmalarda, diyetle alınan TFA'nın plazma lipit profilini etkilediğini belirlenmiştir. Alınan TFA ile HDL kolesterol ve LDL kolesterol arasındaki ilişki dikkat çekicidir. TFA alımıyla HDL kolesterolün azalmakta olduğu ve LDL kolesterolün artmakta olduğu görülmüştür.

Kalp hastalığıyla negatif korelasyon gösteren HDL alt fraksiyonunun HDL₂ olduğuna inanılmaktadır. Bizim çalışmamızda ise HDL kolesterol ve HDL₂ kolesterol seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0,05$).

Çalışmamızda HDL kolesterol ve HDL₂ kolesterolün alçalması trans-9 18:1 oktadecenoik asit izomerinden kaynaklandığı sonucuna varıldı. LDL kolesterol düzeyindeki artış ise istatistiksel olarak önemli bulunmadı. Trigliserit ve total kolesterol değişimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Yağ asit molekülü içeriği membran fosfolipidlerinde muhtemel hasara yol açabildiğini, fosfolipidlerin ve biyolojik sistemlerin lipid membran yapı ve fonksiyon ilişkisini etkilediğini belirtmişlerdir (Odutuga ve ark, 1997).

Jimoh ve ark (2007), çalışmalarında 10 gün boyunca diyetlerine birinci gruba yer fıstığı yağı, ikinci gruba yer fıstığı yağını okside edip verdikleri ratlarda karaciğer, beyin, akciğer, böbrek ve kalp dokularında Na/K ATPaz aktivitesini ölçmüşlerdir. Fıstık yağı ile beslenen grupta Na/K ATPaz aktivitesi beyin ve böbrek dokularında

yüksek bulunmuş. Karaciğer, kalp ve akciğer dokularında kayda değer bir değişme olmadığını belirtmişlerdir.

Woollett ve ark (1992), PUFA, karaciğer LDL reseptörü aktivitesini tamamen düzenlediği ve diyet kolesterolün varlığında hepatik alımı ve plazma kolesterolünün klerensını arttırdığı gösterilmiştir. Buna ek olarak, PUFA ve cis-18:1 ACAT aktivitesini geliştirmekte ve karaciğer CE (kolesterol esterleri) içeriğini SFA (doymuş yağ asidi)'yla bağlantılı olarak arttırmaktadır.

Ghafoorunissa (2001), çalışmasında sıçanları %6en trans yağ asidiyle beslemenin diyetel 18:2 n-6 düzeylerinin düşük olması halinde (%2en) intestinal BBM PUFA(poli doymamış yağ asitleri) kompozisyonunda değişikliğe yol açtığını belirtmektedir. BBM PUFA kompozisyonundaki değişikliklere rağmen, akışkanlıkta değişme olmadığını ve bunun nedeninin, membran akışkanlığını belirleyen başlıca etkenler olabileceğini, şöyle ki, doymuş olmama derecesinde ve kolesterolün fosfolipidlere molar oranında değişiklik olmadığını belirtmiştir. Diyetle daha yüksek düzeyde 18:2 n-6 bulunduğunda, TFA intestinal BBM PUFA kompozisyonunda değişikliğe neden olmadığını belirtmiştir.

Mevcut çalışmada BBM PUFA kompozisyonundaki değişikliklere rağmen, ekstrinsik (sukraz, γ glutamiltranspeptidaz) ve intrinsik (D-glikoz ve L-lösin) proteinlerin aktivitelerinde, alkalın fosfataz hariç değişiklik olmamıştır.

Membran akışkanlığında değişiklik gerçekleşmeksizin alkalın fosfataz aktivitesinde meydana gelen artış diyetel TFA nedeniyle enzimin yakınında bulunan lipit mikroçevrede meydana gelen yapısal değişimden kaynaklanabilmektedir. Bu tür değişimler genel akışkanlıkta değil, bu küçük etki alanlarındaki lipit akışkanlığında değişikliğe neden olabildiğini, bu suretle alkalın fosfataz aktivitesinde değişikliğe neden olduğunu belirtmişlerdir (Ghafoorunissa 2001).

Ekstrinsik enzimler (disakkaridaz, lösin aminopeptidaz ve γ glutamil transpeptidaz) membran lipidlerinden etkilenmezler. Ancak, membran lipid kompozisyonundaki değişimler, intrinsik proteinlerin (alkalın fosfataz ve glikoz ve aminoasit taşıyıcı) aktivitelerinde değişikliğe neden olabilmektedir (Brasitus ve ark 1979).

Çalışmamızda trans-9 18:1 oktadecenoik asit izomeri ile beslenen ratların karaciğer hücresi zar lipid bileşiminde trans-9 18:1 oktadecenoik asit izomeri belirlendi, Na/K ATPaz aktivitesi değerleri kontrol ve çalışma grupları arasında karşılaştırıldığında fark anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

Trans yağ asitleri ile yapılan çalışmaların etkisi ile, birçok gelişmiş ülkede gıdalardaki ve özellikle de margarinlerdeki TFA oranı %50'lerden %5'lerin altına düşürüldü. Türkiye de 1995 yılında ilk defa trans yağ içermeyen margarin piyasaya sürüldü. 1997 yılında da tüm kase margarinlerindeki TFA oranını %1'in altına indirdi. Bunu izleyen yıllarda da paket margarinlerdeki trans yağları %2'nin altına düşürdü. Koroner kalp hastalıklarından korunmada bu derece önemli bir konunun, ülkemiz gündeminde daha fazla yer alarak tartışılması, diğer yağ üreticilerini de aynı hassasiyeti göstermeye teşvik edecek ve toplum sağlığımızın iyileştirilmesine önemli katkı sağlayacaktır.

6. ÖZET

S.Ü.Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Biyokimya (Tıp) Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi
KONYA-2007

Ayşe KAYA

Diyet ile alınan trans yağ asit izomerlerinden trans-9 18:1 octadecanoik asit izomerinin, ratlarda hücre zar akışkanlığı üzerine etkisi sonucu meydana gelen değişikliklerin, karaciğer hücre zarı Na/K ATPaz enzim aktivitesi ile ilişkilerini araştırdık. Aynı zamanda trans-9 18:1 oktadecenoik asit izomerinin ratlarda lipit metabolizmasını etkileyip etkilemediğini araştırdık.

İki gruba ayırdığımız ratlarda çalışma grubuna 10gün süre ile 50mg/gün trans-9 18:1 oktadecenoik asit izomeri verildikten sonra serum ve karaciğer dokusunda gaz kromatografi analizleri ile yağ asit kompozisyonu incelendi. Çalışma grubunda trans-9 18:1 yağ asidi belirlenirken kontrol grubunda rastlanmadı. Bu da trans-9 18:1 oktadecenoik asit izomerinin vücutta doğal olarak bulunmadığını gösterdi. Çalışma grubundaki C18:2 6n değerindeki anlamlı artış ve C20:4 6n değerindeki anlamlı azalış, trans-9 18:1 oktadecenoik asit izomerinin desaturaz aktivitesini etkilemiş olabileceği, C18:2 6n yağ asidinin C20:4 n6 yağ asidine dönüşümünü engelleyebileceği kanaatine varıldı.

Trans-9 18:1 oktadecenoik asit ile beslenen ratlarda HDL kolesterol, HDL₂ kolesterol düzeylerinde artış belirlendi. HDL₃ kolesterol, LDL kolesterol, total kolesterol, trigliserit ve Na/K ATPaz aktivitesi değerlerinde değişme gözlenmedi.

Bulgularımız literatür ışığında tartışıldığında TFAların serum HDL kolesterol ve HDL₂ kolesterol seviyelerini değiştirdiğini ve bu sonucunda TFA içerikli beslenmenin kalp hastalıklarını yakalanma riskini arttırabileceği kanaatine varıldı.

7. SUMMARY

Selcuk University
Graduate School of Health Sciences
Department of Biochemistry (Medicine)
Master of Sciences Thesis
KONYA – 2007

Ayşe KAYA

The relationships between the variations due to the effect of trans-9 18:1 octadecanoic acid isomer from the trans fatty acid isomers taken with diet on the cell membrane fluidity of rats and the Na/K ATPaz enzyme activity of the liver cell membrane were investigated. At the same time, it was researched whether the trans-9 18:1 octadecanoic acid isomer affects the lipid metabolism of the rats or not.

Dividing the rats into two groups, the study group took trans-9 18:1 octadecanoic acid isomer with 50mg/day dosage for 10 days and then the gas chromatography analyses and fat acid composition in the liver tissue were researched. Since there was met trans-9 19:1 fat acid in the study group, none was detected in the control group; which proves that the trans-9 18:1 octadecanoic acid isomer naturally do not exist in the body. It was believed that the considerable increase in the C18:2 6n and considerable decrease in the C20:4 6n values of the study group might influence the desaturase activity of the trans-9 18:1 octadecanoic acid isomer and prevent the transformation of the C18:2 6n fat acid into C20:4 n6 fat acid.

The rats fed with trans-9 18:1 octadecanoic acid presented increases in the HDL cholesterol and HDL₂ cholesterol levels. No changes were seen in the amounts of the HDL₃ cholesterol, LDL cholesterol, total cholesterol, triglyceride and Na/K ATPaz activity.

When our results were discussed in the light of the literature, it was stated that the TFAs change the serum HDL cholesterol and HDL₂ cholesterol levels, and consequently this condition can increase the risk of the heart diseases.

8. KAYNAKLAR

- Almendingen K, Jordal O, Kriefulf P, Sandstad B, Pedersen JL. (1995)** *Effects of partially hydrogenated fish oil, partially hydrogenated soybean oil and butter on serum lipoproteins and Lp(a) in men*, J Lipid Res. 36: 1370-1384.
- Anderson RL, Fullmer CS and Hollenbach EJ.(1975)** *Effects of trans isomers of linoleic acid on the metabolism of linoleic acid in rats*, J Clin Nutr. 105: 393-406.
- Ascherio A and Willett WC.(1997)** *Health effects of trans fatty acids*, American J Clin Nutr. 66: 1006-1010.
- Bhavagan NV and ark. (1992)** *Medical Biochemistry*, Jones and Bartlett Publishers London: 447-67.
- Brasitus TA, Schacter D and Mamouneas T. (1979)** *Functional interctions of lipids and proteins in rat intestinal microvillus membranes*, Biochemistry, 18: 4136-4144.
- Defronzo RA, Tobin, JD and Andersen R. (1979)** *Glucoseclamp technique method for quantifying insulin secretion and resistance*, Am. J Physiol. 237:214-223.
- Destailats F, Berdeaux O, Sebedio JL, Juaneda P, Gregoire S, Chardingy JM, Bretillon L and Anders P. (2005)** *Metabolites of conjugated isomers α -linolenic acid(CLnA) in the rat*. J Agric Food Chem.53:1422-1427.
- Dlouhý P, Tvrzická E, Staňková B, Vecka M, Žák A, Straka Z, Fanta J, Páchl J, Kubisová D, Rambousková J, Bílková D and Anděl M. (2003)** *Higher Content of 18:1 Trans Fatty Acids in Subcutaneous Fat of Persons with Coronarographically Documented Atherosclerosis of the Coronary Arteries*, Annals of Nutrition & Metabolism, 47:302-305.

Duchateau GSMJE, Van OHJ and Vasconcellos MA. (1996) *Analysis of cis-fatty acid and trans-fatty acid isomers in hydrogenated and refined vegetable oils by capillary gas-liquid chromatography*, J Am Oil Chem. Soc, 73: 275-282.

Folch J, Lees M and Sloane Stanley GH.(1957) *A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue*, J Biol Chem. 63;226:497-509.

Ghafoorunissa SA. (2001) *Influence of dietary partially hydrogenated fat high in trans fatty acids on lipid composition and function of intestinal brush border membrane in rats*, J Nutr Biochem. 12:116-120.

Greyt W. (1998) *Effect of physical refining on selected minor components in vegetable oils*, Promotor: Huyghebaert, A. Gent, 218 p.

Gürdöl F ve Ademoğlu E. (2006). *Biyokimya kitabı*. Nobel tıp kitabevleri.

Harik SI, Doui GH and Dick APK, (1985) *Specific ouabain binding to brain microvessels and choroids plexus*, J Cereb blood flow metab; 36:333-338.

<http://sports.ankara.edu.tr>.

Hu FB, Stampfer MJ, Manson JE, Rimm E, Colditz GA, Rosner BA, Jimoh FO, Kitao T and Hattori K.(1983) *Inhibition of erythrocyte ATPase activity by aclacynomycin and reverse effect of ascorbate on ATPase activity*. Experientia 39:1362-1366.

Köksoy AA. (2002) *Na⁺,K⁺-ATPase: A review*, Journal of Ankara Medical School, Vol 24 No2,

Largue E, Zamora S and Gil A.(2000) *Dietary trans fatty acids affect the essential fatty-acid concentration of rat milk*, J Nutr. 130:847-851.

Lawson LD, Hill EG and Holman RT.(1983) *Suppression of arachidonic acid in lipids of rat tissues by dietary mixed isomeric cis and trans octadecenoates*, J Nutr. 113,1827-1835.

- Lewis B, Cohen RD, Lewis B, Danman AM et al. (1990)** *The metabolic and molecular basis of acquired disease, Hiperlipidemia.* WB Saunders, London:860-920.
- Linchtenstein AH, Erkkila AT, Lamarche B, Schwab US, Jalbert SM, Ausman LM. (2003)** *Influence of hydrogenated fat and butter on CVD risk factors: remnant-like particles, glucose and insulin, blood pressure and C-reactive protein.* *Atherosclerosis.* 171: 97-107.
- Luc G. Bard JM, Lussier Cacan S. et al. (1991)** *High density Lipoprotein particles in octogenarians,* *Metabolism;* 140(12):1238-1243.
- Mahfouz MM, Smith TL and Kummerow FA. (1984)** *Effects of dietary fats on desaturase activities and the biosynthesis of fatty acids in rat-liver microsomes,* *Lipids.* 19, 214-222.
- Matthan NR, Cianflone K, Lichtenstein AH, Ausman LM, Jauhiainen M, Jones PJ. (2001)** *Hydrogenated fat consumption affects acylating-stimulating protein levels and cholesterol esterification rates in moderately hypercholesterolemic women,* *J Lipid Res.* 42: 1980-1990.
- Mersink RP and Katan MB. (1990)** *Effect of dietary trans fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects,* *New England J Med.* 323(7):439-484.
- Montgomery R, Dryer RL, Conway TW and Spector AA. (1993)** *Biochemistry* 4,246-247,Iowa.
- Moss, CW, Lambert MA and Mervin WH. (1984)** *Comparison of rapid methods for analysis of bacterial fatty acids,* *Appl Microbiol* 28:80-85.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW (2004).** *Harper Biyokimya,* Nobel Tıp Kitabevleri.
- Nelson DL and Cox MM. (2005)** *Biyokimyanın ilkeleri, Lehninger,* Palme yayıncılık.

- Odutuga AA and Obaleye JA. (2007)** *Changes in oxidized groundnut oil and its effect on Na/K-ATPase in rat tissues*, J Nutr.6(1):63-67.
- Pedersen JI, Johansson L and Thelle DS. (1998)** *Trans-fatty acids and health*, Tidsskr Nor Laegeforen.118(22):3474-3554.
- Peter L, Zock PL and Katan MB. (1992)** *Hydrogenation alternatives: effect of trans fatty acids and stearic acid versus linoleic acid on serum lipids and lipoproteins in humans*, J Lipid Res. 33: 399-410.
- Rasmussen BM, Vessby B, Uusituba M, Berglund L, Pedersen E, Riccardi G, Rivellese AA, Tabsell L and Hermansen K. (2006)** *Effects of dietary saturated, monounsaturated, and n-3 fatty acids on blood pressure in healthy subjects*, Am J Clin Nutr.83(2):221-227.
- Rivellese AA, Maffettone A, Vessby B, Uusituba M, Hermansen K, Berglund L, Louheranta A, Meyer BJ and Riccardi G. (2003)** *Effects of dietary saturated, monounsaturated and n-3 fatty acids on fasting lipoproteins, LDL size and post-prandial lipid metabolism in healthy subjects*. Atherosclerosis. 167(1):149-207.
- Roos NM, Schouten EG and Katan MB. (2003)** *Trans fatty acids, HDL-cholesterol and cardiovascular disease*, Eur J Med Res.20;8(8):355-402.
- Rozenn NL, Irena B, Mozaffarian D, Sotoodehnia N, Thomas DR, Kuller LH, Tracy RP and Siscovick DS. (2006)** *Plasma Phospholipid Trans Fatty Acids, Fatal Ischemic Heart Disease, and Sudden Cardiac Death in Older Adults*. Circulation 114:209-215.
- Saldamlı İ. (2005)** *Gıda kimyası kitabı*. Hacettepe Üniversitesi yayınları
- Sanders TA, Oakley FR, Crook D, Cooper JA. and Miller GJ. (2003)** *High intakes of trans monounsaturated fatty acids taken for 2 weeks do not influence procoagulant and fibrinolytic risk markers for CHD in young healthy men*, Br J Nutr. 89(6):767-843.

- Sundram K, Ismail A, Hayes KC, Jeyamalar R and Pathmanathan R. (1997)** *Trans (elaidic) fatty acids adversely affect the lipoprotein profile relative to specific saturated fatty acids in humans*, J Nutr Biochem. 127:514-520.
- Taşan M ve Dağlıoğlu O. (2005)** *Trans yağ asitlerinin yapısı, oluşumu ve gıdalarla alınması*, Tekirdağ ziraat fakültesi dergisi.2(1).
- Warnick GR, Benderson JM and Albers JJ.(1982)** *Quantitation of high-density lipoprotein subclasses alter separation by Dextran Sulfate and Mg⁺⁺ precipitation*, Clin Chem.28:1574-1982.
- Wijendran V, Pronczuk A, Bertoli C and HayesKC. (2003)** *Dietary trans-18:1 raises plasma triglycerides and VLDL cholesterol when either 16:0 or 18:0 in gerbils*, J Nutr Biochem.14:584-590.
- Wills ED.(1985)** *Biochemical Basis of Medicine*, Bristol, England.
- Woolett LA, Spdy DK and Ditschy JM. (1992)** *Saturated and unsaturated fatty acids independently regulate low density lipoprotein receptor activity and production rate*, J Lipid Res. 33: 77-88.
- Zock PL and Katan MB. (1992)** *Hydrogenation alternatives: effects of trans fatty acids and stearic acid versus linoleic acid on serum lipids and lipoproteins in humans*, J Lipids Res. 33:399-410.
- Zock PL and Katan MB. (1997)** *Trans fatty acids, lipoproteins, and coronary risk*, Volume 75;3, Including Symposium of the Can. Fed. Biol. Soc.ISSN 1205-7541.Pages 211-216.
- Zyriax BC. and Windler E. (2000)** *Dietary fat in the prevention of cardiovascular disease-a review*, Eur J Lipid Sci Techn. 102:355-365.

9. ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Aydın'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Denizli'de tamamladı. Lisans eğitimini Selçuk Üniversitesi Fen – Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde 2001 yılında tamamladı. Lisans eğitimi süresi içerisinde Selçuk Üniversitesi Eğitim Fakültesi'nde Pedagojik Formasyon eğitimi alarak, bu eğitimini de 2001 yılında tamamladı. 2002- 2003 yılları arasında Türk Standartları Enstitüsü Konya Bölge Müdürlüğü'nde Uzman Kimyager olarak görev yaptı. 2004 yılında S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya (Tıp Fakültesi) Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. 2005 yılında S.Ü. Karapınar Meslek Yüksek Okulu'nda Öğretim Görevlisi olarak göreve başladı ve halen devam etmektedir. Evli ve iki kız çocuk annesidir.

10. TEŞEKKÜR

İlgi ve desteğini gördüğüm S.Ü. Tıp. Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerine, S.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Abdurrahman AKTÜMSEK ve deney süresince kendilerinden yardım aldığım Yavuz ÇAKMAK ve Özmen GÜLER'e ve çalışmalarım süresince her zaman yanımda olan eşim Alpaslan KAYA'ya teşekkür ederim.