

164670

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Prof. Dr. İdris Mehmetoğlu
ANABİLİM DALI BAŞKANI

**DİYET YAĞLARININ BEYİNDE
LİPİD PEROKSİDASYONU, AOA, NO ve LİPİDLER
ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Sevil Kurban

TEZ DANIŐMANI
Prof. Dr. İdris Mehmetoğlu

164670

KONYA-2005

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ VE AMAÇ

2. GENEL BİLGİLER

2.1. BEYİN

2.1.1. Beyin dokusunun içeriği

2.1.2. Beyin dokusunda enerji metabolizması

2.2. LİPİDLER

2.2.1. Lipidlerin sınıflandırması

2.2.2. Yağ asitleri

2.3. GIDA OLARAK TÜKETİLEN ÖNEMLİ YAĞLAR

2.3.1. Ayçiçek yağı

2.3.2. Zeytin yağı

2.3.3. Tereyağı

2.3.4. Margarin

2.3.5. Soya yağı

2.4. SERBEST RADİKALLER

2.4.1. Serbest radikal kimyası

2.4.2. Serbest oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türleri

2.4.2.1. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)

2.4.2.2. Hidroksil radikali (OH)

2.4.2.3. Hidrojen peroksit (H_2O_2)

2.4.2.4. Hipokloröz asit (HOCl)

2.4.2.5. singlet oksijen (1O_2)

2.4.3. Serbest radikallerin etkileri

2.4.3.1. Lipid metabolizması üzerine olan etkileri

2.4.3.2. Protein ve aminoasit metabolizması üzerine olan etkileri

2.4.3.3. DNA üzerine olan etkileri

2.4.3.4. Karbonhidrat metabolizması üzerine olan etkileri

2.5. ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

2.5.1. Doğal (endojen) antioksidanlar

- 2.5.1.1. Enzim yapısındaki antioksidanlar
 - 2.5.1.1.1 Süperoksit dismutaz (SOD)
 - 2.5.1.1.2. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)
 - 2.5.1.1.3. Glutasyon – S – transferazlar (GST)
 - 2.5.1.1.4. Katalaz
 - 2.5.1.1.5. Mitokondrial sitokrom oksidaz
- 2.5.1.2. Enzim yapısında olmayan antioksidanlar
 - 2.5.1.2.1. Redükte glutasyon (GSH)
 - 2.5.1.2.2. Askorbik asit (vitamin C)
 - 2.5.1.2.3. α -Tokoferol (Vitamini E)
 - 2.5.1.2.4. Karotenler

2.6. NİTRİK OKSİT (NO)

- 2.6.1. İzofom I-nNOS
- 2.6.2. İzofom III-eNOS
- 2.6.3. İzofom II-iNOS

3. MATERYAL VE METOD

3.1. MATERYAL

- 3.1.1. Vakaların oluşturulması ve gruplandırma
- 3.1.2. Yemlerin hazırlanışı
- 3.1.3. Numunelerin alınışı
- 3.1.4. Kullanılan cihazlar
- 3.1.5. Kullanılan reaktif, çözelti ve kitler

3.2. METOD

- 3.2.1. Kolesterol ölçümü
- 3.2.2. TG ölçümü
- 3.2.3. Fosfolipid ölçümü
- 3.2.4. Protein ölçümü
- 3.2.5. MDA ölçümü
- 3.2.6. NO ölçümü
- 3.2.7. AOA ölçümü

3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

4. BULGULAR

- 4.1. MDA bulguları
- 4.2. AOA bulguları

- 4.3. NO bulguları
- 4.4. Kolesterol bulguları
- 4.5. TG bulguları
- 4.6. Fosfolipid bulguları

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

6. ÖZET

7. SUMMARY

8. KAYNAKLAR



KISALTMALAR

AA: araşidonik asit

ABTS:2,2'-Azino-di-(3-ethylbenzthiazoline sulphonate)

AC: Antioksidan

AOA: Antioksidan aktivite

BH₄: Tetrahidrobiopterin

BOS: Beyin omurilik sıvısı

DM: Diabetes mellitus

DHA: Dokosahekzaenoik asit

EFA: Essential fatty acids

eNOS: Endotelial NOS

ETZ: Elektron transport zinciri

FA-CoA: Yağ-açıl-koenzim A

FAD: Flavin adenin dinükleotid

FMN: Flavin adenin mononükleotid

GSH: Redükte glutatyon

GSH-Px : Glutatyon Peroksidaz

GST: Glutatyon – S – transferazlar

cGTP: siklik guanozin monofosfat

H₂O₂ : Hidrojen peroksit

iNOS: İndüklenebilir NOS

KAH: Koroner arter hastalığı

KVS: Kardiovasküler sistem

LDL: küçük dansiteli lipoprotein

LOOH: Lipid peroksit

LPO: Lipid peroksidasyonu

LC-PUFA: Uzun zincirli doymamış yağ asitleri

MDA: Malondialdehid

MUFA: Tekli doymamış yağ asitleri

NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat

NMDA: N-metil-D-aspartat

NO: Nitrik oksit

nNOS: Nöronal NOS

NOS: Nitrik oksit sentaz

NO₂⁻: Nitrit

NO₃⁻: Nitrat

OH[•] : Hidroksil radikali

O₂^{•-} : Süperoksit anyon radikali

ONOO⁻: Peroksinitrit

PUFA: Çoklu doymamış yağ asitleri

ROS: Reaktif oksijen türleri

ROO[•] : Peroksil

SFA: Doymuş yağ asitleri

SOD: Süperoksit dismutaz

SSS: Santral sinir sistemi

TBA: Tiobarbitürik asit

TCA: Triklorasetik asit

TG: Trigliserid

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Plazma ve doku lipid seviyeleri ve dokuya spesifik antioksidan (AO) enzim aktiviteleri güçlü bir şekilde genetik olarak belirlenmekle beraber kısmen de olsa eksojen faktörlerden mesela diyetten etkilenebilirler. Diyetteki yağ asitleri dokuların lipid içeriğinde ve lipid peroksidasyonunda etkilidir.

Beynin sudan sonra ana bileşeni lipidlerdir. Lipidler sadece yüksek enerji verdiklerinden dolayı değil, aynı zamanda yağda eriyen vitaminler ve esansiyel yağ asitlerini (EFA= essential fatty acids) de içerdiklerinden dolayı diyetin önemli bir parçasıdır. Nöronlar, miyelinden dolayı diğer hücrelerden daha fazla oranda lipid içerirler. Beynin kuru ağırlığının yaklaşık yarısı yağ ve bunun da üçte biri PUFA'dır. Beyin yağ asidinin % 25-30'unu oluşturan çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA= polyunsaturated fatty acids) normal beyin gelişimi ve fonksiyonu için gereklidir.

Beynin fonksiyon ve kimyası diyetten etkilenir. Lipidler membranın fiziksel özelliklerini değiştirerek iyon kanalları ve transport, endositoz ve ekzositoz ve membrana bağlı proteinlere etki ederek membran fonksiyonunu değiştirebilirler. Çünkü membran reseptörlerine bağlı nörotransmitterler membran fosfolipid yağ asidi kompozisyonundaki değişikliklerden etkilenebilir. Ayrıca, membran fosfolipidlerinden fosfolipaz etkisi sonucu veya direk salınan uzun zincirli doymamış yağ asitleri (LC-PUFA), hücre sinyal iletiminde ikinci haberci olarak rol alırlar. Diyet yağları aynı zamanda direk transkripsiyon faktörlerine bağlanarak veya metabolizma, büyüme ve hücre farklılaşması ile sonuçlanan intrasellüler eikasonoid sinyal kaskadının aracılığı ile gen ekspresyonuna etki ederler.

Serbest radikaller dış orbitallerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron içeren oldukça reaktif maddelerdir. Organizmada normal metabolik yollar veya patolojik mekanizmalar sonucu oluşurlar. Savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak oranlarda oluştukları zaman oksidan ve antioksidan sistem arasındaki denge bozulur. Artmış oksidatif stres ateroskleroz, hipertansiyon, koroner arter hastalığı (KAH), diabetes mellitus (DM), kanser, yaşlanma, parkinson, alzheimer, serebrovasküler olaylar ve huntington hastalığı gibi pek çok kronik hastalığın gelişmesinde rol oynarlar. Reaktif oksijen türlerinin ve diğer radikallerin zararlı etkileri antioksidan sistemlerle kontrol edilir.

Diyet, içeriğindeki PUFA'lar ile vücuttaki oksidatif stres üzerinde artırıcı ve AO'lar ile azaltıcı etki gösterir.

Diyetteki yağ asitleri dokuların lipid içeriğinde ve lipid peroksidasyonunda etkilidir. Lipid peroksidasyonu (LPO) normal metabolik işleyiş sırasındaki serbest radikaller ile

oluşur. Fakat iskemi ve reperfüzyon gibi durumlarda daha da artar. Beyin lipidlerinin PUFA'dan zengin olması ve substantia nigra ve striatum gibi beynin pek çok bölgesinde demir konsantrasyonunun yüksek olmasından dolayı beyin hücre membranları lipid peroksidasyonuna hassastır. Beyin, aerobik metabolizmaya bağlı olduğu için mitokondrial solunumsal aktivite diğer dokulardan yüksektir ve mitokondriyenin serbest radikal sızma riski fazladır. Beyinde serbest radikallerin mitokondriye hasarı aerobik metabolizmaya bağımlılıktan dolayı kısmen zayıf tolere edilir. Lipidlerin serbest radikallerle reaksiyonu sonucu oluşan aldehit ürünlerinden biri olan malondialdehid (MDA)'nın ölçümü lipid peroksidasyonunun ve serbest radikal aktivitesinin indirek göstergesidir.

LPO, vücuttaki AO savunma sistemleri tarafından engellenir. Antioksidanlar doğal (endojen) ve eksojen kaynaklıdır. Diyetle alınan AO'lar eksojen kaynaklıdır. Yağ asitleri vücudumuzdaki bütün dokuların hücre membranları için önemli bileşenlerdir. Bunun için doğru yağı yeterli miktarda almak ve onları antioksidanlarla korumak önemlidir.

Sıvı yağlar, PUFA'lardan hayli zengindir ve bunların da serbest radikallerle reaksiyona girerek lipid peroksidasyonuna yol açma eğilimleri yüksektir. Katı yağlarda fazla miktarda bulunan doymuş yağ asitleri (SFA= saturated fatty acids) ise lipid peroksidasyonuna karşı daha dirençli fakat kan kolesterolünü yükseltme eğilimindedirler.

Nitrik oksit (NO), hem sitoprotektif hem de sitotoksik etkili bir serbest radikaldir ve santral sinir sistemi (SSS)'de sayısız etkiye sahiptir. Yüksek kolesterol durumunda NO sentezi azalma gösterir.

Bu genel bilgiler dışında, diyetle alınan ticari yağların kan lipidleri, MDA, antioksidan aktivite (AOA) ve NO üzerine olan etkileri ile ilgili çalışma azdır ve beyin lipidleri, MDA, AOA ve NO üzerine olan etkileri ile ilgili çalışma neredeyse yoktur. Bu noktadan hareketle biz de çalışmamızda, toplum tarafından en çok tüketilen yağlar olan ayçiçek yağı, zeytin yağı, tereyağı, margarin ve soya yağının beyinde LPO, AOA, NO, kolesterol, trigliserid (TG) ve fosfolipid üzerine olan etkisini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. BEYİN

2.1.1. Beyin dokusunun içeriği

Fonksiyonları çok karmaşık olan beyinde mikroskobik olarak farklı tipte çok sayıda hücre bulunmasına rağmen fonksiyonel olarak tanımlanabilen iki hücre tipi bulunmaktadır. Nöronlar, elektrik uyarılarının iletilmesinde görevli hücrelerdir. Bir beyinde on milyar kadar nöron bulunur. Nöron, dendritler yolu ile uyarıları alır ve akson aracılığıyla uyarıları ileten uzantılar ve gövdeden oluşur. Aksonların ve dendritlerin sitozollerinde proteinlerin aksonal transportundan sorumlu olan mikrotübüller ve nöronların büyümeleri ile ilişkili nörofilamentlerle karakterizedir. Nöronlar arasındaki ilişkiler sinapslar üzerinden sağlanır ve her nöron yaklaşık 10.000 kadar bu tür bağlantı noktasına sahiptir (1).

Diğer hücre tipi ise glia hücreleridir. Glia hücreleri sinir hücreleri için koruyucu ve beslenme fonksiyonlarına sahiptirler. Bu şekilde merkezi sinir sistemindeki oligodentrogliolar aksonların myelinini oluştururken (periferik sinir sisteminde schwann hücreleri adını alırlar), astroglialar kan damarlarının etrafını saran uzantılardır. Mikroglialar az sayıda bulunan sinir dokusundaki zedelenme bölgesinde sayıları artan, hareketli monositlerin farklılaşması ile oluşan hücrelerdir. Nöronlar bölünememekte, glia hücreleri ise bölünerek ve çoğalabilmektedirler (1).

Nöronlar ve glia hücreleri arasında bağ dokusu yer alır. Toplam beyin ağırlığının %20 kadarını oluşturan bağ doku proteoglikanlar ve yapısal glikoproteinlerden oluşmuştur.

Beyin dokusunun kimyasal içeriği diğer uyarılabilir nitelikteki kas dokusu ile karşılaştırıldığında büyük farklılıklar gösterir. Beyinde lipid içeriği fazladır ve kuru ağırlığının %50'si lipidlerden oluşur. Miyelin tabakası da diğer hücre zarlarının aksine zengin bir lipid içeriğine sahiptir ve %70'i lipidlerden oluşur. Lipid tabakasında %44 gliserin fosfatidler, %28'lik kısmı kolesterol ve %28'lik kısmı galaktoserebrosidler, sülfatitler ve sfingomyelinleri içeren sfingolipidlerden meydana gelmiştir. Miyelin tabakasının protein kısmı düşük moleküler ağırlıklı proteinler (mol.A. yaklaşık 19.000), bazik hidrofilik proteinler (mol.A. 24.000) ve yüksek molekül ağırlıklı Wolfram proteinlerinden oluşmuştur (2).

Yetişkinde beyin ve omurilik, toplam hacmi 150 ml olan beyin omurilik sıvısı (BOS) içinde bulunmaktadır. Beyine mekanik destek sağlayan BOS, metabolik atıkların

uzaklaştırılmasında ve kimyasal haberci olarak görev yapan biyolojik aktif bileşiklerin taşınmasında fonksiyon görmektedir. Ayrıca, BOS beyin çevresindeki kimyasal ortamı dengede tutmaktadır. BOS ile kan arasında bulunan kan-beyin bariyeri ile madde alışverişi sınırlıdır. Bazı bileşiklerin BOS ve plazma konsantrasyonları farklı, bazı bileşiklerin ise aynıdır (1,2).

2.1.2. Beyin dokusunda enerji metabolizması

Metabolik hızı (uykuda ve uyanık iken) en yüksek organ olan beyin diğer organlardan en önemli farkı enerji depolamamasıdır. Bu nedenle, sürekli olarak sabit enerji ihtiyacı bulunan beyin, enerjisini periferik kan dolaşımından aldığı glukoz ile sağlamaktadır. Vücut kütlelerinin %2 kadarını oluşturan beyin oksijenin %20, glukozun ise %60 kadarını kullanmaktadır. Serebral kan akışı kardiyak çıktının %15-20 kadarını (100 gr beyin için 500 ml/dak) oluşturmaktadır. Toplam serebral kan akışı sabit olmakla birlikte bazı alanlarda da farklılık göstermektedir. Gri maddeye kan akışı beyaz maddeye göre 3-4 kat fazladır. Farklı işlevlerde (el hareketi, konuşma veya mental) bölgesel farklılıklar gözlenmektedir. Ayrıca felç gibi durumlarda da beyin kan dolaşımı etkilenmektedir (3).

Beyinde glikojen deposu çok az olduğu için glukoz ihtiyacı sürekli olarak kan dolaşımından sağlanmaktadır. Glukoz, sinir sistemi tarafından kullanılabilen tek yakıttır. Bu nedenle beyin sürekli olarak glukoz desteğine ihtiyaç duyar. Normal koşullarda beyin ve diğer sinir hücrelerinin günlük glukoz ihtiyacı 150gr kadardır. Normal şartlarda enerjisini glukozdan sağlayan beyin uzun süren açlıkta keton cisimciklerini kullanmaktadır. Albumine bağlı yağ asitleri kan-beyin engelini aşamadığı için enerji sağlamada uzun zincirli yağ asitleri kullanılamamaktadır. Beyinde glukoneogenez yapılamadığından ATP oluşumunda amino asitlerden de yararlanılamamaktadır. Beyin önemli miktarda TG deposuna da sahip değildir (4,5).

Beyin enerjisinin üçte ikisini transmembran potansiyelin sürdürülmesinde (Na^+ - K^+ ATPaz gibi transmembran enzimlerinin aktivitelerinin sürdürülmesi) kullanmaktadır. Beyinde glukoz oksidasyonu CO_2 ve H_2O ile sonlanmaktadır (Glikoliz ve sitrik asit döngüsü) (1,5).

2.2. LİPİDLER

Lipidler, suda çözünmeyen ancak eter, kloroform ve aseton gibi organik çözücülerde çözünebilen biyomoleküllerdir. Sulu çözeltilerde çözünmediklerinden dolayı vücutta bulunan lipidler genellikle ya membran lipidler ve adipositlerde triaçilgliserol damlacıkları olarak bulunurlar ya da lipoprotein partikülleri olarak proteinlerle birlikte plazmada taşınırlar. Lipidler, yoğun enerji sağlayan ve enerji deposu olarak kullanılmaya elverişli organik maddelerdir. Karbon ve hidrojene oranla çok daha az miktarlarda bulunan oksijenin yanısıra fosfor (P) ve azot (N) ancak bazı lipid türlerinde bulunmaktadır. Lipidlerdeki hidrojen atomu oranı diğer makro moleküllere göre yüksektir. Bu yükseklik, lipidler daha konsantre enerji kaynakları haline getirir. Lipidler vücut için sadece ana enerji kaynağı olmakla kalmazlar, aynı zamanda hücrelerin sulu bölümlerinin ve hücre içi yapıların bölümlenmesine imkan sağlayan hidrofobik bariyer görevini de üstlenirler (6,7).

Bir memeli, vücut ağırlığının %15 - %25'i kadar yağ içerir. Bu yağ kitlesinin %90'ı trigliserid formundadır. Adipoz dokuda depolanan bu yağın çoğu birincil enerji rezervini oluşturur. Hayvanlarda yağ, özelleşmiş bir hücre olan adipositlerde depolanır Lipidlerin bir diğer fonksiyonu da vitamin gibi görev yapmaları (esansiyel yağ asitleri) ve steroid hormonlar ile prostoglandinleri oluşturmalarıdır. Enerji sağlamalarının yanı sıra lipidler, hücre membranının önemli yapısal bileşenleri olan fosfolipidler ve steroller olarak uyarıların iletilmesinde görev yapmaktadırlar. Polar olmayan lipidler, myelin sinirler boyunca depolarizasyon dalgalarının hızla ilerlemesi için elektriksel yalıtkan olarak fonksiyon görmektedirler. Bazı organların etrafında ve deri altı dokularında bulunan lipidler ısı yalıtım fonksiyonları bulunmaktadır. Hücresel lipidler büyük bir kısmı membranların yapısında bulunurlar. İleri derecede seçici geçirgen özelliğe sahip hücre membranının bileşimi ve yapısı (yağ asidi profili) ile fonksiyonları arasında kuvvetli ilişki vardır. Hücre ve mitokondri zarlarının yapısında bulunan ve lipidler plazmadaki taşınma şekilleri olan lipoproteinler, lipid ve proteinden oluşmuşlardır. Bazı lipid sınıfı bileşiklerin enzim kofaktörleri, elektron taşıyıcıları, hidrofobik bağlayıcılar, emülsifiye edici bileşikler, hormonlar ve hücre içi haberciler gibi değişik fonksiyonları bulunmaktadır (7).

2.2.1. Lipidlerin sınıflandırması

Geniş bir dağılım gösteren lipidler sınıflaması aşağıdaki şekilde yapılmaktadır.

A. Basit Lipidler: Bunlar yağ asitlerinin çeşitli alkollerle yaptıkları esterlerdir.

1. Yağlar (Trigliseridler): Yağ asitlerinin gliserollerle yaptıkları esterlerdir.

2. Mumlar: Yağ asitlerinin molekül ağırlıkları daha büyük olan alkollerle yaptıkları esterlerdir.

B. Kompleks Lipidler: İçinde bir alkol ve bir yağ asidine ek olarak başka gruplar taşıyan yağ asidi esterleridir.

1) Fosfolipidler: Yağ asitleri ve bir alkole ek olarak bir de fosforik asit taşırlar. Gliserofosfolipidler, sfingofosfolipidler (Sfingomyelinler) vb.

2) Glikolipidler (Glikosfingolipidler): Bir yağ asidi, sfingozin ve karbonhidrat ihtiva eden lipidlerdir.

3) Diğer Kompleks Lipidler: Sülfolipidler, amino lipidler, Lipoproteinler, vb.

C. Prekürsör ve Türev Lipidler: Bunlar, yağ asitleri, gliserol, steroidler, yağ aldehitleri ve keton cisimleri, hidrokarbonları, yağda çözünen hormonlar ve vitaminleri kapsar (6).

Yağ asitleri üçe ayrılır:

- 1) Doymuş yağ asitleri
- 2) Doymamış yağ asitleri
- 3) Yağ asidi türevleri

Yağlar konusunda bir adlandırma kargaşalığı vardır. Genel olarak halk dilinde yağ olarak nitelendirilen, biyokimyacının dilinde trigliseridlerdir (6).

2.2.2. Yağ asitleri

Yağ asitleri vücutta serbest (esterleşmemiş) veya triaçilgliserol gibi daha karmaşık moleküllerde yağ asit esterleri olarak bulunurlar. Serbest yağ asitleri enerji üretmek amacı ile karaciğer ve kas gibi bir çok doku tarafından okside edilebilir. Ayrıca glikolipidler, fosfolipidler, sfingolipidler ve kolesterol esteri gibi birçok bileşiğin öncü maddesidirler. Tabiatta bulunan birçok yağ asidi çift sayıda karbon atomu içerir çünkü bunlar iki karbonlu birimlerden sentezlenirler (7). Yağ asitleri $CH_3(CH_2)_nCOOH$ genel formülü ile gösterilebilir. 'n' mevcut CH_2 köklerinin sayısını gösterir. Bu sayı 2'den 24'e kadar değişebilir (8).

Yağ asitleri birbirinden, farklı zincir uzunlukları, taşıdığı tek veya çift bağ sayısı ile doymamışlık derecesine göre ayrılırlar. Bu kriterlere göre üç gruba ayrılabilirler: C atomları arasında sadece tekli bağlar içeren yağ asitlerine doymuş yağ asidi, bir tane çift bağ bulunduran yağ asitleri tekli doymamış yağ asitleri (monounsaturated fatty acid=MUFA) ve birden fazla çift bağ bulunduran yağ asitlerine PUFA denir. Doymuş yağ asitlerinde zincir ne

kadar kısa ise erime noktaları o kadar düşük ve suda çözünme özelliği o kadar yüksektir. PUFA'lar koroner kalp hastalığını azaltırlar (7,9) ve MUFA, PUFA ile kıyaslandığında serum kolesterolünü düşürmede daha az etkilidirler (10). PUFA'lar membran akışkanlığını artırır. Membran akışkanlığı vücuttaki pek çok hücrenin optimal fonksiyon gösterebilmesinde ve özellikle hormon ve nörotransmitterler için reseptör olan membran kısımları için önemlidir. İnsulin reseptör cevabı doymamış yağ asidi içeren diyetle beslenenlerde doymuş yağ asidi ile beslenenlere göre daha büyüktür (11).

Doğada bulunan birçok önemli yağ asidi doymamıştır. Bitkisel yağlar, uzun zincirli doymamış yağ asitleri yönünden zengindirler. Yani bunlar bir veya daha fazla çift bağ içerirler. Çift bağ yapısından dolayı oksidasyona daha hassastırlar. Yağ asidinde çift bağların pozisyonu fonksiyonunda önemlidir. Linoleik ve α -linolenik asit vücutta sentezlenemezler ve dışardan alınmak zorundadırlar. 18 karbonlu linoleik asit 2 çift bağ, 18 karbonlu α -linolenik asit ise 3 çift bağ içeren esansiyel yağ asitleridir. ω -karbon atomundan itibaren çift bağ linoleik asitde 6. karbondadır, α -linolenik asitde ise 3. karbondadır. Bu nedenle linoleik asit omega-6, α -linolenik asit ise omega-3 yağ asitleridir. ω -6 (n-6) yağ asitleri fındık, ayçiçek gibi tahıl ve tohum yağlarında bol bulunmaktadır. ω -3 (n-3) yağ asitleri ise yeşil yapraklarda ve özellikle balık yağında bol miktarda bulunmaktadır (6).

Beyinde, total yağ asidinin %17,1'ini ω -6 ve %9,7'sini ω -3 PUFA oluşturmaktadır. ω -6'nın %90'nını araşidonik asit (AA), ω -3 PUFA'nın ise %95'ini dokosaheksaenoik asit (DHA) oluşturmaktadır. PUFA'lar, plazmadan prekürsörleri olan doymamış yağ asitlerinin alınması yoluyla de novo sentezlenemezler. Bu yüzden, beyine direk olarak plazmadan sağlanmaları gerekmektedir. Plazma serbest yağ asitlerinin çoğu yağ dokusunda depolanmış bulunan TG'lerden sağlanır. İnsan plazma yağ asidi yaklaşık olarak %15 linoleik (18:2,n-6) ve %1 AA (20:4,n-6) içerir. Plazma TG, fosfolipid, kolesterol ve kolesterol esterleri linoleik asit açısından zengindirler ve yaklaşık %10 AA içerirler. Buna göre, beyin muhtemelen yeterli ω -6 PUFA'yı plazma yağ asitlerinden temin edebilir. Fakat, tersine plazma yağ asitlerinde linolenik asit (18:3n-3) %1 ve plazma fosfolipidlerinde DHA (22:6n-3) %2 oranındadır. Plazma yağ asitleri beyin yağ asitleri için primer kaynak olmakla birlikte beyin DHA'sı için yeterli değildir ve beyin DHA'sının ana kaynağı lipoproteinlerdir (12).

Tabii doymamış yağ asitlerinin çoğu cis formundadır ve bu form membran akışkanlığını artırır. Cis formunda komşu hidrojen atomları molekülün aynı, trans formunda ise karşı tarafındadırlar (6,7). Cis formları ısıtılarak yada katalistlerle trans forma dönüştürülebilirler. Bitkisel yağlar gibi doğal cis PUFA'lar sıvı halde olma eğiliminde iken

tereyağı gibi SFA ve margarin gibi trans PUFA'lar oda sıcaklığında katı formda bulunma eğiliminde ve daha rijit, daha lineerdirler. Sıvı yağların katalitik olarak hidrojenlenmesi yoluyla üretilen margarinler ve fıstık ezmesi gibi yiyeceklerin hazırlanmasında kullanılan doyunlaştırma işleminde, yağ asitlerinin yapısındaki doğal cis biçimi çifte bağlar trans biçimine çevrilmektedir. Trans biçimi çift bağ taşıyan yağ asitleri doğal ürünlerde bulunmasa bile batı kültürü beslenme alışkanlığında önemli yer tutan hazır yiyeceklerde bulunmaktadır ve trans yağ asitleri hücre membranının yapısına girerek membran akışkanlığını azaltırlar. Böylece hücrenin fonksiyonu bozulur. Bu tip yağ asitlerinin hiperkolesterolemik etkiye sahip olduğundan serum kolesterolünü yükselttiği bulunmuştur (13).

2.3. GIDA OLARAK TÜKETİLEN ÖNEMLİ YAĞLAR

2.3.1. Ayçiçek yağı

Dünyada bitkisel yağlar içinde ikinci sırada tüketim alanı bulunan ayçiçek yağı, ayçiçeği (*Heliantus annuus*) bitkisinin tohumlarından elde edilir. Ayçiçek yağında steroller, hidrokarbonlar, mumlar ve az miktarda antioksidanlar bulunur. İklim, sıcaklık ve genetik faktörlere bağlı olmakla beraber yaklaşık %85 oranında doymamış, %15 oranında doymuş yağ asidi ihtiva eder (14,15,16).

2.3.2. Zeytin yağı

Dünyanın en eski yağlarından biri olan zeytinyağı, zeytin ağacının (*Olea europa*) meyvesinden ezme ve presleme yolu ile elde edilir. Kendine has koku ve aromaya sahip olan yağ, yeşilimsi sarı renktedir. Kaliteli zeytinyağı rafinasyon, koku giderme ve başka işlemler yapılmadan da tüketilebilir. Bu yüzden diğer yağlara göre üstünlük kazanır. Zeytinyağında çok az miktarda hidrokarbonlar, yağ asidi esterleri, tokoferoller, steroller ve fosfolipidler vardır. Zeytinyağı yağ asitlerinin doymamışlık derecesi ile taşıdığı E vitamini arasındaki dengeden dolayı en sağlıklı bitkisel yağdır (14,15,16).

2.3.3. Tereyağı

Tereyağı yapımı milattan önceki devirlere kadar uzanır. Önceleri ilaç ve kozmetikte kullanılan tereyağı % 84 yağ, %14.7 su ve % 1.3 kuru maddeden (% 0.5-0.8 laktoz ve laktik asit, % 0.6-0.7 protein, % 0.11 mineral madde) oluşur. Tereyağının yağ fraksiyonu % 60 doymuş, % 40 doymamış yağ asitlerinden meydana gelir. Yağda eriyen vitaminler yönünden zengin olan tereyağında, kolesterol miktarı yaklaşık 240mg/ 100gr dır (14,15,16).

2.3.4. Margarin

Margarinler bitkisel veya hayvansal kaynaklıdır. Bitkisel margarinler, çeşitli bitkisel yağların kısmi hidrojenasyonu sonucu elde edilirler. Hidrojenasyon, deodorizasyon ve rafinasyon gibi işlemlerin etkisi ile özellikle doymamış yağ asitlerinin doğal formu olan cis formu trans forma dönüşebilmekte ve bu form yüksek erime noktasından dolayı margarinde istenilen katı şeklin oluşmasını sağlamaktadır. Hayvansal margarinler ise süt yağı dışında kasaplık hayvan yağlarının eritilip rafinasyonundan sonra, değişik fazlardaki yağlar ile karışımından oluşur.

Margarinde iki faz mevcuttur. Yağ fazı çeşitli sıvı ve katı yağların karışımıdır. Yağda eriyen vitaminler de bulunur. Su fazında ise fermente süt, tuz, koruyucu maddeler ve antioksidanlar bulunur (14,15,16).

2.3.5. Soya yağı

Soya yağı, Soja max bitkisi baklasının tohumlarından (ortalama yağ içeriği % 20, kuru madde de) elde edilmektedir. Dünyada tüketilen önemli bitkisel yağlar içerisindedir. Soya yağının ana kullanım sahası margarinlerdir. Soya yağı hidrojene edilmeden diğer yağlarla karıştırılarak da kullanılmaktadır. Soyada bulunan lipooksijenaz enzimi linoleik ve linolenik asidin her ikisini hızla okside etmektedir. Bu nedenle bu enzimin minimize edilmesine çalışılmaktadır (14,15,16).

2.4. SERBEST RADİKALLER

2.4.1. Serbest radikal kimyası

Serbest radikaller, dış orbitallerinde tek sayıda ortaklanmamış elektron taşıyan, genelde çok reaktif olan atom veya moleküllerdir. Serbest radikaller kısa ömürlüdürler ve radikal olmayan maddeler ile reaksiyona girerek yeni radikaller oluştururlar ve böylece zincir zincir reaksiyonunu başlatırlar (17-21). Tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliğindedirler (22,23).

Bu bileşikler organizmada normal metabolik yollar veya patolojik mekanizma sonucu üç yolla oluşmaktadır:

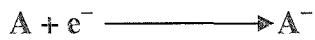
1. Homolitik bölünme: Kovalent bağlı bir molekülün her bir fragmanında bir elektron kalacak şekilde bölünmesidir.



2. heterolitik bölünme: Kovalent bağların heterolitik olarak bölündüğü bu iyonik reaksiyonda kovalent bağı oluşturan her iki elektron atomlardan birisinde kalır. Böylece serbest iyonlar meydana gelir. Bunlarda reaksiyonlara yatkındırlar.



3. normal bir moleküle tek bir elektron eklenmesidir.



Biyolojik sistemde oluşan radikaller organik veya inorganik moleküller şeklinde olabilirler. Fe^{+2} , Fe^{+3} , Cu^{+2} , Mn^{+2} metallerinde ortaklanmamış elektronları olduğu halde serbest radikal olarak kabul edilmezler (18,21).

2.4.2. Serbest oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türleri

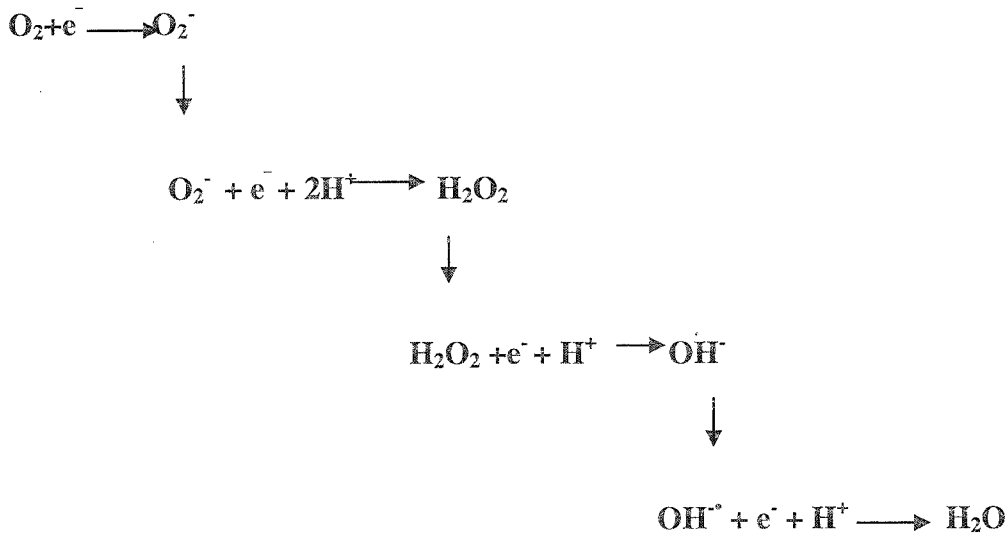
Aerobik metabolizması olan memelilerde serbest radikaller, başlıca oksijenden türemektedir. oksijenin elektronlarının ikisi eşleşmemiş şekilde dağıldığı için diradikal olarak

değerlendirilmektedir. Oksijen bu özelliğinden dolayı diğer serbest radikaller ile kolaylıkla reaksiyona girer ve reaktif oksijen türleri (ROS)'ni oluşturur (24,25). ROS, sadece oksijen merkezli serbest radikalleri değil (OH^\bullet , $\text{O}_2^{\bullet-}$ gibi) değil aynı zamanda radikal olmayan toksik oksijen türlerini de (H_2O_2 , HOCl, Singlet O_2 gibi) içine alan genel bir terimdir (26). Biyolojik sistemdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan radikallerdir (Tablo-1).

<u>Radikaller</u>	<u>Radikal olmayanlar</u>
Hidroksil (OH^\bullet)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Süperoksit ($\text{O}_2^{\bullet-}$)	Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$)
Nitrik oksit (NO^\bullet)	Peroksinitrit (ONOO^\bullet)
Azotdioksit (NO_2^\bullet)	Ozon (O_3)
Alkoksil (RO^\bullet)	Hipoklorid asit (HOCl)
Peroksil (ROO^\bullet)	Lipid peroksit (LOOH)

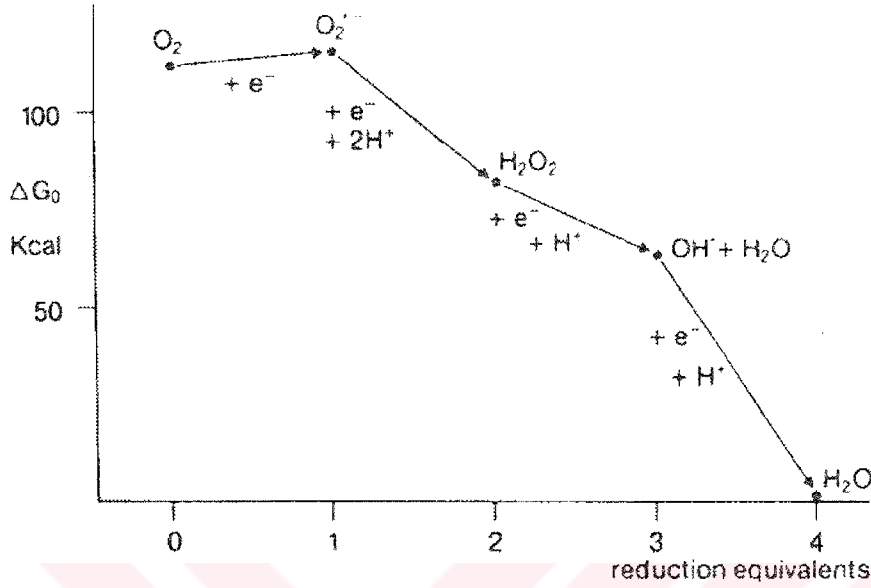
Tablo-1: reaktif oksijen türevi bileşikler

Moleküler oksijen, bulunduğu aerobik ortamda, serbest radikal reaksiyonlarının primer başlatıcısıdır. Moleküler oksijen hücre içinde elektron transport zincirinde (ETZ) en son şekil 1'de görüldüğü gibi suya dönüştürülür. Fakat bu süreçte oksijenin % 1-3 kadarı tam olarak suya dönüşmez ve hidroksil radikali veya süperoksit anyon radikali meydana gelir (Şekil-1) (25,27,28).



Şekil-1: Oksijenden su oluşumu sırasında meydana gelen reaktif oksijen türleri

Oksijenin indirgenmesi sırasında serbest enerji değişimi Şekil-2'de gösterilmiştir.



Şekil-2: 25°C ve pH 7 'de oksijenin indirgenmesi sırasında serbest enerji değişimi

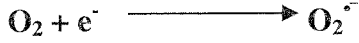
Serbest oksijen radikalleri zararlı etkilerinin yanında transport, savunma ve hücre büyümesinin regülasyonu gibi biyolojik fonksiyonlarda da yer alırlar. Serbest radikallerin kaynakları tablo-2'de özetlenmiştir.

örnekler	simgesi	Major hücre kaynakları
Süperoksit radikali	O ₂ ^{•-}	Mitokondri, oksidaz (e.g. ksantin oksidaz)
Hidroksil radikali	OH	Sitokrom P450, H ₂ O ₂ 'nin metallerle reaksiyonu
Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂	Mitokondri
Peroksil radikali	ROO	Membranlar, prostaglandin metabolizması
Hipokloröz asit	HClO	Beyaz kan hücreleri

Tablo-2: Serbest radikallerin kaynakları

2.4.2.1 Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)

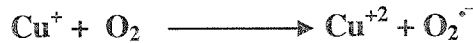
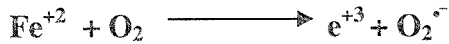
Oksijenin 2p orbitallerinden birinin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu süperoksit anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$) meydana gelir.



Süperoksit anyonu hem oksitleyici hem de redükleyici özelliğe sahiptir. Katekolaminlerin, tiollerin, indirgenmiş boyaların ve hemoproteinlerin oksidasyon tepkimelerinde, çeşitli enzimatik tepkimelerde, oksidaz ve hidrosilaz enzimlerin katalitik etkileri sırasında süperoksit anyon radikali oluşmakla birlikte (26,29) insan vücudunda en büyük süperoksit kaynağı ETZ'dir (20,21,30). Mitokondri iç zarına yerleşmiş oksidatif fosforilasyon zinciri bileşenleri büyük oranda indirgendiği zaman mitokondrial süperoksit radikal üretimi artar. ETZ'den e^- iki yerden sızar. Birincisi NADH dehidrogenaz basamağı, ikincisi ise koenzim Q yada ubikinon basamağıdır. O_2 'nin %1-3'ünden, transport zincirinden çıkan elektronlarla $O_2^{\cdot-}$ oluşur. Bu yılda bir insanda iki kilogramdan fazla $O_2^{\cdot-}$ oluşumu demektir (31).

$O_2^{\cdot-}$ uzun bir yarı ömüre sahip olup, lipofilik özellik gösterir. Bu özelliğinden dolayı oluştuğu yerden uzak bölgelere diffüzyonla yayılabilmektedir. Süperoksit, bir serbest radikal olmakla birlikte kendisi direk olarak fazla zarar vermez. Asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır (19,32).

Geçiş metallerinin otooksidasyonunda süperoksit radikali meydana gelebilir. Bu reaksiyonlar reversibl redoks reaksiyonlarıdır.



Vücutta oluşan süperoksit diğer bazı radikal olan ve olmayan moleküllerle reaksiyona girerek ortamdan uzaklaştırılır. Fakat bu arada daha zararlı oksijen radikalleri veya ROS'lar da oluşabilmektedir (19).

Süperoksit, perhidroksil radikali ile reaksiyona girince O_2 ve H_2O_2 oluşur (19,21,33).



H₂O₂ ile reaksiyona girerek hidroksil radikaline ve singlet oksijene dönüşebilir (34).



Ortamdan bir proton alarak perhidroksil radikaline dönüşebilir (34).



Süperoksit anyonu redüktan olarak görev yaptığında, örneğin, ferrisitokrom c'nin yada nitroblue tetrazolium'un redüksiyonunda olduğu gibi bir elektron kaybederek oksijene okside olur (19).



Nitrik oksitle reaksiyona girerek peroksinitrit oluşur (19).



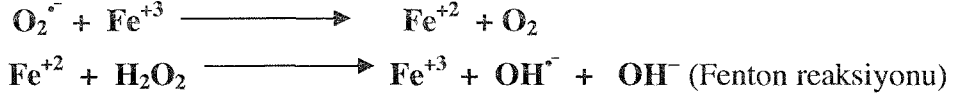
Epinefrinin oksidasyonunda olduğu gibi oksidan olarak görev yaptığında, bir elektron alarak H₂O₂'ye indirgenir (19).



Solunumsal patlama sırasında fagositik hücrelerde diğer ROS'i ile beraber süperoksit radikali de oluşmaktadır. Bu sırada oluşan O₂^{·-}'in çoğu H₂O₂'ye dönüştürülür. Fagositler tarafından üretilen ROS'lar inflamasyon bölgesindeki diğer hücrelerinde fonksiyonlarını etkilemektedir (19,25,35).

2.4.2.2 Hidroksil radikali (OH[·])

Hidroksil radikali (OH[·]), hidrojen peroksidin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesi (fenton reaksiyonu) sonucu oluşan son derece reaktif bir radikaldir. Ayrıca hidrojen peroksidin süperoksit radikali ile reaksiyonu sonucunda da (Haber Weiss reaksiyonu) meydana gelir (19,21,36). Hemoglobinin in vitro olarak oksidan strese maruz kaldığında katalitik demiri salıvererek bir biyolojik fenton reaktifi olarak etki gösterebilir.



Hidroksil radikali suyun iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucu, yüksek enerjili radyasyonun etkisi ile, H ve O arasındaki kovalent bağların kırılmasıyla, suyun homolitik bölünmesi sonucu da meydana gelir (26,36).



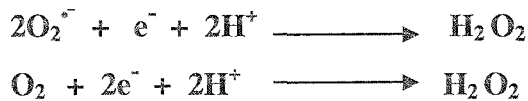
Hidroksil radikalının yarılanma ömrü çok kısadır ve oluştuğu yerde büyük hasara sebep olur. DNA'nın tüm bazlarını etkiler. Aşağıda görüldüğü gibi tioller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikallerin oluşmasına sebep olur (19). lipid peroksidasyonunda asıl etkili radikalin hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir (37).



Hidroksil radikali toksik etkiye sahip olmasına rağmen, normal biyolojik fonksiyonlar için de gereklidir. Fagositoz ve bir çok enzim tarafından katalizlenen reaksiyonların bir parçası olarak kullanılır (21,34,38).

2.4.2.3 Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Oksijenin 2 elektron veya süperoksidin bir elektron alması ile hidrojen peroksit oluşur (19).



Ancak, biyolojik sistemlerde genellikle süperoksidin dismutasyonuyla meydana gelir. İki süperoksit molekülü iki proton alarak hidrojen peroksit ve oksijen oluşturmak üzere

reaksiyona girerler. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir. Bu reaksiyon spontan olabileceği gibi süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından da katalizlenir (19,21,33,36).



Hidrojen peroksit suda iyi çözünür ve vücut tarafından bir su molekülü gibi muamele görür. Hızla hücre membranları boyunca diffüze olan uzun ömürlü bir oksidandır. Geçiş metallere nisbeten nispeten stabildir. Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde, serbest radikal biyokimyasında önemli rol oynar. Çünkü süperoksit ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikalini vermek üzere kolaylıkla yıkılabilir (19,36).



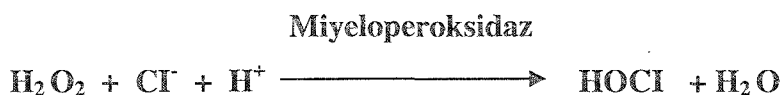
Ayrıca H_2O_2 , $\text{HO}_2^{\cdot-}$ den de meydana gelebilir.



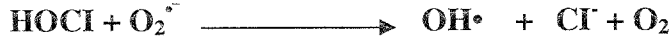
Hidrojen peroksidin büyük miktarlarıyla hücreler inkübe edildiğinde DNA zedelenmesine, membran yapılarının bozulmasına ve hücreler içine kalsiyum iyonlarının akışına sebep olur (22).

2.4.2.4 Hipokloröz Asit (HOCl)

Hipokloröz asit güçlü bir oksidandır ve aktive olmuş nötrofiller tarafından hücre savunmanın bir parçası olarak üretilir. Fagosit sitoplazmasında hem ihtiva eden myeloperoksidaz enzimi H_2O_2 ve Cl^- iyonlarından HOCl oluşumunu katalizleyebilir (5).



HOCl'den demire bağımlı veya bağımsız reaksiyonlarla hidroksil radikali oluşabilir (36).



2.4.2.5. Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$)

Singlet oksijen, ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Enerji absorpsiyonu ile oksijenin paylaşılmamış dış elektronları spinleri değiştirerek aynı orbiti veya ayrı orbitleri işgal edebilirler. Oksijenin bu uyarılmış şekline singlet oksijen denir. Hem serbest radikal reaksiyonlarıyla meydana gelebilmekte hem de serbest radikal reaksiyonlarını başlatabilmektedir (19,36).

Singlet oksijen, uyarılmış elektronlarının daha düşük enerji seviyelerine inmesi ile ışık yayar. Bunun bir sonucu olarak meydana gelen kemilüminessans ölçülmesi ile ROS'nin direk ölçümü yapılabilmektedir (19).

2.4.3. Serbest radikallerin etkileri

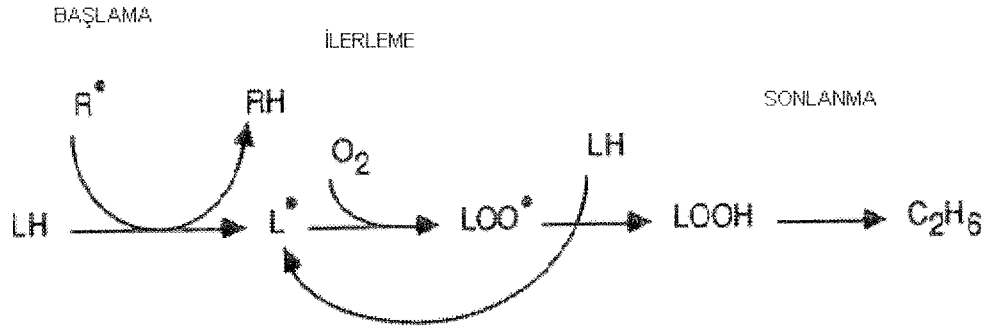
Serbest radikaller lipid (39-43), protein (40,42-45), DNA (45,46), karbonhidrat ve enzim gibi pek çok bileşiğe zarar verirler. Oksidatif stresin in vivo protein ve DNA'ya verdiği hasar genellikle lipidlere verdiği hasardan daha önemlidir (47). Fakat, lipidler oksidatif hasara daha duyarlıdır (42).

2.4.3.1. Lipid metabolizması üzerine olan etkileri

Hücrelerin serbest radikallere karşı en hassas komponentleri lipidlerdir. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallere kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar (17,38). PUFA'ların yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Çünkü kendi kendini devam ettiren bir zincir reaksiyonu şeklinde ilerler. Lipid peroksidasyonu üç safhada ilerler. Başlama, ilerleme ve sonlanma (şekil-3).

Başlama safhası: Organizmada oluşan serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan poliansatüre yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile lipid peroksidasyonu başlar (19).

İlerieme safhası: Bunun sonucunda OH^{\ominus} radikali ortadan kaldırılır, fakat lipid radikali oluşur. Yağ asidi zinciri bir lipid radikali niteliği kazanır. Oluşan lipid radikali dayanıksızdır ve molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesi ile dien konjugatları ve daha sonra lipid radikalinin moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipid peroksil radikali meydana gelir.



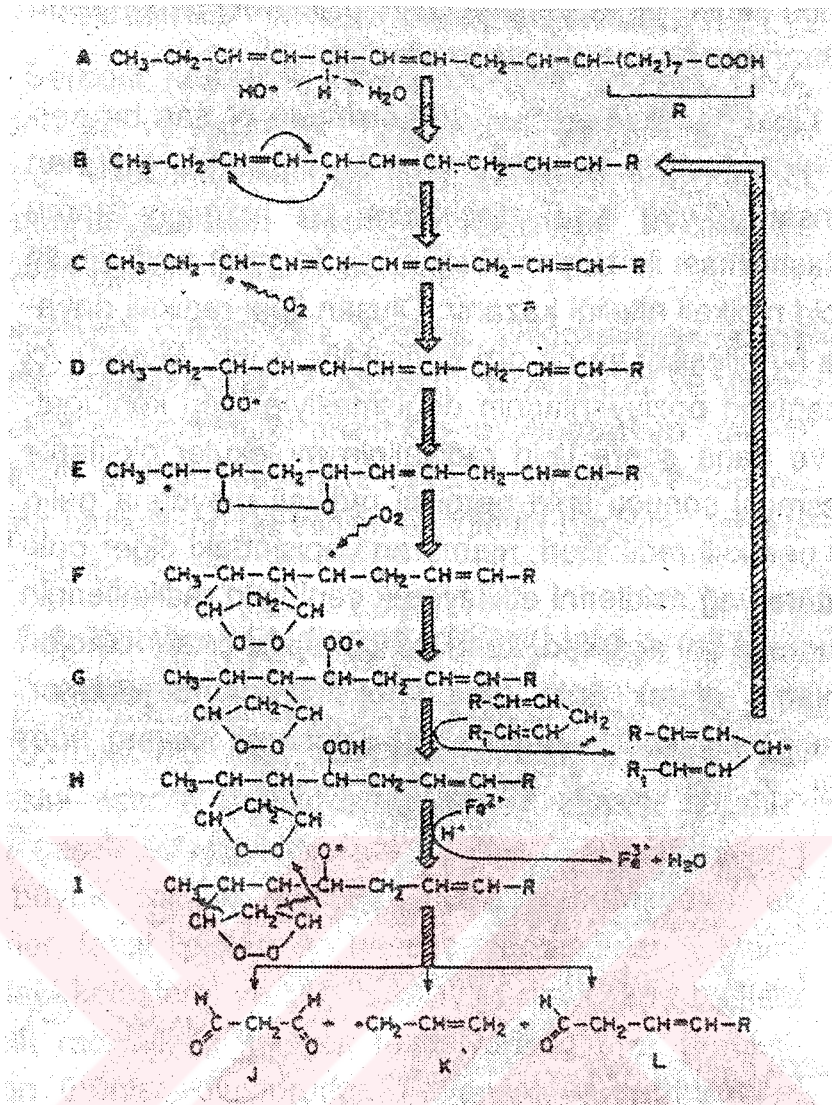
- LH = LİPID (PUFA)
- R^{\bullet} = BAŞLAMA FAKTÖRÜ
- L^{\bullet} = LİPID RADİKALI
- LOO^{\bullet} = LİPID PEROKSİD RADİKALI
- LOOH = LİPID PEROKSİD

Şekil-3: lipid peroksidasyonu safhaları

(Kaynak: <http://billie.btny.purdue.edu/btny504/lipidperox.jpg>)

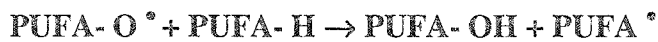
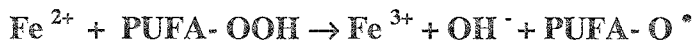
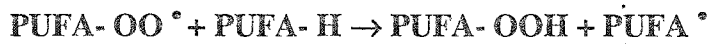
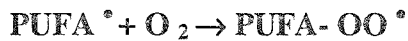
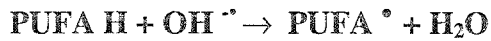
Lipid peroksil radikalleri, membran yapısındaki diğer poliinsatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken, kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksitlerine dönüşürler. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam eder (Şekil-4) (19,36,48).

Sonlanma safhası: Lipid hidroperoksitleri yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif aldehitler oluşur. Bu bileşikler, ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar (19). Lipid peroksidasyon basamakları aşağıdaki şemada özetlenmiştir.

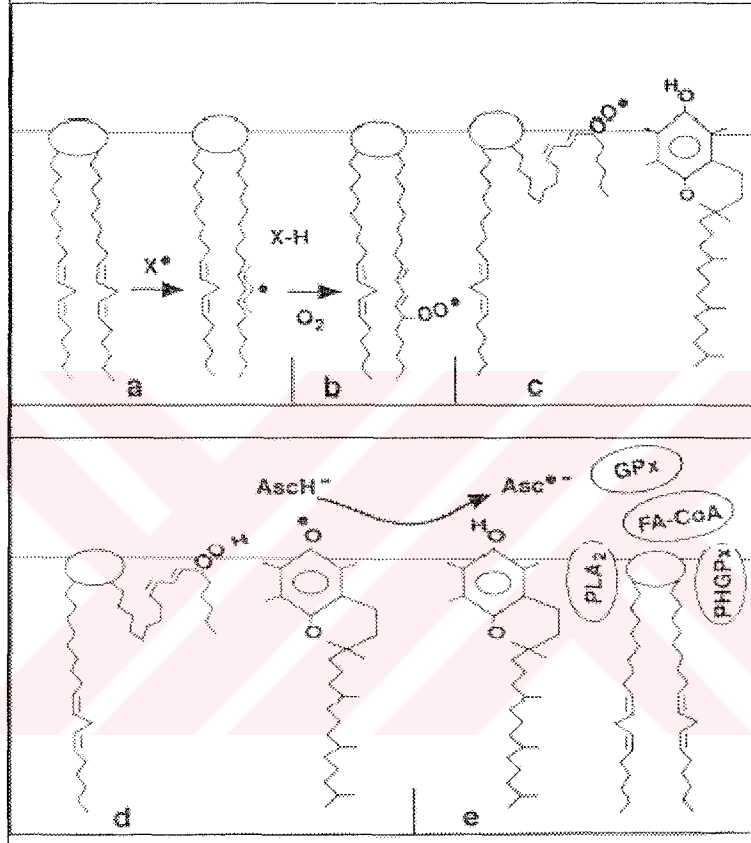


Şekil-4: Linolenik asitden malondialdehit ve diğer peroksidasyon ürünlerinin oluşumu (19)

Lipid peroksidasyon basamakları aşağıdaki şemada özetlenmiştir.



Lipid peroksidasyonu direk olarak membran yapısına ve indirek olarak reaktif aldehitler üreterek hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece birçok hastalığa ve doku hasarına sebep olur (49). Plazma lipoproteinleri ve özellikle düşük dansiteli lipoproteinler de oksidasyona uğrayabilir. Okside lipoproteinler hücre fonksiyonlarının bozulmasına aracılık edebilir ve hastalıkların patojenezinde rol alırlar (50-52). Membranda oluşan lipid peroksidasyonu şekil-5’de görülmektedir.



Şekil-5: Membran lipid peroksidasyonu

(Kaynak: <http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/mat/bioti/vk/blokhina/fig4.gif>)

- X^{\cdot} radikali ile peroksidasyonun başlaması,
- peroksil radikali ve kojuge diene oksidasyonu,
- peroksil radikali tokoferol ile onarılacağı çift tabakalı yapıya gider.
- peroksil radikali lipid hidroperokside dönüşürek tokoferol ve askorbat ile onarılır.
- Askorbat radikali enzim sistemi ile reaksiyona girer. Fosfolipaz A2 (PLA2), fosfolipid hidroperoksit-glutasyon peroksidaz (PH-GPx), glutasyon peroksidaz (GPx) ve yağ-açıl-koenzim A (FA-CoA) fosfolipidin okside yağ asidi zincirini onarır.

Lipid peroksidasyonuna bağlı hasarı belirlemek için değişik metodlar kullanılır. Rutin incelemeler için en sık, üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşan MDA ölçümü kullanılmaktadır. MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir ama lipid peroksidasyonunun derecesi ile iyi korelasyon gösterir. Bunun yanısıra peroksidasyon sırasında oluşan dien konjugatlarının ölçümü de in vivo lipid peroksidasyon düzeyini yansıtır. Lipid hidroperoksidlerinin parçalanması ile oluşan etan, bütan ve pentanın belirlenmesi ile de lipid peroksidasyonu değerlendirilebilir. Son zamanlarda RİA veya ELİSA gibi imünolojik metodlarla okside modifiye lipoproteinler kesin olarak belirlenmektedir (53).

2.4.3.2. Protein ve aminoasit metabolizması üzerine olan etkileri

Proteinler serbest radikal etkisine karşı PUFA'dan daha az hassastırlar. Başlayan zarar verici zincir reaksiyonlarının hızla ilerleme ihtimali daha azdır. Serbest radikallerin proteinler üzerindeki etkileri, aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür ihtiva eden moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin, sistein gibi amino asidlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller meydana gelirler. Bu reaksiyonlar sonucu IgG ve albumin gibi fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur. Böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Nitekim, serum peoteinlerinde, katarklı lens proteinlerinde ve inflamatuvar eklem hastalığı olan kişilerin sinovial sıvılarındaki IgG'lerinde oksidatif hasar tespit edilmiştir (19,44,45,47).

Serbest radikallerin meydana getirdiği hasar sonucu proteinlerde fragmentasyon, çapraz bağlanmalar ve proteinlerin agregasyonu meydana gelir. Sitoplazmik ve membran proteinleri ozon ve protoporfirin IX gibi okside edici ajanlara maruz kaldıktan sonra çapraz bağlanarak dimerleşir veya daha büyük agregatlara dönüşürler. Prolin ve lizin, süperoksit radikali, hidrojen peroksid ve hidroksil radikali üreten reaksiyonlara maruz kaldıklarından nonenzimatik hidroksilasyona uğrayabilirler. Sonuçta proteinlere oksidatif hasar reseptörler, sinyal transdüksiyon mekanizmaları, enzimler ve transport sistemleri gibi pek çok hücrenel fonksiyonu etkiler. Bu hasar belirgin proteinlerin spesifik bölgelerine yoğunlaşmışsa veya birikmişse hücrenin canlılığı bakımından zararlı etki yapar. Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobinin $O_2^{\cdot-}$ veya H_2O_2 ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna sebep olur (19).

Proteinlerde oksidatif hasar Özellikle karbonil proteinlerde artma (41,44-45,54) ve protein tiollerde azalma (55) ile kendini gösterir. Oluşan bu karbon merkezli radikallerin veya okside amino asitlerin tayini ile proteinlerin oksidatif hasarı ölçülebilir (43,47).

2.4.3.3. DNA üzerine olan etkileri

Oksidatif strete hücre tipine göre değişmekle birlikte hemen bütün memeli hücrelerinde DNA hasarı görülür. Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir (56,57).

Normal fizyolojik şartlarda oksidatif zedelenmenin miktarı nükleer DNA'da 13.000 bazda bir olma ihtimalinde iken, mitokondriyel DNA'da ise 8000 bazda birden fazla olma ihtimalindedir. Oksidatif hasardan en fazla zararı mitokondrial DNA görmektedir. Oksidatif stresin arttığı yaşlanma, kanser, iyonize edici radyasyona maruz kalma gibi durumlarda bu etki artar. Dört DNA bazının hepsi modifikasyona uğrasa da guanin DNA bileşenleri içerisinde en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip olduğundan dolayı serbest radikallerin etkilerine en açık olandır. Serbest radikal saldırısı sonucu DNA'da iplik kırılmaları (tek/çift), baz modifikasyonları (8-OH guanin, 8-OH adenin, 5-OH sitozin, 5-OH urasil, timin glikol ve sitozin glikol gibi), sister kromatid değişiklikleri, DNA-DNA ve DNA-protein çapraz bağları ve deoksiriboz fragmentasyonu meydana gelir. Değişikliklerin tüm tipleri çift helikte lokal kırılmalara sebep olur. Şeker ve fosfodiester kısımlarındaki oksidatif zedelenme iplik kırılmalarıyla sonuçlanır (30,56-59).

Yaşlanma ile oksidatif DNA hasarı arasında doğrusal bir ilişki olduğu, birçok çalışmada gösterilmiştir. Yaşa bağlı DNA'da 8-OH guanin birikmesinin, mutasyon sıklığının artmasında, dejeneratif hastalıkların ortaya çıkmasında ve tümör oluşum ihtimalinin artmasında en önemli neden olduğu belirtilmiştir (56,59,60). Süperoksida maruz kalan DNA molekülleri hayvanlara enjekte edildiklerinde daha fazla antijenik özellik gösterirler. Bu sistemik lupus eritematozus ve romatoid artirid gibi otoimmün hastalıklarda dolaşımda anti-DNA antikorlarının bulunuşunu ve oksidatif strese maruz kalan DNA'nın buna sebep olduğunu açıklar (19). DM'lu hastalarda oksidatif DNA hasarının arttığı gösterilmiştir. Bunu diabette aterogenez ve mikroanjyopatik komplikasyonların artmasından sorumlu olabileceği öne sürülmüştür (61).

DNA'da oksidatif hasar neticesi oluşan modifiye bazlar mutajenik özelliklerinden dolayı hücreyi tehdit eden bir potansiyele sahiptirler. Vücut kendini oksidatif hasarın etkilerini azaltarak ya da oluşmuş lezyonları tamir ederek korur. Onarım DNA'da kodlanan genetik bilginin doğruluğunun sürdürülmesinde önemlidir. Birçok ökaryotik ve prokaryotik enzimlerin direk veya tamir mekanizmalarının kesip atması ile oksidatif olarak zedelenmiş DNA'yı tamir ettikleri saptanmıştır. Hasara uğramış molekül onarılır ya da yerine yenileri konur. Fakat, oksidatif hasar sonucu oluşan bazı anormal sonlanmalar DNA polimeraz için substrat değildir ve enzimin bu yapılara ilgisi olmayabilir. Dolayısıyla tamir gerçekleşemez. Oksidatif hasar tam olarak engellenemez. Sonuçta hücrede mutasyon ve ölüme giden değişiklikler meydana gelir (59,62).

Klinik ve epidemiyolojik çalışmalar serbest radikallerin kanser etyolojisinde önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur. Birçok karsinojen maddenin hücre etrafındaki oksidan stresi artırarak kansere sebep olduğu anlaşılmıştır. Serbest radikal etkisi sonucu, DNA ve kromozomlarda kırılma ve onkogenlerde aktivasyon meydana gelir (19).

2.4.3.4. Karbonhidrat metabolizması üzerine olan etkileri

Karbonhidratların in vivo otooksidasyonu protein ve lipidlerle karşılaştırıldığında daha az oluşur. Monosakkaritlerin kendiliğinden otooksidasyonu fizyolojik pH ve sıcaklıkta ortaya çıkmaktadır. Otooksidasyonları sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir. Okzalaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Böylece kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar (19).

PUFA ve karbonhidrat oksidasyonunun bir ürünü olan glyoxal hücre bölünmesi üzerine baskılayıcı bir etkiye sahiptir. Glioksilaz I enzimi, glioksiyal sistemin bir komponentidir ve potansiyel zararlı okzoaldehitlerin enzimatik detoksifikasyonunda büyük rol oynar (63).

Bağ dokusunun önemli bir mukopolisakkaridi olan hyalürik asit sinoviyal sıvıda bol miktarda bulunmaktadır. İnflamatuar eklem hastalıklarında sinoviyal sıvıda nötrofiller bulunur ve H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ salgırlar. Salgılanan H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ hyalürik asidi parçalar. Gözün vitreous humour'unda bol bulunan hyalürik asid'in oksidatif hasarı da katarakt oluşumuna katkıda bulunur (64,65).

2.5. ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Vücutta, serbest radikaller fazla olduğu zaman, oksidan ve antioksidan sistem arasındaki denge bozulur ve bunun sonucunda, pek çok yapısal ve biyolojik fonksiyonu etkileyen oksidatif stres oluşur (24,66). Artmış oksidatif stres ateroskleroz, hipertansiyon, koroner arter hastalığı (KAH), diabetes mellitus (DM), kanser ve yaşlanma (21,36,67-69) yanında, parkinson, alzheimer, serebrovasküler olaylar ve hungtinton hastalığı gibi pek çok nörodejeneratif (70,71) beyin hastalığını da içeren kronik hastalığın gelişmesinde rol oynar.

Serbest radikallerin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları geliştirilmiştir. Bunlar AO'lar olarak bilinirler ve hedef moleküldeki oksidan hasarı engeller veya geciktirirler.

AO'ların etki mekanizmaları başlıca şunlardır (19,72):

- ROS'ların antioksidan enzimler aracılığı ile veya doğrudan temizlenmesi
- ROS oluşumunun engellenmesi
- ROS oluşumunu katalizleyen metal iyonlarının bağlanması
- Zedelenmiş hücresel yapıların hasar sonrası tamir edilmesi veya temizlenmesi.

Antioksidanların sınıflandırılması:

- 1) Yapılarına göre
 - a. Enzimler
 - b. Enzim olmayan moleküller
- 2) Kaynaklarına göre
 - a. Endojen antioksidanlar
 - b. eksojen antioksidanlar (dışardan alınanlar)
- 3) Çözünürlüklerine göre
 - a. Suda çözünenler
 - b. Yağda çözünenler
- 4) Yerleşimlerine göre
 - a. Hücre içinde bulunanlar
 - b. Plazma ve diğer ekstrasellüler sıvılarda bulunanlar

Önemli antioksidanların lokalizasyonları ve fonksiyonları tablo-3’de özetlenmiştir.

Tip	Doku lokalizasyonu	Fonksiyonu
I. Nonenzimatikler -Vitamin E (tokoferol)	Membranlarlar, ekstra sellular sıvı	$O_2^{\cdot -}$, OH^{\cdot} ve lipid peroksil radikallerini daha az reaktif bileşiklere çevirir, zincir kırıcı antioksidandır.
-Vitamin (β-karoten)	A Membranlar	$O_2^{\cdot -}$ ‘yi temizler; peroksil radikalleri ile direk reaksiyona girer.
-Vitamin (askorbik asit)	C İntra- ve ekstraselüler sıvıda geniş bir biçimde dağılmıştır	$O_2^{\cdot -}$, OH^{\cdot} ile direk reaksiyona girer. Lökositlerden salınan ROS’leri nötralize eder. Vitamin E radikalinin rejenerasyonunu sağlar.
-Glutatyon	Esas olarak intrasellular	$O_2^{\cdot -}$, OH^{\cdot} ve lipid hidropeksitlerle direk reaksiyona girer. GSH enzimleri için substrattır
-Ürik asit	Geniş olarak dağılmıştır	Geçiş metallerini bağlar. $O_2^{\cdot -}$, OH^{\cdot} ve peroksil radikalleri ile reaksiyona girer. Askorbik asidin oksidasyonunu önler.
II. Enzimatikler -SOD	Mitokondri ve sitozol	Dismutaz reaksiyonu ile $O_2^{\cdot -}$ ‘yi H_2O_2 ’ ye dönüştürür.
-GSH dönüşüm enzimleri: - GSH peroksidaz - GSH redüktaz	Sitozol ve mitokondri	Normal metabolizma süresince H_2O_2 ‘yi indirger. Düşük molekül ağırlıklı disulfidleri (GSSG->GSH), NAD(P)H kullanarak indirger.
-Katalaz (CAT)	Peroksizomlar	Özellikle hastalık durumlarında H_2O_2 ‘yi indirger

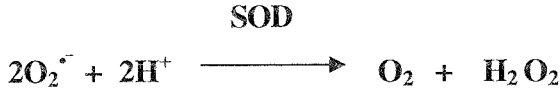
Tablo-3: Majör antioksidanların lokalizasyonları ve fonksiyonları
(Kaynak: <http://www.novusint.com/public/Library/themes/0895-T2.jpg>)

2.5.1. Doğal (endojen) antioksidanlar

2.5.1.1. Enzim yapısındaki antioksidanlar

2.5.1.1.1 Süperoksit dismutaz (SOD, E.C.1.15.1.1.)

İlk olarak 1968 yılında tanımlanan süperoksit dismutaz enzimi süperoksitin , hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Bu reaksiyon spontan da meydana gelebilir. Fakat, SOD varlığında reaksiyonun aktivitesi 4000 kat artar (19).



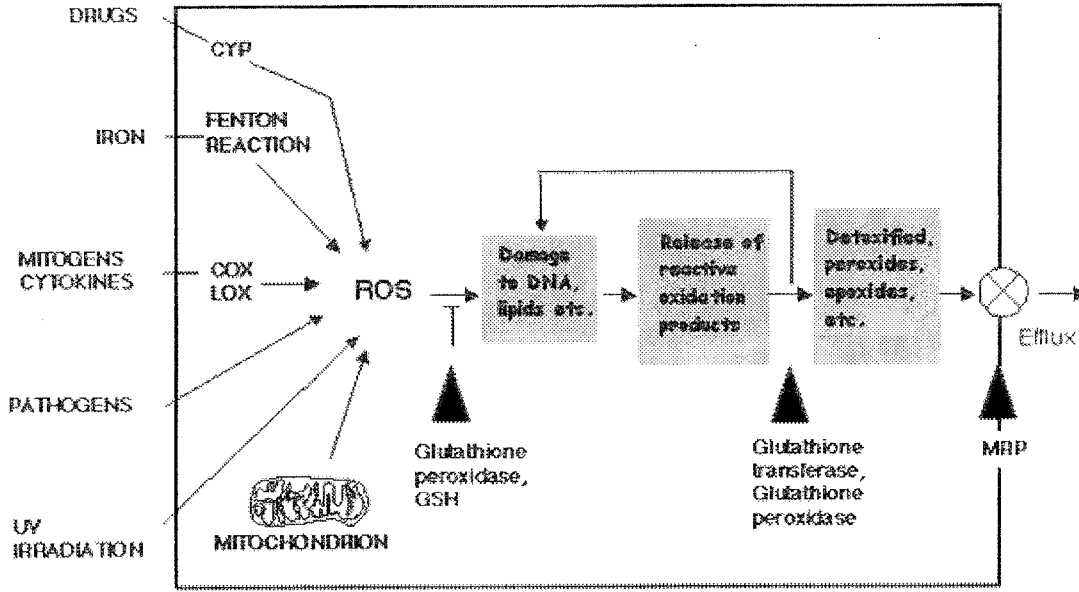
İnsanlarda bu enzimin iki izoenzimi vardır. Bunlar, sitozolde bulunan dimerik, Cu ve Zn ihtiva eden izomer (Cu-Zn SOD) ile mitokondride bulunan tetramerik ve Mn ihtiva eden izomerdirler (Mn SOD). Sitozolik Cu-Zn SOD hücrede daha fazla bulunur ve 21 nolu kromozomda, Mn SOD ise 6 nolu kromozomda lokalizedir (19,73). Sitozolik Cu-Zn SOD siyanidle inhibe edilirken, mitokondrial Mn SOD inhibe olmaz. Enzimin fizyolojik fonksiyonu ; oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının zararlı etkilerine karşı korumaktır. Böylece lipid peroksidasyonunu inhibe eder. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda süperoksit üretimi olmasına rağmen bu enzim sayesinde intrasellüler süperoksit düzeyleri düşük tutulur. Yüksek oksijen kullanan dokularda, SOD aktivitesi fazla bulunmuştur ve doku pO₂ kullanımı ile artar (29,48).

SOD, fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde de rol oynar. SOD granülositlerin fonksiyonu için önemlidir ve lenfositlerde de bulunmaktadır. Hipertriglisemili diabet hastalarında, romatoid artrit ve Behçet hastalığında süperoksit üretimi ile süperoksit toplayıcı aktivite arasında negatif bir korelasyon bulunmuştur (74-76). Antifagositer aktivitesi olan kolsişinin, granülositlerde süperoksit üretimini bloke ettiği, süperoksit toplayıcı aktivitenin azalmasını önlediği gözlenmiştir (19,75).

2.5.1.1.2. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px , E.C.1.11.1.9)

Glutatyon peroksidaz molekül ağırlığı 85.000 dalton olan ve dört selenyum atomu ihtiva eden tetramerik yapıda bir enzimdir. Glutatyon peroksidazın ROS'lara karşı savunma sistemi şekil-6'da görülmektedir.

Glutathione-dependent defence against reactive oxygen species at multiple levels



Şekil-6: Glutatyon peroksidazın ROS'lara etki ettiği basamaklar

(Kaynak: www.dundee.ac.uk/biomedres/mcLellan.htm)

Sitozolde yerleşik bir enzim olan GSH-Px hidroperoksidlerin indirgenmesinden sorumludur. Aşağıdaki reaksiyonu katalizler (77).

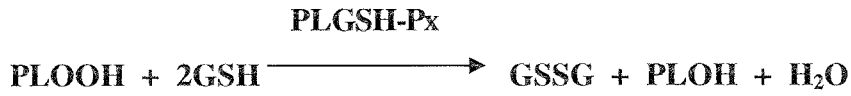
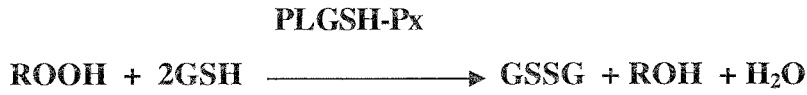


Bu enzimin iki substratı vardır. Substratlardan biri olan peroksitler alkole indirgenirken diğer substrat olan glutatyon (GSH) yükseltgenir. Hidrojen peroksitlerin redükte olması ile meydana gelen GSSG, glutatyon redüktaz (GR) enziminin katalizlediği reaksiyonla tekrar indirgenerek GSH'a dönüşür (19,77).



Membran fofosfolipid hidroperoksitlerini alkole indirgeyen fofosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGSH-Px) da selenyum atomu içerir ve monomerik yapıdadır. Molekül ağırlığı 20.000 dalton olan sitozolik bir enzimdir. Özellikle E vitaminin yetersizliğinde hücre

zarındaki fosfolipid hidroperoksitlerini alkollere indirgeyerek peroksidasyonu engeller (48,78).



Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında açığa çıkan serbest radikallerin fagositik hücreye zarar vermesini engellerler. Bu enzim aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksit miktarında artışa ve şiddetli hücre hasarına yol açar. Eritrositlerde de oksidan strese karşı en etkili antioksidan GSH-Px'dir (79).

2.5.1.1.3. Glutatyon – S – transferazlar (GST, E.C.2.5.1.18)

Ksenobiotiklerin biotransformasyonunda rol alan, her biri iki alt birimden oluşmuş dimerik bir enzim ailesidir. GST'lar, başta araşidonik asid ve lineloat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlere karşı selenyumdan bağımsız GSH peroksidaz aktivitesi göstererek bir defans mekanizması oluştururlar (19).



Üç sitozolik ve bir mitokondrial dört ana gruba ayrılan GST'lar antioksidan aktivitelerinin yanısıra katalitik ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyona sahiptirler. Hem detoksifikasyon yaparlar hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır. Katalitik olarak; yabancı maddeleri glutatyondaki –SH grubu ile bağlayarak suda çözünür hale gelmesini sağlarlar. Oluşan bu GSH konjugatları böylece organizmadan atılabilir veya daha ileri metabolize olurlar. GSH'dan glutamat ve glisin koparılmasından sonra sisteinin serbest amino grubu asetillenerek merkaptürik asidlere dönüştürülür. Ksenobiotiklerin klasik atılım ürünleri olan bu merkaptürik asidlere, yani N-asetil sisteinin S-alkile olmuş türevleri, daha sonra safra ile atılırlar. Bu yol, GST'ların kanserojen, mutajen ve diğer zararlı kimyasalların hücre içi detoksifikasyonunda ve sınırlı çözünürlüğe sahip moleküllerin depolanması ve

taşınmada rolleri olduğunu gösterir. Lökotrien C4'ün ve prostoglandinin sentezinde rolleri ve daha bir çok fonksiyonları olduğu anlaşılmıştır (19).

2.5.1.1.4. Katalaz (E.C.1.11.1.6)

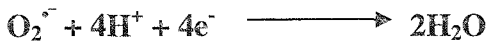
Molekül ağırlığı 248.000 Dalton'dur. Hidrojen peroksidi moleküler oksijen ve suya katalizler. Dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir (29,48,80).



Peroksizomlarda lokalizedir. Fakat son zamanlarda yapılan çalışmalarda geniş bir dağılım alanının olduğu tespit edilmiş ve mitokondrial lokalizasyonu da tanımlanmıştır (57). Katalaz peroksidaz aktivitesine sahip oluşuna ek olarak, bu enzim bir molekül hidrojen peroksidi elektron verici bir substrat olarak, diğerini de oksidan veya elektron alıcısı olarak kullanabilir. Hidrojen peroksit ve metil hidroperoksit gibi küçük moleküllere etki ederken lipid hidroperoksitlere etki etmez (19).

2.5.1.1.5. Mitokondrial sitokrom oksidaz

Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz, aşağıdaki reaksiyonla süperoksiti detoksifiye eden, bakır içeren bir enzimdir.

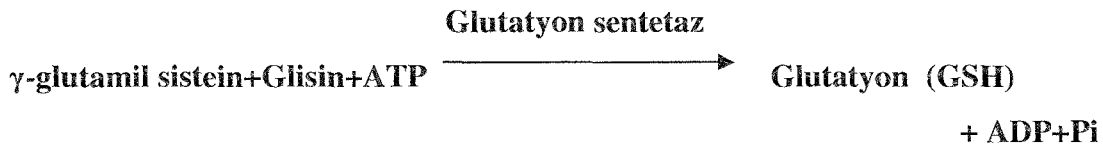
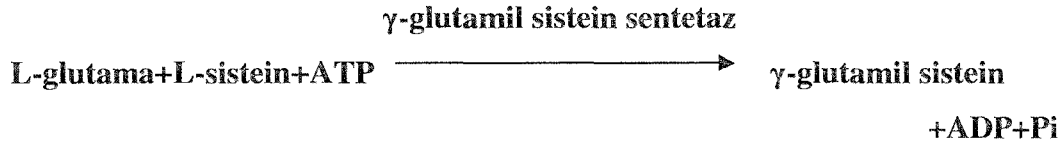


Ancak süperoksit radikali üretimi çoğu zaman bu enzim kapasitesini aşar. Bu durumda diğer antioksidan enzimler devreye girerek süperoksidin zararlı etkilerine engel olurlar (19).

2.5.1.2. Enzim yapısında olmayan antioksidanlar

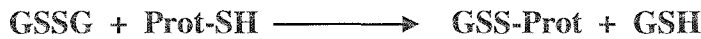
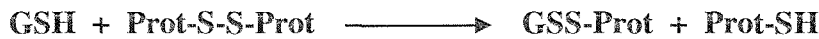
2.5.1.2.1. Redükte glutatyon (GSH)

Redükte glutatyon, yapısında glutamik asid, sistein ve glisin bulunduran bir tripeptit olup aktif bir (-SH) grubuna sahiptir. Vücuttaki GSH'ın büyük bölümü karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç duyulmadan iki aşamada gerçekleşir (19).



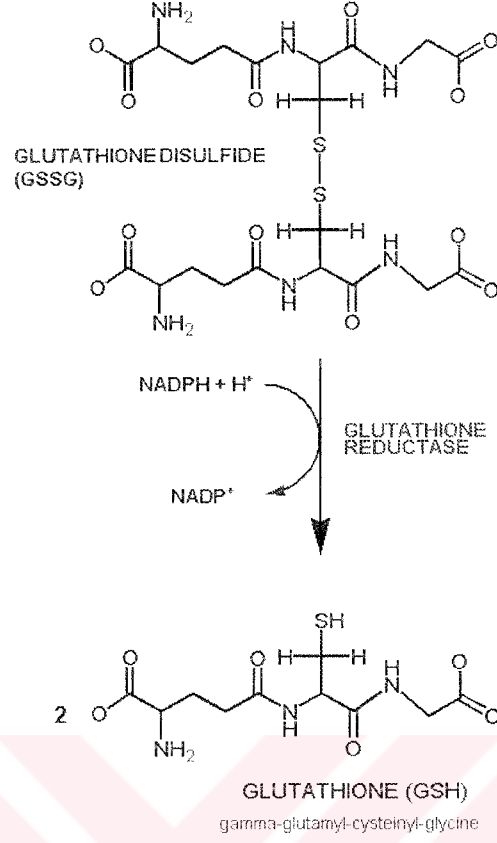
Glutatyon bir çok metabolik olayda görev alır. Glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve glutatyon transferaz enzimlerinin substratıdır. Vücutta enzimatik olmayan en önemli antioksidandır. Reaktif oksijen türleri ile reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Ayrıca, proteinlerdeki -SH gruplarını redükte halde tutarak bu grupları oksidasyona karşı muhafaza eder. Böylece proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonuna engel olur. Ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunu ve amino asitlerin membranlardan geçişini sağlar (19).

Redükte ve okside glutatyon proteinlerin sülfhidril grupları (prot-SH) veya disülfidlerle (prot-S-S-prot) değiş-tokuş reaksiyonuna girebilir ve sonuçta karışık disülfidler oluşur (19).



GSH, Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine çevrilmesini önler. Eritrosit zarını H₂O₂ den, lökositleri fagositozda kullanılan oksidan maddelerden ve lens proteinlerini oksidatif hasardan korur (19).

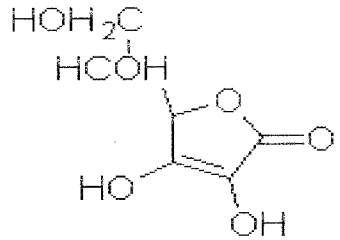
GSH'ın oksidasyonu sonucu oluşan okside glutatyon (GSSG), NADPH kullanılarak glutatyon redüktaz enziminin katalizi ile tekrar redükte hale dönüşür (19) (Şekil-7).



copyright 1998 S. Marchesini

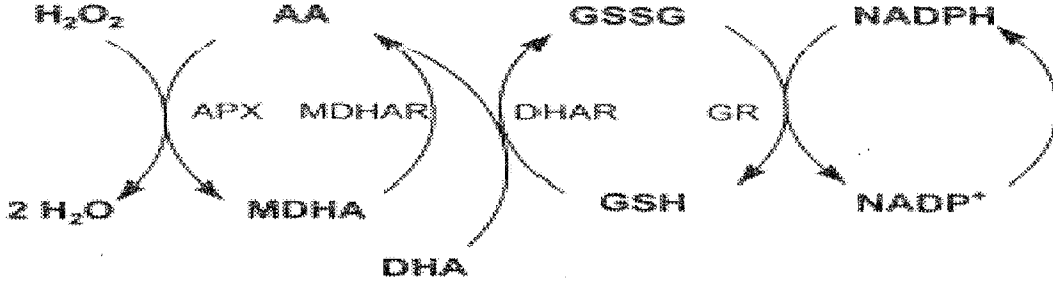
Şekil-7: Okside glutatyonun redükte glutatyona dönüşümü

2.5.1.2.2. Askorbik asit (C vitamini) (Şekil-8)



Şekil 8-Vitamin C (askorbik asit)

Askorbik asit güçlü bir indirgeyici ajandır. Semidehidroaskorbat ara ürünü üzerinden kolaylıkla dehidroaskorbik asite okside olur. Dehidroaskorbik asit de fizyolojik şartlarda glutatyon ile doğrudan veya enzimatik olarak etkileşerek şekil-9’de görüldüğü gibi tekrar askorbata indirgenir (19).



Şekil- 9 : Askorbat-glutasyon siklusu

APX: Askorbat peroksidaz

MDHAR: Monodehidroaskorbat redüktaz

DHAR: Dehidroaskorbat redüktaz

GR: Glutasyon redüktaz

DHA: Dehidroaskorbik asit

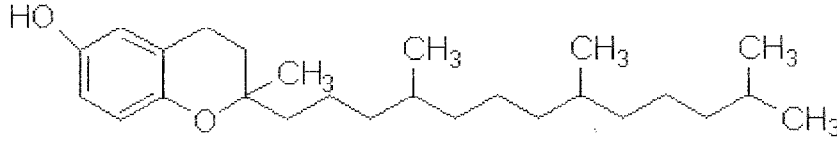
C vitamini süperoksit radikali, hidroksil radikali ve singlet oksijen ile kolayca reaksiyona girerek onları etkisizleştirir. Sulu fazla olmasına rağmen lipid peroksidasyonunu başlatıcı radikalleri temizleyerek lipidleri ve membranları oksidatif hasara karşı korur. E vitamininin rejenerasyonunda görev alır, tokoferoksil radikalının alfa-tokoferole indirgenmesini sağlar. Böylece etkin bir şekilde vitamin E ile birlikte LDL'yi oksidasyona karşı korur. Semidehidroaskorbatta antioksidan aktivite gösterir (19,81,82).

Güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir oksidandır. Ferri demiri, ferro demire indirgeyebilen süperoksit radikali dışında tek hücre içi moleküldür. Bu etkisiyle, ferri demiri indirgeyerek, fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile etkileşmeye uygun olan ferro demire dönüştürür. Bu özelliğinden dolayı askorbik asit prooksidan olarak da kabul edilir. Askorbik asidin oksidasyonunda doğrudan hidrojen peroksit meydana gelebilir. Ancak, bu prooksidan özelliği çok düşük konsantrasyonlarda (<0.2 mM) görülürken, daha yüksek konsantrasyonlarda güçlü bir antioksidan özellik gösterir ve oksidatif patlama sırasında nötrofillerde oluşan reaktif molekülleri nötralize eder (19,81).



2.5.1.2.3. E vitamini (Tokoferoller)

Vitamin tokoferol yapısında olup doğal olarak alfa, beta, gama delta, eta ve zeta gibi şekillerde bulunur. Antioksidan aktivitesi en yüksek olan tokoferol α -tokoferoldür (şekil-10).

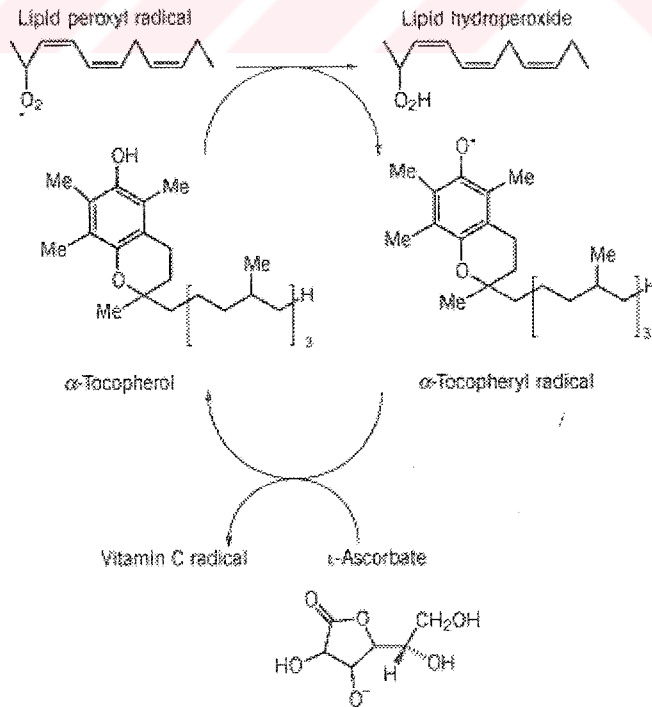


Şekil-10: Vitamin E (α -tokoferol)

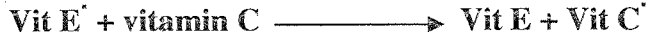
Hücre membranları ve plazma lipoproteinleri, lipidde eriyebilen bir molekül olan α -tokoferole sahiptir. α -tokoferol molekülünün kimyasal olarak aktif kısmı, fenolik hidroksil grubuna sahip olan aromatik halkasıdır ve antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır. Fenolik hidroksil grubunun hidrojen atomu kolaylıkla ayrılabilirdiği için peroksidasyon sonucu oluşan lipid peroksil radikalleri bir yağ asidi yan zinciri yerine bu antioksidanla reaksiyona girer (19,81,83).



Oluşan α -tokoferol-O[•] radikali zayıf bir reaktiviteye sahiptir ve yağ asidi yan zincirine saldırıamaz. Sonuç olarak zincir reaksiyonu durdurulmuş olur. Oluşan vitamin E radikali vitamin C tarafından tekrar vitamin E'ye redükte edilir (şekil-11) (19).



Şekil-11: E vitamininin C vitamini ile rejenerasyonu

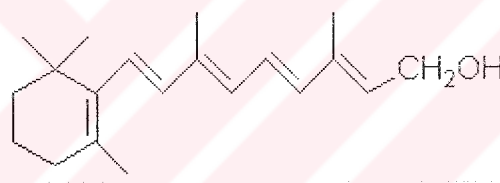


Oluşan vitamin C radikali (semiaskorbat radikali) semiaskorbat redüktaz enzimi tarafından tekrar vitamin C'ye indirgenir. Bazı tiyol bileşikleri (örn. GSH) de α -tokoferölü rejenere edebilirler (19).

α -tokoferol dokularda değişik konsantrasyonlarda bulunur. En yüksek vitamin E konsantrasyonları mitokondri ve mikrozomlar gibi membrandan zengin hücre fraksiyonlarında bulunur.

2.5.1.2.4. Karotenler

Karoten'ler havuç, domates, fasulye, portakal ve diğer narenciyelerde bulunan bitki pigmentleridirler. Tabiatıta 600'ün üzerinde karotenoid bulunmaktadır. Ancak bunların sadece 50 tanesi A vitamininin ön maddesidir. A vitamininin metabolik ön maddesi olan β -karoten bu karotenoidlerden başlıcasıdır (şekil-12).



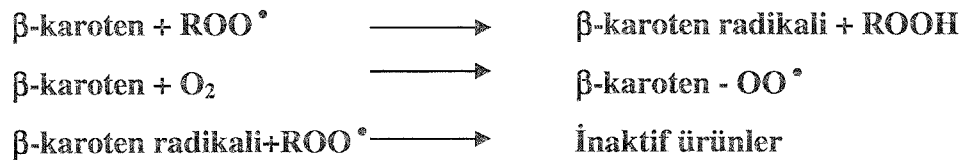
Şekil-12: A vitamininin şematik yapısı

β -karoten ve likopen gibi retinoidler düşük dansiteli lipoprotein (LDL) yapısında yer alır ve LDL'yi oksidasyona karşı korurlar (19,81).

Karotenoidler hücreleri oksidan strese karşı üç farklı şekilde korurlar (83):

1. Flavinler ve porfirinler gibi triplet uyarıcıların zararlı etkilerini baskılama
2. Singlet oksijeni baskılama,
3. Peroksil radikallerinin temizlenmesi

Özellikle beta-karotenin kanserlerden primer korunmada etkili olması üzerinde durulmaktadır.



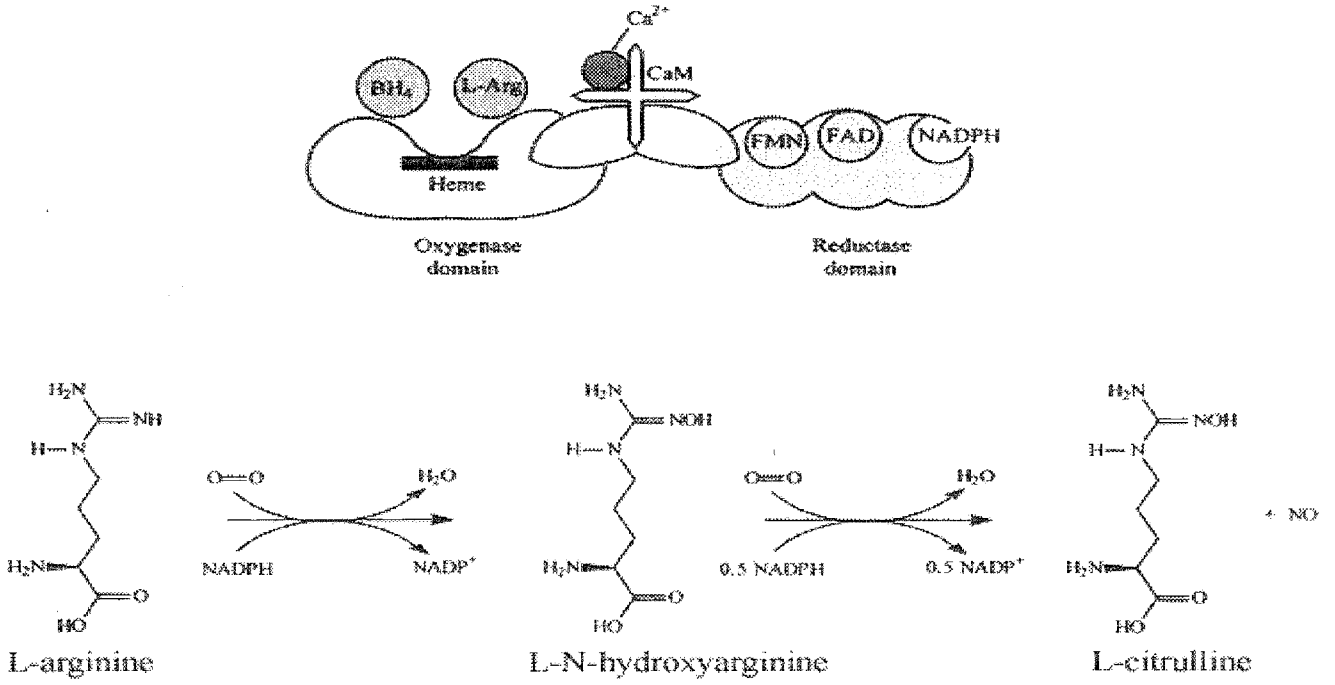
β -karotenin antioksidan işlevi düşük oksijen parsiyel basıncında daha fazla olduğundan yüksek parsiyel oksijen basınçlarında katalaz, glutatyon peroksidaz, vitamini C ve vitamin E gibi antioksidanlara yardımcı olarak onların etkinliğini tamamlar. Ayrıca beta-karotenin fagositik hücreleri otooksidatif hasardan koruduğuna dair in vivo ve in vitro yapılan çalışmalar giderek artmaktadır (84,85).

2.6. Nitrik Oksit (NO)

Yaklaşık 15 yıl öncesine kadar basit bir atmosfer atığı olarak düşünülen NO günümüzde, canlıların çok önemli bir ileti molekülü olarak tanımlanmaktadır. NO eşleşmemiş bir elektron içeren renksiz, gaz şeklinde bulunan ve çok kısa ömürlü olan bir serbest radikaldir. Bütün memeli hücreleri tarafından sentezlenen NO, kan damarı geriliminin düzenlenmesinden, sınırlar arası iletişime ve savunma sistemine kadar pek çok fizyolojik olayda anahtar molekül olarak iş görmektedir (86,87). Başlıca SSS, KVS ve immün sistem olmak üzere pek çok sistemde önemli fonksiyonları vardır. NO'nun organizmada düzenleyici bir molekül olarak görev yapmasına ek olarak, bir dizi patolojik olayda da rolü vardır. Yani NO, hem sitoprotektif hem de sitotoksik etkilidir (88,89).

NO küçük (30 Da) bir molekül olmasına rağmen organizmanın büyük (~300 kDa) ve komplike enzimlerinden biri olan Nitrik oksit sentaz (NOS, EC 1.14.13.39) enziminin sentezlenmektedir (90). L-argininin guanido grubundaki nitrojenin hidroksilasyonu ile sentez başlatılır. Reaksiyonda nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) ve O_2 substrat olarak kullanılır. Flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin adenin mononükleotid (FMN), kalmodulin, hem ve tetrahidrobiopterin (BH_4)'yi kofaktör olarak kullanır (91). Reaksiyon sonunda şekil-13'de görüldüğü gibi L-sitrülin ve NO elde edilir.

Reaksiyon sonucu oluşan NO gaz yapısında olduğu için hızla çevre hücrelere diffüze olabilir ve etkisini yok edilene kadar sürdürebilir. Fazla miktarda oluşumu dokular için toksik olduğundan hızla etkisiz hale getirilir. Kan içine salınan NO'nun büyük kısmı esas olarak eritrositler tarafından metabolize edilir. Hemoglobulin ve myoglobuline bağlanan NO (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-) olarak atılır (92,93). NO'nun yarı ömrü büyük değişiklik göstermektedir. Bu değişkenlik, dokuların taşıdığı oksijenli bileşiklerin ($O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot}) oranındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. NO'nun gerçekleştirdiği bu reaksiyonlara bağlı olarak yarı ömrü yaklaşık 10-30 sn'dir. Bu yarılanma sürecine bağlı olarak diffüzyon mesafesinin 200-600 μm olduğu düşünülmektedir (93,94).



Şekil-13: NOS enziminin gerçekleştirdiği reaksiyon

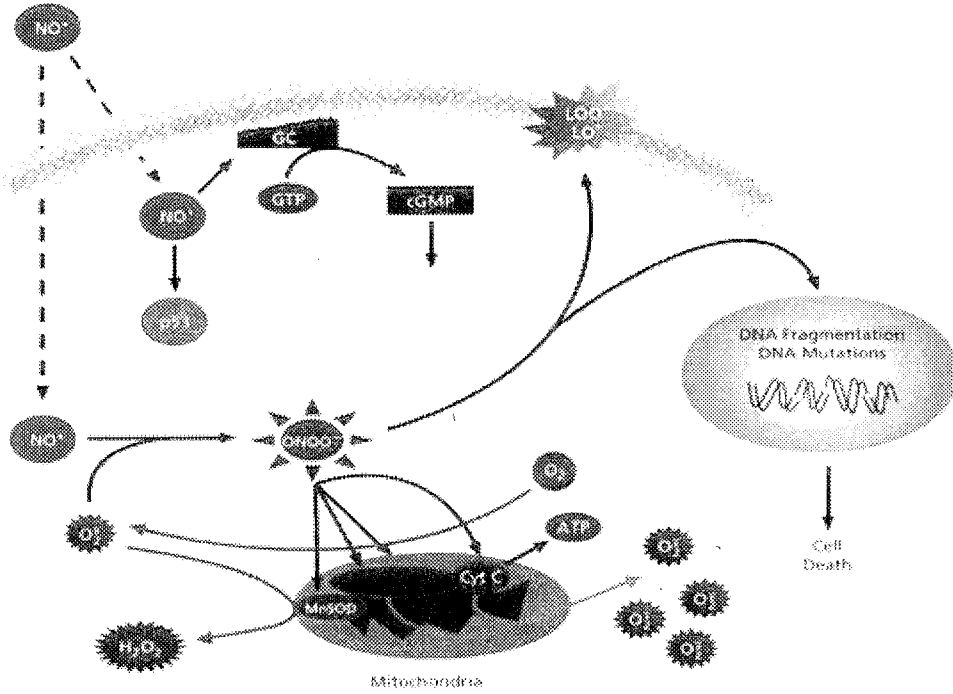
Damar duvarında NO'yu uzaklaştıran önemli bir yol da süperoksit anyonu ile hızlı bir reaksiyona girerek güçlü bir oksidan olan peroksinitrit (ONOO⁻)'i oluşturmaktır (94-96).



Hb veya O₂ olmadığı ortamda, pH 7.4'de NO, O₂ ile yavaş bir reaksiyonla nitrat (NO₃⁻) ve nitrit (NO₂⁻)'i oluşturur (92,93,96).



NO, klasik mediyatör kavramından tümüyle ayrılan, yeni ileti moleküllerinin ilk örneğidir. NO için klasik mediyatörler gibi klasik bir reseptör bölgesi yoktur. Guanilat siklazın hem bölgesine bağlanarak guanozin trifosfattan, siklik guanozin monofosfat (cGMP) sentezini sağlar ve bu molekül aracılığı ile etki eder. cGMP miyozin hafif zincir kinazın defosforilasyonuna sebep olarak düz kas gevşemesi yapar. NO'un antitrombositler, antimitojenik, sitotoksik, vazodilatör, antitrombositler, antiadeziv ve diğer etkileri cGMP aracılığıyla (97). NO'nun cGMP yolu ile olan etki mekanizması şekil-14'de görülmektedir.



Şekil- 14: NO'nun cGMP aracılığıyla olan etki mekanizması
(Kaynak:www.sigmaaldrich.com/suite7/area_of_interest.com)

Memeli hücrelerinde üç ayrı NOS geni ve bu genlerce sentezlenen değişik molekül ağırlığı, fiziksel ve fonksiyonel özellikleri olan izoformlar gösterilmiştir.

NOS enzimleri, sitokrom P₄₅₀ redüktaz enzim ailesi ile benzerlik göstermektedir. Onlar gibi hem grubu içermektedir ve sitokrom P₄₅₀ için tipik olan indirgenme ve CO ile muamele ile 450nm'de maksimum absorbans gösterme özelliğine sahiptir. Saffaştırılmış NOS enziminin CO ile inhibe olduğunun gösterilmesi de, reaksiyonda sitokrom P₄₅₀ tipi bir hemin varlığını göstermektedir (90,98). NOS izoenzimlerinin NADPH, FAD, FMN ve kalmodulinle bağlanma bölgesi vardır. İzoenzimler kalmodulinle reversibl/irreversibl bağlanıp, hücre içi Ca² düzey artışına yanıt verişlerine göre alt gruplara ayrılmaktadır. Beyinde bilinen majör hücre tipleri üç NOS tipinde sentezleme yeteneğindedirler (96,100).

2.6.1. İzoform I: Nöronal NOS (nNOS)

İlk olarak sinir dokusunda bulunmuş olup kalsiyuma bağımlıdır. Bu izoform aynı zamanda akciğer, mide, pankreas adacıkları, endometrium, solunum ve GIS epitelinde de gösterilmiştir. Moleküler kolonlanması yapılan bu izoform, 160

kDA'lık bir polipeptiddir ve sitokrom P₄₅₀ ile %36 benzerlik göstermektedir. NADPH, FAD, FMN ve kalmodulin için bağlanma bölgesi içermektedir (98,99).

nNOS fosforilasyon ile regüle edilebilmektedir. Nöronal NOS, cAMP'ye bağımlı protein kinaz olan protein kinaz C, cGMP-bağımlı protein kinaz ve Ca²⁺/Kalmodulin bağımlı protein kinaz ile fosforillenir. Tüm bu fosforilasyon olayları enzimin katalitik aktivitesini azaltmaktadır (98,99).

NO, bazı beyin bölgelerinde cGMP oluşumundan sorumludur. Bu oluşan cGMP'nin gerçek fonksiyonları çok iyi bilinmemektedir (90,98). SSS'de NO sayısız etkiye sahiptir. Bunlar arasında kan akımının düzenlenmesi, öğrenme ve hafıza, nörotransmitter salınması, gene ekspresyonu ve hücre yaşam süresi sayılabilir (101,102).

nNOS'un N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörünün modülasyonu ile nörotransmisyonda önemli bir fonksiyonu vardır (100). Fakat NMDA reseptörlerinin fazla uyarılması nöronal toksisiteye neden olur. Fazla NO nöron, glia ve myeline sitotoksiktir (103).

2.6.2. İzoform III- Endotelial NOS (eNOS)

İlk olarak endotel hücrelerinde tanımlanmıştır ve kalsiyuma bağımlıdır. nNOS ve eNOS enzimlerinin ikisine birden cNOS enzimleri de denir. eNOS'un aminoasit dizisi nNOS'un aminoasit dizisi ile %60 benzerlik göstermektedir. Her ikisinde de benzer olan bölgeler FAD, FMN, NADPH, kalmodulin ve protein kinaz A fosforilasyon bölgesidir (91,99).

Endotelial hücrelerce salgılanan NO, damar duvarında sempatik sinir sistemi ve renin-angiotensin sisteminde oluşturulan vazokonstriksiyona karşı önemli bir vazodilatör sistemi oluşturmaktadır. NO, düz kas hücrelerince solubl guanil siklaz ve cGMP'yi artırarak damarlarda vazodilatasyona yol açar. eNOS tarafından sentezlenen NO güçlü bir vazodilatör olmasının yanı sıra platelet agregasyonunun inhibisyonu, endotelial yüzeye lökosit ve monosit adezyonunun süpresyonu ve vasküler düz kas hücre migrasyonu ve proliferasyonunun inhibisyonu gibi vazoprotektif etkilere de sahiptir (104,105). Bu biyolojik özelliklerinden dolayı eNOS kaynaklı NO antiaterojenik bir faktör olarak düşünülür (106,107).

Endotelial NOS enziminin fosforilasyonu hem enzimin aktivitesini, hem de subsellüler dağılımını değiştirmektedir. eNOS esas olarak plazma membranında lokalizedir. eNOS, endotel hücrelerinde bradikinin'e yanıt olarak hızla fosforillenir (105).

NOS'un fosforilasyonu, enzimin membrandan solubl fraksiyonlara translokasyonuna yol açar (91,98,99).

2.6.3. İzoform II:İndüklenebilir NOS (iNOS)

İlk olarak endotoksinler ve sitokinler aracılığıyla karaciğer hücreleri ve makrofajlarda uyarılan bir enzim olarak tanımlanmış ve patolojik koşullarda görev aldığı gösterilmiştir. iNOS ile sentezlenen NO, endotoksik şok, endotoksemi, iskemi gibi pek çok patolojik durumda görev alır. iNOS aracılığıyla artmış NO sentezi platelet ve endotelial disfonksiyona katkıda bulunur (108,109).

nNOS ve eNOS (cNOS) hücre membranı enzimi iken, iNOS sitozolik bir enzimdir. cNOS aktivitesi için sitozolik Ca^{+2} miktarı önemli iken, iNOS için mRNA düzeyi önemlidir. Ayrıca cNOS gibi Ca^{+2} antagonistleriyle bloke de edilemezler. iNOS enziminin transkripsiyonel indüksiyonunu IFN γ , lipopolisakkarit (LPS), IL-1 β ve daha birçok sitokin gerçekleştirdiği gösterilmiştir (99,104). iNOS vasküler endotel hücreleri, nötrofiller, hepatositler, kondrositler, adenokarsinoma hücreleri , keratinositler, solunum epiteli ve makrofajlarda ve düz kas hücrelerinde bulunur (91,99,108). Ek olarak, nöronlar (109,110), astrositler (111,112) ve mikroglialar (113,114) da iNOS sentezleme etme yeteneğindedirler. Normal beyin dokusunda iNOS bulunmaz fakat beyin travması ve nörolojik hastalıklar gibi patolojik koşullarda beyinde NO sentezlerler (115) ve proinflatuar sitokinlerle salınımları artırılır (108,116).

iNOS enziminde de NADPH, FAD, FMN ve kalmodulin bağlanma bölgesi vardır. Fakat nNOS ve eNOS'da bulunan protein kinaz A fosforilasyon bölgesi yoktur. iNOS'un kalmodulin bağlanma bölgesi olmasına rağmen kalmodulin enzime son derece sıkı bir şekilde bağlandığı için Ca^{+2} artışından etkilenmez. iNOS Ca^{+2} düzeylerinden etkilenmediği için aktivitesi günlerce sürebilmektedir (91,108).

Herhangi bir uyarıdan sonra iNOS, cNOS'dan 1000 kat daha fazla NO üretimine sebep olur. Makrofajlardan salıverilen bu bol miktardaki NO yabancı mikroorganizmalara karşı nonspesifik bir savunma yapar. Savunma sistemindeki bu faydalı etkisinin yanında artmış NO'nun doku tahribatı yaparak damar geçirgenliğini artırdığı ve septik şoktaki vazodilatasyona katkıda bulunduğu sanılmaktadır. Bunun yanında NO sentezinin tamamen bozulması da inflamasyonu hızlandırmaktadır (99,108,109).

3. MATERYAL ve METOD

3.1. MATERYAL

3.1.1. Vakaların oluşturulması ve gruplandırma

Çalışmamız için gereken ratlar, Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden sağlandı. 72 adet, 4'er aylık, Sprague-Dawley cinsi dişi ratlar her birinde 12 ratın bulunduğu 6 gruba ayrıldı ve 6 ayrı kafeslere konuldu. Isı 17-20 °C, Nem %70-80 ve karanlık/aydınlık siklusu 12 saat idi. Kontrol grubu standart laboratuvar yemi (% 3.62 oranında yağ içeren) ile beslendi. Diğer grupların yemine sırasıyla ayçiçek yağı, zeytin yağı, margarin, soya yağı ve tereyağından % 15 (w/w) oranında eklendi. Yemlere ilave edilen yağların yağ asidi içeriği tablo-4'de verilmiştir.

Yağ asidi	Ayçiçek yağı	Zeytin yağı	Margarin	Tereyağı	Soya yağı	Moleküler ağırlık
C14:0	0.1	-	0.31	10.6	0.1	226
C16:0	6.6	12.3	9.33	26.6	10.5	-
C16:1	0.1	1.3	-	2.3	0.1	258
C18:0	4.6	2.1	4.89	12.6	3.9	284
C18:1	18.6	72.8	-	28.3	22.4	282
C18:1c	-	-	17.0	-	-	-
C18:1t	-	-	11.3	-	-	-
C18:2n-6	-	-	28.2	-	-	-
C18:2	67.1	9.8	-	2.5	54.5	280
C18:3	1.1	0.8	-	0.8	7.7	278

Tablo-4: Çalışmamızda kullanılan yağların yağ asidi içeriği

3.1.2. Yemlerin hazırlanışı

Tereyağı ve margarinin yanmamasına dikkat edilerek kısık ateşte eritildikten sonra diğerleri ise doğrudan yeme ilave edildiler. Tüm yağların yeme iyice karışmasına ve homojen

olarak dağılmasına özen gösterildi. Diyet haftalık hazırlandı ve oksidatif değişiklikten korumak için 2-8 °C da ve ışık geçirmeyen bir ortamda saklandı. Yağ katkısı yapılmamış standart laboratuvar yeminin bileşimi aşağıdaki tablo-5'te görüldüğü gibidir.

Yağ	% 3,52
Protein	% 24
Kül	% 10
Selüloz	% 7
su	% 12

Tablo-5: Yağ katkısı yapılmamış yemin analizi

3.1.3. Numunelerin alınışı

Ratlar 8 haftalık beslenme süresinin sonunda ketamin anestezisi altında dekapite edildiler. Beyin dokuları % 0.1 M digitonin içeren, 0.1 M, pH=7.4 fosfat tamponu içinde homojenize edildi. Homojenatlar 5000g de 15 dk santrifüj edildi. Süpernatandan bekletilmeden MDA çalışıldı. Geri kalanı 3'e bölünüp - 20°C'da NO, AOA ve TG, kolesterol ve fosfolipid çalışılmak üzere saklandı.

3.1.4. Kullanılan Cihazlar

1. Homojenizator: Microson XL Ultrasonic Cell Disruptor
2. Soğutmalı Santrifüj: Hettich Universal 30 RF
3. Spektrofotometre: Shimadzu UV-1601
4. Ayarlanabilir otomatik pipetler
5. Vorteks
6. Benmari
7. Hassas terazi

3.1.5. Kullanılan reaktif, çözeltiler ve kitler

— Biüret reaktifi: 3 gr bakır sülfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) ve 9 gr sodyum potasyum tartarat ($\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) her biri ayrı ayrı distile suda çözüldü ve karıştırıldı. Bu karışım 300 ml

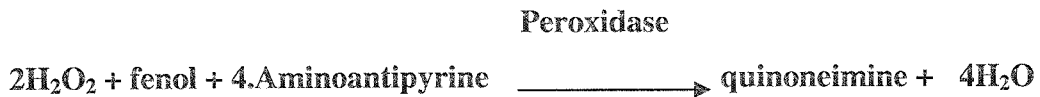
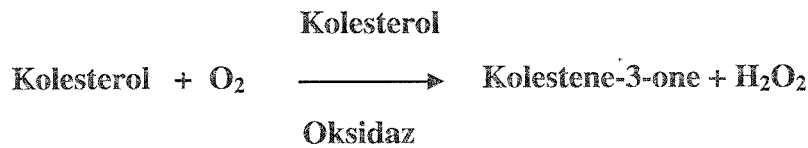
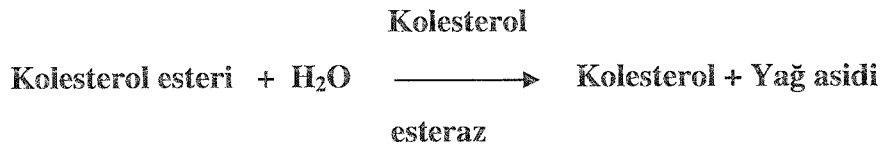
%10 NaOH'e yavaş yavaş ilave edildi. En son 5 gr KI distile suda çözüldü ve önceki karışıma ilave edildi ve son hacim distile su ile 1lt'ye tamamlandı.

- TCA çözeltisi (%10): 100 gr TCA tartılıp bir miktar distile suda çözüldü. Son hacim distile su ile 1000ml'ye tamamlandı.
- TBA çözeltisi (%0.675): 0.675gr TBA tartılıp bir miktar distile suda çözüldü. Son hacim distile su ile 100ml'ye tamamlandı.
- Kolesterol kiti: Randox marka (CH 202)
- TG kiti: Randox marka (TR 213)
- Fosfolipid kiti: Roche marka (MPR 2 691844)
- NO kiti: Roche marka (Kat no: 1 756 281)
- AOA kiti : Randox marka (Kat No: NX2332)

3.2. METOD

3.2.1. Kolesterol ölçümü

Kolesterol ölçümü Randox marka (CH 202) ticari kit kullanılarak gerçekleştirildi. Deneyin prensibi aşağıdaki şekildedir: Kolesterol esteri, kolesterol esteraz tarafından hidroliz edilerek serbest kolesterol elde edilir. Sonraki reaksiyonda kolesterol oksidaz, oksijeni kullanarak H₂O₂ oluşumunu sağlar. H₂O₂ fenol ve 4.Aminoantipyrine ile reaksiyona girerek renkli quinoneimine oluşturur. Oluşan rengin şiddeti kolesterol miktarı ile doğru orantılıdır.

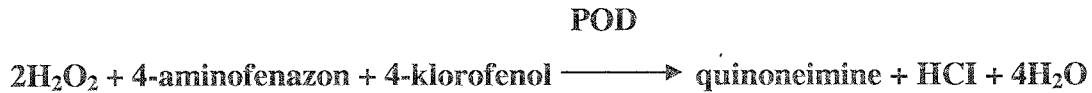
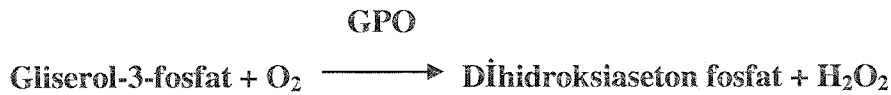


Bunun için 10'ar µL süpernatant ve standart ayrı tüplere pipetlendi. Üzerlerine 1ml reaktif koyuldu. 20 – 25 °C'da 10 dk beklendi. 500nm'de su körüne karşı okundu. Sonuçlar aşağıdaki şekilde hesaplandı.

$$\text{Kolesterol konsantrasyonu (mg/dl)} = \frac{\text{Numunenin absorbanansı}}{\text{Standartın absorbanansı}} \times \text{Standart konsantrasyonu}$$

3.2.2. TG ölçümü

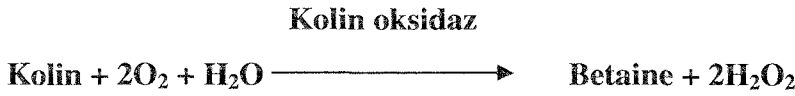
TG ölçümü Randox marka (TR 213) ticari kit kullanılarak gerçekleştirildi. Deneyin prensibi aşağıdaki şekildedir: TG önceden ayrılmış olan süpernatandan çalışıldı ve GPO-PAP metodu ile belirlendi. TG'in lipaz ile hidrolizinden oluşan gliserol, gliserol kinaz (GK) etkisi ile gliserol-3-fosfata dönüşür. Gliserol-3-fosfata, gliserol-fosfat-oksidaz (GPO) etkisi sonucu H₂O₂ meydana gelir. 4-aminofenazon ve 4-klorofenol, hidrojen peroksit varlığında peroksidaz ile quinoneimine renkli bileşimini oluşturur. Oluşan rengin şiddeti TG miktarı ile doğru orantılıdır.



Bunun için, ayrı tüplere pipetlenen 10'ar µL süpernatant ve standardın üzerine 1000 µL reaktif ilave edilerek 20 – 25 °C'da 10 dk beklendi. 500nm'de su körüne karşı okundu. Sonuçlar, standart konsantrasyonundan faydalanılarak hesaplandı.

3.2.3. Fosfolipid ölçümü

Fosfolipid ölçümü Roche marka (MPR 2 691844) ticari kit kullanılarak gerçekleştirildi. Deneyin prensibi aşağıdaki şekildedir: Fosfolipidler, fosfolipaz D ile kolin ve fosfatidik aside parçalanırlar. Kolinden, kolin oksidaz etkisi sonucu betain ve H₂O₂ oluşur. H₂O₂, 4-aminofenazon ve fenol varlığında 4-(p-benzoquinone-mono-imino)-fenazon renkli kompleksini oluşturur. Oluşan rengin şiddeti fosfolipid miktarı ile doğru orantılıdır.



5 µL süpernatant 750 µL reaktif ile karıştırıldı. 20 dk 20-25 °C'da inkübe edildi. Köre karşı 546 nm'de absorpsanları okundu. Sonuçlar, standart konsantrasyonundan faydalanılarak hesaplandı.

3.2.4. Protein ölçümü

Protein biüret metodu ile ölçüldü. Proteinler derişik alkali ortamda bakır iyonları ile menekşe renğinde kompleks oluştururlar. Bu kompleks bakır iyonları ile peptid bağının karbonil oksijeni (>C = O) ve amid azotu (> NH) arasında oluşur. Bir bakır iyonu muhtemelen komşu 6 adet peptid bağı ile koordinasyon oğı yapar (117).

Standart, kör ve numune olarak üç tüp alındı. Sırası ile 20'şer µL standart, kör ve süpernatant pipetlendi. Bunların üzerine 2.5ml biüret reaktifinden koyuldu. Oda ısısında 20 dk bekleldikten sonra 600nm'de köre karşı absorpsanları okundu. Oluşan rengin şiddeti protein miktarı ile doğru orantılıdır. Sonuçlar, standart konsantrasyonundan faydalanılarak hesaplandı.

Ölçülen TG, kolesterol ve fosfolipid değerleri proteine bölünerek TG(mg)/gr.prot, kolesterol(mg)/gr.prot ve fosfolipid(mg)/gr.prot değerleri bulundu.

3.2.5. MDA ölçümü

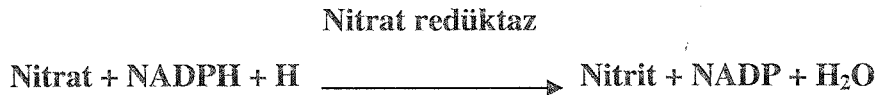
Lipid peroksidasyonu, bir lipid peroksidasyon ürünü olan MDA'nın ölçümü ile indirek olarak belirlendi.

MDA seviyeleri tiobarbitürik asit (TBA) reaktivitesi metodu kullanılarak ölçüldü. Yağ asidi peroksidasyonunun bir ürünü olan MDA, TBA ile reaksiyona girerek sıcak ve asidik ortamda, 532 nm'de maksimum absorbands veren renkli kompleks oluşturur. Oluşan kopleksin okunan absorbandsından faydalanılarak MDA değerleri elde edilir (118).

Bir deney tüpüne 2.5 ml % 10'luk (w/v) TCA çözeltisi, üzerine 0.5 ml süpernatant koyularak vorteksle karıştırıldı. Tüpün ağzı kapatılıp 90 °C deki su banyosunda 15 dk bekletildi. Sonra çıkarılarak soğuk su altında soğutuldu ve 3000 devir/dk'da 10 dk santrifüj edildi. Süpernatandan 2ml başka bir tüpe aktarıldı ve üzerine % 0.675'lik (w/v) TBA çözeltisinden 1 ml eklenerek tekrar 90 °C deki su banyosunda 15 dk bekletildi ve musluk suyu altında soğutuldu. 532 nm'de köre karşı absorbandsları okundu. Kör tüpüne numune miktarı kadar distile su konuldu. MDA değeri, $A = axbxc$ formülü kullanılarak nmol/ml olarak hesaplandı.

3.2.6. NO ölçümü

NO ölçümü Roche marka (Kat no: 1 756 281) ticari kit kullanılarak gerçekleştirildi. Deneyin prensibi aşağıdaki şekildedir: NO'ı kısa ömründen dolayı ölçmek zordur (95,99). Bu nedenle stabil metabolitleri nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-)'in ölçümü NO miktarını verir (92,93). Nitratın nitrite dönüşümünden sonra total nitritinin ölçümüyle NO miktarı bulunur. Numunedeki nitrat "Nitrat redüktaz" enzimi tarafından Nitrit'e indirgenir. Ortamdaki nitrit, griess reaktifi (119) ile reaksiyona girdiğinde kırmızı-mor menekşe renk oluşturur.



Nitrit+sülfanilamid+n-(1-naphtyl)-etilendiamin → mor-menekşe renk

Oluşan rengin 550 nm'de ki absorbandsı okunarak NO düzeyleri tespit edildi.

Pipetlemeler mikroplate kuyucuklara yapıldı. ELİSA cihazında okundu.

3.2.7. AOA ölçümü

AOA ölçümü Randox marka (Kat No: NX2332) ticari kit kullanılarak gerçekleştirildi. Testin prensibi, ABTS⁺ radikalinin oluşturduğu mavi-yeşil rengin ortama ilave edilen numunedeki AO'lar ile azalması esasına dayanmaktadır (120). ABTS (2,2'-Azino-di-(3-ethylbenzthiazoline sulphonate), ABTS⁺ radikalini oluşturmak üzere bir peroksidaz olan metmiyoglobin [HX-Fe³] ve H₂O₂ ile inkübe edilir. Oluşan ferrilmiyoglobin [X-(Fe⁴=0)] ABTS ile ABTS⁺ radikalini oluşturmak üzere reaksiyona girer.



ABTS⁺ radikali 600nm'de kısmen stabil mavi-yeşil renktedir. İlave edilen numunedeki antioksidanların oranına göre bu renk oluşumu inhibe olur. Bu inhibisyondan antioksidan aktivite hesaplanır. Bunun için 20 µL süpernatın 1 ml kromojen (6.1 µmol/L metmiyoglobin + 610 µmol/L ABTS) ile karıştırılır ve başlangıçta oluşan bu absorbans 600 nm'de okunur. Sonra 200 µmol/L hidrojen peroksit (250 µmol/L) ilave edilir ve 3 dk sonra 2. absorbans 600nm'de okunur. Antioksidan aktivite aşağıdaki formülden hesaplanır.

$$\text{Antioksidan aktivite (mmol/L)} = \frac{\text{Abs}_{\text{kör}} - \text{Abs}_{\text{numune}}}{\text{Abs}_{\text{kör}} - \text{Abs}_{\text{standart}}} \times \text{standart konsantrasyonu}$$

Standart olarak 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic asit ve kör olarak redistile su kullanıldı.

3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

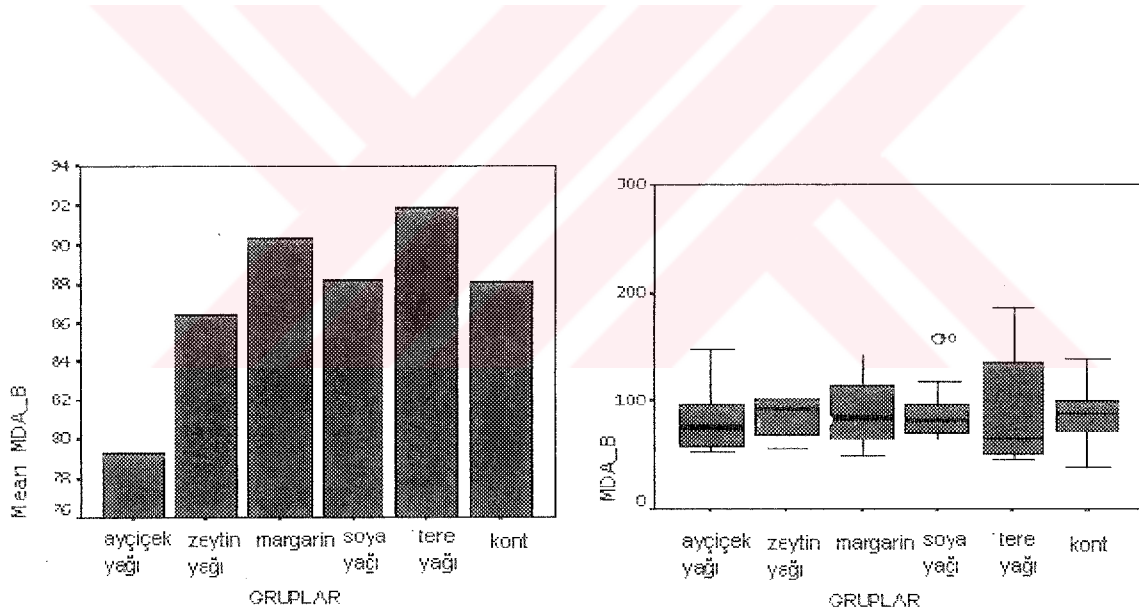
İstatistik analizi SPSS for Windows 10.0 paket programında bilgisayar ortamında yapıldı. Bulgular, ortalama (X) ± standart sapma şeklinde verildi. Gruplar arası farklılık tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirildi. Gruplar arasından fark tespit edilen parametreler Post Hoc Tukey HSD testi ile değerlendirildi. Değerlendirmede 0.001, 0.01 ve 0.05 anlamlılık seviyeleri alındı.

4. BULGULAR

4.1. MDA bulguları: MDA bulguları tablo- 6 ve şekil-15’de gösterilmiştir.

Gruplar	X	± SD
Ayçiçek yağı	79.30	27.69
Zeytin yağı	86,54	19.36
Margarin	90.34	31.52
Soya yağı	88.23	27.19
Tereyağı	91.87	55.95
Kontrol	88.15	28.49

Tablo-6: Gruplara ait beyin MDA değerleri (nmol/gr-prt)



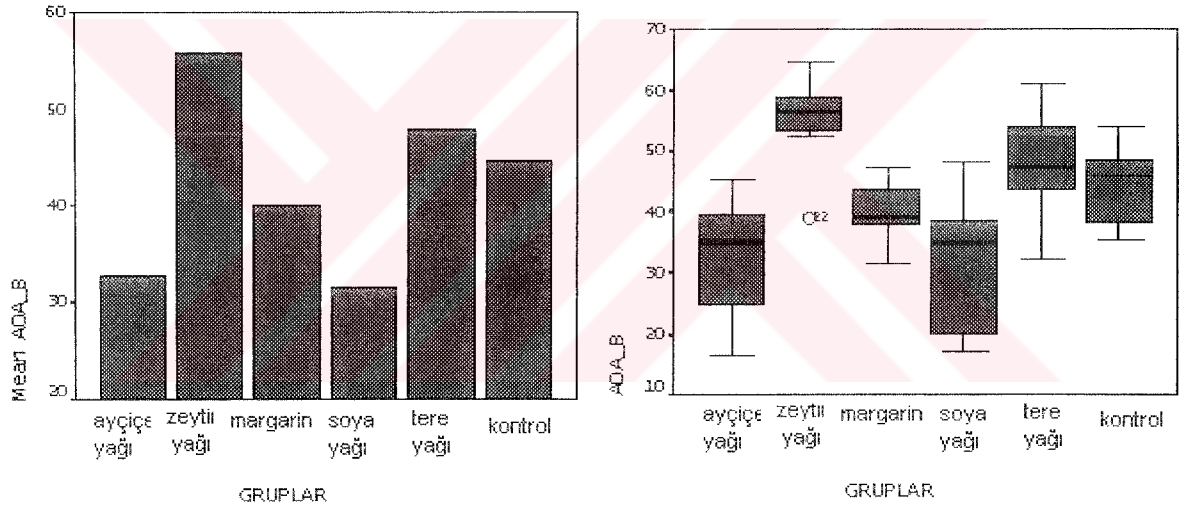
Şekil-15: Gruplara ait beyin MDA değerleri

Tablo 6’den görüldüğü gibi en yüksek MDA değerleri tereyağı, en düşük değerler ise ayçiçek yağı grubunda bulunmuştur. MDA değişimi büyükten küçüğe doğru sıralandığında: tereyağı > margarin > soya yağı > kontrol > zeytin yağı > ayçiçek yağı şeklindedir. Fakat gruplar arası farklar istatistiki açıdan önemli değildir.

4.2. AOA bulguları: AOA bulguları tablo-7 ve şekil-16'da gösterilmiştir.

Gruplar	X	±SD
Ayçiçek yağı	32.69	9.57
Zeytin yağı	55.78	7.04
Margarin	40.17	4.54
Soya yağı	31.42	10.86
Tereyağı	47.89	8.94
Kontrol	44.66	6.59

Tablo-7: Gruplara ait beyin AOA değerleri ($\mu\text{mol/gr-prot}$).



Şekil-16: Gruplara ait AOA değerleri

Tablo 7'den görüldüğü gibi en yüksek AOA zeytin yağı grubunda en düşük AOA ise soya yağı grubunda bulunmuştur. AOA değişimi büyükten küçüğe doğru sıralandığında: zeytin yağı > tereyağı > kontrol > margarin > ayçiçek yağı > soya yağı şeklindedir. Bu gruplardan:

Tere yağı -Ayçiçek yağı ($p < 0.01$),

Zeytin yağı-Soya yağı ($p < 0.001$),

Tere yağı-Soya yağı ($p < 0.001$),

Zeytin yağ-Kontrol ($p < 0.05$),

Kontrol-Soya yağı ($p < 0.01$),

Zeytin yağı-Ayçiçek yağı ($p < 0.001$),

Kontrol-Ayçiçek yağı ($p < 0.05$)

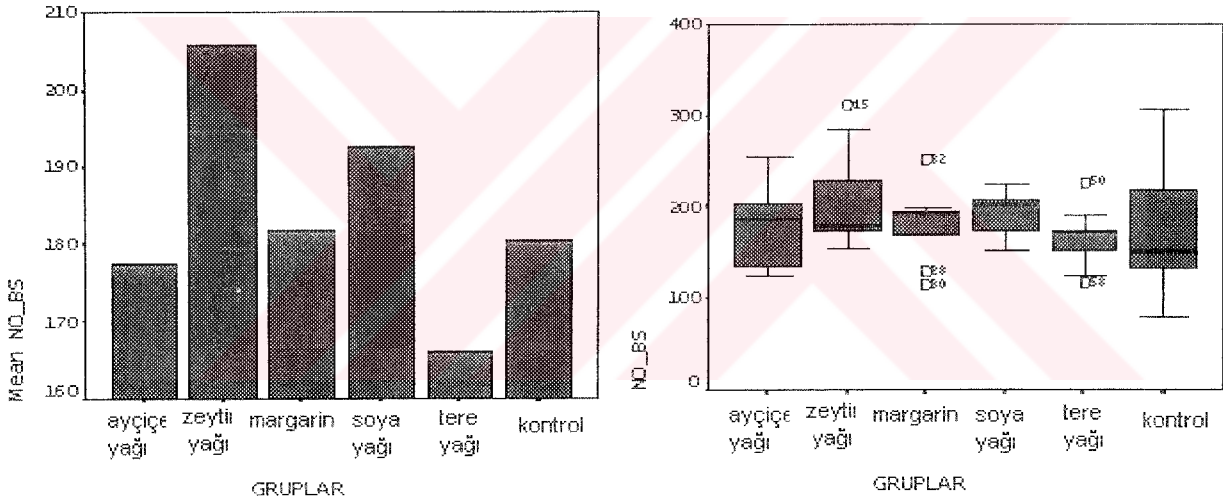
ve Zeytin yağı-Margarin ($p < 0.001$)

arasındaki farklar istatistikî açıdan önemlidir.

4.3. NO bulguları: NO bulguları tablo-8 ve şekil-17’de gösterilmiştir.

Gruplar	X	±SD
Ayçiçek yağı	177.45	47.71
Zeytin yağı	205.90	52.64
Margarin	181.79	36.40
Soya yağı	192.66	23.60
Tereyağı	166.21	30.37
Kontrol	180.411	77.89

Tablo-8: Gruplara ait beyin NO değerleri (nmol/gr-prt)



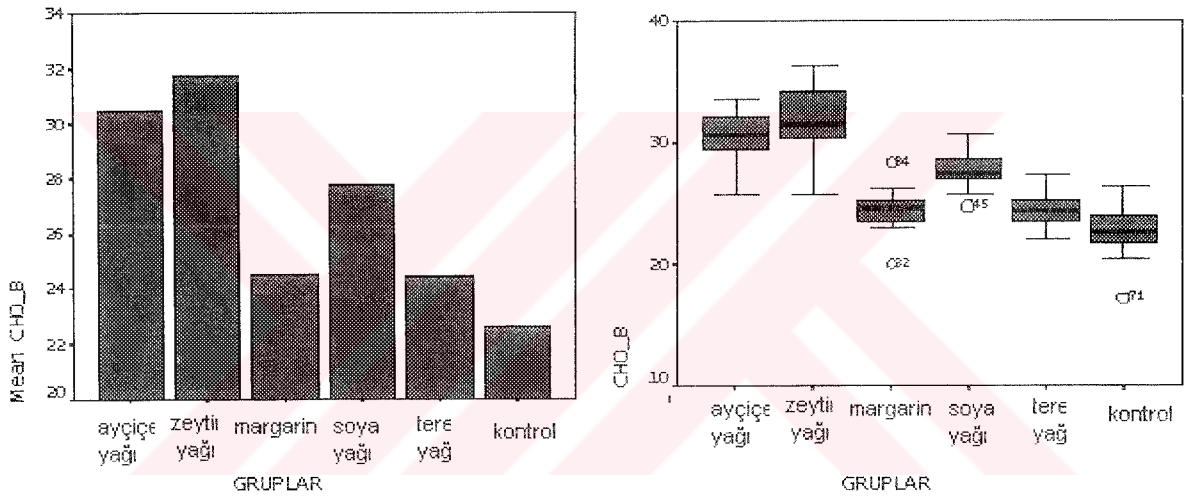
Şekil-17: Gruplara ait beyin NO değerleri

Tablo 8’den görüldüğü gibi en yüksek NO değerleri zeytin yağı, en düşük değerler ise tere yağı grubunda bulunmuştur. NO değerleri büyükten küçüğe doğru sıralandığında: zeytin yağı > soya yağı > tereyağı > margarin > kontrol > ayçiçek yağı şeklindedir. Fakat gruplara ait beyin NO değerleri karşılaştırıldığında istatistik açıdan önemli bir fark yoktur.

4.4. Kolesterol bulguları: Kolesterol bulguları tablo-9 ve şekil-18’de gösterilmiştir.

Gruplar	X	±SD
Ayçiçek yağı	30.51	2.30
Zeytin yağı	31.80	2.90
Margarin	24.49	2.00
Soya yağı	27.81	1.71
Tereyağı	24.43	1.47
Kontrol	22.58	2.29

Tablo-9: Gruplara ait beyin kolesterol değerleri (mgr-kol/gr-prt)



Şekil-18: Gruplara ait beyin kolesterol değerleri

Tablo-9’den görüldüğü gibi en yüksek kolesterol değerleri zeytin yağı grubunda en düşük kolesterol değerleri ise kontrol grubunda bulunmuştur. Kolesterol değerleri büyükten küçüğe doğru sıralandığında:

zeytin yağı > ayçiçek yağı > soya yağı > margarin > tereyağı > kontrol şeklindedir. Bu gruplardan:

Ayçiçek yağı – Margarin (p<0.001),

Ayçiçek yağı - Soya yağı (p<0.05),

Ayçiçek yağı - Tere yağı (p<0.001),

Ayçiçek yağı - Kontrol (p<0.001),

Soya yağı -Margarin (p<0.005),

Soya yağı -Kontrol (p< 0.001) arasında istatistiki açıdan önemli fark bulunmuştur.

Zeytin yağı-Margarin (p< 0.001),

Zeytin yağı-Soya yağı (p< 0.001),

Zeytin yağı- Tere yağı (p< 0.001),

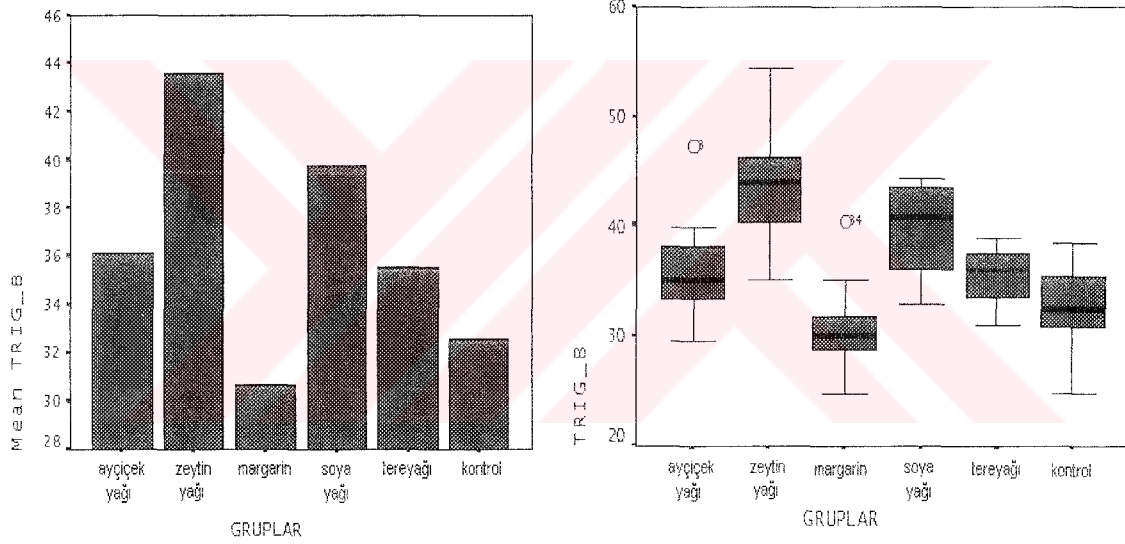
Zeytin yağ-Kontrol (p< 0.001),

Soya yağı -Tere yağı (p<0.005) ve

4.5. TG bulguları: TG bulguları tablo-10 ve şekil-19’de gösterilmiştir.

Gruplar	X	±SD
Ayçiçek yağı	36.14	4.59
Zeytin yağı	43.62	4.92
Margarin	30.68	4.32
Soya yağı	39.73	4.32
Tereyağı	35.56	2.52
Kontrol	32.57	3.71

Tablo-10: Gruplara ait beyin TG değerleri (mgr-TG/gr-prt)



Şekil-9: Gruplara ait beyin TG değerleri

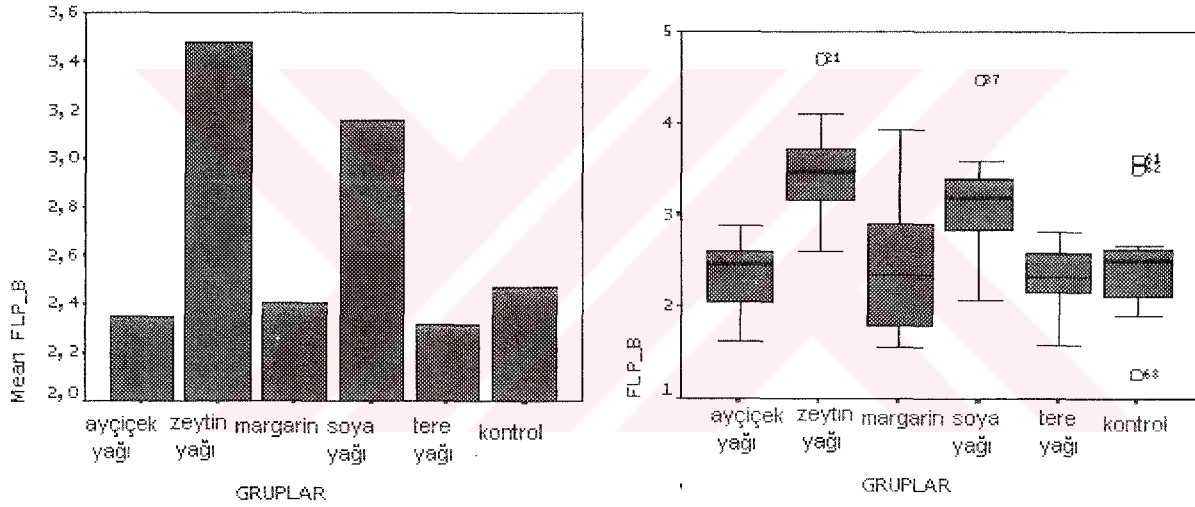
Tablo-10’den görüldüğü gibi en yüksek TG değerleri zeytin yağı grubunda en düşük TG değerleri ise margarin grubunda bulunmuştur. TG değerleri büyükten küçüğe doğru sıralandığında: zeytin yağı > soya yağı > ayçiçek yağı > tereyağı > kontrol > margarin şeklindedir. Bu gruplardan:

- Zeytin yağı-Margarin ($p<0.001$), Ayçiçek yağı-Margarin ($p<0.05$),
Zeytin yağı- Tere yağı ($p<0.001$), Soya yağı-Margarin ($p<0.001$),
Zeytin yağ-Kontrol ($p<0.001$), Soya yağı-Kontrol ($p<0.001$) ve
Zeytin yağı-Ayçiçek yağı ($p<0.001$) arasında önemli fark bulunmuştur.

4.5. Fosfolipid bulguları: Fosfolipid bulguları tablo-11 ve şekil-20'de gösterilmiştir.

Gruplar	X	±SD
Ayçiçek yağı	2.35	0.38
Zeytin yağı	3.49	0.58
Margarin	2.41	0.71
Soya yağı	3.16	0.61
Tereyağı	2.31	0.39
Kontrol	2.47	0.64

Tablo-11: Gruplara ait beyin fosfolipid değerleri (mgr-fosfolipid/gr-prt)



Şekil-20: Yağlara ait fosfolipid değerleri

Tablo 11'den görüldüğü gibi en yüksek fosfolipid değerleri zeytin yağı grubunda, en düşük fosfolipid değerleri ise tereyağı grubunda bulunmuştur. TG değerleri büyükten küçüğe doğru sıralandığında:

zeytin yağı > soya yağı > kontrol > margarin > ayçiçek yağı > tereyağı şeklindedir. Bu gruplardan:

Soya yağı-Margarin ($p<0.05$),

Zeytin yağı-Margarin ($p<0.001$),

Soya yağı-Tere yağı ($p<0.01$),

Zeytin yağı- Tere yağ ($p<0.001$),

Soya yağı-Kontrol ($p<0.05$),

Zeytin yağ-Kontrol ($p<0.001$),

Soya yağı-Ayçiçek yağı ($p<0.05$) ve Zeytin yağı-Ayçiçek yağı ($p<0.001$) arasında istatistiki olarak önemli fark bulunmuştur.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Diyet, içeriğindeki PUFA'lar ile vücuttaki oksidatif stresi artırıcı ve AO'lar ile azaltıcı etki gösterir (121). Diyetteki yağ asitleri dokuların lipid içeriğine ve lipid peroksidasyonuna etki ederler (122). Diyetin lipid içeriği değiştirilerek hücre fonksiyonları regüle ve immün fonksiyonlar kontrol edilebilir (123,124).

Diyetteki yağ asitleri beyin fonksiyonunda da önemli bir role sahiptirler (125-135). Diyet yağları beyin yağları için önemli kaynaktır (136). Mekanizması açık olmamakla birlikte beyin hücre membranı fosfolipidlerinin yağ asidi kompozisyonu diyetteki yağ asidi içeriğinden etkilenir (132,137-140). Yapılan tahminlere göre, günümüzde ω -6'nın tüketilme oranı ω -3'ün yedi katı civarındadır ve esansiyel yağ asitleri arasındaki bu dengesizlik hastalıklara yol açmaktadır (141,142). Diyetteki ω -3/ ω -6 yağ asidi oranı beyin fosfolipid membranındaki ω -3/ ω -6 yağ asidi kompozisyonunu yansıtır ve bu oran nörotransmisyon ve prostoglandin sentezi gibi normal beyin fonksiyonları için hayati önem taşır (132,143).

Lipidler hem fonksiyonel hem de yapısal role sahiptirler ve bu rol özellikle organlar içinde yağ dokusundan sonra en yüksek lipid konsantrasyonuna sahip beyin dokusu için önemlidir (131).

Lipid peroksidasyonu ve beyin patolojileri arasındaki ilişki uzun süredir kabul edilmektedir (144,145). LPO normal metabolik işleyiş sırasındaki serbest radikaller ile oluşur (146). Fakat, iskemi ve reperfüzyon gibi durumlarda daha da artar (144,147,148). Lipidler erişkin beyninin kuru ağırlığının %50-60'ını oluştururlar. Bunun da %35'i temel olarak AA ve DHA'lerin oluşturduğu uzun zincirli PUFA'dır (149,150). AA ve DHA gibi PUFA'lar başlama, ilerleme ve sonlanma safhaları olan LPO için hedef olduğu varsayılan moleküllerdir (151-153). Çünkü, serbest radikaller PUFA'ların özellikle çift bağlarına saldırırlar ve kısa sürede parçalanmalarına sebep olurlar. PUFA alımından sonra in vivo plazma ve hücre membran lipidlerinin peroksidasyonunda (154,155) ve idrar lipid peroksidasyon ürünlerinin atılımında artma (156) olduğu kaydedilmiştir.

Nitekim, Turpeinen ve ark. (157) yüksek PUFA içeren diyet sonrasında in vivo plazma ve membran lipid peroksidasyonunun arttığını göstermişlerdir.

Nalbone ve ark. (158)'na göre dokunun lipid peroksidasyon derecesini belirleyen en önemli faktör diyetin PUFA içeriğidir.

Diyetteki MUFA'ların ise oksidatif modifikasyona PUFA'lardan daha dirençli olduğu insan (159-162) ve tavşanlarda (163) yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.

MDA BULGULARININ TARTIŞILMASI

Tablo 6 ve şekil 15’de görüldüğü gibi, biz çalışmamızda gruplara ait beyin MDA değerleri arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark bulamadık.

Literatürde çalışmamıza benzer bir çalışmaya rastlayamadık. Ancak, çeşitli araştırmacıların bulguları arasında bazı farklılıklar olmakla birlikte çoğunlukla diyet lipidlerinin birçok dokuda lipid peroksidasyonunu etkilediği halde beyinde bu etkiyi göstermedikleri görülmüştür. Bu tip cevapların doku spesifik olduğu ve genetik faktörlerin de etkili olduğu kaydedilmiştir (164). Dolayısı ile, bulgularımız literatür bulguları ile uyumludur.

Tremoli ve ark. (165), hiperlipemik hastalarda doku peroksidasyon kapasitesinin artırdığını belirtmişlerdir. Bu araştırmacılar beyin dokusunda lipid peroksidasyonunu ölçmemişlerdir.

Aydemir ve ark.(166) %1 kolesterol ve %1.4 tereyağı ile beslenen tavşanlarda beyin MDA seviyesini 0.13 nmol/mg protein değerleri ile kontrol grubunun 0.11 nmol/mg protein değerlerinden anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Bu bulgu bizim bulgumuza uymamaktadır. Fakat, bu araştırmacılar diyetle, tereyağına ilave olarak fazladan kolesterol de eklediklerinden çalışmamızdan farklıdır.

Öte yanda, Kalman ve ark. (167) on hafta süreyle yüksek yağlı ve yüksek kolesterolü diyetle besledikleri tavşanların beyin dokusunda LPO değerlerini kontrol grubuyla kıyasladıklarında değişme olmadığını gözlemişlerdir (kontrol grubunda dienler 10.1, trienler 8.5, TBARS 807 ve yüksek kolesterol alan grupta ise dienler 9.8, trienler 8.2 ve TBARS 825 nM/mg protein değerindedir). Halbuki aynı hayvanların plazma LPO seviyelerini kontrol grubu ile kıyasladıklarında dienleri iki katı, trienler 3 katı ve MDA’yı beş katı olacak şekilde dramatik biçimde yüksek bulmuşlardır (kontrol grubunda dienler 94, trienler 35, TBARS 1.5 ve yüksek kolesterol alan grupta ise dienler 232, trienler 103 ve TBARS 8,6 nM/mL değerindedir).

Mooradian ve ark. (168) da Kalman ve ark.’nın sonuçlarına benzer şekilde, yüksek kolesterolü diyetle beslenen tavşanların serum MDA değerlerinde anlamlı derecede yükselme bulmalarına rağmen beyinde MDA değerlerinin artmadığını gözlemişlerdir.

Danam ve ak. (169) da % 3, 5, 10, 15, 20 oranında fındık yağı ilave edilmiş yemle 2,10, 20 hafta süreyle besledikleri ratlarda % 3 ve 5 yağ içeren grupların beyin, böbrek ve karaciğer MDA değerlerini diğer gruplardan daha yüksek bulmuşken, 20 haftanın sonunda %10, 15, 20 yağ içeren grupların bu dokularında MDA değerleri arasında fark olmadığını görmüşlerdir. Bu çalışma diyet yağlarının beyin dokusu MDA düzeyinde bir değişiklik yapmaları için diyetdeki oranlarının da önemli olduğunu göstermektedir.

Bu bulgular bizim bulgularımızı desteklemektedir. Çünkü, biz de çalışmamızda çeşitli yağlarla beslediğimiz gruplarda gerek kendi aralarında gerekse kontrol grubu ile yağ grupları arasında önemli bir fark bulamadık.

AOA BULGULARININ TARTIŞILMASI

Enzimler ve diyet, reaktif oksijen ürünlerine karşı primer koruma sağlarlar (170). Diyetle alınan AO'ların değişik hastalıklara karşı koruyucu etkisi ile ilgili pek çok çalışma yapılmış olmasına rağmen (171-174) diyet yağlarının vücuttaki AO duruma etkisi ile ilgili az çalışma vardır (175). Diyetle alınan yağlar sağlığımız için önemli olan vücudumuzun AO sistemini etkilerler (176). Yüksek kolesterol seviyesi serbest radikal üretimini artırır (177). Hiperkolestorelemi, süperoksidin ana kaynağı olan NADPH oksidaz aktivitesini artıran anjiotensin II seviyesi ve anjiotensin I reseptör sentezinde artmaya sebep olur (178).

ROS'lar gibi lipid peroksidasyon ürünleri de, SOD ve GSH-Px'ı inhibe ederek H₂O₂ konsantrasyonunda yükselmeye sebep olur ve bu yolla AOA'yi etkilerler (179). ROS'ların oluşumunda artma endojen OA'ların tüketiminde artmaya sebep olur (180).

AO savunma sistemleri katalitik enzimleri (181) veya düşük molekül ağırlıklı AO'ları (LMWA) (182) içerir. Beyin dokusu da serbest radikallere karşı hem enzimatik hem de enzimatik olmayan AO'ları içerir (146). Enzimatik olanların beynin AO savunma sistemine katkısı % 20-40 süperoksit radikalini ve %10-20 hidroksil radikalini temizleme kapasiteleri aracılığıyla (183). LMWA'lar ise glutatyon, NAD(P)H, karnosin, askorbik asit, lipoik asit, ürik asit, tokoferoller, polifenoller, karotenoidler ve diğerleridir (184).

Tablo-7 ve şekil-16'da görüldüğü gibi çalışmamızda en yüksek AOA seviyesi zeytin yağı alan grupta bulunmuştur ve bu grubun AOA'si diğer grupların AOA'sinden anlamlı derecede yüksektir.

De La Cruz ve ark. (185) hiperlipemik diyetin tavşanların beyin dahil pek çok dokusunda lipid peroksidasyonunu artırdığını göstermişlerdir. Bu araştırmacılar, tavşanları 6 hafta süreyle normolipemik, normolipemik+zeytinyağı, hiperlipemik ve hiperlipemik+zeytinyağı diyet ile beslemişler. Beyin dokusunda TBARS (nmol/mg protein cinsinden) değerlerini normolipemikde 20, normolipemik+zeytinyağında 19,6, hiperlipemikte 320 ve hiperlipemik+zeytinyağında 255 olarak bulmuşlardır. Beyin ve diğer dokuların LPO'nuna normolipemik diyet alan grupta zeytin yağının etkisi olmadığını fakat, hiperlipemik diyet alan grupta artmış olan LPO'nun zeytin yağı verilmesi ile % 20,3 azaldığını göstermişlerdir. Bu araştırmacılar, hiperlipemik diyet verilen grupta tavşanların beyin dokusunda total/okside glutatyon oranını normolipemik gruptan %30 daha düşük

bulmuşlardır (kontrol grubu: 16,4 ve hiperlipidemik grup: 11,5). Sonuçta, normolipemik diyetle zeytin yağı ilavesinin AO enzim aktivitelerine etkisi olmadığını fakat, hiperlipemik diyetle azalmış olan glutasyon sisteminin AO kapasitesinin zeytinyağı ile arttığını gözlemişlerdir.

Zeytin yağının AO'dan kapasitesi için öne sürülen mekanizmalardan biri yüksek fenolik içeriğidir. Zeytin yağı oleuropein, hydroxytyrosol ve tyrosol başta olmak üzere en az otuz fenolik bileşik içerir ve bunlar yüksek oranda AOA gösterirler (186-188). Polifenollerin AO aktivitesi metal iyonları ile şelat oluşturma, serbest radikal toplama, lipid peroksidasyon zincirini kırma ve antioksidan vitamin rejenerasyonu gibi yetenekleri ile açıklanabilir (189-191). Polifenollerin in vitro serbest radikallerin lökositler tarafından alınmasını stimüle (192,193) ve polimorfonükleer hücrelerde phorbol 12-myristate 13 acetate ile uyarılan solunumsal patlamayı inhibe (191) ettikleri belirtilmiştir.

De La Puerta ve ark. (193) ise zeytinyağındaki polifenollerin, lökositte, konsantrasyona bağlı olarak 5-lipoksijenazın aktivitesini ve ROS oluşumunu in vitro inhibe ettiklerini kaydetmişlerdir.

Ayrıca, zeytin yağı oleik asit bakımından ve çabuk okside olmayan MUFA açısından zengindir (5,194). Reaven ve ark. (195)'na göre zeytin yağının AO özelliği majör bileşeni olan oleik asidin AO özelliği sebebiyledir. Zeytin yağında bol bulunan oleik asidin lipoproteinleri oksidatif modifikasyona karşı koruduğu gösterilmiştir (196).

Bir diğer faktör zeytin yağında linoleik asit miktarının az olmasıdır. Linoleik asit oksidatif strese karşı oldukça hassastır ve in vivo konjuge linoleik asit alımından sonra lipid peroksidasyonunun arttığı gösterilmiştir (157,195).

Huertas ve ark. (197) diyetle bulunan CoQ ve zeytin yağının serbest radikal etkisine karşı mitokondrial membranları koruduğunu fakat ayçiçek yağının korumadığını belirtmişlerdir. Ochoa-Herrera ve ark. (194) da zeytin yağının hastalıkları önlemede ve lipid peroksidasyonunu azaltmada ayçiçek yağından daha iyi koruma gösterdiğini kaydetmişlerdir. Bu bulgular da bizim bulgularımız ile uyumludur.

Çalışmamızda ikinci yüksek AOA değeri tereyağı grubunda bulunmuştur. Tereyağının SFA içeriği yüksek olup aynı zamanda yüksek oranda yağda çözünen vitamin A içermektedir (8). Tereyağı grubunda AOA'deki yükseklik içerdiği vitamini A ile açıklanabilir. Ayrıca tereyağı alımında PUFA alımında olduğu gibi AO'lar tüketilmez.

Sanchez-Moreno ve ark. (176) tereyağı, soya yağı, kanola yağı ve margarinle besledikleri hamsterlerin beyin, plazma ve karaciğerlerinde vitamin C ve α -tokoferol

düzeylerini margarin verilen grupta diğer gruplardan daha düşük bulmuşlar. Bu bulguya göre, margarinin antioksidan aktiviteyi düşürdüğü söylenebilir.

Tablo-7'den de görülebileceği gibi çalışmamızda en düşük AOA bulunan ayçiçek ve soya yağında PUFA miktarı fazladır. Koop ve ark.(198) özellikle PUFA konsantrasyonu yüksek olan yağlarla beslenme durumunda diyetdeki yağların vitamin E seviyesini normal tutmak için yeterli olmadığını göstermişlerdir. Soya ve ayçiçek yağlarında yüksek oranda bulunan PUFA'ların oksidasyona yatkınlığı, AO kullanımı artırıyor ve bu da AOA'yi azaltıyor olabilir.

AOA değerleri gözönüne alındığında sağlık açısından en faydalı yağın zeytin yağı olduğu ve bunu sırası ile tereyağı, margarin, ayçiçek yağı ve soya yağının takip ettiği söylenebilir.

NO BULGULARININ TARTIŞILMASI

Santral sinir sisteminde NO, başlıca serebral damar endoteli, immün olarak stimule olmuş mikroglia ve astrositler , nonadrenerjik nonkolinerjik sinirler ve glutamat nöronları olmak üzere en az dört farklı kaynaktan köken alır (199). Ayrıca, serebrovasküler endotel hücreleri (200) yanında, astrositler de nNOS'a ilaveten eNOS' da sentezleme yeteneğindedirler (201,202).

SSS'de NO hem nörotoksik hem de nöroprotektif etkilidir (203-205). Keelan ve ark. (204) rat beyin sinaptozomlarında iskemide NO arttığını göstermişler ve zedelenmenin NO ile ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır. Ergenekon ve ark. (205) hipoksik-iskemik ensefalopatili yenidoğanlarda BOS NO seviyesinin asfiksiyi izleyen 24-72 saatler arasında iskeminin şiddeti ile paralel olarak arttığını göstermişlerdir. Bu araştırmacılar ve Iedacola (206), NO'nin nörotoksik ve nöroprotektif etkisinin NO'nin kaynağına ve zamana bağlı olduğunu ve iskeminin erken dönemdeki nNOS ile geç dönemindeki iNOS kaynaklı NO'nin nörotoksik etkili olmasına rağmen erken dönemdeki eNOS kaynaklı NO'nin nöroprotektif etkili olduğunu belirtmişlerdir.

NO, O₂ ile yavaş bir reaksiyonla NO₂⁻ i, süperoksit anyonu ile hızlı bir reaksiyonla oldukça reaktif olan peroksinitriti (ONOO⁻) oluşturur (96). Peroksinitrit; lipidler, proteinler, enzimler ve DNA için oldukça toksiktir (54) ve nitrat, nitrit ve hidroksil radikali vererek yok olur. NO'nin nörotoksik etkisi peroksinitrit aracılığıyla (207). Peroksinitrit, glutamat ve aspartatı kapsayan pek çok nörotransmitterin ekstrasellüler konsantrasyonunu artırarak sitotoksik etki gösterir (208). iNOS aracılı NO nöronunda dejenerasyon ve hasara sebep olur (209).

NO, O₂ varlığında peroksinitrit (ONOO⁻) ürettiği için bir prooksidan olarak davranırken (210) lipid peroksil radikalının varlığında potent bir AO gibi davranır (211-213). NO, eşleşmemiş elektronundan dolayı diğer molekülleri indirgeme yeteneğine sahiptir. Antioksidan etkisi ise lipid peroksil radikalını inhibe etme yeteneği ile ilgilidir (212-215). NO'nun in vitro lipid radikallerini daha az reaktif olan nitrojen içeren ürünlere (LONO, LOONO) dönüştürerek inhibe ettiği ve böylece zincirleme radikal oluşumunu sonlandırdığı gösterilmiştir (212,216,217) Neonatal kardiyak miyosit kültüründe peroksidin indüklediği oksidatif stresin NO'nun alkoksil ve peroksil radikallerinin birikmesini engellediği görülmüştür (218). Ayrıca, rat beyin homojenatında, NO'nun MDA ve diğer lipid peroksidlerinin oluşumunu inhibe ettiği belirtilmiştir (219).

Tablo-8 ve şekil-17'de görüldüğü gibi çalışmamızda gruplara ait NO değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı derecede bir fark bulunamadı. Literatürde de bu konuda yapılmış herhangi bir çalışmaya da rastlayamadık. Dolayısıyla, bulgularımız tartışmaya açıktır. Ancak, çeşitli araştırmacıların farklı dokularda yaptıkları çalışmalarda diyet lipidleri ile NO arasında çelişkili sonuçlar elde edilmiştir.

Nitekim, hiperlipemiyenin peroksinitrit oluşumuna sebep olan ROS üretimini artırdığı kaydedilmiştir (220).

Hiperkolesterolemide; Lefter ve ark. (221) tavşan aortasında, Deliconstantinos ve ark. (222) ile Feron ve ark. (223) sığır aortik endotel hücre kültüründe, Giricz ve ark. (224) rat kalbinde ve Attia ve ark. (225) böbrekte NO salınımının azaldığını gözlemişlerdir. Giricz ve ark. (224) yüksek kolesterol diyetinin rat kalbinde NO'yu azalttığını göstermişlerdir ve hiperlipidemik miyokardiyumda artan ROS üretiminin NO azalmasından sorumlu olduğunu belirtmişlerdir.

Deneyel hipertrigliseridemi; Ferdinandy ve ark. (226) rat kardiyak NO seviyesinin oldukça azalmış olduğunu göstermişlerdir. Stones ve ark. (227) hiperkolesterolemide endotelde NO biyoyararlanımının azalmasını, NO sentezinin azalması veya NO'nun süperoksit ile inaktivasyonu yolu ile olabileceğini belirtmişlerdir. Onody ve ark. (228) da hiperkolesteroleminin rat kardiyak NO biyoyararlanımını azalttığını ve plazmada nitrotirozin ve ONOO⁻ oluşumunu artırdığını göstermişlerdir. Son yıllarda yüksek kolesterolü diyetin hem endotelial, hem de nonendotelial hücrelerde NO-cGMP sinyalini bozduğu belirtilmiştir (222-224).

Kim ve ark. (229) ise, yüksek yağlı diyetin ratlarda plazma kolesterolünü 6-7 kat ve NO'yu 5 kat artırdığını ve karaciğerde mRNA sentezini indüklediğini göstermişlerdir.

Chirison ve ark. (230), PUFA ve oleik asidin endotelde NO'ı artırdığını belirtmişlerdir.

Literatürde ω -3 yağ asitleri ile NO ve NOS düzeyleri arasındaki ilişkiyi gösteren bulgular da çelişkilidir (217). Khair-el-Din ve ark. (231) iNOS aktivitesinin DHA ile inhibe olduğunu göstermişlerdir. Benzer etki ω -3 PUFA'dan zengin diet verilmiş rat alveolar makrofajında da kaydedilmiştir (232). Bunların tersine izole aortta ω -3 PUFA ile inkübe edildiğinde NO'in arttığı gözlenmiştir (233). Yine ω -3 verilen rat makrofajında ω -6 alandan daha yüksek NO bulunmuştur (234). İntraamniotik etil-DHA verilen fetal rat beyninde NO kontrole göre yüksek bulunmuştur (217).

Görüldüğü gibi NO üzerine yağların etkileri ω -3 ve ω -6 PUFA içeriklerine ve hipetrigliseridemi ve hiperkolesterolemi yapma eğilimlerine bağlı olarak değişmektedir. Biz çalışmamızda, guplar arasında fark bulamamış olmamıza rağmen, ω -3 yağ asidinden zengin soya yağı ve oleik asitten zengin zeytin yağı grubunda NO değerlerinin yüksek, hiperkolesterolemik etkili tereyağı grubunda ise NO değerlerinin en düşük olması yukardaki araştırmaların sonuçlarına uymaktadır. MDA ve NO değerlerinin ise kendi içinde anlamsız olması NO-LPO etkileşimi ile uyumludur.

Sonuç olarak, diyet lipidlerinin NO metabolizması üzerindeki etkisi çelişkili olup, bu konuda daha fazla araştırma yapılması gerektiği kanaatindeyiz.

LİPİD BULGULARININ TARTIŞILMASI

Çalışmamızda zeytinyağı grubuna ait total kolesterol, TG ve fosfolipid düzeyleri diğer gruplarınkinden önemli oranda yüksek bulunmuştur. Nitekim, tablo-9 ve şekil-18'de görüldüğü gibi zeytin yağı grubunda beyin kolesterol düzeyi diğer tüm gruplarınkinden anlamlı derecede yüksektir ($p<0.001$). Diğer gruplara ait beyin kolesterol düzeyi ise büyükten küçüğe doğru sıralandığında ayçiçek yağı>soya yağı>margarin> tereyağı>kontrol şeklindedir.

Tablo-10 ve şekil-19'da görüldüğü gibi zeytin yağı grubunda beyin TG düzeyi margarin, tereyağı ve kontrol gruplarınkinden $p<0.001$ düzeyinde, ayçiçek yağı grubundan ise $p<0.001$ düzeyinde yüksek bulunmuştur. Diğer guruplarda bu parametre büyükten küçüğe doğru sıralandığında soya yağı>ayçiçek yağı> tereyağı>kontrol>margarin şeklindedir.

Yine, tablo-11 ve şekil-20'de görüldüğü gibi beyin fosfolipid düzeyi de aynı şekilde zeytin yağı grubunda diğer gruplarınkinden önemli derecede yüksektir. Diğer gruplardaki

değişim büyükten küçüğe doğru soya yağı>kontrol>margarin>ayçiçek yağı>tereyağı şeklinde.

Literatürde, bu konuda da çalışmamıza benzer herhangi bir çalışmaya rastlayamadık. Dolayısı ile, bulgularımızın nedenini izah edemedik. Ayrıca, beyinde lipid düzeyindeki artışın organizmanın lehine mi yoksa aleyhine mi olduğunu bilinmiyor. Fakat, beyin lipid bakımından zengin bir doku olduğuna göre diyetle lipid düzeyinin artmasının faydalı olabileceği söylenebilir. Bu açıdan bakıldığında zeytin yağının beyin sağlığı bakımından en faydalı yağ olduğu söylenebilir.

Esansiyel PUFA'lar beyine girebilmekle birlikte kolesterol ve esansiyel olmayan yağ asitleri (palmitik,oleik,stearik) beyin parankimine giremezler. 18-karbonlu monokarboksilik yağ asitleri ve 2-cis çift bağ içeren linoleik asit beyine girebilirken, tek-cis çift bağlı oleik asit beyine giremez (235).

İnsanda kolesterolün % 25'i beyinde ve çoğu da miyelindedir. Kolesterolün hemen hepsi beyinde lokal olarak sentezlenir. Kolesterol seviyesi ve turnoveri nörodejeneratif hastalıklarda etkilidir ve bu hastalıkların gelişmesinde önemlidir (236).

Değişik araştırmacıların yaptıkları farklı çalışmalarda konuya ışık tutabilecek çeşitli bulgular elde edilmiştir (137,138,140,167,237-243). Bunlardan; Zhang ve ark. (237) yüksek kolesterolle besledikleri domuzların karaciğer ve ekstra hepatik dokularında endojen kolesterol sentezinin inhibe olduğunu beyinde ise kolesterol sentezi ve kolesterol konsantrasyonunun yüksek kolesterol alımı ile değişmediğini göstermişlerdir.

Kalman ve ark (167) 10 hafta süre ile yüksek kolesterolü diyetle besledikleri tavşanların karaciğer ve plazma kolesterolünü kontrolden yüksek bulmuşlar fakat beyin kolesterol içeriğinin bundan etkilenmediğini gözlemişlerdir (kontrol 13.9 ve kolesterolü diyetle 15.5 mg/gr protein). Bu araştırmacılar, karaciğer gibi parankimal organlarda kolesterolün diyetle dikkate değer bir biçimde yükselmesine rağmen beyin kolesterol içeriğinin diyetteki değişikliklere rezistan kaldığını belirtmişlerdir. Bu bulgu Kalman ve ark.'nın önceki çalışmaları (238) ve Harris ve ark.'nın (239) çalışmaları ile uyumludur.

Tahin ve ark da (138) karaciğer, beyin ve kalp mitokondri ve mikrozomlarının yağ asidi içeriğinin diyetle değişiyor olmasına rağmen beynin bu organlar içinde bu değişime en rezistan organ olduğunu gözlemişlerdir.

Harris ve ark. (239) genetik olarak düşük ve yüksek kolesterol içeren domuzlara dört hafta süreyle düşük ve yüksek kolesterolü diyet verdiklerinde karaciğer dışındaki beyin dahil diğer dokuların kolesterol içeriğinin genetikten ve diyetten etkilenmediğini görmüşlerdir.

Yamamoto ve ark. (240) ω -3 ve ω -6 yağlarla besledikleri hipertansif ratlarda, beyin lipid içeriği ve fosfolipid kompozisyonunun iki grup arasında farklı olmadığını bulmuşlardır.

Sonuç olarak buraya kadar kaydedilen araştırmacıların bulguları beyin lipid içeriğinin diyetten etkilenmediğini göstermektedir. Bu çalışmalar bizim çalışmamızın aynısı olmamakla beraber kısmen benzerlik göstermekte fakat sonuçları bizim sonuçlarımıza uymamaktadır.

Öte yandan, Foot ve ark. (140) soya ve ayçiçek yağları da dahil çeşitli yağlarla besledikleri ratların beyinde mikrozomal ve sinaptozomal membranlarda fosfolipidler ve kolesterol seviyelerinin diyet ile değiştiğini gözlemişlerdir. Diyetin ω -3 ve ω -6 oranı ile MUFA miktarından membranların yağ asidi kompozisyonu değişmekle birlikte, fosfolipidlerin doymamışlık indeksi bütün diyetlerde sabit kalmıştır. Bu araştırmacılar, diyet yağlarının beyin mikrozomal ve sinaptozomal membranlarının özelliklerinde en önemli modülatör olduğu sonucuna varmışlardır.

Dell ve ark. (241) orta zincirli TG, tereyağı, keten tohumu yağı ve bu üç yağın eşit kombinasyonundan oluşmuş yüksek yağ ve düşük karbohidrat içeren ketojenik diyetle besledikleri ratlarda beyin total ve serbest yağ asidi profilinin, yağın çeşidine bağlı olmaksızın, her üç grupta aynı kaldığını, keten tohumu yağı verilen grupta beyin kolesterol düzeyinin değişmediğini, fakat diğer gruplarda arttığını göstermişlerdir.

Zerouga ve ark. (242) doymamışlık oranları farklı olan çeşitli yağlarla besledikleri ratlarda beyin sinaptik membranlarında yağ asidi bileşimi ve kolesterol içeriğinin etkilendiğini görmüşlerdir.

Navarro ve ark. (243) zeytinyağı ile besledikleri ratların beyin dahil diğer dokularında ayçiçek yağı ile besledikleri gruba göre oleik asit miktarını yüksek, linoleik asidi düşük bulmuşlardır. Ayrıca, zeytinyağı verilen grupta bütün dokularda ω -3 miktarının ayçiçek yağı verilen gruba göre önemli oranda arttığını dolayısı ile zeytinyağı ile doku ω -3 PUFA arasında pozitif korelasyon bulunduğunu göstermişlerdir.

Angulo-Guerrero ve ark (137). PUFA'dan eksik diyetle beslenen ratlarda beyin kolesterol ve fosfolipid oranını kontrol grubundan daha düşük bulmuşlar ve beyin fosfolipid yağ asidi içeriğinin diyetle önemli ölçüde değiştiği sonucuna varmışlardır.

Bu araştırmacıların çalışmaları bizim bulgularımızla uymaktadır.

Sonuç olarak, çalışmamızda elde ettiğimiz değişik yağların beyin lipidleri üzerine olan etkilerini izah edemedik. Konunun daha detaylı çalışmalarla araştırılması gerekmektedir.

6. ÖZET

Çalışmamızda toplum tarafından en çok tüketilen yağlar olan ayçiçek yağı, zeytin yağı, margarin, soya yağı ve tereyağının beyinde kolesterol, trigliserid (TG), fosfolipid, lipid peroksidasyonu, antioksidan aktivite (AOA) ve nitrik oksit (NO) düzeyleri üzerine olan etkilerini araştırmayı amaçladık. Bunun için, 72 adet dişi rat alındı ve her birinde 12 adet olmak üzere 6 gruba ayrıldı. Kontrol grubu standart laboratuvar yemi ile, diğer gruplar % 15 oranında yukarıda belirtilen yağları içeren yem ile 8 hafta süre ile beslendi. Bu süre sonunda fareler dekapite edilerek beyin örnekleri alındı. Beyin dokusu homojenize edilerek kolesterol, TG, fosfolipid, malondialdehid (MDA), AOA ve NO düzeyleri ölçüldü ve aşağıdaki bulgular elde edildi:

1- Grupların beyin MDA ve NO değerleri arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunamadı.

2- Gruplara ait en yüksek AOA değeri zeytinyağı grubunda en düşük değer soya yağı grubunda bulundu. Bu parametreye göre yağlar büyükten küçüğe doğru zeytin yağı > tereyağı > kontrol > margarin > ayçiçek yağı > soya yağı şeklinde sıralanmaktadır.

Gruplara ait AOA değerleri karşılaştırıldığında zeytin yağı grubunun değerleri kontrol ($p<0.05$), margarin ($p<0.001$), ayçiçek yağı ($p<0.001$) ve soya yağı ($p<0.001$) grubunun değerlerinden, tereyağı grubunun değeri ayçiçek yağı ($p<0.01$) ve soya yağı ($p<0.001$) grubunun değerlerinden ve kontrol grubunun değerleri ayçiçek yağı ($p<0.05$) ve soya yağı ($p<0.01$) grubunun değerlerinden önemli derecede yüksek bulundu.

3- Grupların beyin kolesterol değerleri büyükten küçüğe doğru zeytin yağı > ayçiçek yağı > soya yağı > margarin > tereyağı > kontrol şeklinde sıralanmaktadır.

Bu gruplardan, zeytin yağı grubunun değerleri diğer gruplardan ($p<0.001$), ayçiçek yağı grubunun değerleri soya yağı, margarin, tere yağı ve kontrol (soya yağı- $p<0.05$, diğerleri- $p<0.001$) grubunun değerlerinden ve soya yağı grubunun değerleri margarin ($p<0.005$), tereyağı ($p<0.005$) ve kontrol grubunun değerlerinden ($p<0.001$) önemli derecede yüksek bulundu.

4- Grupların beyin TG değerleri büyükten küçüğe doğru zeytin yağı > soya yağı > ayçiçek yağı > tereyağı > kontrol > margarin şeklinde sıralanmaktadır.

Grupların TG değerleri karşılaştırıldığında, zeytin yağı grubunun değerleri kontrol, margarin, ayçiçek yağı ve tereyağı gruplarının değerlerinden ($p<0.001$), soya yağı grubunun değerleri kontrol ve margarin gruplarının değerlerinden ($p<0.001$) ve ayçiçek yağı grubunun değerleri margarin grubundan ($p<0.05$) önemli derecede yüksek bulundu.

5- Grupların beyin fosfolipid değerleri büyükten küçükęe doğru zeytin yağı > soya yağı > kontrol > margarin > ayçiçek yağı > tereyağı şeklinde sıralanmaktadır.

Bu grupların fosfolipid değerleri karşılaştırıldığında zeytin yağı ve soya yağı gruplarının değerleri kontrol, margarin, ayçiçek yağı ve tereyağı gruplarının değerlerinden önemli derecede yüksek bulunurken ilk iki grubun fosfolipid değerleri arasındaki fark önemli değildir.

Gruplarımıza ait beyin lipid düzeyindeki değişiklikleri ve bu değişikliklerin organizma açısından etkilerini izah edemedik. Dolayısı ile, bu önemli bulgunun daha ileri araştırmalarla değerlendirilmesi gerektiği kanaatindeyiz.

Sonuç olarak, yağlar antioksidan özellikleri açısından değerlendirildiğinde sağlık açısından en faydalı yağın zeytinyağı olduğu ve bunu sırası ile tereyağı, margarin, ayçiçek yağı ve soya yağının takip ettiği söylenebilir.



7. SUMMARY

INVESTIGATION OF EFFECT OF DIET OILS ON LIPID PEROXIDATION, AOA, NO and LIPIDS LEVELS IN THE BRAIN

In this study, we investigated the effects of most commonly consumed oils namely sunflower oil, olive oil, margarine, soybean oil and butter on cholesterol, triglyceride (TG), phospholipid, lipid peroxidation, antioxidant activity (AOA), and nitric oxide (NO) levels in the brain. For this purpose, totally 72 Sprague-Dawley rats were divided into six groups each consisted of 12 rats. The control group was fed with standard laboratory chow and the other groups were fed with a diet containing 15 % sunflower oil, olive oil, margarine, soybean oil and butter for a period of 8 weeks. At the end of that period, the rats were decapitated and brain samples were excised and homogenized. Cholesterol, TG, phospholipid, malondialdehyde (MDA), AOA, NO and total protein levels were measured. The results were as follows:

1- No significant differences were found between MDA and NO levels of the groups.

2- The highest AOA level was found in the olive oil group and the lowest level in the sunflower oil group. This parameter of the groups was arranged from the highest to the lowest level as olive oil > butter > control > margarine > sunflower oil > soybean oil.

The AOA level of the olive oil group was significantly higher than that of the control ($p < 0.05$), margarine ($p < 0.001$), sunflower oil ($p < 0.001$) and soybean oil ($p < 0.001$) groups and AOA of the butter group was significantly higher than AOA of the sunflower oil ($p < 0.01$) and the soybean oil ($p < 0.001$) groups and AOA of the control group was significantly higher than AOA of the sunflower oil ($p < 0.05$) and the soybean oil ($p < 0.01$) groups.

3. Brain cholesterol levels of the groups were arranged from the highest to the lowest level as olive oil > sunflower oil > soybean oil > margarine > butter > control.

Brain cholesterol level of the olive oil group was significantly higher than the same parameter of all of the other groups ($p < 0.001$). Brain cholesterol level of the sunflower oil group was significantly higher than that of the soybean oil, margarine, butter and control groups ($p < 0.05$ for soybean oil and $p < 0.001$ for the other groups) and cholesterol level of the soybean oil group was significantly higher than that cholesterol level of the margarine ($p < 0.005$), the butter ($p < 0.005$) and the control group ($p < 0.001$).

4. Brain TG levels of the groups were arranged from the highest to the lowest level as olive oil > soybean oil > sunflower oil > butter > control > margarine.

Brain TG level of the olive oil group was significantly higher than the same parameter of control, margarine, sunflower oil and butter groups ($p < 0.001$). TG level of the soybean oil group was significantly higher than TG levels of the control and the margarine groups ($p < 0.001$) and brain TG level of the sunflower oil group was significantly higher than that of the TG level of the margarine group ($p < 0.05$).

5. Brain phospholipid levels of the groups were arranged from the highest to the lowest level as olive oil > soybean oil > control > margarine > sunflower oil > butter.

Brain phospholipid levels of the olive oil and the soybean oil groups were significantly higher than phospholipid levels of control, margarine, sunflower oil and butter groups while the difference between phospholipid levels of the olive oil and soybean oil groups was not significant.

We could not interpret brain lipid findings of the groups and the effects of these findings on organism. Therefore, we believe that, this significant finding must be evaluated in more detailed investigations.

As a result, it can be argued that olive oil is the best oil for health in respect to total antioxidant activity. Olive oil is followed by butter, margarine, sunflower oil and soybean oil respectively.

8. KAYNAKLAR

1. Koolman J, Röhm KH. Color Atlas of Biochemistry'nin çevirisi Nobel Tıp Kitabevleri (Renkli Biyokimya Atlası) 2002; 316.
2. Nelson DL, Cox MM. Lehninger Principles of Biochemistry. 3rd edition Worth Publishers New York 2000; 877.
3. Stryler R. Biochemistry fourth edition WH Freeman and Company New York 1999;770-771.
4. Voet D, Voet JG. Biochemistry 2nd edition John Wiley and Sons, inc New York 1995; 788-789.
5. Champe PC, Harvey RA. Lippincott's Illustrated Reviews Biochemistry 2nd edition JB Lippincott Company Philadelphia 1994;115, 288-289, 305.
6. Mayes PA. Lipids of physiologic significance. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Biochemistry 24 rd ed. London: Lange medical publication 1996;233-287.
7. Mathews CK, Van Holde KE. Lipid metabolism I: Fatty acids, triacylglycerol and lipoproteins. In "Biochemistry", 2, The Benjamin/Cummings Publishing Company Inc. California 1996;619-657.
8. Yenson M. Yağların fizyolojik önemi In "İnsan Biyokimyası" 6. baskı, Beta Basın Yayın Dağıtım A.Ş., İstanbul 1981;235-346,602.
9. Oliver MF. It is more important to increase the intake of unsaturated fats than to decrease the intake of saturated fats: evidence from clinical trials relating to ischemic heart disease. American Journal of Clinical Nutrition 1997;66:980-6.
10. Hegsted DM, Ausman LM, Johnson JA, Dalial GE. Dietary fat and serum lipids: an evaluation of the experimental data. Am J Clin Nutr 1993;58:245.
11. Clandinin MT, et al. Dietary fat:exogenous determination of membrane structure and function. The FASEB Journal 1991;5:2761-2761.
12. Judd JT, Clevidence BA, Muesing RA, Wittes J, Sunkin ME, Podeszasy JJ. Dietary trans fatty acids: effects on plasma lipids and lipoproteins of healthy men and women. Am J. Clin. Nutr 1994;29:1-8.
13. Lichtenstein AH. Dietary trans fatty acid. J Cardiopulm Rehabil 2000;20:143-146.
14. Nas S, Gökalp HY, Ünsal M. İnsan gıdası olarak yağ ve temel kimyasal bileşenleri In "Bitkisel Yağ Teknolojisi", Atatürk Üniversitesi Yayınları Erzurum, 1992;723:5-48.
15. Nardini M, Scacini C, D'Aquino M, Benedetti PC. Lipid peroxidation in liver microsomes of rats fed with soy bean, olive and coconut oil. J Nutr Biochem 1993;4:39-43.
16. Tekin A, Çizmeci M, Karabacak H, Kayahan M. Trans FA and solid fat contents of margarines marketed in Turkey. Journal of the American Oil Chemists' Society. 2002;79:443-445.
17. Jamieson D. Oxygen toxicity and reactive oxygen metabolites in mammals. Free Radical Biol Med 1989;7:87
18. Halliwell B, Gutteridge JMC. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. The Lancet 1984;23:1396-1397.
19. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Konya: Mimoza Yayıncılık 1995:5-11,46,49,51-70,102-104.
20. Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengesi etkileyen koşullar. Klinik Gelişim 1998;11:336-41.
21. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. Br Med Bull 1993;49(3):481-93.

22. Kehrer JP, Smith CV. Free radicals in biology: Sources reactivities and roles in the etiology of human diseases. *Natural Antioxidants in Human and Disease* 1994;25-62.
23. Del Maestro RF. An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol Scand* 1980;492:153-168.
24. Halliwell B. Oxidative stress , nutrition and health, Experimental strategies for optimisation of nutritional antioxidants intake in humans. *Free Radical Res* 1996;25:57-74.
25. Nakazawa H, Genka C, Fujishima M. Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *Japan J Physiol* 1996;46:15-32.
26. Halliwell B. The biological significance of oxygen-derived species. In Valentine JS, Foote CS, Greenber A, Liebman JF editors. *Active oxygen in biochemistry*. Blackie Academic and Profesional , London 1995;313-34.
27. Sies H. Oxidative stress: From basic research to clinical application. *Am J Med* 1991;91:301- 3.
28. Southorn PA. Free radical in medicine. 1. Clinical Nature and Biological Reactions. *Mayo Clin Proc* 1988;63:381-389.
29. Yiğit Ş, Yurdakök M. Yenidoğanlarda serbest radikallere bağlı hastalıklar. *Çocuk sağlığı ve hastalıkları dergisi* 1996, 39:746-765.
30. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, biochemistry, and role in human. *Am J Med* 1991;91:14-22.
31. McCord JM. Human disease , free radicals and oxidant balance. *Clin Biochem* 1984;26:351-357.
32. Ünal D. Serbest radikaller. *Sendrom* 1999; Mart:68-80.
33. Klebanof SJ. Oxygen metabolism and toxic properties of phagocytes. *Ann Int Med* 1980;93:480-489.
34. Halliwell B. Gutteridge JMC. Role of the free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overwiev. *Methods Enzymology* 1990;186:1-85.
35. Winrow VR, Winyard PG, Morris CJ, Blake DR. Free radicals in inflammation: second messengers and mediators of tissue destruction. *Br Med Bull* 1993;49:506-522.
36. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995,14/12:1819-28.
37. Gardner HW. Oxygen radical chemistry of polyunsaturated fatty acids. *Free Radical Biol Med* 7:65-86;1989.
38. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *The Lancet* 1994;344:721-724.
39. Alper G, Girgin FK, Özgönül M, Menten G, Ersöz B. MAO inhibitors and oxidant stressin aging brain tissue. *Eur Neuropsychopharmacol* 1999;9:247-252.
40. De La Cruz CP, Revilla E, Venero JL, Ayala A, Cano J, Machado. Oxidative inactivation of tyrosine hydroxylase in substantia nigra of aged rat. *Free Radical Biol Med* 1996;20:53-61.
41. Kawai M, Matsuura S, Asanuma M, Ogawa N. A fermented naturel food supresses lipid peroxidation in the senescent rat brain. *Neurochem Res* 1998;23:451-461.
42. Cini M, Moretti A. Studies on lipid peroxidation and protein oxidation in the aging rat brain. *Neurobiol Aging* 1995;16:53-57.
43. Leeuvenburg C, Hansen PA, Holloszy JO, Heinecke JW. Oxidized amino acids in the urine of aging rats: potential markers for assessing oxidative stress in vivo. *Am J Physiol* 1999;276:128-135.
44. Butterfield DA, Koppal T, Howard B, Subramaniam R, Hall N, Hensley K, Yatin S, Allen K, Akaenov M, Aksenova M, Carney J. Structural and functional changes in proteins

- induced by free radical-mediated oxidative stress and protective action of the antioxidants N-tert-butyl- α -phenylnitron and vitamin E. *Ann NY Acad Sci* 1998;854:448-462.
45. Liu J, Wang X, Shigenaga MK, Yeo HC, Mori A. Immobilization stress causes oxidative damage to lipid, protein, and DNA in the brain of the rats. *FASEB J* 1996;10:1532-1538.
 46. Sohal RS, Agarwal S, Sohal BH. Oxidative stress and aging in the Mongolian Gerbil. *Ageing Dev* 1995;81:15-25.
 47. Reznick AZ, Packer L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol* 1994;233:357-363.
 48. Şimşek F. Serbest oksijen radikalleri, antioksidanlar ve lipid peroksidasyonu. *T Klin Pediatri* 1999;8:42-47.
 49. Freeman BA, Crapo DJ. Free radicals and tissue injury. *Lb Invest* 1982;47:412-26.
 50. Esterbauer H, Wang G, Puhl H. Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis. *Br Med Bull* 1994; 49:566-576.
 51. Witztum JL, Steinberg D. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest* 1991;88:160-2.
 52. Kugiyama K, Sugiyama S, Soejima H, Kawano H, Sakamoto T, Takazoe K, Ogawa H, Doi H, Yasue H. Increase in plasma levels of oxidized low-density lipoproteins in patients with coronary spastic angina. *Atherosclerosis* 2001;154:463-67.
 53. Valenzuela A. The biological significance of malondialdehyde determination in the assessment of tissue oxidative stress. *Life Scien* 1990;48:301-309.
 54. Çakatay U, Telci A, Kayalı R, Tekeli F, Akçay T, Sivas A. Relation of oxidative protein damage and nitrotyrosine levels in the aging rat brain. *Experimental Gerontology* 36:221-9;2001.
 55. Dubey A, Forster MJ, Lal H, Sohal RS. Effect of age and caloric intake on protein oxidation in different brain regions and behavioral functions of the Mouse. *Arch Biochem Biophys* 1996;333:189-197.
 56. Ames BN. Endogenous oxidative DNA damage, aging and cancer. *Free Rad Res Commun* 1989;7:121-8.
 57. Pasifici RE, Davies KJ. Protein, lipid and DNA repair systems in oxidative stress: the free-radical theory of aging revisited. *Gerontology* 1991;37:166-80.
 58. Farinati F, Cardin R, Degan P, Rugge M, et al. Oxidative DNA damage accumulation in gastric carcinogenesis. *Gut* 1998;42:351-8.
 59. Yokuş B, Çakır DÜ. İnvivo oksidatif DNA hasarı biyomarkeri; 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine. *T Klin Tıp Bilimleri* 2002;22:535-543.
 60. Fraga C, Shigenaga MK, Park JW, Degan P, Ames BN. Oxidative damage to DNA during aging. 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:4533-37.
 61. Dandona P, Thusu K, Cook S, Snyder B, et al. Oxidative damage to DNA in diabetes mellitus. *Lancet* 1996;347:444-5.
 62. Dizdaroğlu M, Karakaya AE. Advances in DNA damage and repair. *Int J Rad Biol* 1987;51:573-89.
 63. Lunec J, Blake D. Oxygen free radicals: Their relevance to disease processes. In: Cohen RD, Lewis B, Albert KGMM. *The metabolic and molecular basis of acquired disease*. Balliere Tindall, London 1990;189-212.
 64. Marak GE, Kozak Y, Faure JP. Free radicals and antioxidants in the pathogenesis of eye diseases. In: *Antioxidants in therapy and preventive medicine*, Edited by I Emeri et al. Plenum Press, New York 1990:513-7.
 65. Deguine V, Labat-Robert J, Ferrari P, Poliquen Y, Menasche M, Robert L. Aging of the vitreous body. Role of glycation and free radicals *Pathol-Biol-Paris* 1997;45:321-30.

66. Halliwell B. Drug antioxidant effects: A basis for drug selection? *Drugs* 1991;42:569-605.
67. Halliwell B. Current Status Review: Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br J Exp Path*, 1989;70:737-57
68. Harman D. Role of antioxidant nutrients in aging: Overview. *Age*,1995;18:51-62
69. Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications. *Diabetes* 1999;48:1-9.
70. Sun AY, Chen YM. Oxidative stress and neurodegenerative disorders. *J Biomed Sci* 1998;5:401.
71. Arrastia RD, Baskin F. New biochemical markers in Alzheimer disease. *Archives of Neurology* 2001;58:354-6.
72. Faber JL et al. Biology of disease: Mechanisms of cell injury by activated oxygen species. *Lab Invest* 1990;62:670.
73. Flohe L, Otting F. Superoxide dismutase assays. *Methods Enzymology* 1984;105:93-104.
74. Hiramatsu K, Arimori S. Increased superoxide production by mononuclear cells of patients with hypertriglyceridemia and diabetes. *Diabetes* 1988;37:832-7.
75. Pronai L, Ichikawa Y, Nakazawa H, Arimori S. Enhanced superoxide generation and the decreased superoxide scavenging activity of peripheral blood leukocytes in Behçet's disease effect of colchicine. *Clin Exp Rheum* 1991;9:227-233.
76. Rister M, Bauermeister K, Gravert U, Glatke E. Superoxide dismutase deficiency in rheumatoid arthritis. *The Lancet* 1978;20:1094.
77. Yalçın AS. Antioksidanlar. *Klinik Gelişim* 1998;11:342-46.
78. Spallholz JE. Selenium and glutathione peroxidase: Essential nutrient and antioxidant component of immune system. *Adv Exp Med Biol* 1990;262:145-158.
79. Forslid J, Björkstén B, Hagersten K, Hed J. Erythrocyte-mediated scavenging of reactive oxygen metabolites generated by human polymorphonuclear leukocytes during phagocytosis. *Inflammation* 1989;13:543-551.
80. Erenel G, Erbaş D, Arıcıoğlu A. Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi Tıp Dergisi* 1992;3:243-250.
81. Sies H, Stahl W, Sundquist AR. Antioxidant functions of vitamins. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids. *Ann N Y Acad Sci* 1992;669:7-20.
82. Bunout D, Garrido A, Suazo M, Kauffman R, Venegas P, Maza P, Peterman M, Hirsch S. Effects of supplementation with folic acid and antioxidant vitamins on homocysteine levels and LDL oxidation in coronary patients. *Nutrition* 2000; 16:107-110.
83. Packer L. Protective role of vitamin E in biological system. *Am Clin Nutr* 1991;53:1050-55.
84. Bast A, Haenen GR, Van den Berg H. Antioxidant effect of carotenoids. *Int Vitam Nutr Res* 1998;68:399-403.
85. Bendich A. Carotenoids and immune response. *J Nutr* 1989;119:112-115.
86. Moncada S, Palmer RJM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43:373-376.
87. Bred DS, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic Messenger molecule. *Ann Rev Biochem* 1994;63:175-95.
88. Cooke JP, Tsao PS. Cytoprotective effects of nitric oxide. *Circulation* 1993;88:2451-4.
89. Bergmann L, Kröncke K-D, Suschek C, Kolb H, Kolb-Bachofen V. Cytotoxic action of IL-1 β against pancreatic islets is mediated via nitric oxide formation and is inhibited by N-monomethyl-L-arginine. *FEBS Lett* 1992;299:103-6.
90. Marletta MA. Nitric oxide synthase: aspects, concerning structure and catalysis. *Cell* 1994;78:927-30.

91. Forstermann U, Closs EI, Pollock JS, Nakane M, Schwarz P, Gath I, Kleinert H. Nitric oxide synthase isozymes: Characterization, purification, molecular cloning and function. *Hypertension* 1994;23:121-131.
92. Anggard E. Nitric oxide Mediator, murder, and medicine. *Lancet* 1994;343:1199 -1206.
93. Darley-USmar V, Halliwell B. Blood radicals-Reactive nitrogen species, reactive oxygen species, transition metal ions, and the vascular system. *Pharmacol Res* 1996; 13:649-662.
94. Kerwin JF Jr, Lancaster JR Jr, Feldman PL. Nitric oxide: a new paradigm for second messengers. *J Med Chem* 1995;38:4343-62.
95. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am J Physiol* 1996;271:1424-37.
96. Syapin PJ. Alcohol and nitric oxide production by cells of the brain. *Alcohol* 1998;16:159-165.
97. Murad F. Cyclic guanosine monophosphate as a mediator of vasodilation. *J Clin Invest* 1986;78:1-5.
98. Stuehr DJ, Griffith OW. Mammalian Nitric oxide synthases. In: Meister A. ed. *Advances in enzymology and related areas of molecular biology*, vol. 65. New York: John Wiley&Sons 1992;287-346.
99. Bruhwiler J, Chleide E, Liegeois JF, Carreer F. Nitric oxide: A new messenger in brain. *Neurosci. Biobehav. Rev* 1993;17:373-384.
100. Gartwaite J, Boulton CL. Nitric oxide signal ling in the central nervous system. *Annu Rev Physiol* 1995;57:683-706.
101. Snyder SH. Nitric oxide: first in a new class of neurotransmitters? *Science* 1992; 257:494-6.
102. Lancaster FE. Alcohol and brain: what's NO got to do with it? *Metab Brain Dis* 1995;10:125-33.
103. Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals (Review). *Biochem J* 1994;298:249-58.
104. Ignarro LJ, Buga GM, Woods KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing faktör produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad* 1987;84:9265-69.
105. Cohen RA, Weisbrod RM, Gericke M, Yaghoubi M, Bierl C, Bolotina VM. Mechanism of nitric oxide-induced vasodilation. *Circ Res* 1999;84:210-219.
106. Bult H, Herman AG, Matthys KE. Antiatherosclerotic activity of drugs in relation to nitric oxide function. *Eur J Pharmacol* 1999;375:157-176.
107. Ozaki M, Kawashima S, Yamashita T, Hirase T, Namiki M, Inoue N, Hirata K, Yasui H, Sakurai H, Yoshida Y, Masada M, Yokoyama M. Overexpression of endothelial nitric oxide synthase accelerates atherosclerotic lesion formation in apoE-deficient mice. *J Clin Invest* 2002;110:331-40.
108. Nathan C, Inducible nitric oxide synthase. What difference does it make. *J Clin Invest* 1997;100:2417-2423.
109. Minc-Golomb D, Tsarfaty I, Schwartz JP. Expression of inducible nitric oxide synthase by neurones following exposure to endotoxin and cytokines. *Br J Pharmacol* 1994;112:720-22.
110. Saxon DW, Beitz AJ. An experimental model for the non-invasive trans-synaptic induction of nitric oxide synthase in purkinje cells of the rat cerebellum. *Neuroscience* 1996;72:157-165.
111. Galea E, Feinstein DL, Reis DJ. Induction of calcium-independent nitric oxide synthase activity in primary rat glial cultures. *Proc Natl Acad Sci* 1992;89:10945-49.
112. Minc-Golomb D, Schwartz JP. Expression of both constitutive and inducible nitric oxide synthases in neuronal and astrocyte cultures. *Ann NY Acad Sci* 1994;738:462-467.

113. Murphy S, Simmons ML, Agullo L, Garacia A, Feinstein DL, Galea E, Reis DJ, Minc-Golomb D, Schwartz JP. Synthesis of nitric oxide in CNS glial cells. *Trends Neurosci* 1993;16:323-8.
114. Nomura Y, Kitamura Y. Inducible nitric oxide synthase in glial cells. *Neurosci Res* 1993;18:103-7.
115. Murphy S, Grybicki D. Glial NO: Normal and pathologic roles. *Neuroscientist* 1996;2:90-99.
116. Feinstein DL, Galea E, Robert S, Berquist H, Wang H, Reis DJ. Induction of nitric oxide synthases in rat C6 glioma cells. *J Neurochem* 1994;62:315-321.
117. Mehmetoğlu İ. Klinik Biyokimya Laboratuvarı el kitabı. Konya: Yelken Basım Yayın 2004;139.
118. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods in Enzymology* 1990;186:421-30.
119. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite and (¹⁵N)nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 1982;126:131-8.
120. Miller N, Rice-Evans C. Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS⁺ radical cation assay. *Free Rad Res* 1997;26:195-9.
121. Kleemola P, Freese R, Jauhiainen M, Pahlman R, Alfthan G, Mutanen M. Dietary determinants of serum paraoxonase activity in healthy humans. *Atherosclerosis* 2002;160:425- 32.
122. Lands WEM, Morris A, Libelt B. Quantitative effects of dietary polyunsaturated fats on the composition of fatty acids in rat tissues. *Lipids* 1990;25:505-12.
123. Calder PC, Costa Rosa LFBP, Curi R. Effects of feeding lipids of different fatty acid compositions upon rat lymphocytes proliferation. *Life Sci* 1995;56:455-63.
124. De Souza JAA, De Oliveria HR, Miyasaka CK, GacekF, Torres RP, Mancini Filho J, Curi R. Changes in the activities of antioxidant enzymes of the lymphoid organs of 21-day pregnant rats due to administration of fish oil by gavage. *Gen Pharmacol* 1997;29:551-555.
125. Fernstrom J. Can nutrient supplements modify brain function? *American Journal of Clinical Nutrition* 2000;71:1669-73.
126. Neuringer M, Anderson GJ, Connor WE. The essentiality of n-3 fatty acids the development and function of the retina and brain. *Annual Rev Nutr* 1988;8:517-41.
127. Bourre JM, Bonneil M, Clement M, Dumont O, Durand G, Lafont H, Nalboune G, Piciotti M. Function of dietary polyunsaturated fatty acids in the nervous system. *Prostaglandins Leukot. Essent Fatty Acids* 1993;48:5-15.
128. Greenwood CE, McGee CD, Dyer JR. Influence of dietary fat on brain membrane phospholipid fatty acids composition and neuronal function in mature rats. *Nutrition* 1989;5:278-281.
129. Wainwright PE. Do essential fatty acids play a role in brain and behavioral development? *Neurosci. Biobehav. Rev* 1992;16:193-205.
130. Yehuda S, Rabinovitz S, Mostofsky DI. Essential fatty acids are mediators of brain biochemistry and cognitive functions. *J Neurosci Res* 1999;56:565-70.
131. Salvati S, Attorri L, Avellino C, Di Biase A, Sanchez M. Diet, lipids and brain development. *Dev Neurosci* 2000;22:481-487.
132. Haag M, Essential fatty acids and the brain. *Can J Psychiatry* 2003;48:195-203.
133. Jumpsen J, Clandinin MT. Brain development: Relationship to dietary lipid and lipid metabolism. Champaign 1995; IL:AOCs Pres.
134. Wainwright PE. Dietary essential fatty acids and brain function: a developmental perspective on mechanism. *Proceedings of the Nutrition Society* 61:61-61,2002.

135. Jump DB, Clarke SD. Regulation of gene expression by dietary fat. *Annual Review of Nutrition* 1999;19:63-90.
136. Kaplan RJ, Greenwood CE. Dietary saturated fatty acids and brain function. *Neurochemical Research* 1998;23:615-626.
137. Angulo-Guerrero O, Oliart RR. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on rat brain plasma membrane fatty acid composition. *Arch Latinoam Nutr* 1998;48:287-92.
138. Tahin QS, Blum M, Carafoli E. The fatty acids composition of subcellular membranes of rat liver, heart, and brain: diet-induced modifications. *Eur J Biochem* 1981;121:5-13.
139. Fisher M, Levine PH, Weiner BH, Johnson MH, Doyle EM, Ellis PA, Hoogasian JJ. Dietary n-3 fatty acid supplementation reduces superoxide production and chemiluminescence in a monocyte-enriched preparation of leukocytes. *Am J Clin Nutr* 1990;51:804-8.
140. Foot M, Cruz TF, Clandinin MT. Influence of dietary fat on lipid composition of rat brain synaptosomal and microsomal membranes. *Biochem J* 208:631-40,1982.
141. Connor WE. Importance of n-3 fatty acids health and disease. *American Journal of Clinical Nutrition* 2000;71:171-175.
142. Leaf A, Weber PC. A new era for science in nutrition. *American Journal of Clinical Nutrition* 1987;45:1048-53.
143. Kinsella JE, Broughton KS, Whelan JW. Dietary unsaturated fatty acids: interactions and possible needs in relation to eicosanoid synthesis. *Journal of Nutritional Biochemistry* 1990;1:123-141.
144. Watson BD. Evaluation of the concomitance of lipid peroxidation in experimental models of cerebral ischemia and stroke. *Prog Brain Res* 1993;96:69-96.
145. Coyle JT, Puttfarcken P. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science* 1993;262:689-95.
146. Halliwell B. Reactive oxygen species and central nervous system. *J Neurochem.* 1992;59:1609-23.
147. Sakamoto A, Ohnishi ST, Ohnishi T, Ogawa R. Relationship between free radical production and lipid peroxidation during ischemia-reperfusion injury in the rat brain. *Brain Res* 1991;554:186-192.
148. Nakashima M, Niva M, Iwai T, Uematsu T. Involvement of free radicals in cerebral vascular perfusion injury evaluated in a transient focal cerebral ischemia model of rat. *Free Radic Biol Med* 1999;6:722-729.
149. Sinclair AJ. Long-chain polyunsaturated fatty acids in the mammalian brain. *Proc Nutr Soc* 1975;34:287-91.
150. Makrides M, Gibson RA, Simmer K. The effect of dietary fat on the developing brain. *J Paediatr. Child Health* 1993;29:409-410.
151. Porter NA. Chemistry of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1984;105:273-282.
152. Wagner BA, Buettner GR, Burns CP. Free-radical mediated lipid peroxidation in cells: oxidizability is a function of cell lipid bis-allylic hydrogen content. *Biochemistry* 1994;33:4449-53.
153. Roehm JN, Hadley JG, Manzel DB. Oxidation of unsaturated fatty acids by oxone and nitrogen dioxide. *Arch Envir Health* 1971;23:142-48.
154. Alexander-North LS, North JA, Kiminyo KO, Buettner GR, Spector AA. Polyunsaturated fatty acids increase lipid radical formation induced by oxidant stress in endothelial cells. *J Lipid Res* 1994;35:1773-85.
155. Calviello G, Palozza P, Fransceschelli P, Bartoli GM. Low-dose eicosapentaenoic or docosahexaenoic acid administration modifies fatty acid composition and does not affect susceptibility to oxidative stress in rat erythrocyte and tissues. *Lipids* 1997;32:1075-83.

156. L'Abbe MR, Trick KD, Beare-Rogers JL. Dietary (n-3) fatty acids affect rat heart, liver and aorta protective enzyme activities and lipid peroxidation. *J Nutr* 1991;121:1331-40.
157. Turpeinen A, Basu S, Mutanen M. A high linoleic acid diet increases oxidative stress in vivo and affects nitric oxide metabolism in humans. *Prostag Leukot Ess Fatty Acids* 1998;59:229-33.
158. Nalbone G, Leonardi J, Temrine E, Portugal H, Lechene P, Paoli AM, Lafont H. Effects of fish oil, corn oil and lard diets on lipid peroxidations status and glutathione peroxidase activities in rat heart. *Lipids* 1989;24:179-186.
159. Berry EM, Eisenberg S, Haratz D, Friedlander Y, Norman Y, Kaufmann NA, Stein Y. Effects of diets rich in monounsaturated fatty acids on plasma lipoproteins-the Jerusalem Nutrition Study: High MUFAs vs high PUFAs. *Am J Clin Nutr* 1991;53:899-907.
160. Bonanome A, Pagnan A, Biffanti S, Opportuno A, Sorgato F, Dorella M, Maiorino M, Ursini F. Effects of dietary monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on the susceptibility of plasma low density lipoprotein to oxidative modification. *Arterioscler Thromb* 1992;12:529-533.
161. Reaven P, Parthasarathy S, Grasse BJ, Miller E, Almazan F, Mattson FH, Khoo JC, Steinberg D, Witztum JL. Feasibility of using an oleate-rich diet to reduce the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative modification in humans. *Am J Clin Nutr* 1991;54:701-706.
162. Abbey M, Belling GB, Noakes M, Hirata F, Netsel PJ. Oxidation of low-density lipoproteins: Intraindividual variability and the effect of dietary linoleate supplementation. *Am J Clin Nutr* 1993;57:391-8.
163. Parthasarathy S, Khoo JC, Miller E, Barnett J, Witztum JL, Steinberg D. Low density lipoprotein rich in oleic acid is protected against oxidative modification: Implications for dietary prevention of atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:3894-8.
164. Liao F, Berliner JA, Mehrabian M, Navab M, Demer L, Fogelman AM. Minimally modified low density lipoprotein is biologically active in vivo in mice. *J Clin Invest* 1991;87:2253-7.
165. Tremoli E, Maderna P, Sirtori M, Sirtori C. Platelet aggregation and malondialdehyde formation in type II A hypercholesterolemic patients. *Haemostasis* 1979;8:47-52.
166. Aydemir EO, Duman C, Çelik HA, Turgan N, Uysal A, Mutaf I, Habif S, Özmen D, Nişli N, Bayındır O. Effects of defibrotide on aorta and brain malondialdehyde and antioxidants in cholesterol-induced atherosclerotic rabbits. *Int J Clin Lab* 2000;30:101-107.
167. Kalman J, Kudchodkar BJ, Krishnamoorthy R, Dory L, Lacko AG, Agarwal N. High cholesterol diet down regulates the activity of activator protein-1 but not nuclear factor-kappa B in rabbit brain. *Life Sciences* 2001;68:1495-1503.
168. Mooradian AD, Lung CC, Pinnas JL. Cholesterol enriched diet enhances malondialdehyde modification of proteins in cerebral microvessels of rabbits. *Neurosci Lett* 1995;185:211-3.
169. Danam RP, Lu MH, Lewis SM, Djuric Z, Tang N, Hart RW. The effect of dietary fat on malondialdehyde concentrations in Fischer 344 rats. *Mech Ageing Dev* 1999;110:87-99.
170. Preira B, Costa Rosa LFBP, Safi DA, Guimaraes ARP, Bechara EJ, Curi R. Antioxidant enzyme activities in the lymphoid organs and muscles of rats fed fatty acid-rich diets subjected to prolonged physical exercise-training. *Physiol Behav* 1994;6:1049-55.
171. Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutr* 1996;16:33-50.

172. Ames BM. Dietary carcinogens and anticarcinogens: oxygen radicals and degenerative diseases. *Science* 1983;221:1256-63.
173. Steinberg D. Antioxidants and atherosclerosis: a current assessment. *Circulation* 1991;84:1420-25.
174. Rastogi T, Rastogi T, Reddy KS, Vaz M, et al. Diet and risk of ischemic heart disease in India. *Am J Clin Nutr* 2004;79:582-92.
175. Yuan YV, Kitts DD, Godin DV. Variations in dietary fat and cholesterol intakes modify antioxidant status of SHR and WKY rats. *The Journal of Nutrition* 1998;128:1620-30.
176. Sanchez-Moreno C, Dorfman SE, Lichtenstein AH, Martin A. Dietary fat type affects vitamins C and E biomarkers of oxidative status in peripheral and brain tissues of golden Syrian hamsters. *J Nutr* 2004;134:655-60.
177. Flavahan NA. Atherosclerosis or lipoprotein-induced endothelial dysfunction. *Circulation* 1992;85:1927.
178. Zhang H, Schmeisser A, Garlichs CD, Plotze K, Damme U, Mugge A, Daniel WG. Angiotensin II-induced superoxide anion generation in human vascular endothelial cells: role of membrane bound NADH-/NADPH-oxidases. *Cardiovasc Res* 1999;44:215-222.
179. Remacle J, Lambert D, Raes M, Pigeolet E, Michiels C, Toussaint O. Importance of various antioxidant enzymes for cell stability: confrontation between theoretical and experimental data. *Biochem J* 1992;286:41-46.
180. Javauhey-Donzel A, Guenot L, Maupoil V, Rochette L, Rocquelin G. Rat vitamin E status and heart lipid peroxidation: effect of dietary α -linolenic acid and marine n-3 fatty acids. *Lipids* 1993;28:651-5.
181. Singh R, Pathak DN. Lipid peroxidation and glutathione peroxidase, glutathione reductase, superoxide dismutase, catalase, and glucose-6-phosphate dehydrogenase activities in FeCl₃-induced epileptogenic foci in the rat brain. *Epilepsia* 1990;31:15-26 .
182. Chevion S, Berry EM, Kitrossky N, Kohen R. Evolution of plasma low molecular weight antioxidant capacity by cyclic voltammetry. *Free Radic Biol Med* 1997;22:411-421.
183. Mori A, Liu J, Wang X, Kawai M. Free radical scavenging by brain homojenat: implication to free radical damage and antioxidant defense in brain. *Neurochem Int* 1994;24:201-207.
184. Shohami E, Beit-Yannai E, Horowitz M, Kohen R. Oxidative stress in closed-head injury: brain antioxidant capacity as an indicator of functional outcome. *J Cereb Blood Flow Metab* 1997;17:1007-1019.
185. De La Cruz JP, Quintero L, Villalobos MA, De La Cuesta FS. Lipid peroxidation and glutathione system in hyperlipemic rabbits: influence of olive oil administration. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Molecular and Cell Biology of Lipids* 2000;1485:36-44.
186. Gordon MH, Kourimska L. The effects of antioxidants on changes in oils during heating and deep frying. *J Sci Food Agric* 1995;68:347-53.
187. Masella R, Giovannini C, Vari R, Di Benedetto R, Coni E, Volpe R, Fraone N, Bucci A. Effects of dietary virgin olive oil phenols on low density lipoprotein oxidation in hyperlipidemic patients. *Lipids* 2001;36:1195-202.
188. Tuck KL, Hayball PJ. Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. *J Nutr Biochem* 2002;13:636-44.
189. Bors W, Michel C, Heller W, Saran M. Flavonoids and Antioxidants: Determination of radical-scavenging efficiencies. *Methods Enzymol* 1990;186:343-355.
190. Rice-Evans C, Miller NJ, Paganga G. Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med* 1996;20:933-956.

191. Visioli F, Bellomo G, Galli C. Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols. *Biochem Biophys* 1998;247:60-64.
192. Petroni A, Blasevich M, Salami M, Papini N, Montedoro GF, Gali C. Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil. *Thromb Res* 1995;78:151-160.
193. De La Puerta R, Ruiz Gutierrez V, Hoult JR. Inhibition of leukocyte 5-lipoxygenase by phenolics from virgin olive oil. *Biochem Pharmacol* 1999;57:445-9.
194. Ochoa-Herrera JJ, Huertas JR, Quiles JL, Mataix J. Dietary oils high in oleic acid, but with different non-glyceride contents, have different non-glyceride contents, have different effects on lipid profiles and peroxidation in rabbit hepatic mitochondria. *J Nutr Biochem* 2001;12:357-64.
195. Reaven P, Parthasarthy B, Grasse B, Miller E, Steinberg D, Witztum JL. Effects of oleate-rich and linoleate-rich diets on the susceptibility of low density lipoprotein to oxidative modification in mildly hypercholesterolemic subject. *J Clin Invest* 1993;91:668-76.
196. Sola R, La Ville AE, Richard JL, Motta C, Bargallo MT, Girona J, Masana L, Jacotto B. Oleic acid rich diet protects against the oxidative modification of high density lipoprotein. *Free Radical Biology and medicine* 1997;22:137-45.
197. Huertas JR, Battino M, Lenaz G, Mataix J. Changes in mitochondrial and microsomal rat liver Coenzyme Q9 and Q10 content induced by dietary fat and endogenous lipid peroxidation. *FEBS Lett* 1999;287:89-92.
198. Koop R, Elmadfa I. Significance nonsaponifiable constituents of dietary fats on the bioactivity of vitamin E. *Z Ernährungswiss* 1983;22:271-86.
199. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: A physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994;120:227-237.
200. Miyawaki T, Sohma O, Mizuguchi M, Takashima S. Development of endothelial endothelial nitric oxide synthase in endothelial cells in the human cerebrum. *Dev Brain Res* 1995;89:161-166.
201. Barna M, Komatsu T, Reiss CS. Activation of type III nitric oxide synthase in astrocytes following a neurotropic viral infection. *Virology* 223:331-343, 1996.
202. Nanetti L, Vignini A, Moroni C, Pessina GP, Mazzanti L. LDL and HDL affect nitric oxide metabolism in human astrocytoma cells. *Brain Research* 2004,1020:173-7.
203. Dalkara T, Moskowitz AM. Neurotoxic and neuroprotective roles of nitric oxide in cerebral ischemia. *Neuroprotective agents and cerebral ischemia*, New York, Academic press 1997;319-336.
204. Keelan J, Brand MP, Bates TE, Land JM, Clark JB, Heales SJ. Nitric oxide and antioxidant status in glucose and oxygen deprived neonatal and adult rat brain synaptosomes. *Neurochem Res* 1996;21:923-7.
205. Ergenekon E, Gücüyener K, Erbaş D, Ezgü FH, Atalay Y. Cerebrospinal fluid and serum NO levels in asphyxiated newborns. *Biol Neonate* 1999;76:202-206.
206. Iadecola C. Bright and dark sides of nitric oxide in ischemic brain injury. *Trends Neurosci* 1997;20:132-9.
207. Dawson VL, Dawson TM. Nitric oxide neurotoxicity. *J Chem Neuroanat* 1996;10:179-90.
208. Calabrese V, Caponi A, Testa D, Lavagna A, Spadaio F, Tendi E, Nicoletti VG, Giuffrida Stella AM. Nitric oxide synthase induction in astroglial cell cultures: effect on heat shock protein 70 synthesis and oxidant/antioxidant balance. *J Neurosci Res* 2000;60:613-22.

209. Milatovic D, Zaja-Milatovic S, Montine KS, Horner PJ, Montine TJ. Pharmacologic suppression of neuronal oxidative damage and dendritic degeneration following direct activation of glial innate immunity in mouse cerebrum. *J Neurochem* 2003;87:1518-26.
210. Rubbo H, Radi R, Anselmi D, Kirk M, Barnes S, Butler J, Eiserich JP, Freeman BA. Nitric oxide reaction with lipid peroxy radicals spares α -tocopherol during lipid peroxidation. *J Biol Chem* 2000;275:10812-18.
211. Malo-Ranta U, Yla-Herttuala S, Metsa-Ketela T, Jaakkola O, Moilanen E, Vuorinen P, Nikkari T. Nitric oxide donor GEA 3162 inhibits endothelial cell-mediated oxidation of low density lipoprotein. *FEBS Lett* 1994; 337:179-83. 214.
212. Rubbo H, Radi R, Trujillo M, Telleri R, Kalyanaraman B, Barnes S, Kirk M, Freeman BA. Nitric oxide regulation of superoxide and peroxynitrite-dependent lipid peroxidation. Formation of novel nitrogen-containing oxidized lipid derivatives. *J Biol Chem*. 1994;269:26066-75.
213. Hogg N, Kalyanaraman B, Joseph J, Struck A, Parthasarathy S. Inhibition of low-density lipoprotein oxidation by nitric oxide. Potential role in atherogenesis. *FEBS Lett* 1993;334:170-4.
214. Kotamrajut S, Hogg N, Joseph J, Keefer LK. Inhibition of oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis in endothelial cells by nitric oxide. *The Journal of Biological Chemistry* 2001;276:17316-23.
215. Violi F, Marino R, Milite MT, Loffredo L. Nitric oxide and its role in lipid peroxidation. *Diabetes Metab Res Rev* 1999;15:283-8.
216. Rubbo H. Nitric oxide and peroxynitrite in lipid peroxidation. *Medicina (B Aires)* 1998;58:361-6.
217. Green P, Gluzman S, Yavin E. Ethyl docosahexaenoate-associated decrease in fetal brain lipid peroxide production is mediated by activation of prostanoid and nitric oxide pathways. *Molecular and Cell Biology of Lipids* 2001;1531:156-64.
218. Gorbunov NV, Tyurina YY, Salama G, Day BW, Claycamp HG, Argyros G, Elsayed NM, Kagan VE. Nitric oxide protects cardiomyocytes against tert-butyl hydroperoxide-induced formation of alkoxyl and peroxy radicals and peroxidant of phosphatidylserine. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;244:647-51.
219. d'Ischia M, Palumbo A, Buzzo F. Interactions of nitric oxide with lipid peroxidation products under aerobic conditions: inhibitory effects on formation of malondialdehyde and related thiobarbituric acid-reactive substances. *Nitric Oxide Biol Chem* 2000; 4:4-14.
220. Szilvassy Z, Csont T, Pali T, Droy-Lefaix MT, Ferdinandy P. Nitric oxide, peroxynitrite and cGMP in atherosclerosis-induced hypertension in rabbits: beneficial effects of cicletanine. *J Vasc Res* 2001;38:39-46.
221. Lefer AM, Ma XL. Decreased basal nitric oxide release in hypercholesterolemia increases neutrophil adherence to rabbit coronary artery endothelium. *Arterioscler Thromb* 1993;13:771-776.
222. Deliconstantinos G, Villiotou V, Stavrides JC. Modulation of particulate nitric oxide synthase activity and peroxynitrite synthesis in cholesterol enriched endothelial cell membranes. *Biochem Pharmacol* 1995;49:1589-1600.
223. Feron O, Dessy C, Moniotte S, Desager JP, Belligand JL. Hypercholesterolemia decreases nitric oxide production by promoting the interaction of caveolin and endothelial nitric oxide synthase. *J Clin Invest* 1999;103:897-905.
224. Giricz Z, Csonka C, Onody A, Csont T, Ferdinandy P. Role of cholesterol-enriched diet and the mevalonate pathway in cardiac nitric oxide synthesis. *Basic Res Cardiol* 2003;98:304-10.

225. Attia DM, Ni ZN, Boer P, Attia MA, Goldschmeding R, Koomans HA, Vaziri ND, Joles JA. Proteinuria is preceded by decreased nitric oxide synthesis and prevented by a NO donor in cholesterol-fed rats. *Kidney Int* 2002;61:1776-87.
226. Ferdinandy P, Szilvassy Z, Horvath LI, Csont T, Csonka C, Nagy E, Szentgyogyi R, Nagy I, Koltai M, Dux L. Loss of pacing-induced preconditioning in rat hearts: role of nitric oxide and cholesterol-enriched diet. *J Mol Cell Cardiol* 1997;29:3321-33.
227. Stones KY, Cooper D, Tailor A, Granger DN. Hypercholesterolemia promotes inflammation and microvascular dysfunction: role of nitric oxide and superoxide. *Free Radic Biol Med* 2002;33:1026-36.
228. Onody A, Csonka C, Giricz Z, Ferdinandy P. Role of cholesterol-enriched diet and the mevalonate pathway in cardiac nitric oxide synthesis. *Basic Res Cardiol* 2003;98:304-10.
229. Kim JW, Kang KW, Oh GT, Song J, Kim ND, Pak YK. Induction of hepatic inducible nitric oxide synthase by cholesterol in vivo and in vitro. *Exp Mol Med* 2002;34:137-44.
230. Christon RA. Mechanisms of action of dietary fatty acids in regulating the activation of vascular endothelial cells during atherogenesis. *Nutr Rev* 2003;61:272-9.
231. Khair-el-Din T, Sicher SC, Vasquez MA, Chung GW, Stallworth KA, Kitamura K, Miller RT, Lu CY. Transcription of the murine iNOS gene is inhibited by docosahexaenoic acid, a major constituent of fetal and neonatal sera as well as fish oils. *J Exp Med* 1996;83:1241-46.
232. Sasaki T, Kanke Y, Kudoh K, Nagahashi M, Toyokawa M, Matsuda M, Shimizu J, Takita T. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acid and status of immunocompetent cells involved in innate immunity in female rats. *Ann Nutr Metab* 2000;44:38-42.
233. Lawson DL, Mehta JL, Saldeen K, Mehta P, Saldeen TG. Omega-3 polyunsaturated fatty acids augment endothelium-dependent vasorelaxation by enhanced release of EDRF and vasodilator prostaglandins. *Eicosanoids* 1991;4:217-223.
234. Chaet MS, Garcia VF, Arya G, Ziegler MM. Dietary fish oil changes macrophage production of nitric oxide. *J Surg Res* 1994;57:65-68.
235. Edmond J. Essential polyunsaturated fatty acids and the barrier to the brain: the components of a model for transport. *J Mol Neurosci* 2001;16:181-93.
236. Bjorkhem I, Meaney S. Brain cholesterol: long secret life behind a barrier. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:806-15.
237. Zhang S, Wong WW, Hachey DL, Pond WG, Klein PD. Dietary cholesterol inhibits whole-body but not cerebrum cholesterol synthesis in young pigs. *J Nutr* 1994;124:717-25.
238. Kalman J, Gecse A, Farkas T, Joo F, Telegdy G, Lajtha A. Dietary manipulation with high marine fish oil intake of fatty acid composition and arachidonic acid metabolism in rat cerebral microvessels. *Neurochem Res* 1992;17:167-72.
239. Harris KB, Cross HR, Pond WG, Mersmann HJ. Effect of dietary fat and cholesterol level on tissue cholesterol concentrations of growing pigs selected for high or low serum cholesterol. *J Anim Sci* 1993;71:807-10.
240. Yamamoto N, Saitoh M, Moriuchi A, Nomura M, Okuyama H. Effect of dietary alpha-linolenate/linoleate balance on brain lipid compositions and learning ability of rats. *J Lipid Res* 1987;28:144-51.
241. Deli CA, Likhodii SS, Musa K, Ryan MA, Burnham WM, Cunnane SC. Lipid and fatty acid profiles in rats consuming different high-fat ketogenic diets. *Lipids* 2001;36:373-8.

242. Zerouga M, Beauge F, Niel E, Durand G, Bourre JM. Interactive effects of dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids and chronic ethanol intoxication on synaptic membrane lipid composition and fluidity in rats. *Biochim Biophys Acta* 1991;1086:295-304.
243. Navarro MD, Periago JL, Pita ML, Hortelano P. The n-3 polyunsaturated fatty acid levels in rat tissue lipids increase in response to dietary olive oil relative to sunflower oil. *Lipids* 1994;29:845-9.



TEŞEKKÜR

“Diyet yağlarının beyinde lipid peroksidasyonu, AOA, NO ve lipidler üzerine olan etkilerinin araştırılması” konulu tez çalışmam süresince desteklerini esirgemeyen başta Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı ve tez danışmanım Prof. Dr. İdris MEHMETOĞLU olmak üzere diğer Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerine teşekkür ederim.

