

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA (TIP) ANABİLİM DALI

**TRANS-9 18:1 OCTADECENOİK ASİT İZOMERİNİN
SOLUBÜL HÜCRE ADEZYON MOLEKÜLLERİ (sICAM -1 ve
sVCAM-1) VE İNSÜLİN BENZERİ GROWTH FAKTÖR (IGF-
1) DÜZEYLERİNE ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
RAHİM KOCABAŞ

DANIŞMAN
Doç. Dr. MEHMET AKÖZ

KONYA- 2007

I- İÇİNDEKİLER

| | |
|--|-----------|
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. LİTERATÜR BİLGİ | 3 |
| 2.1. Lipidler | 3 |
| 2.1.1. Lipidlerin tanımı ve önemi..... | 3 |
| 2.1.2. Yağ Asitleri | 4 |
| 2.1.2.1. Yağ asitlerinin sınıflandırılması | 5 |
| 2.1.2.2. Yağ asitlerinde cis ve trans izomerliği..... | 6 |
| 2.1.2.3. Trans yağ asitleri | 7 |
| 2.1.2.3.1. Trans izomerlerin yapısı ve özellikleri | 8 |
| 2.1.2.3.2. Trans yağların vücudumuzdaki biyomedikal mekanizması..... | 9 |
| 2.1.3. Lipoproteinler | 11 |
| 2.2. Hücre Adezyon Molekülleri | 11 |
| 2.2.1. İmmünglobulin süper ailesi | 12 |
| 2.2.1.1. İntersellüler adezyon molekülü -1 (ICAM-1) | 13 |
| 2.2.1.2. Vasküler hücre adezyon molekülü -1 (VCAM-1) | 13 |
| 2.3. İnsülin Benzeri Growth Faktör -1 (IGF-1) | 14 |
| 3. MATERYAL VE METOD | 17 |
| 3.1. Materyal..... | 17 |
| 3.1.1. Vakaların oluşturulması ve gruplandırma | 17 |
| 3.1.2. Numunelerin alınışı ve hazırlanışı..... | 19 |
| 3.1.3. Kullanılan cihazlar | 19 |
| 3.1.4. Kullanılan reaktifler ve çözeltiler..... | 19 |
| 3.2. Metod..... | 20 |
| 3.2.1. sICAM-1 tayini | 20 |
| 3.2.2. sVCAM-1 tayini | 20 |
| 3.2.3. IGF-1 tayini..... | 21 |
| 3.2.4. Serumda yağ asit kompozisyonunun tayini..... | 21 |
| 4. BULGULAR | 24 |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ | 26 |
| 6. ÖZET | 31 |

| | |
|---------------------------|-----------|
| 7. SUMMARY | 32 |
| 8. KAYNAKLAR..... | 33 |
| 9. ÖZGEÇMİŞ | 37 |
| 10. TEŞEKKÜR | 38 |

II- ŞEKİL LİSTESİ

| | |
|--|----|
| Şekil 2.1. Yağ asidi molekülleri..... | 5 |
| Şekil 2.2. Cis- trans izomerliği..... | 7 |
| Şekil 2.3. Oleik asit ve Elaidik asit cis- trans izomerliği..... | 8 |
| Şekil 2.4. ICAM-1 in yapısı..... | 13 |
| Şekil 2.5. VCAM-1 in yapısı..... | 14 |
| Şekil 2.6. IGF-1 polipeptid zinciri..... | 16 |
| Şekil 4.1. Trans-9 18:1 yağ asidi değerinin kontrol ve çalışma grubunda karşılaştırılması | 24 |
| Şekil 4.2. sICAM-1 değerinin kontrol ve çalışma grubunda karşılaştırılması. | 25 |
| Şekil 4.3. sVCAM-1 değerinin kontrol ve çalışma grubunda karşılaştırılması. | 25 |
| Şekil 4.4. IGF-1 değerinin kontrol ve çalışma grubunda karşılaştırılması. | 25 |

III-TABLO LİSTESİ

| | |
|---|----|
| Tablo 2.1. Adezyon molekülleri..... | 12 |
| Tablo 3.1. Rat yemi hazırlanmasında kullanılan hammaddeler..... | 17 |
| Tablo 3.2. Rat yeminin bileşimi..... | 18 |
| Tablo 4.1. Kontrol ve çalışma grubunda trans -9 18:1 yağ asidi, sICAM -1, sVCAM-1 ve IGF-1 değerlerinin karşılaştırılması..... | 24 |

IV- KISALTMALAR

| | |
|---|---|
| FAO (Food and Agriculture Organization) | Gıda ve tarım teşkilatı |
| FDA (Food and Drug Administration) | Gıda ve ilaç kurumu |
| FFA (Free Fatty Acid) | Serbest yağ asidi |
| GC (Gas Chromatography) | Gaz kromatografisi |
| HDL (High Density Lipoprotein) | Yüksek yoğunluklu lipoprotein |
| IFN γ (Interferon γ) | İnterferon γ |
| IGF (Insulin Like Growth Factor) | İnsülin benzeri growth faktör |
| IGF-1 (Insulin Like Growth Factor -1) | İnsülin benzeri growth faktör -1 |
| IGF-2 (Insulin Like Growth Factor -2) | İnsülin benzeri growth faktör -2 |
| IGFBP (Insulin Like Growth Factor Binding Protein) | İnsülin benzeri growth faktör bağlayıcı protein |
| IL-1 (Interleukin -1) | İnterlökin -1 |
| IL-4 (Interleukin -4) | İnterlökin -4 |
| LCAT (Lecithin Cholesterol Acyl Transferase) | Lesitin kolesterol açıl transferaz |
| LDL (Low Density Lipoprotein) | Düşük yoğunluklu lipoprotein |
| LFA-1 (Leukocyte Function Associated Molecule -1) | Lökosit fonksiyonu ile ilişkili molekül-1 |
| NO (Nitric Oxide) | Nitrik oksit |
| Ox LDL (Oxidized Low Density Lipoprotein) | Okside düşük yoğunluklu lipoprotein |
| sICAM-1 (Soluble Intercellular Adhesion Molecule -1) | Solübil intersellüler adezyon molekülü -1 |
| sVCAM-1 (Soluble Vascular Cell Adhesion Molecule -1) | Solübil vasküler hücre adezyon molekülü -1 |
| TFA (Trans Fatty Acid) | Trans yağ asidi |
| TNFα (Tumor Necrosis Factor Alfa) | Tümör nekrozis faktör alfa |
| VLA-4 (Very Late Activation Molecule-4) | Geç aktivasyon molekülü -4 |
| VLDL (Very Low Density Lipoprotein) | Çok düşük dansiteli lipoprotein |
| WHO (World Health Organization) | Dünya sağlık örgütü |

1. GİRİŞ

Canlı yaşamının sürdürülebilmesi için gerekli olan lipidlerin, vücudumuzdaki gerçekleştirdiği işlevler dikkate alındığında pek çok otorite ve araştırmacı tarafından vurgulandığı gibi, yağların canlı yaşamındaki temel işlevleri, “Yağ tüketimi olmaksızın, insanın yaşamını sürdürmesi olanaksızdır” şeklinde özetlenebilir (Kayahan 2003). Bu nedenle diyetle aldığımız yağların içeriğinin insan sağlığı açısından büyük önemi vardır.

İnsan diyetinde bulunan lipid türlerinden aldığımız trans yağ asitleri (TFA: Trans Fatty Acid), ruminal aktiviteden dolayı süt kaynaklı yağlarda ve ayrıca sanayide hidrojenasyonla oluşmaktadır. Margarinler, şorteningler ve fırın ürünleri nispeten daha fazla trans yağ asidi içermektedir (Taşan ve Dağlıoğlu 2005).

Trans yağ asitleri trans konfigürasyonunda en az bir veya birden fazla çift bağ bulunan mono veya çoklu doymamış yağ asitleridir. Bu asitlerde çift bağ açısı cis izomerlere göre daha küçük, açıl zinciri daha doğrusaldır. Dolayısıyla, erime noktası ve termodinamik stabilitesi daha yüksek olan farklı fiziksel özellikte sert bir molekül ortaya çıkmaktadır (Taşan ve Dağlıoğlu 2005).

Yağlarda bulunan trans yağ asitleri ile ilgili yapılan pek çok araştırmada, doymuş yağ asitleri gibi, vücutta kolesterol oluşumunu artırmaktadır. Bunun sonucu olarak da kan serumundaki Total kolesterol ve LDL-kolesterol (LDL: Low Density Lipoprotein) düzeyinin yükselmesine, HDL-kolesterol (HDL: High Density Lipoprotein) düzeyinin ise düşmesine neden olmaktadır (Kayahan 2003).

Düşük dansiteli lipoprotein (LDL)'nin serbest radikal etkisi sonucunda modifiye olduğu ve bu şekilde makrofajlar tarafından daha hızlı içeri alındığı gösterilmiştir. LDL'de meydana gelen bu modifikasyonun aterosklerozun başlamasında ve gelişiminde en önemli faktör olduğu kabul edilmektedir. Okside-LDL (Ox-LDL: Oxidized Low Density Lipoprotein) partikülleri kemotaktik, sitotoksik ve immünojenik özellik gösterirler. Ox-LDL sayısız epitopa sahiptir ve bunlara karşı poliklonal antikor üretimine neden olur. Ox-LDL'ye karşı antikorlar ateroskleroz dışında koroner arter hastalığı, diabetes mellitus, renovasküler sendrom, üremi, akut enfeksiyon, preeklampsi, antifosfolipid sendromu, metabolik sendrom, miyokard infarktüsü ve sistemik lupus eritematozus gibi pek çok hastalıkta da bulunmuştur (Kurban ve Mehmetoğlu 2005).

Hücre adezyon molekülleri, bir hücrenin başka bir hücre veya ekstrasellüler matrisle ilişkisini sağlayan membran bağımlı proteinlerdir. Bu moleküller kanser gelişmesinde, lökosit migrasyonunda, embriyonal gelişimde, endotel hasarında ve enflamasyonda da rol oynarlar (Feldmann 1996, Benekli ve Haznedaroğlu 1998).

İnsülin benzeri growth faktör (IGF: Insulin Like Growth Factor) sistemi vücutta yaygın olarak bulunur. Fizyolojik ve patolojik (diabet, kanser, beslenme bozuklukları) pek çok durumda önemli rol oynar (Le Roith 2003). Non-diabetiklerdeki Growth hormon ve İnsülin benzeri growth faktör -1 (IGF-1: Insulin Like Growth Factor -1) eksikliği prematür ve artmış aterosklerozla ilişkilidir (Spallarossa ve ark 1996, Janssen ve Lamberts 2002).

Aterosklerozun erken dönemlerinde endotel hücrelerinde sentezlenen hücre adezyon moleküllerinden; vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1: Vasculer cell adhesion molecule-1) ve intersellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1: Intercellular adhesion molecule-1) ile monositlerin endotele adezyonunda artma gözlenir (Faruqi ve DiCorleto 1993).

Bu çalışmada, diyet ile alınan trans-9 18:1 octadecenoic(oktadesenoik) asit izomerinin solubül hücre adezyon molekülleri [(sICAM -1: Soluble Intercellular Adhesion Molecule-1) ve (sVCAM-1: Soluble Vascular Cell Adhesion Molecule-1)] ve insülin benzeri growth faktör-1 (IGF-1) düzeylerine etkilerini araştırmayı amaçladık.

2. LİTERATÜR BİLGİ

2.1. Lipidler

2.1.1. Lipidlerin tanımı ve önemi

Lipidler kısaca ortak özellikleri su ile karışmamak olan organik maddeler olarak tanımlanabilirler. Özellikle bu maddelerin gliseritler, yağ asitleri, fosfatitler ve mumlar gibi sabunlaşma tepkimesi veren maddeler yanında, hidrokarbonlar, yüksek yapılı alkoller, steroller, renk maddeleri ve antioksidanlar gibi sabunlaşma tepkimesi vermeyen organik bileşikler de, geniş bir yelpazede içermeleri, bunların sıvı veya katı yağlar kavramı ötesinde ele alınıp, lipid kimyası kapsamında incelenerek araştırılmasını zorunlu kılmıştır(Kayahan 2003).

Biyolojik önemi

- Yağlar insan vücudundaki hücre, doku ve organların yapılarında yer aldıklarından, yaşamın sürdürülebilmesi ve vücudun değişik işlevlerini sağlıklı bir şekilde yerine getirebilmesi için, mutlaka alınması gereken besin öğeleridir.
- Yağlar canlının anatomik yapısının oluşum ve korunmasındaki önemli işlevleri yanında, vücudun estetik görünümünü de olumlu yönde etkilerler.
- Vücut sıcaklığının ve suyunun korunmasında, izolatör olarak görevleri vardır.
- Vücuda alınan gereksinim fazlası enerji, gerektiğinde kullanılmak üzere en yoğun enerji olarak yağ formunda depolanmaktadır.
- Sindirilmeleri diğer besin öğelerine kıyasla daha uzun sürdüğünden, canlılarda daha uzun süreli bir tokluk hissi yaratırlar.
- Yağda çözünen provitaminler ve vitaminler yanında, seksüel hormonların sentezlendiği steroidler, kimi enzimler, antioksidan etkideki terpen, glikozit ve alkoloit yapısındaki kimi aktif maddeler, kimi metallerle (iyot, mangan, demir, çinko, bakır, fosfor ve kalsiyum) ve bunların metabolitleri için taşıyıcılık görevi yaparlar.
- Ayrıca hayvansal organizmada sentezlenemeyen ve mutlaka besinlerle dışardan alınması gereken esansiyel yağ asitleri gibi kimi elzem bileşikler için de, yegane kaynak durumundadırlar.

- Bilinen besin öğeleri içinde, içerdikleri yağ asitlerinin zincir uzunluğuna bağlı olarak 9.1-9.7 (ortalama 9.3) kcal/g'lık enerjiye sahip olmaları nedeniyle, yakıldıklarında vücut ısısı için önemli bir enerji kaynağıdır.
- Ayrıca beslenme açısından, yağlar iştah açıcı bir etkiye de sahiptirler (Kayahan 2003).

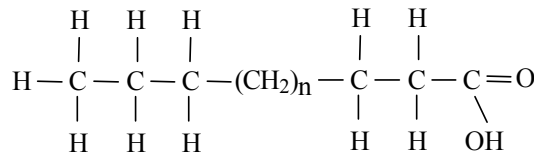
Lipitler içerdikleri kimyasal gruplara göre beş ana sınıfa ayrılır;

1. Yağ asitleri: Kısa, orta ve uzun düz zincirli doymuş veya doymamış yağ asitleri, eikozanoidler ve siklik yapıda yağ asitleri.
2. Gliserol türevleri: Trigliseritler (triacilgliseroller), gliserofosfolipitler ve mumlar.
3. Sfingozin türevleri: Sfingofosfolipitler, glikolipitler.
4. Bileşik lipitler: Lipoproteinler.
5. İzopren türevi lipitler: Terpenler ve steroller (Gürdol ve Ademoğlu 2006).

2.1.2. Yağ asitleri

Yağ asitleri çoğu lipidlerin temel yapı taşlarını oluştururlar. Lipidlerin en önemli sınıfını teşkil eden yağ asitleri 4-24 karbon atomuna sahip uzun zincirli organik asitlerdir. Çünkü yağ asitleri iki karbon ünitesinden sentez edilmektedir. Yağ asidi, yapısında bir hidrokarbon kuyruğu ve karboksil grubu bulundurur. En basit lipid yağ asidi olup mikroorganizma, bitki ve hayvanların lipidlerinde 100' ün üzerinde yağ asidi tanımlanmıştır. Bu yağ asitleri birbirlerinden karbon zincir uzunluğu, taşıdığı tek veya çift bağ ile doymamışlık derecesine göre ayrılır. Bazı yağ asidi molekülleri Şekil 2.1.'de görülmektedir.

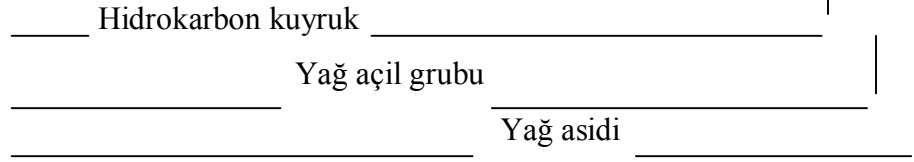
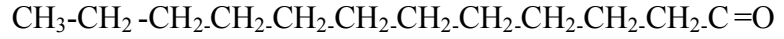
Genel olarak bir yağ asidinin yapısı şöyledir;



Polar olmayan kısım

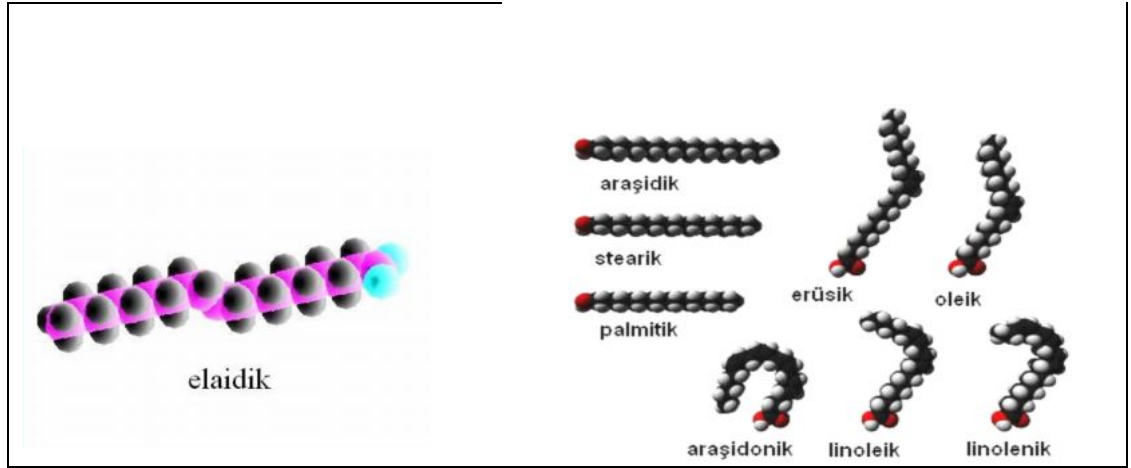
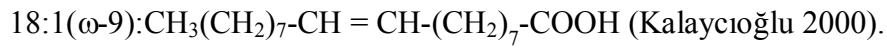
Polar olan kısım

Yağ asitlerinin isimlendirilmesinde Yunan alfabetik sırası takip edilir. İsimlendirmede karboksil grubundan sonraki karbon atomuna α , daha sonra gelenlere β , γ ve δ gibi isimler verilir. Karboksil grubundan en uzaktaki C atomu ise ω ile isimlendirilir.

ω $\delta \quad \beta \quad \alpha \quad O^-$ 

Bu tip adlandırmaya örnek verirsek;

Elaidik asit (Trans-9 18:1 octadecenoic asit):



Şekil 2.1. Yağ Asidi Molekülleri.

2.1.2.1. Yağ asitlerinin sınıflandırılması

Doğada bulunan yağ asitlerinin farklı yapılarına karşın, belirli gruplar halinde incelendiğinde, kendi aralarında homolog seriler oluşturdukları görülür. Ayrıca genel bir kaide olarak, zincir yapısı dallanma göstermeyen, ya da düz zincirli yağ asitleri şeklinde adlandırılan çeşitler, 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 yapılarındaki farklılıklar, yalnızca düz ya da dallanmış yapıda olmaları ile sınırlı değildir. Bunun yanında substitüe, doymuş, doymamış veya halkalı yapıda olup olmamalarına göre de, bu farklılıklar ortaya çıkabilmektedir. Molekül yapılarında saptanan bu farklılıklar, yağ asitlerinin fiziksel, kimyasal ve

fizyolojik niteliklerinde de değişikliklere neden olduğundan sistematik bir yaklaşım içinde sınıflandırılarak incelenmelerini zorunlu kılmıştır. Özellikle molekül yapılarına bağlı olarak oluşturdukları homolog seriler bazında incelendiklerinde, kimi örneklere doğada nadir olarak rastlanılsa da, bunları aşağıda verildiği gibi sınıflandırılabilir.

1. Düz zincirli (n-) yağ asitleri

❖ Doymuş yağ asitleri

❖ Doymamış yağ asitleri

* *Çift bağ içeren yağ asitleri (Alken yapısında olanlar)*

> Monoen yağ asitleri

> Poliyen yağ asitleri

* *Üçlü bağ içeren doymamış yağ asitleri (Alkin yapısında olanlar)*

> Monoin yağ asitleri

> Polyin yağ asitleri

2. Substitüe olmuş yağ asitleri

3. Halka içeren (Siklik) yağ asitleri

4. Dallanmış zincirli (İzo-) yağ asitleri (Kayahan 2003).

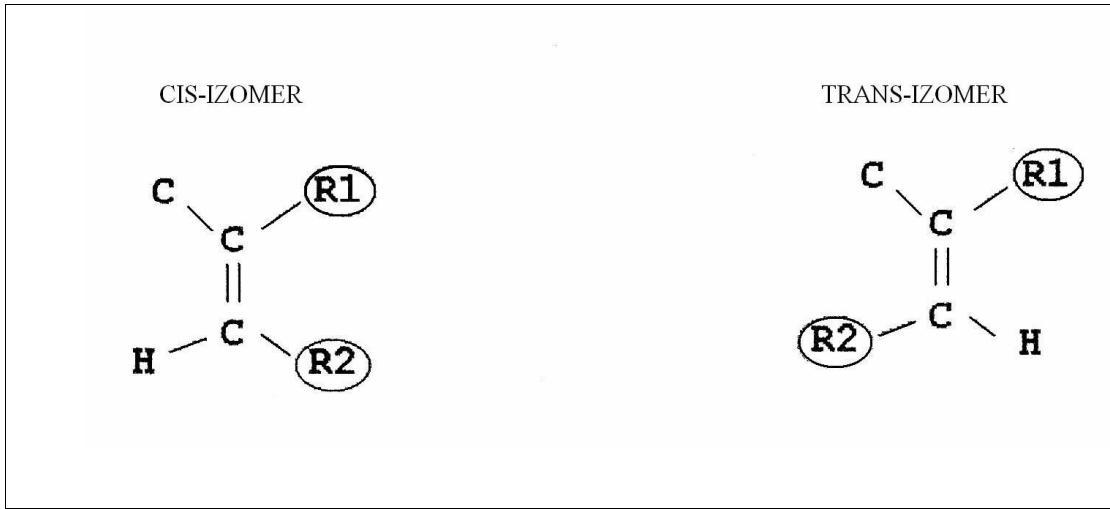
2.1.2.2. Yağ asitlerinde cis ve trans izomerliği

Yağ asitlerindeki çifte bağlar, alkil zincirin dönme yeteneğini kısıtladığından çifte bağ civarında cis veya trans biçimi olarak adlandırılan izomerizmi oluştururlar. Doymamış yağ asitleri katalizör eşliğinde ısıtıldıklarında cis şeklinden trans şekline dönerler. Örneğin oleik asit katalizör eşliğinde ısıtılsa trans şekli olan elaidik aside döner (Altan 2000).

Yağ asitlerinde görülen izomeri şekilleri de yerel ve uzay (geometrik) izomeri olarak iki ana grupta incelenmesi gerekmektedir (Kayahan 2003).

Yerel izomeri şekillerinde; zincir üzerindeki belirli atom veya işlevsel grupların farklı yerleşim göstermesinden doymamış yağ asitlerindeki çift ya da üçlü doymamış bağların aynı sayıda olmaları ile birlikte zincir üzerindeki yerlerinin farklı karbon atomları olmasından kaynaklanmaktadır. Zincir izomeri olarak adlandırılan bu izomeriye, izo-valerianik asitle aynı kapalı formülle ($C_6H_{12}O_2$) gösterilen kaproik asitin molekül yapısı ve buna bağlı özellikleri birbirinden çok farklı olması örnek olarak gösterilebilir (Saldamlı 2005).

Geometrik izomeri ise çift bağlar ucundaki karbon atomlarına bağlı karbon atomlarının konfigürasyonuna göre şekillenir; cis ve trans olarak iki izomer oluşur (Mensink ve Katan 1990). Yağ asitlerinde görülen geometrik izomeri şekillerinden, en yaygın olanı, cis-trans izomeridir(Şekil 2.2.). Her ne kadar doğal yağların yapısında trans yağ asitlerinin varlığı son yıllarda yürütülen çalışmalarla ortaya konmuşsa da, miktarları oldukça düşüktür ve doğadaki yağ asitlerinin büyük bir çoğunluğu, cis-formda bulunur. Bu izomerizasyon şeklinde en önemli özellik, trans yağ asitlerinin cis-formlara kıyasla 25-30 °C gibi daha yüksek bir sıcaklık derecesinde ergimeleridir (Kayahan 2003).



Şekil 2.2. Cis- Trans İzomerliği (www. biologydaily. com).

2.1.2.3. Trans yağ asitleri

Trans yağ asitleri, çok eski çağlardan bu yana insan beslenmesinde yer almaktadır. Çünkü, inek ve koyun gibi geviş getiren hayvanların sütlerinde ve yağlarında az miktarlarda bulunurlar. Trans yağ asidi içeriği yüksek yağların büyük çaplı ticari üretimleri, gelişen margarin endüstrisiyle başlamıştır. Margarinler ve sorteningler, genellikle kısmi hidrojenasyon yöntemleriyle bitkisel yağlardan üretilmektedir. Hidrojenasyon işlemleri süresince, doymamış yağ asitlerinin trans izomerleri meydana gelmektedir. Oluşan trans yağ asitlerinin büyük bir bölümünü de trans C 18:1 oluşturmaktadır. Kısmi hidrojenasyonla elde edilen yağlardaki trans izomerleri günümüz insan beslenmesinde yer alır hale gelmiştir. Doymuş ve trans yağ asitlerinin insan sağlığı ve beslenme üzerindeki etkileri tartışmalara yol açan

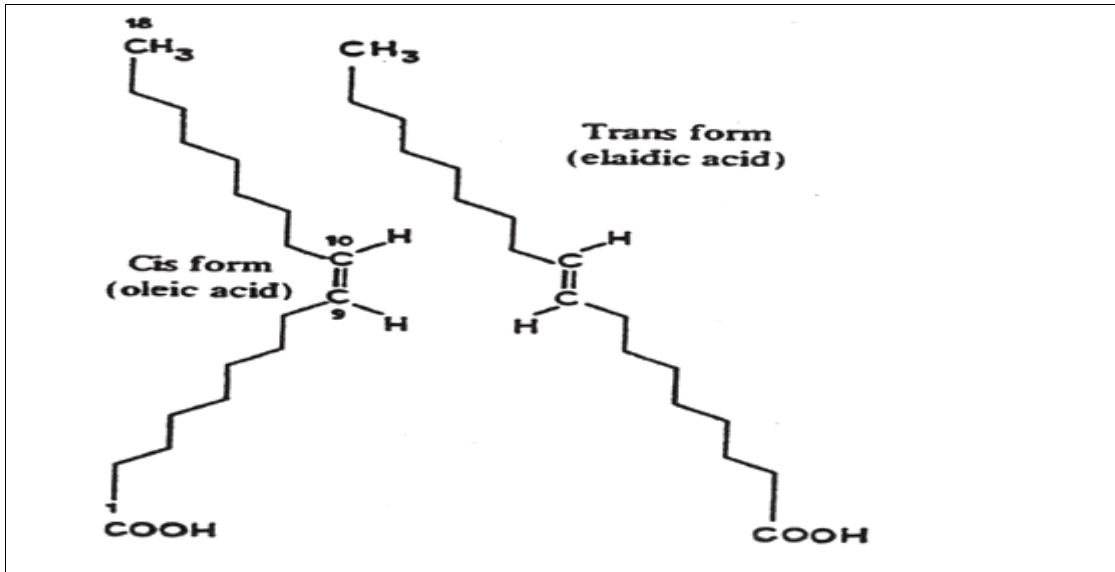
konulardır. Çeşitli bilimsel çalışmalarda, trans izomerlerinin insan sağlığı üzerine olumsuz etkilerinin bulunduğu belirtilmektedir (FAO ve WHO 1993).

2.1.2.3.1. Trans izomerlerin yapısı ve özellikleri

Organik bileşiklere özgü olan izomeri şekilleri kısaca; “aynı kapalı formülle ifade edilen bileşiklerin düzlemde veya üçlü boyutta farklı konfigürasyon ve farklı özelliklere sahip olması”dır. Yağ asitlerinde de, fiziksel ve kimyasal özellik farklılıklarına neden olan tüm izomeri şekilleri söz konusudur.

Trans konfigürasyonu t harfiyle belirtilir. Bu harf, yağ asidinin karboksil ucundan itibaren sayılmak üzere çift bağın moleküldeki pozisyonunu belirtir. Cis izomeri ise c harfiyle gösterilir. Buna göre, 18:1 9t, elaidik aside (trans- Δ -9-octadecenoic asit) karşılık gelmektedir. 18:1 9c ise, oleik asidi (cis- Δ -9-octadecenoic asit) göstermektedir.

Cis formu molekülde bükülmeye yol açarken, trans formu doymuş yağ asitlerinin düz zincirine benzerlik göstermektedir. Trans yağ asitlerinin çift bağ açısı daha küçük, açıl zinciri daha doğrusaldır. Böylece aynı sayıda karbon, hidrojen ve oksijen atomlarına sahip olan iki izomer farklı üç boyutlu yapılaraya sahip olmaktadır. Örneğin; oleik asit (cis-C 18:1 n-9) ve elaidik asit (trans-C 18:1 n-9) geometrik izomerlerdir. Her iki molekülde de 18 karbon atomu, 34 hidrojen atomu, 2 oksijen atomu ve (n-9) pozisyonunda bir tek çift bağ bulunmaktadır(Şekil 2.3.).



Şekil 2.3. Oleik asit ve Elaidik asit cis-trans izomerliği (www.thepleodiet .com).

Oleik asitin erime noktası 13°C, elaidik asitin 44°C ve C 18 serisinden doymuş bir yağ asidi olan stearik asitin (C 18:0) erime noktası 70°C'dir. Bu oldukça yüksek erime noktası, trans izomerlerini yarı-katı yağlar ve margarin/şortening üretimi için cazip hale getirmektedir.

Trans yağ asiti alım kaynağı sadece margarinler değildir. Kısmi hidrojenize yağlar, kek, bisküvi, kurabiye, mayonez, cips, milföy hamuru, pizza, gofret ve benzeri bir çok ürünün üretiminde ve derin yağda kızartılmış fast-food tipi gıdaların hazırlanmasında kullanılmaktadır (Taşan ve Dağlıoğlu 2005).

2.1.2.3.2. Trans yağların vücudumuzdaki biyomedikal mekanizması

Diyette bulunan trans yağ asitleri de, doymuş yağ asitlerine benzer şekilde sindirilmektedir. Bu nedenle vücuda alındıklarında hızla absorbe oldukları gibi, doku lipitleriyle birlikte, membranların yapısında da yer alırlar. Yine mitokondriyal β -oksidasyonu yoluyla, cis izomerler gibi aynı hızda katabolize olurlar. Eğer trans konfigürasyondaki çift bağ, elaidik asitte olduğu gibi tek numaralı C atomunda yer almışsa, ilk üç parçalanma basamağının sonunda 3-trans-enoil-koenzim A oluşur. 3-trans-enoil koenzim A, daha sonra 3-cis-2-trans izomerizasyonunu sağlayan aynı izomerazla, 2-trans-enoil-koenzim A'ya dönüşür(Kayahan 2003).

Aslında trans formdaki elaidik asitle, cis formdaki oleik asit arasında, β -oksidasyonu yönünden bir fark yoktur. Ancak trans yağ asitlerinin mitokondriyal β -oksidasyon hızlarının, cis yağ asitlerinininkine göre daha yavaş olduğu da bilinmektedir. Buna bağlı olarak da, trans yağ asitlerinde oksidatif fosforilasyon hızının daha az olması sonucu, adenozintrifosfat (ATP) düzeyi azalmaktadır. Ayrıca trans yağ asitleri, cis yağ asitlerinin oksidasyonunu engellediği gibi, hücre membranının özelliklerini de değiştirmektedir. Örneğin ergime noktaları cis formlara kıyasla daha yüksek olan trans yağ asitlerinin membran fosfolipitlerine dahil olması ile, akışkanlığı değişmekte ve buna bağlı olarak, membranla ilişkili olan enzimlerin işlevleri ile kimi hücrel tepkimelerin oluşumunda değişiklikler ortaya çıkmaktadır(Kayahan 2003).

Trans yağ asitlerinin kimi prostaglandinlerin sentezini azaltarak esansiyel yağ asidi metabolizmasını böldüğü ve bu nedenle vücuttaki esansiyel yağ asidi ihtiyacını artırdığı da ileri sürülmektedir. Yüksek düzeyde trans yağ asidi alımıyla normal büyüme oranına ulaşmak için daha çok miktarda esansiyel yağ asidi alımı gerekmektedir. Ayrıca hamilelikte esansiyel yağ asidi alımının, yetersiz olması

halinde, yüksek miktarda trans yağ asidi alınmasının sorun yaratacağı belirtilmektedir. Trans yağ asidi alımına bağlı olarak, esansiyel yağ asitlerinde desaturasyon ve zincir uzaması tepkimelerinin baskılanması, doku lipitlerindeki araşidonik asit düzeyinin ve siklooksijenaz aktivitesinin azalmasına neden olmaktadır. Buna bağlı olarak, trans yağ asitleri, linoleik ve γ -linolenik gibi esansiyel yağ asitlerinin daha uzun zincirli ve doymamış metaboliklerine dönüşümünü önlemektedir. Ayrıca prematüre bebeklerde plazmada bulunan trans yağ asitleri düzeyinin, doğum ağırlığını ters yönde etkilediği de saptanmıştır(Kayahan 2003).

Sonuç olarak trans yağ asitleri enzim sisteminde oksijenazların, desaturazların ve prostaglandin sentetazlarının aktivitelerini azaltmaktadır. Ayrıca lesitin-kolesterol kompleksinde radikal transferini gerçekleştiren transferaz ya da Lesitin kolesterol açıl transferaz (LCAT: Lecithin Cholesterol Acyl Transferase) aktivitesi, yine diyetle alınan trans yağ miktarı arttıkça azaltmaktadır. Trans yağ asitlerinin kolesterol esterleri, cis yağ asitlerinininkine kıyasla daha yavaş sentezlenmekte ve hidrolize edilmektedir. Diğer yandan daha önce de değinildiği gibi, klinik diyet çalışmaları verilerine göre, trans yağ asitlerinin lipoproteinler üzerine etkileri cis izomerleri ile kıyaslandığında, LDL-kolesterol düzeyini artırmakta ve HDL-kolesterol düzeyinin düşmesine neden olmaktadır. Bunun nedeni diyetteki trans yağ asitlerinin etkisi ile, LCAT aktivitesinin azalmasıdır. Buna bağlı olarak plazma kolesterolünün yağ asitlerinde bulunan toplam trans yağ asidi içeriği, LCAT hipotezini desteklemekte ve HDL düzeyi ile ters bir korelasyon göstermektedir. Cis ve trans yağ asitlerinin LDL-kolesterol düzeyi üzerine farklı etkileri, "Hepatit LDL-Kolesterol Reseptör Aktivitesi Hipotezi" ile açıklanmaktadır. Bu hipoteze göre, karaciğerde yüksek miktarda oleik asit bulunması halinde, LDL-kolesterol reseptörü aktive edilir ve LDL-kolesterolünün plazma konsantrasyonu azalır. Oysa trans oktadesenoik asitlerle, stearik asit, reseptörün aktivitesini azaltmaktadır. Bu nedenle de cis izomerlerin yerini trans doymamış asitlerle doymuş yağ asitleri aldığımda, plazmadaki LDL-kolesterol düzeyi artmaktadır(Kayahan 2003).

Tüm bu bilgiler ışığında, trans yağ asitlerinin vücudun lipid metabolizmasındaki oksijenaz, desaturaz, açıl transferaz ve prostaglandin sentetaz gibi pek çok enzim grubunun çalışmasını baskılayarak, sağlık açısından önem taşıyan metabolitlerin sentezini kısıtladığı veya engellediği belirtilmektedir (Kayahan 2003).

2.1.3. Lipoproteinler

Diyetten emilen yağlarla karaciğer ve yağ dokusunda sentezlenen lipidlerin kullanım ve depolanma için çeşitli doku ve organlar arasında taşınması zorunludur. Lipidler suda çözünmediğinden, bunların sulu bir ortam olan plazmada nasıl taşınacakları bir sorun olarak karşımıza çıkar. Bu sorun, polar olmayan lipidlerin (triacilgliserol ve kolesteril esterleri) suyla karışabilen lipoproteinleri oluşturmak için proteinler ve amfipatik lipidler (fosfolipidler ve kolesterol) ile birleştirilmesiyle çözümlenmiştir. Lipoproteinler, lipidleri oksidasyon için çoğu dokuya, ve depolanma için yağ dokusuna, barsaktan şilomikronlar ve karaciğerden çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL: Very Low Density Lipoprotein) halinde taşıyarak bu döngüye aracılık eder. Lipidler, yağ dokusundan, serum albüminine bağlı serbest yağ asitleri (FFA: Free Fatty Acid) olarak taşınır. Serbest yağ asitlerine ek olarak fizyoloji ve klinik tanı yönünden önem taşıyan dört ana lipoprotein grubu tanımlanmıştır. Bunlar;

1. Triacilgliserolün barsaktan emilmesinden türeyen (Şilomikronlar)
2. Triacilgliserolün karaciğerden çıkışı için türetilen çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL)
3. VLDL katabolizmasındaki bir evreyi temsil eden düşük dansiteli lipoproteinler (LDL)
4. VLDL ve şilomikron metabolizması ile birlikte kolesterol taşınmasına da katılan yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL) (Murray ve ark 2004).

2.2. Hücre Adezyon Molekülleri

Hücre adezyon molekülleri, bir hücrenin başka bir hücre veya ekstrasellüler matriksle ilişkisini sağlayan membran bağımlı proteinlerdir. Bu proteinler, hücrede transmembranöz olarak yer alırlar. Adezyon sırasında moleküllerin sayısı veya afiniteleri artar. Adezyon molekülleri ya hücre içinde granüller halinde depo edilip gerektiği zaman hızlıca hücre membranında yerini alır veya hücreler tarafından yeni baştan sentezlenirler. Bu moleküller kanser gelişmesinde, lökosit migrasyonunda, embriyonal gelişimde, endotel hasarında ve enflamasyonda da rol oynarlar (Feldmann 1996, Benekli ve Haznedaroğlu 1998).

Adezyon molekülleri fonksiyonlarına ve yapılarına göre dört ayrı grupta incelenir(Tablo 2.1.).

- 1- İmmüoglobulin Süper Ailesine Ait Adezyon Molekülleri, 2- İntegrinler,
- 3- Selektinler, 4- Kaderinler (Güç 2004).

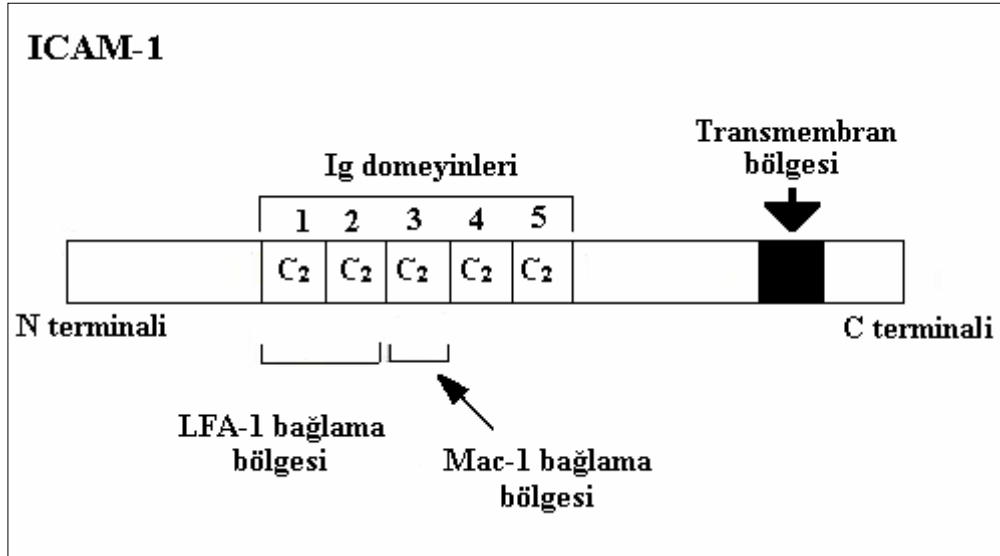
Tablo 2.1. Adezyon molekülleri.

| İmmüoglobulin Süper Ailesi | İntegrinler | Selektinler | Kaderinler |
|----------------------------|-----------------------|-------------|------------|
| ICAM-1 | β_1 İntegrinler | L-Selektin | E-Kaderin |
| ICAM-2 | β_2 İntegrinler | P-Selektin | N-Kaderin |
| ICAM-3 | β_3 İntegrinler | E-Selektin | P-Kaderin |
| VCAM-1 | | | |
| PECAM-1 | | | |
| MadCAM-1 | | | |
| LFA-2 | | | |
| LFA-3 | | | |
| NCAM-1 | | | |

2.2.1. İmmüoglobulin süper ailesi

Bu ailenin tüm üyeleri vasküler endotelde bulunur. İntersellüler Adezyon molekülü-1 (ICAM-1)'in beş ekstrasellüler alt grubu (domeyin), Vascular hücre adezyon molekülü -1 (VCAM-1)'in altı ve yedi ekstrasellüler alt grubu (domeyin) (Şekil 2.4. – 2.5.) vardır (Feldmann 1996, Ergüler 2002).

Bunlar lökosit integrin bağlama ve hücre adezyon fonksiyonlarını sağlarlar (Benekli ve Haznedaroğlu 1998). Bu grubun diğer üyeleri platelet endotelyal hücre adhezyon molekülü-1 (PECAM-1) ve Nöral hücre adezyon molekülü-1 (NCAM-1) olarak bilinir.



Şekil 2.4. ICAM-1' in yapısı (Ergüler 2002).

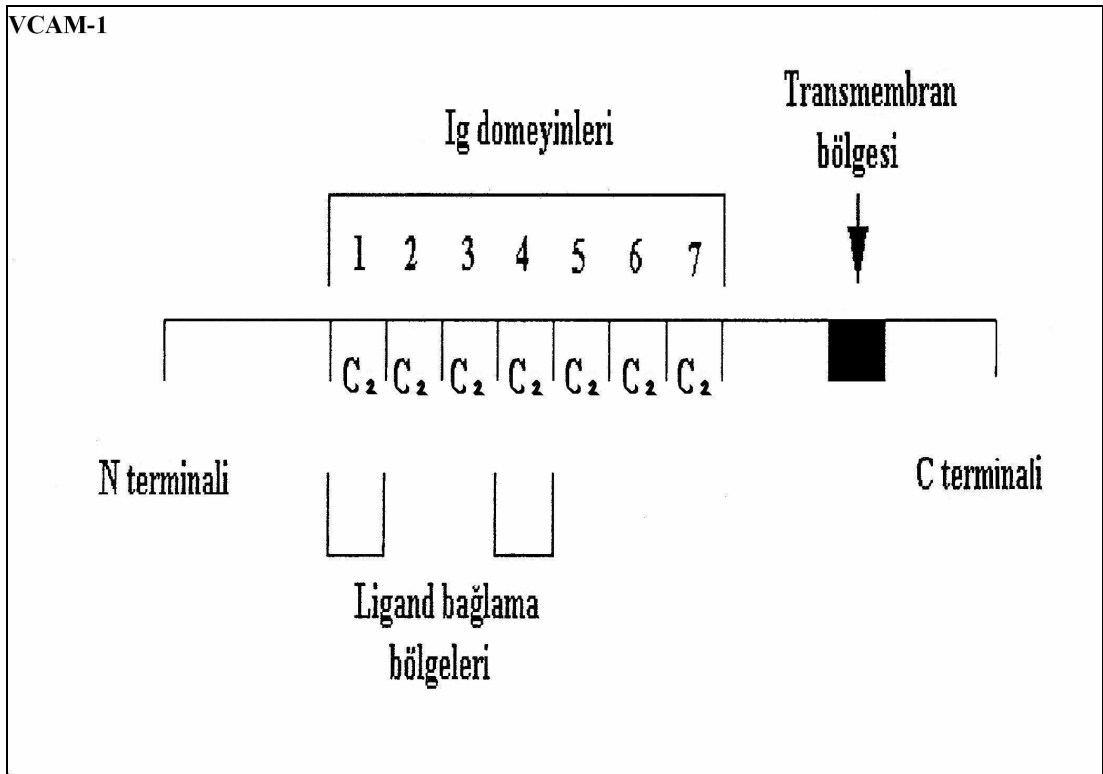
2.2.1.1. İntersellüler adezyon molekülü -1 (ICAM-1)

ICAM-1 damar endotelial hücreleri ve lökositler tarafından eksprese edilen Ig süper ailesinin bir üyesidir (Tanaka 2001). Değişik hücrelerde yapısal olarak bulunmakla birlikte, iltihabi dokularda İnterferon γ (IFN γ : İnterferon γ), İnterlökin-1 (IL-1: İnterleukin -1) ve Tümör nekrozis faktör α (TNF α) gibi para-inflamatuvar sitokinlerin uyarısıyla hücre yüzeyinde yoğunluğu artmaktadır. Uyarı sonucu ICAM-1' in hücre yüzeyinde belirmesi 2-4 saatte başlar ve 12-16 saat süre ile plato çizer. Ortamda sitokin varlığında ise 24-72 saat kadar devam eder. ICAM-1 molekülleri eozinofiller, T lenfositler ve nötrofillerin göçünde önemlidirler. Ayrıca ICAM-1, β_2 integrinlerden, Lökosit fonksiyonu ile ilişkili molekül-1 (LFA-1: Leukocyte function associated molecule-1) ve Mac-1'in karşı hücrede bağlandığı ligandır. Bu moleküller monoklonal antikorlarla bloke edilecek olursa, bu hücrelerin endotele yapışmadığı ve inflamasyon bölgesinde birikmediği görülmüştür (Crockard ve ark 1998). ICAM-1'in fonksiyonu; antijen sunan hücreler ve T hücreleri arasındaki ilişkilerde önemli bir sinyal mekanizmasını oluşturmaktadır. Bu nedenle ICAM-1'in karşı ligandı LFA-1 ile ilişkisi allerjik astım, arthriti, nefrit ve pnömoni gibi çok sayıda inflamatuvar hastalıklarda önemli olduğu bildirilmiştir (Tanaka 2001).

2.2.1.2. Vasküler hücre adezyon molekülü -1 (VCAM-1)

Ig süperailisinin bir diğer ferdi VCAM-1 molekülüdür ve endotel hücrelerinde gözlenir. Uyarılmamış endotelde yapısal olarak bulunmazlar. IL-1, İnterlökin -4 (IL-4: İnterleukin -4) ve TNF α gibi sitokinlerin uyarısıyla 2-4 saat sonra birlikte hücre

yüzeyinde belirir. IL-4 seçici olarak VCAM-1'in belirmesine sebep olur ve geç aktivasyon molekülleri-4 (VLA-4: Very Late Activation-4) aracılığıyla eozinofillerin ortamda birikmesini sağlar (Foster 1996). VCAM molekülleri, damar endotelial duvarında lökositlerin göçü ve adezyonunu sağlarlar (Blankenberg ve ark 2001). ICAM-1 ve VCAM-1'in her ikisi de immün yanıt ve iltihap durumlarında hayati rol oynarlar. VCAM-1 birçok hücre tipi tarafından eksprese edilebilen immunglobulin benzeri bir transmembran proteinidir. Damar endotelial hücreleri ve folliküler dendritik hücreler tarafından eksprese edilirler. VCAM-1'in bağlandığı karşı ligandı VLA-4'dür ve nötrofiller hariç tüm lökositlerde bulunurlar. VCAM-1 / VLA-4 yolu, çeşitli allerjik ve iltihap hastalıklarına ilaveten otoimmün hastalıkların patojenik işlemlerinde de anahtar rolü oynamaktadır (Foster 1996).



Şekil 2.5. VCAM-1' in yapısı (Ergüler 2002).

2.3. İnsülin Benzeri Growth Faktör

İnsülin benzeri growth(büyüme) faktörü (IGF) sistemi, IGF'lerden (IGF-I ve IGF-II), IGF bağlayıcı proteinlerden (IGFBP-1-6) ve IGF reseptörlerinden (tip I IGF reseptörü ve tip II IGF reseptörü) oluşur. IGF'ler (somatomedinler), büyüme hormonunun anabolik ve mitojenik etkilerinin çoğunun ortaya çıkmasına aracı olan bir peptid ailesidir.

IGF-1 tek zincirli(Şekil 2.6.) polipeptittir. Her iki IGF molekülü proinsüline benzer olarak A ve B zincirlerine sahiptirler ve bu zincirler birbirlerine C peptidi adı verilen disülfid bağlarıyla bağlıdır. IGF-I ve IGF-II'nin amino asit dizilimleri sırasıyla %43 ve %41 oranında proinsülin ile homoloji gösterirler. Proinsülinde farklı olarak IGF'ler karboksi terminalinde D bölgesi içermektedir. Proinsüline olan bu yapısal benzerlik her iki IGF molekülünün insülin reseptörlerine düşük affinite ile bağlanmasını açıklar. Diğer yandan yapısal farklılıklar insülinin IGF bağlayan proteinlere bağlanmasını önler (Daughaday ve Rotwein 1989).

IGF'ler protein yapıda olduklarından hücre membranını geçememekte ve etkilerini membrandaki reseptörlerine bağlanarak yapmaktadırlar. Bu konuda yapılan çalışmalarda üç farklı IGF reseptörü tanımlanmış olup bunlar; insülin reseptörü, tip I IGF reseptörü (IGF-I reseptörü), tip II IGF reseptörüdür (IGF-II reseptörü). IGF-I reseptörü, hücre dışı iki alfa ünitesi ve iki transmembran beta ünitesi içeren bir glikopeptiddir. Alfa ve beta subüniteleri disülfid bağları ile birbirine bağlanmıştır. Yapısal ve fonksiyonel olarak insülin reseptörüne benzer. Bu reseptörler benzer ligandları spesifik olarak bağlar. IGF-I reseptörü IGF-I'yi insüline göre yüz kat daha fazla affinite ile bağlar. IGF-I reseptörü, tirozin kinaz ailesine ait olup insülin reseptörüne benzer. Alfa subünit bütünüyle hücre dışındadır. Beta subünit ise membran üzerine yerleşmiş bir protein olup sitoplazmik bölgesinde bir tirozin kinaz ilmiği ihtiva eder. IGF-I'in IGF-I reseptörünün alfa sübünitine bağlanmasını takiben beta sübünitinin otofosforilasyonu meydana gelir. Otofosforilasyon, reseptörün tirozin kinaz aktivitesini artırır. Bu aktivasyon endojen substratlarda olduğu gibi reseptör üzerindeki diğer önemli tirozinlerin fosforilasyonuna neden olur (Kato ve ark 1993). IGF-I reseptörü, IGF-II'den daha yüksek bir affinite ile IGF-I'i bağlar. Gerçekte IGF-I ve IGF-II'ye karşı büyüme yanıtının çoğuna IGF-II reseptöründen daha çok IGF-I reseptörü aracılık eder (Frattali ve Pessin 1993).

IGF-1/IGFBP sistemi diabetes mellitusu içeren değişik durumlarda vasküler hasarın patogenezinde önemli rol oynar (Krsek ve ark 2002). Non-diabetiklerdeki Growth hormon ve IGF-1 eksikliği prematür ve artmış aterosklerozla ilişkilidir (Janssen ve Lamberts 2002, Spallarossa ve ark 1996). Dolaşımdaki IGF-1 insüline benzer şekilde damar yatağındaki nitrik oksiti (NO: Nitric Oxide) stimüle eder (Muniyappa 1996, Janssen ve Lamberts 2002). Miyokard infarktüsülü non-diabetik

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 Sprague Dawley cinsi; ortalama 300g. ağırlığında olan, 6 aylık 45 erkek 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 (normalde pellete ilave edilen yağlar eklenilmedi) rat pellet yemi ile beslendi. Beslenen ratların önlerinde devamlı su bulunduruldu ve 12/12 fotoperiyot uygulandı. Ratlara verilen yemin hazırlanmasında kullanılan hammaddeler tablo 3.1'de, yemin bileşimi tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Rat yemi hazırlanmasında 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. 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 beslenmesinde, Destailats ve ark (2005)'nin çalışmalarındaki kullandıkları yöntem izlenerek yapıldı. Ratlar iki hafta süresince yağsız rat pellet yemi ile beslendi. Ratlar rastgele iki gruba ayrıldı. Ratlar gruplara ayrıldıktan sonra aynı ortamda çalışmaya devam edildi.

1. Grup (kontrol grubu): 20 sağlıklı rata yağsız diyetle beslenmeye 10 gün daha devam edildi.

2. Grup (çalışma grubu): 25 sağlıklı rata rasyonlarına ilaveten 10 gün boyunca sabahları her gün aynı saatte gavaj yoluyla 50mg/gün elaidik asit izomeri (trans-9 18:1 octadecenoic asit izomeri) verildi.

3.1.2. Numunelerin alınışı ve hazırlanışı

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

Ratlardan alınan kan numuneleri jelli biyokimya tüpüne ve EDTA'lı tüpe alındı. Jelli biyokimya tüpüne alınan kan numuneleri 15 dakika oda ısısında pıhtılaşmaya bırakıldı. EDTA'lı tüpe alınan kan numuneleri ise yavaşça karıştırıldı. Daha sonra kan numuneleri 3000 devir/dakika'da toplam 10 dakika santrifüj edilerek serum ve plazma örnekleri elde edildi. Serum numuneleri gaz kromatografisi (GC) ile yağ asit kompozisyonu tayini, plazma numuneleri ise sICAM-1, sVCAM-1 ve IGF-1 tayinleri çalışılmak üzere -80 °C saklandı.

3.1.3. Kullanılan cihazlar

1. Dynex Okuyucu OpsysMR Marka Eliza Cihazı
2. Dynex Yıkayıcı OpsysMW marka Eliza Cihazı
3. Santrifüj: Nüve NF 100012
4. Hassas Terazisi: Nüve-NM 110
5. Vorteks: Nüve 400
6. Gaz kromatografisi: Hewlett-Packard Agilent model 6890N
7. Benmari : Nüve 400

3.1.4. Kullanılan reaktifler ve çözeltiler

1. sICAM-1 tayini için: sICAM-1 Rat kiti; Lot no: 241342 Quantikine marka (R&D system)
2. sVCAM-1 tayini için: sVCAM-1 Mouse kiti; Lot no: 237618 Quantikine marka (R&D system)
3. IGF-1 tayini için: IGF-1 Rat /Mouse kiti; Lot No: 57458 Octeia marka (IDS)
4. Elaidic Acid (Trans-9 18:1 Octadecenoic asit), (cat no: sigma E-4637) Ratların diyetlerine eklendi.
5. Gaz Kromatografisi ile yağ asit kompozisyonunun tayini için: KOH (cat no: merk B 415), n-hekzan (cat no: merk K606), Kloroform (cat no: merk K630), Bortriflorür-metanol kompleksi (cat no: merk S624), NaCl (cat no: sigma 9625).
6. %6'lık metanolik KOH çözeltisi: 6g. KOH üzerine 100 ml.ye tamamlanincaya kadar methanol ilave edildi.

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

3.2. Metod

3.2.1. sICAM-1 tayini

Quantikine rat sICAM-1 kiti; ELİSA yöntemi ile çalışır. Mikropleytlerin kuyucuklarının üzeri sICAM-1 için özel bir antikorla kaplıdır. sICAM-1 miktarı bilinen standartları içeren örnekler, test kontrol örnekleri ve bilinmeyen (kontrol ve çalışma grubu) plazma örnekleri 1/50 dilüe edilip antikorla kaplı kuyucukların içine pipetlenir ve inkübasyona bırakılır.

İlk inkübasyondan sonra kuyucuklar reaksiyona girmemiş serum proteinlerinden uzaklaştırmak için kuyucuklar yıkanır. Konjugat eklenip inkübasyona bırakılır.

İkinci inkübasyon periyodunu takiben kuyucuklar reaksiyona girmeyen konjugatların uzaklaştırılması için tekrar yıkanır. Renk değişikliğine neden olan substrat solüsyonu eklenir. Oluşan rengin yoğunluğu standart örneklerdeki rat sICAM-1 konsantrasyonu ile orantılıdır. Stop solüsyonunun eklenmesi ile oluşan mavi renk sarı renge dönüşür ve sonra elisa okuyucusu ile 450 nm dalga boyunda okunur.

3.2.2. sVCAM-1 tayini

Quantikine rat sVCAM-1 kiti; ELİSA yöntemi ile çalışılır. Mikropleytlerin kuyucuklarının üzeri sVCAM-1 için özel bir antikorla kaplıdır. sVCAM-1 miktarı bilinen standartları içeren örnekler, test kontrol örnekleri ve bilinmeyen (kontrol ve çalışma grubu) plazma örnekleri 1/50 dilüe edilip antikorla kaplı kuyucukların içine pipetlenir ve inkübasyona bırakılır.

İlk inkübasyondan sonra kuyucuklar reaksiyona girmemiş serum proteinlerinden uzaklaştırmak için kuyucuklar yıkanır. Konjugat eklenip inkübasyona bırakılır.

İkinci inkübasyon periyodunu takiben kuyucuklar reaksiyona girmeyen konjugatların uzaklaştırılması için tekrar yıkanır. Renk değişikliğine neden olan substrat solüsyonu eklenir. Oluşan rengin yoğunluğu standart örneklerdeki rat sVCAM-1 konsantrasyonu ile orantılıdır. Stop solüsyonunun eklenmesi ile oluşan

mavi renk sarı renge dönüşür ve sonra elisa okuyucusu ile 450 nm dalga boyunda okunur.

3.2.3. IGF-1 tayini

Oceteia Rat /Mouse kiti de ELISA'dır. Mikropleytlarin kuyucuklarının üzeri IGF-1 için antikorlarla kaplıdır. Çalışma örnekleri miktarı bilinen standartları içeren örnekler, test kontrol örnekleri (dilüe edilir) ve plazma örnekleri (dilüe edilir.) antikorla kaplı kuyucukların içine koruyucu biotin ile birlikte pipetlenir ve inkübasyona bırakılır.

İlk inkübasyondan sonra kuyucuklar yıkanır. Oluşacak rengi geliştirmek için enzim eklenip inkübasyona bırakılır.

İkinci inkübasyon periyodunu takiben kuyucuklar yıkanır. Renk değişikliğine neden olan substrat solusyonu eklenir. Oluşan rengin yoğunluğu standart örneklerdeki rat IGF-1 konsantrasyonu ile orantılıdır. Stop solüsyonunun eklenmesi ile oluşan mavi renk sarı renge dönüşür ve sonra elisa okuyucusu ile 450 nm dalga boyunda okunur.

3.2.4. Serumda yağ asit kompozisyonunun tayini

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

Serum numunelerinin hazırlanmasında Folch ve ark (1956)'nin metotlarından yararlanıldı. Yağ asitlerinin gaz kromatografik analizleri için metilleştirme; Moss ve ark (1974)'nin metodundan yararlanılarak gerçekleştirildi. Yağ asitlerinin metilleştirilmesinde (bortriflorür-methanol) kompleksi kullanıldı.

Sabunlaştırma aşamaları

1. Şişedeki serum numunesinin üzerine 10 ml. Metanolde % 6'lık KOH çözeltisi konuldu, karıştırılarak 95 °C' de 1 saat sabunlaştırıldı.
2. Şişe çalkalanılarak köpürtüldü ve ayırma hunisine boşaltıldı.
3. Şişedeki kalan kısım tekrar saf su ile çalkalanarak ayırma hunisine boşaltıldı (Bu işlem 3 kez tekrarlanıldı).

4. Üzerine 10 ml. Kloroform/hegzan (1/4,v/v) karışımından ilave edilerek karışım sıkıca kapatıldı ve 100 kez çalkalandı (Bu işlem 3 kez tekrarlandı).
5. Faz oluşuktan sonra huninin kapağı çıkarıldı.
6. Alttaki faz, ikinci bir ayırma hunisine alındı.
7. Alttaki sulu fazın pH'ı ölçüldü. pH = 2 oluncaya kadar H₂SO₄ (8 N) damla damla ilave edildi.
8. 10 ml. Kloroform/hegzan ilave edilip 100 kez çalkalandı (Bu işlem 3 kez tekrarlandı). Alttaki sulu faz atıldı.
9. Üstteki yağ asidi ve çözücü şişeye alındı.

Metilleştirme aşamaları

1. Şişedeki çözücü N₂ altında uçuruldu.
2. 3 ml. BF₃-Metanol ilave edildi ve karıştırıldı.
3. 95 °C' da 15 dakika bekletildi. Benmariden alınan şişe soğutuldu ve içindeki, ayırma hunisine konuldu.
4. Şişeye 5 ml. Doymuş NaCl ilave edildi.
5. Şişeye 5 ml kloroform/hegzan konulup karıştırıldı.
6. Huni 100 kez çalkalandı ve dinlendirildi.
7. Alttaki NaCl bir ayırma hunisine alındı.
8. Üstte kalan çözücüde (metilleşmiş yağ asitleri) huninin üst kısmından temiz bir deney tüpüne alındı.
9. Tüpdeki çözücü (2-3 ml. kalacak şekilde) N₂ altında uçuruldu.
10. Numune şişeye aktarılarak yağ kompozisyonu analizi yapılana kadar deep-freeze'de saklandı.

Numunelerin Gaz Kromatografi Cihazına Enjekte Edilmesi

Gaz kromatografik analizler HP (hewlett packard) agilent marka 6890 N model FID (Flame Ionization Detector: Alev iyonlaştırıcı dedektör) dedektörlü

otomatik enjektörlü gaz kromatografi cihazı ile gerçekleştirildi. Analizlerde HP 88 100m x 0.25 mm 0.2 µm kapiller trans yağ asidi kolonu kullanıldı.

Gaz Kromatografi cihazının enjektör bloğu sıcaklığı 240 santigrat derece dedektör bloğu sıcaklığı 250 santigrat derece fırın sıcaklığında ise 160 santigrat derece olarak ayarlandı kolona sıcaklık programı uygulanıldı. Kolon fırın sıcaklığı 160 santigrat derece başlatılıp 2 dakika devam ettirildi, dakikada 4 santigrat derece artırılarak 185 santigrat dereceye ulaştırıldı. Dakikada 1 santigrat derece artırılarak 200 santigrat dereceye ulaştırıldı bu sıcaklıkta 46,75 dakika daha bekletildi. Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanıldı. Akış hızı dakikada 30 mililitre ve hava akış hızı dakikada 300 mililitre olarak ayarlandı. Split oranı ise 10:1 olarak ayarlandı.

Analiz için metilleştirilmiş numuneler (kontrol ve çalışma numuneleri) gaz kromatografi cihazına bir mikrolitre enjekte edildi. Gaz kromatografi cihazında numuneler 3 tekrarlı olarak analizlendi.

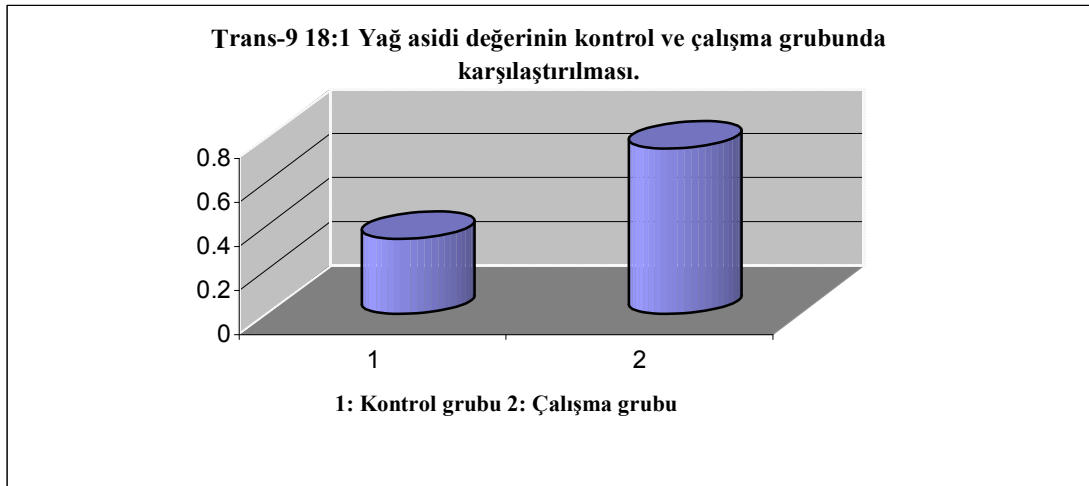
Kromatogramlardaki piklerin hangi yağ asidine ait olduğu standartların bağıl alıkonma zamanları (relative retention time) ile karşılaştırılarak belirlendi.

4. BULGULAR

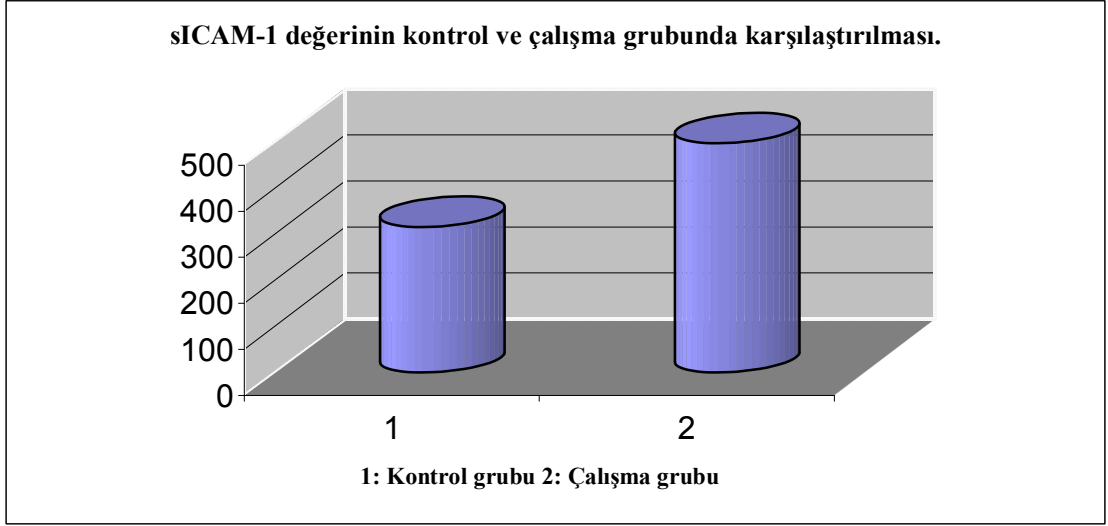
Bulguların incelenmesinde; serumdaki trans-9 18:1 yağ asidi, sICAM-1 ve sVCAM-1 değerlerinin kontrol grubuna göre çalışma grubunda fazla ($p < 0.01$) olduğu, IGF-1 değerlerinin ise daha az ($p < 0.05$) olduğu görüldü. Bu bulgularımız tablo 4.1 ve şekil 4.1.-4.4.`de görülmektedir.

Tablo 4.1. Trans-9 18:1 yağ asidi, sICAM-1, sVCAM-1 ve IGF-1 değerlerinin kontrol ve çalışma grubunda karşılaştırılması.

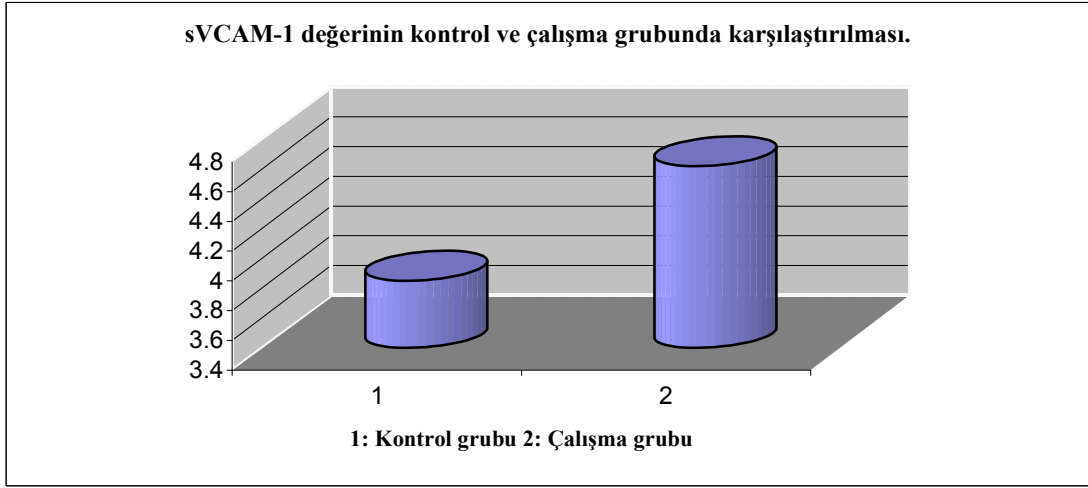
| <i>Testler</i> | <i>Kontrol</i> <i>x ± SD</i> | <i>Çalışma</i> <i>x ± SD</i> | <i>t</i> | <i>P</i> |
|--|---------------------------------|---------------------------------|-------------|--------------|
| <i>Trans- 9 18:1</i> <i>yağ asidi %</i> | <i>0.34 ± 0.27</i> | <i>0.75 ± 0.18</i> | <i>2.77</i> | <i>0.006</i> |
| <i>sICAM-1</i> <i>(pg/ml)</i> | <i>316.07 ± 32.10</i> | <i>498.07 ± 43.56</i> | <i>3.36</i> | <i>0,002</i> |
| <i>sVCAM-1</i> <i>(ng/ml)</i> | <i>3.85 ± 0.15</i> | <i>4.62 ± 0.19</i> | <i>3.08</i> | <i>0.004</i> |
| <i>IGF-1</i> <i>(ng/ml)</i> | <i>2018.5 ± 102.08</i> | <i>1678.2 ± 70.13</i> | <i>2.74</i> | <i>0.010</i> |



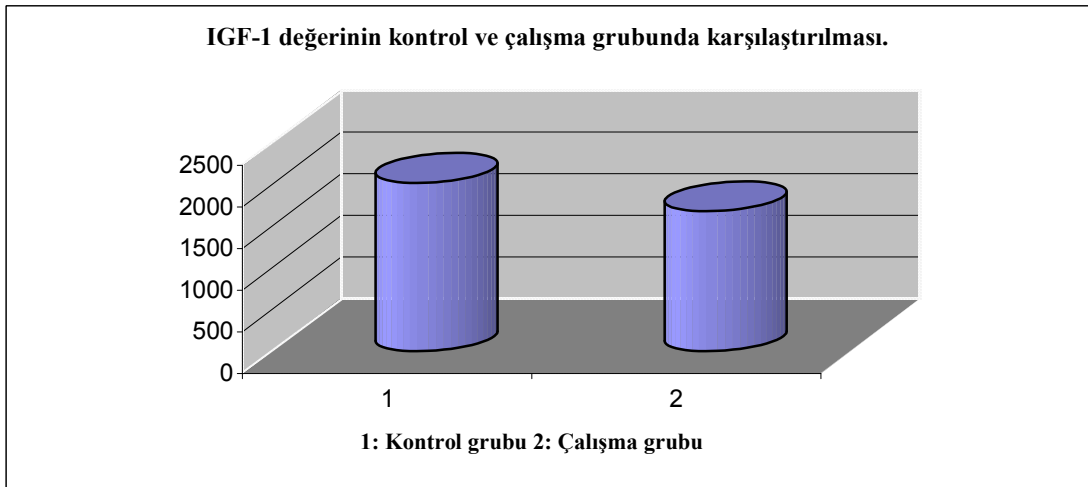
Şekil 4.1. Trans-9 18:1 yağ asidi değerinin kontrol ve çalışma grubunda karşılaştırılması



şekil 4.2. sICAM-1 değerinin kontrol ve çalışma grubunda karşılaştırılması.



şekil 4.3. sVCAM-1 değerinin kontrol ve çalışma grubunda karşılaştırılması.



şekil 4.4. IGF-1 değerinin kontrol ve çalışma grubunda karşılaştırılması.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Taşan ve Dağlıoğlu (2005) yaptıkları çalışmada bitkisel yağlara uygulanan hidrojenasyon işlemi o yağın kimyasal ve fiziksel özelliklerini değiştirdiğini belirtmişlerdir. Oluşan trans yağ asitlerinin büyük bir bölümünü trans C 18:1 oluşturduğunu, trans izomerlerinin insan sağlığı üzerine olumsuz etkilerinin bulunduğunu, trans yağ asitleri doymuş yağ asitleri gibi LDL-kolesterol miktarını artırırken HDL-kolesterol miktarını düşürdüğünü belirtmişlerdir.

Zock ve ark (1992) 26 kadın ve 30 erkek üzerinde yaptıkları çalışmada diyetle alınan trans yağ asitlerinin serum LDL-kolesterol seviyesinin yükselmesine, serum HDL-kolesterol seviyesinin düşmesine ve HDL/LDL oranının azalmasına yol açtığını belirtmişlerdir.

Lichtenstein ve ark (2003) yaptıkları çalışmada diyetle alınan trans yağ asitleri ile kardiovasküler hastalık gelişme riski arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Bunun için 52–73 yaş arası bay ve bayanlardan oluşan toplam 36 kişiye diyetle soya yağı, yarı-likit margarin, yumuşak margarin, shortening, stick margarin ve tereyağı verilerek 35 günlük takibin sonunda katılımcılardan alınan kan numunelerinde total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, insülin değerlerine bakmışlar ve trans yağ asitlerinin alımının LDL-kolesterol miktarını ve total kolesterol/HDL- kolesterol oranını artırdığını bildirmişlerdir.

Sun ve ark (2007) yaptıkları çalışmada trans yağ asitlerinin fazla alımının koroner kalp hastalığı ile bağlantılı olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada 1989-1990 yılları arası çalışan 32826 sağlıklı hemşirelerden kan örnekleri alınmış ve 6 yıl boyunca 166 koroner kalp hastalığı saptanmış olanlar ile 327 kontrol gurubunu karşılaştırmışlar. Trans yağ asidi alımıyla birlikte kanlarındaki trans yağ asidi içeriğinin artışını önemli ($p < 0.01$) bulunmuşlardır. Bununla ilgili olarak plazma LDL-kolesterol miktarının artmış, HDL-kolesterol miktarının da azalmış olduğunu bildirmişlerdir.

Garcia ve ark (2005) sağlıklı 730 bayanda yaptıkları çalışmada trans yağ asitleri alımı ile znebilir hücre adezyon molekülleri (sICAM-1, sVCAM-1), C-reaktif protein (CRP) ve IL-6 (İnterlökin-6) plazma konsantrasyonlarının kontrol

grubu plazma konsantrasyonlarına göre artmış ($p<0.01$) olduğunu ve trans yağ asitleri alımı ile birlikte kardiyovasküler hastalıklara yakalanma riskinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Dugue ve ark (1999) sağlıklı 65 kişide yaptıkları çalışmada serumda sICAM-1 düzeyine birçok preanalitiksel faktörlerin (gün saati, besin tüketimi, fiziksel ve fizyolojik stres) etkilerini incelemişler; preanalitiksel faktörlerin serum sICAM-1 konsantrasyonlarında artışa yol açtığını gözlemlemişler ve sICAM-1 gibi adezyon proteinleri erken aterosklerozis ve diğer bazı hastalıklar için önemli markırlardan biri olabileceğini bildirmişlerdir.

Blankenberg ve ark (2001) yaptıkları çalışmada 1246 koroner arter hastalığı olan kişilerden aldıkları numunelerden sICAM-1 ve sVCAM-1 düzeylerini araştırmışlar ve bu parametrelerin artmış ($p<0.05$) olduğunu bildirmişlerdir. Koroner arter hastalığı saptanmış hastalarda ileride kardiyovasküler hastalıklardan dolayı gelebilecek ölümlerle sICAM-1 ve sVCAM-1 düzeyleri arasındaki ilişkinin önemli olduğunu bildirmişlerdir.

Menekşe ve ark (2003) yaptıkları çalışmada tip II diyabetli 44 kişi ve sağlıklı 17 kişide sVCAM-1 düzeylerinin tip II diyabetli hastalarda kontrol grubuna göre artmış ($p<0.05$) olduğunu bildirmişlerdir.

Mozaffarian ve ark (2004) 823 sağlıklı kadında yaptıkları çalışmada, trans yağ asitlerinin alımı ile diyabet ve koroner kalp yetmezliği için risk faktörü olabileceğini bildirmişlerdir.

Bray ve ark (2002)'nin yaptığı klinik çalışmalarda trans yağ asitlerinin insülin rezistansını artırabileceği bildirilmekte ve egzersiz yaparak yağ oksidasyon oranı artırmakla, yüksek yağlı yiyecek diyetlerine karşı adaptasyonun artırılabilineceğini bildirmişler ve ayrıca inflamatuvar sinyallerine ve insülin resistansına oluşan cevapların farklı yağ asitlerinde farklılıklar gösterdiğini, cevabın bütün yağ asitlerinde aynı olmadığını bildirmişlerdir.

Şekuri ve ark (2004) yaptıkları çalışmada [22'si erkek, 8'i kadın toplam 30 Akut koroner sendromlu (AKS) hastada]. Hastaların 20'si akut ST yükselmeli miyokard infarktüsü (STEMİ), 10'u ise ST yükselmesiz AKS'lu olgu 20 sağlıklı birey ile karşılaştırılmalarında; ST yükselmeli miyokard infarktüsü grubunda serum IGF-I düzeylerinin belirgin olarak azaldığı ve IGF-I'in bir nekroz göstergesi olabileceğini bildirmişlerdir.

Spallorassa ve ark (1996) 65 yaş altı koroner anjiyografiye maruz kalan 122 erkek üzerinde yaptıkları çalışmada; genç erkeklerde koroner arter hastalığının nisbeten düşük IGF-1 konsantrasyonu ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Ledoux ve ark (2000) trans yağ asidi izomerlerinin özel tayinlerle; cis/trans izomerlerini Silver ion-high performance kromatografisi (Ag-HPLC) ile, trans izomerlerinin gaz kromatografisi ile belirlenebileceğini ve total yağ asidi kompozisyonundaki trans monomerlerinin yağ asit esterlerinin miktarını ise, gaz kromatografisi yöntemi ile tayin edilebileceğini belirtmişlerdir.

Lemaitre ve ark (2006) 1992-1998 yılları arasında 214 ölümcül koroner kalp hastalığı olan hastalardan alınan plazma numunelerinde total lipid ve trans yağ asidi miktarını gaz kromatografisi ile belirlemişlerdir. Yaşlı insanlarda kalp hastalıklarına bağlı ani kalp ölümünün ilk başta geldiğini ve kırmızı kan hücre membranında trans 18:2 yağ asidi miktarının yüksek seviyede, trans 18:1 yağ asidinin düşük seviyede bulunması ile ani kalp ölümü arasında ilişkinin yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Wiesenfeld ve ark (2003) Androstenedionun ratlarda lipid metabolizması, üzerine etkilerini araştırmışlar, rat serumundaki yağ asit kompozisyonu incelediklerinde çalışma grubunda ve kontrol grubunda trans – 9 18:1 yağ asidine rastlamışlardır.

Yapılan birçok klinik ve epidemiyolojik çalışmalarda, diyetle alınan trans yağ asitlerinin plazma lipit profilini etkilediğini alınan trans yağ asitleri ile HDL-kolesterol ve LDL-kolesterol arasında ters ilişkinin olduğu, trans yağ asitlerinin alımı ile HDL-kolesterolün azalmakta olduğu ve LDL-kolesterolün artmakta olduğu görülmüştür.

Düşük dansiteli lipoprotein (LDL)'nin serbest radikal etkisi sonucunda modifiye olduğu ve bu şekilde makrofajlar tarafından daha hızlı içeri alındığı gösterilmiştir (Kurban ve Mehmetoğlu 2005).

LDL' nin makrofajlar tarafından içeri alınmasıyla enflamasyonun başlaması, enflamasyonla birlikte ise çalışma grubunda hücre adezyon moleküllerinin (sICAM -1 ve sVCAM-1) plazma miktarında artma ve IGF-1' ise azalmış olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızda kontrol grubu ile diyetlerine trans-9 18:1 yağ ilave edilen çalışma grubunun kanlarındaki yağ asitlerine bakıldı ve diyetlerine trans-9 18:1 yağ ilave edilen çalışma grubu kanlarında trans-9 18:1 yağ asitleri seviyeleri kontrol grubuna göre yüksek ($p < 0.01$) bulundu. Kontrol grubunun kanlarında da trans-9 18:1 yağ asidi bulunmasının nedeni tam olarak anlaşılammış olmakla birlikte; çalışma grubu rasyonuna trans 9 18:1 yağ asidi ilave etmeden önce tüm ratların beslendiği rasyonlarda trans 9 18:1 yağ asidinin mevcut olması düşünülmektedir. Çalışmamızın amacı tüm ratlar için kullanılan rasyonların yağ içeriğini araştırmak olmadığı için tüm ratlar için kullanılan rasyonun yağ içeriğine bakılmadı. Esas maksadımız trans 9 18:1 yağ asidi ilavesi veya beslenmede arttırıldığı durumlardaki sICAM -1, sVCAM-1 ve IGF-1 üzerine etkilerini ve enflamasyona etkisini araştırmak olduğu için ilave edilenin etkisini görmeye çalıştık. Sonuç olarak da; Trans-9 18:1 yağ asitleri ilave edilen ratların solubül hücre adezyon molekülleri (sICAM -1 ve sVCAM-1) nin plazma konsantrasyonları, kontrol grubunun plazma konsantrasyonlarına göre yüksek ($p < 0.01$), IGF-1 plazma konsantrasyonu ise kontrol grubunun plazma konsantrasyonuna göre düşük ($p < 0.05$) bulundu(Tablo 4.2.).

Görüldüğü gibi trans yağ asitlerinin etkileri pek çok araştırmaya konu olmuştur ve Kanada, İngiltere, Danimarka gibi ülkelerde trans yağ içeren ürünlerin içerdikleri trans yağ miktarlarını belirtme ve kısıtlama zorunluluğu getirilmiştir([www. gidaraporu. com](http://www.gidaraporu.com)).

Bisküvi, çikolata, kek, gofret, mayonez, cips başta olmak üzere özellikle kızartma türü gıda hazırlayan büfe, lokanta gibi toplu tüketim yerlerinde defalarca kullanmaya dayandığı için bu yağlar tercih edilmektedir. Ülkemizde trans yağların büfe ve restoranlarda kullanımı ile ilgili yasal bir düzenleme bulunmuyor. ABD'de 2008 yılında trans yağların kullanımının yasaklanacak olması, diğer gelişmiş

lkelerde ise büyük oranda kısıtlanmış olması konunun önemini belirtmektedir(www.gidaraporu.com).

Tüm bu bilgilerin ışığı altında; yağların diyetle alınmalarının ve gıda endüstrisi ile besinlerde oluşan veya ilave edilen trans-9 18:1 oktadesenoik yağ asitlerinin çeşitli etkilerini ve insan sağlığı üzerinde yol açabilecekleri olumsuz etkilerin gözden geçirilmesi, klinikte teşhis ve takipte sICAM-1, sVCAM-1 ve IGF-1 gibi parametrelerden de yararlanılmasının uygun olabileceği, trans yağların kullanımı ile ilgili düzenlemelerin getirilmesinin toplum sağlığı açısından önem taşıyacağı kanaatine vardık.

6. ÖZET

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

Rahim KOCABAŞ

Trans-9 18:1 Oktadesenoik Asit İzomerinin Solubül Hücre Adezyon Molekülleri (sICAM-1 ve sVCAM-1) ve İnsülin Benzeri Growth Faktör (IGF-1) Düzeylerine Etkileri.

Bu çalışmada diyet ile alınan trans yağ asit izomerlerinden trans-9 18:1 oktadesenoik asit izomerinin, ratlarda solubül hücre adezyon molekülleri (sICAM -1 ve sVCAM-1) ve insülin benzeri growth faktör (IGF-1) düzeylerine etkileri araştırıldı.

İki hafta süreyle aynı yemle beslenen ratlar, kontrol ve çalışma grubuna ayrıldı. Çalışma grubunun diyetlerine 10 gün süre ile 50 mg/gün trans-9 18:1 oktadesenoik asit izomeri ilave edildi. Daha sonra her iki grubun serumlarında gaz kromatografi analizleri ile yağ asit kompozisyonları incelendi. Çalışma grubunda trans-9 18:1 yağ asidi miktarının kontrol grubuna göre fazla ($p<0.01$) olduğu görüldü.

Trans-9 18:1 oktadesenoik asit ile beslenen ratların plazmalarında hücre adezyon molekülleri (sICAM -1 ve sVCAM-1) nin seviyelerinin yükseldiği ($p<0.01$) IGF-1 değerlerinin ise azalmış olduğu ($p<0.05$) görüldü.

Sonuç olarak diyetle alınan trans yağ asitlerinin hücre adezyon molekülleri (sICAM -1 ve sVCAM-1) ve IGF-1 değerlerini değiştirdiğini, bu parametrelerin Koroner arter hastalığı ve Aterosklerozis gibi hastalıkların teşhisinde erken tanı molekülleri olarak kullanılabilineceği, sICAM-1, sVCAM-1 ve IGF-1 seviyesinin çeşitli patolojik durumlarda da araştırılması ve değerlendirilmesi kanaatine varıldı.

7. SUMMARY

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

Rahim KOCABAŞ

The effects of trans-9 18:1 octadecenoic acid isomer on levels of soluble cell adhesion molecules (sICAM -1 and sVCAM-1) and insulin like growth factor(IGF-1)

The effects of trans-9 18:1 octadecenoic acid isomer from the fatty acid isomers taken with diet on soluble cell adhesion molecules (sICAM -1 and sVCAM-1) and insulin like growth factor(IGF-1) levels were investigated in rats.

The rats which were fed by the same dietary feeding were separated into study and control groups. 50 mg/day dosage for 10 days trans-9 18:1 octadecenoic acid isomer was added to diet in the study group. Then fatty acid composition in both groups was studied by gas chromatography analyses. Trans-9 18:1 fatty acid level in the study group was higher than control group ($p<0.01$).

Cell adhesion molecules sICAM -1 and sVCAM-1 were increased ($p<0.01$) and IGF-1 level was decreased ($p<0.05$) in rats fed with trans-9 18:1 octadecenoic acid.

As a conclusion the trans fatty acid isomers taken with diet effect sICAM -1, sVCAM-1 and IGF-1 and it is thought these parameters may be useful in the early diagnosis of coronary artery disease and atherosclerosis and measurement of these parameters in other pathological cases also may be useful.

8. KAYNAKLAR

- Altan N (2000)** *Biyokimya Olgu Sunumlu Yaklaşım*, Palme yayıncılık, 298-299.
- Benekli M ve Haznedaroğlu IC (1998)** *Adezyon molekülleri*, Türk Hematoloji-Onkoloji Dergisi, 8(4), 252-254.
- Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Peetz D, Hafner G, Tiret L and Meyer J (2001)** *Circulating cell adhesion molecules and death in patients with coronary artery disease*, Circulation, 104, 1336-1342.
- Bray GA, Lovejoy JC, Smith SR, DeLany JP, Lefevre M, Hwang D, et all (2002)** *The Influence of Different Fats and Fatty Acids on Obesity, Insulin Resistance and Inflammation*, American Society for Nutritional Sciences 132, 2488-2491.
- Crockard AD, Boylan MT, Droogan AG, McMillan SA and Hawkins SA (1998)** *Methylprednisolone- induced neutrophil leukocytosis down- modulation of neutrophil L-selectin and Mac-1 expression and induction of granulocyte-colony stimulating factor*, Int J Laboratuvar Res, 28, 110-115.
- Daughaday WH and Rotwein P (1989)** *Insulin-like growth factors I and II: peptide, Messenger ribonucleic acid and gene structures, serum and tissue concentrations*, Endocrine Reviews, 10(1), 68-91.
- Destailats F, Berdeaux O, Sebedio JL, Juaneda P, Gregoire S, Chardigny JM, et all (2005)** *Metabolites of conjugated isomers of α -linolenic acid (CLnA) in the rat*, J Agric Food Chem, 53, 1422-1427.
- 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(3), 275-282.
- Dugue B, Leppanen E and Grasbeck R (1999)** *Preanalytical Factors (Biological Variation) and the Measurement of Serum Soluble Intercellular Adhesion molecule-1 in Humans: Influence of the Time of Day, Food Intake, and Physical and Psychological Stres*, Clinical Chemistry, 45(9), 1543-1547.
- Ergüler G, Demir N ve Demir R (2002)** *Adezyon Moleküllerinin Yapısal özellikleri ve fonksiyonları*, T Klin Tıp bilimleri, 22, 313-327.
- Faruqi RM and DiCorleto PE (1993)** *Mechanism of monocyte recruitment and accumulation*, Br Heart J, 69, 19-29.
- Feldmann M (1996)** *Intercellular adhesion molecules*, Immunology, 143- 148.

- Folch J, Lees M and Sloane Stanley GH (1956)** *A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues*, J Biol Chem, 63(226), 497-509.
- Foster CA (1996)** *VCAM-1 / Alfa 4 integrin adhesion pathway; therapeutic target for allergic inflammatory disorders*, J Allergy Clin Immunol, 98(6pt2) 270-277.
- Frattali AL and Pessin JE (1993)** *Relationship between α subunit ligand occupancy and β subunit autophosphorylation in insülin/insulin-like growth factor-I hybrid receptors*, J Biol Chem, 268(10), 7393-7400.
- Garcia LE, Schulze MB, Meigs JB, Manson JE, Rifai N, Stampfer MJ, et all (2005)** *Consumption of trans fatty acids is related to plazma biomarkers of inflamation and endothelial dysfunction*, J Nutr, 135, 562-566.
- Güç D (2004)** *Adezyon moleküllemi*, Astım alerji immünoloji, 2(2), 95-102.
- Gürdöl F ve Ademoğlu E (2006)** *Biyokimya kitabı*, Nobel tıp kitabevleri, 76-77.
- Janssen JAMJL and Lamberts SWJ (2002)** *The role of IGF-I in the development of cardiovascular disease in type 2 diabetes mellitus: is prevention possible?*, Eur J Endocrinol, 146(4), 467-477.
- Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamoğlu M, Başınar N ve Tiftik AM (2000)** *Biyokimya*, Nobel yayın dağıtım, 2. baskı, 176-178.
- Kato H, Faria TN, Stannard B, Roberts CT, Jr and LeRoith D (1993)** *Role of tyrosine kinase activity in signal transduction by the insulin-like growth factor-I (IGF-I) receptor*, J Biol Chem, 268(4), 2655-2661.
- Kayahan M (2003)** *Yağ Kimyası*, ODTÜ Yayıncılık, 1-12, 135-155.
- Krsek M, Prazny M, Skrha J, Justova V, Lacinova Z and Haas T (2002)** *The relationship between the IGF-I system and its binding proteins and microvascular reactivity in Type 1 diabetes mellitus*, Physiol Res, 51, 379-385.
- Kurban S ve Mehmetoğlu İ (2005)** *Okside düşük dansiteli lipoprotein otoantikorları ve klinik önemi*, Türkiye klinikleri, J Med Sci, 25, 73-84.
- Le Roith D (2003)** *The insulin-like growth factor system*, Experimental Diab Res, 4, 205-212.
- Ledoux M, Laloux L and Wolff RL (2000)** *Analytical methods for determination of trans-C18 fatty acid isomers in milk fat. A review*, Analusis, 28, 402-412.

- Lemaitre RN, King IB, Mozaffarian D, Sotoodehnia N, Rea TD, Kuller LH, et al (2006)** *Plasma Phospholipid Trans Fatty Acids, Fatal Ischemic Heart Disease, and Sudden Cardiac Death in Older Adults*, *Circulation*, 114, 209-215.
- Linchtenstein AH, Erkkila AT, Lamarche B, Schwab US, Jalbert SM and 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.
- Menekşe E, Harmanda A, Seyman G, Kılınç S ve Şener R (2003)** *Tip II Diabetik Hastalarda Çözünür Vascular Cell Adhesion Molecule-1 Düzeyinin Komplikasyonlarla İlişkisi*, *Türkiye klinikleri dahili tıp bilimleri dergisi*, 9(3), 269- 274.
- Mensink RP and Katan MB (1990)** *Effect of dietary trans fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects*, *N Eng J Med*, 323(7), 439-445.
- Moss CW, Lambert MA and Mervin WH (1974)** *Comparison of rapid methods for analysis of bacterial fatty acids*, *Appl Microbiol*, 28(1), 80-85.
- Mozaffarian D, Pischon T, Hankinson SE, Rifai N, Joshipura K, Willett WC and Rimm EB (2004)** *Dietary intake of trans fatty acids and systemic inflammation in women*, *American journal of clinical nutrition*, 79(4), 606-612.
- Muniyappa R, Walsh MF, Rangi JS, Zayas RM, Standley PR, Ram JL and Sowers JR (1997)** *Insulin like growth factor 1 increases vascular smooth muscle nitric oxide production*, *Life Sci*, 61(9), 925-931.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW (2004)** *Harper biyokimya*, Nobel Tıp Kitabevleri, 25.Baskı, 268-269.
- Saldamlı İ (2005)** *Gıda kimyası kitabı*, Hacettepe Üniversitesi yayınları, 157-158.
- Spallarossa P, Brunelli C, Minuto F, Caruso D, Battistini M, Caponnetto S and Cordera R (1996)** *Insulin-like growth factor-I and angiographically documented coronary artery disease*, *Am J Cardiol*, 77(2), 200-202.
- Sun Q, Ma J, Campos H, Hankinson SE, Manson JE, Stampfer MJ, et al (2007)** *A Prospective Study of Trans Fatty Acids in Erythrocytes and Risk of Coronary Heart Disease*, *Circulation*, 115, 1858-1865.

Şekuri C, Arslan Ö, Ütük Ö, Bayturan Ö, Onur E, Tezcan UK ve Tavlı T (2004)

Akut Kroner Sendromlarda İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein-3 Düzeyleri ve Prognozla İlişkisi, Anadolu Kardiyoloji dergisi, 4, 209-212.

Tanaka S, Sakata Y, Morimoto K, Tambe Y, Watanabe Y, Honda G, et all

(2001) *Influence of naturel and synthetic compounds on cell surface expression of cell adhesion molecules, ICAM-1 and VCAM-1, Planta Med, 67(2), 108-113.*

Taşan M ve Dağhoğlu O (2005) *Trans yağ asitlerinin yapısı, oluşumu ve gıdalarla*

alınması, Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 2(1), 79-88.

Wiensfeld PW, Sapienza PP, Flynn TJ, Ford CE, Ross IA, Sahu S, et all

(2005) *Effects of oral androstenedione on phospholipid fatty acids, ATP, caspase-3, prostaglandin E₂ and C-reactive protein in serum and livers of pregnant and non-pregnant female rats, Food and Chemical Toxicolgy, 44, 579-587.*

www. biologydaily. com

www. dailymed. nlm. nih. gov

www. gidaraporu. com

www. thepleodiet. com

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, Journal of Lipid Research, 33, 399-410.

9. ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında Konya'da doğdu. İlk ve Orta öğrenimini Konya'da, Lise öğrenimini Aksaray'da tamamladı. Ön Lisans eğitimini Ankara Üniversitesi Dikimevi Sağlık Hizmetleri MYO Tıbbi Laboratuvar Bölümünde 1994-1996, Lisans eğitimini Selçuk Üniversitesi Fen – Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde 2000-2004 yılları arasında tamamladı. 2004 yılında S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya (Tıp Fakültesi) Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. Aynı zamanda Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi Kan Merkezinde 2001 yılında göreve başlamış ve halen devam etmektedir. Evli ve bir çocuk babasıdır.

10. TEŞEKKÜR

Eđitimim sırasında ilgi ve desteğini gördüğüm S.Ü. Tıp Fakóltesi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı ve öğretim üyelerine, gaz kromotografi çalışmamızda yardım aldığım S.Ü. Fen-Edebiyat Fakóltesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Abdurrahman AKTÜMSEK'e ve Yüksek Lisans Öğrencisi Yavuz ÇAKMAK'a, Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Veteriner Hekimi Mehmet ÖZ'e, istatistik çalışmalarımıza yardımcı olan S.Ü. Veterinerlik Fakóltesi öğretim üyesi M.Emin TEKİN'e, tezimin yazılma aşamasında her türlü yardım ve desteğini esirgemeyen S.Ü. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Mahmut BAYKAN'a ve Mehmet ÖZDEMİR'e ayrıca çalışmalarım süresince her zaman yanımda olan eşim Dilek KOCABAŞ'a ve kızıma teşekkür ederim.