

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
BIYOKİMYA ANABİLİM DALI

+

SOYA FASULYESİ VE KAZEİN'İN  
TAVŞAN SERUM LİPİD DÜZEYLERİNE  
ETKİLERİ

7159/4-1

UZMANLIK TEZİ  
Dr.Abdulbaki ŞAHİN

ANTALYA-1987

## İÇİNDEKİLER

GİRİŞ .....	01-02
GENEL BİLGİLER .....	03-21
ARAÇ, GEREÇ VE YÖNTEMLER .....	22-40
BULGULAR .....	41-69
TARTIŞMA .....	70-90
ÖZET .....	91-96
KAYNAKLAR .....	97-104

## GİRİŞ

Aterosklerotik iskemik kardiyopati günümüzde en yaygın ölüm nedenlerindedir. Batı ülkelerinde bu durum daha da yaygındır. Hiperkolesterolemi koroner arter hastalıklarının en önemli risk faktörlerinden biridir (26, 28, 43).

Framingham'ın çalışmalarına göre, serum kolesterol düzeyi kardiovasküler hastalıklar ve ölüm riskinin en iyi göstergelerinden biridir (43). Bununla beraber her zaman sebep-sonuç ilişkileri aynı olmayabilir (28).

Kan kolesterol düzeylerini düşürmek için bir çok ilaçlar vardır. Ancak bunlar safra taşı oluşumuna neden olabilir ve yan etkileri vardır. Bu nedenle tedavide ilk yaklaşım diyet olmalıdır. Diyetin yağ ve kolesterol içeriği ile doymuş ve doymamış yağların

oranı serum kolesterolü üzerine önemli ölçüde etki yapar. Etkileyen diğer diyetel faktörler karbonhidratın tipi ve bitkisel lif içeriğidir.

Yüzyılın başlangıcından beri hayvansal proteinlerin bitkisel proteinlerden daha aterojenik olduğu ileri sürülmektedir (43).

Vejetaryanların ve düşük protein diyeti alan ülke toplumlarının, düşük plazma kolesterol düzeylerine sahip oldukları ve düşük ateroskleroz prevalansı gösterdikleri bilinmektedir (43).

Hayvansal proteinlerin bitkisel proteinlerle yer değiştirmesinin plazma kolesterol ve diğer lipid parametrelerini hem hayvan hem de insanlarda azalttığını ileri süren bazı çalışmalar yapılmıştır (43, 51, 59).

Son yıllarda Sirtori ve arkadaşları soya proteininin hiperlipoproteinemi'nin tedavisinde faydalı olduğunu göstermişlerdir (43, 51).

Soya fasulyesinin kan lipid düzeyleri üzerine etkisini belirlemek üzere bu çalışmayı gerçekleştirdik. İnsan diyetindeki hayvansal proteinlerin soya fasulyesi proteini gibi bitkisel proteinlerle tamamen değiştirilmesi çok zorlayıcı olabilir. Ayrıca süreklilik gerektirmektedir. Normal diyetel alışkanlıklara dönüşmesi kan lipid düzeylerinde tekrar artışa yol açmaktadır. İnsanlarda sadece soya fasulyesi ile beslenme güç olacağından, çalışmayı deney hayvanlarında gerçekleştirmeyi uygun bulduk. Ayrıca soya fasulyesi bütün olarak tüketildiğinden çalışmamızda soya fasulyesi proteinini izole etmeden tam soya fasulyesi kullandık. Bulgularımızı hayvansal protein kaynağı olarak kullandığımız kazein diyetinden elde ettiğimiz bulgularla karşılaştırdık.

## GENEL BİLGİLER

### A- SOYA FASULYESİ

Soya fasulyesi çağımızda büyük yeri ve önemi olan bir tarım ürünüdür. Birçok yeni endüstri dalları doğuşunu ve yayılığını bu bitkiye borçludur. Kendisinden elde edilen ürünler çok çeşitli gıda maddelerinin, yemlerinin ve endüstri ürünlerinin üretiminde kullanılmış ve işlenmiştir (17). Soya fasulyesi diğer tahılların besin değerlerini tamamlar ve artırır.

Soyanın amino asit yapısı çok iyi dengelenmiştir ve diğer tahıl proteinlerine göre eksojen amino asid yönünden daha zengin-dir (17,40). Tablo I'de tam yağlı soya fasulyesi amino asit yüzdeleri verilmiştir.

Tablo : I

<u>Amino asit</u>	<u>%</u>	<u>Amino asit</u>	<u>%</u>
Total protein	36,10	Fenilalanin	2,70
Arginin	2,80	Treonin	2,00
Lizin	2,40	Valin	2,70
Metionin	0,51	Tirozin	2,00
Metionin+Sistin	1,15	Glisin	2,30
Triptofan	0,55	Histidin	1,20
Lösin	3,80	İzolösin	2,60

Yem olarak hayvansal besin kaynağı olmasının yanı sıra, soya proteini biyolojik değerinin yüksekliği nedeniyle salam, sosis, hamburger gibi pek çok gıda maddesine karıştırılırsa halkın protein ihtiyacı daha ucuz bir şekilde karşılanabilir (17). Bunun dışında makarna, ekmekek gibi unlu gıda maddelerine tam yağlı soya unu katılması bunların besin değerinin artmasını sağlar. Toplu tüketim yerlerinde soya ürünlerinin yaygın olarak kullanılması halkın alışmasını sağlayabilir (17).

Yetişkin kişilerde, iyi işlenmiş soya konsantresinin uzun süreli azotun ve esansiyel amino asitlerin tek kaynağı olarak görev yapabileceği kanıtlanmıştır (40). Yetişkin ve çocuklarda büyüme ve kısa süreli metabolik azot dengesini yöntemleri ile çeşitli soya fasulyesi ürünlerinin protein kalitesi tayin edilmiştir. Soya ürünlerinin besinsel değerinin yüksek kaliteli hayvansal protein kaynaklarına eşdeğer olduğu saptanmıştır (40). Günde 0,8 gr/kg. soya proteini tek diyetel protein kaynağı olarak sağlıklı

genç yetişkinlerde uzun süreli protein dengesini sağlayabilir.

Yine hem hayvan hem de insanlarda yapılan çalışmalarda, soya fasulyesi proteininin yumurta proteini, balık, süt, sığır eti gibi hayvansal protein kaynaklarına eşdeğerde olduğu kanıtlanmıştır (40,41). Bu konuda yapılan bir çalışmada, soya protein izolatının besin değerinin inek sütünün % 86-117'sine eşdeğer olduğu gösterilmiştir (41,52). Yine soya konsantresinin besinsel değeri ile yumurta proteininin besinsel değeri üzerinde yapılan çalışmada belirgin bir farklılık bulunmamıştır ( $P > 0,05$ ), (41).

Soya konsantresi proteininin sindirilebilirliği yüksek olup, yaklaşık % 91-93'tür (17,41). Vücut azot dengesini sabit tutmak için gerekli ortalama azot alınımı, 95 mg N/kg. gündür (41).

Tüm yağlı tohum proteinlerinde bulunan doğal toksinler (Tripsin inhibitörleri, hemagglutinimler, Saponinler v.s.) uygun işlenen soya küspesinde bulunmazlar (12,17). Ayrıca mantar ve bakteriel bulaşmalar yoktur (17). Yağ oranının diğer yağlı tohumlardan düşük oluşu, veriminin fazla oluşu bitkinin önemini daha da arttırmaktadır. Ayrıca dekar başına 11 kg. hava azotunu toprağa bağlayarak toprak verimini arttırmaktadır (17).

Hayvanlarla yapılan çalışmalarda, soya fasulyesi proteinlerinin kükürt içeren amino asitler bakımından sınırlayıcı olduğu görülmüştür (40) ve bu nedenle soya fasulyesi ile hazırlanan diyetlere metionin eklenmesiyle besinsel değerinin arttığı saptanmıştır (19,

40 ). Ayrıca hayvansal çalışmalarda bazı soya fasulyesi ürünlerinin, eser elementlerin özellikle çinkonun emiliminde ters etkili olduğu görülmüştür. Ancak bu durum insanlar için söz konusu değildir. Bitkisel proteinlerde hem olmayan demirin hayvansal gl-

dalara göre daha düşük olduğu bilinmektedir (40). Et proteini, diyetle hem olmayan demirin emilimini arttırır. Soya proteini ile et proteininin yer değiştirmesi demir yetmezliği olan vakalara tavsiye edilmez.

#### B- SOYANIN LİPİD METABOLİZMASINA ETKİSİ

Araştırmalarda, hayvansal proteinlerin bitkisel proteinlere göre daha aterojenik olduğu ileri sürülmektedir (43,51). Soya fasulyesi proteininin kan lipid düzeylerini düşürmesinin nedenleri henüz kesinleşmemiştir. Araştırmacılar bir proteinin aterojenik olmasının onun lizin içeriğine bağlı olduğunu ileri sürmektedirler (49,51). Soya fasulyesi proteinin lizin/arginin oranının düşük olması nedeniyle bu etkiyi sağladığı öne sürülmüştür (43). Soya fasulyesi proteini diyeti uygulanarak hiperkolesterolemik vakaların tedavisi ile ilgili çalışmalar yapılmıştır (43, 51, 59). Bu konuda Grundy ve arkadaşları, hipertrigliseridemik vakalarda yaptığı çalışmada soya proteini diyetinin trigliseridi düşürdüğü ve bu düşüşün daha çok VLDL-Kolesterol fraksiyonunda görüldüğünü bildirmişlerdir (51). Yine Pesciatini ve arkadaşları, Tıp II a ve Tıp II b dislipidemili vakalarda yaptıkları çalışmada, altı haftalık bir soya diyeti periyodundan sonra bütün vakaların serum total kolesterol ve trigliserid düzeylerinde düşüş görmüşlerdir. Fakat HDL-Kolesterol düzeylerinde önemli bir değişiklik saptayamamışlardır.

Sirtori ve arkadaşları, 20 Tıp II hiperkolesterolemik hastayı üç gün süre ile soya proteini ile besledikten sonra yaptıkları ölçümlerde total kolesterolün % 31 azaldığını bildirmişlerdir (51). Benzer çalışmalar deney hayvanlarında (tavşan, domuz, sıçan)



yapılmış, soya fasulyesi proteininin kolesterol düşürücü olduğu rapor edilmiştir (46,51).

Bitkisel proteinlerin (soya proteini, pamuk tohumu proteini v.s.) safra taşı oluşumunu önlediği saptanmıştır (33, 46).

Hayvanlarda deneysel olarak kolesterol ve kazein ile oluşturulan hiperkolesteroleminin soya proteini ile yer değiştirildiğinde bu etkinin ortadan kalktığı gözlenmiştir (3, 7).

### C- KAZEİN

Birbiriyle ilgili bir fosfoproteinler karışımıdır. Süt, peynir ve baklagillerde bulunur (62). İnek sütünde % 3 kadar bulunur. Süt proteinlerinin en besleyicilerinden biri olup, yapısında bol miktarda esansiyel amino asitler olmak üzere tüm amino asitleri içerir. Plazma amino asitlerinden meme dokusunda üretilir (62). Kolostrum; % 31 kazein % 6 albumin, % 55 Globulin, % 8 protein olmayan azottur. Normal süt ; % 71 kazein, % 8 albumin, % 18 globulin, % 3 protein olmayan azottur (37).

Kazein, sütün kreması alındıktan sonra yağsız sütün asidifiye edilmesi ile çöktürülür. Peynir imalatında kazein, sütün fermentasyonu ile oluşan laktik asit tarafından çöktürülür (62). Plastik imalatında kullanılan kazeinin çöktürülmesi için peynir mayası tercih edilir. Bu çöktürme işlemlerinin dışında elektrik ile de çöktürme tarif edilmiştir.

Kazein, pH 7'de elektroforezle alfa, beta, gamma ve K-Kazein olarak ayrılabilir (62). İnek sütü kazeininin amino asit yapısı bilinmektedir. Yaklaşık molekül ağırlığı 23,600 dalton, amino asit sayısı 209'dur.

Kokusuz, tatsız beyaz amorf toz veya granül halinde bulunur. Suda ve nonpolar organik çözücülerde çok az çözünür (62). Suda az, alkali çözeltilerde kolay çözünür. Polarize ışığı sola çevirir. İzoelektrik noktası 4,7'dir. Konsantre HCl'de çözeltisi mor renk verir. Amfoterdir, hem asidlerle hem de bazlarla tuz oluşturur. İnek sütünde doğal olarak kalsiyum kazeinat, insan sütünde potasyum kazeinat şeklinde bulunur. Metalik tuzlarla doyurulmuş çözeltilerden çöktürülebilir. Formaldehidle çözünmeyen katı plastikler oluşturur (62).

Kullanılması : Plastik sanayinde, yapıştırıcı, boya, tekstil yardımcı maddeleri, kağıt kaplama ve sentetik elyaf imalatında kullanılır. Vitaminden arındırılmış kazein hayvanlarda vitamin tayini deneylerinde kullanılır. Tıbbi özel diyetlerin hazırlanmasında ve sindirim enzimlerinin etkilerinin ölçülmesinde çeşitli kalitede tıbbi kazeinler kullanılır (62).

#### D- KAZEİN LİPID VE LİPOPROTEİN METABOLİZMASINA ETKİSİ :

Hayvansal protein kaynağı olarak kazeinle hazırlanan diyetler hem insan hem de hayvanlarda yapılan deneysel çalışmalarda, kazeinin hiperkolesterolemik etkili olduğunu göstermiştir (3, 6, 7, 10, 33, 50, 61).

Yapılan bazı çalışmalarda kazeinin safra taşı oluşumuna neden olduğu rapor edilmiştir (6, 33).

Diyete kalsiyum ilavesiyle kazeine ait spesifik etkilerin inhibe edildiği, hem serum hem de intestinal kolesterol ve diğer lipid parametrelerinin azaldığı görülmüştür (41). Yine tavşanlarda kazeinle yapılan bir çalışmada, diyete % 0,4 saf formaldehid

eklenmesinin serum kolesterolünde anlamlı bir artışa yol açtığı izlenmiştir (61). Bu çalışmalarda kontrol grubu olarak soya izolesi ve formaldehid ilave edilmemiş kazein kullanılmıştır (61).

#### E- ATEROSKLEROZUN OLUŞ MEKANİZMASI VE TANIMLAR :

Başta Birleşik Amerika ve Batı Avrupa'da olmak üzere kardio vasküler hastalıklar ölümlerin ana sebebi olmaya devam etmektedir. Miyokard ve serebral enfarktüsün başlıca sebebi olan ateroskleroz, bu ölümlerin çoğunda sorumlusudur (46).

Ateroskleroza yakalanma şansını arttıran alışkanlıklar, adet ve anomalilere risk faktörü denir (1). Kalıtım, cinsiyet, yaş değiştirilemeyen risk faktörleridir (1, 56). Hiperlipidemi, sigara içme, hipertansiyon, fiziksel aktivite azlığı, şımanlık, diabetes mellitus diyet değiştirilebilen risk faktörleridir (1).

Aterosklerozun oluş mekanizması ile ilgili birçok hipotez ortaya atılmıştır. Günümüzde lezyona karşı cevap hipotezi halen önemini korumaktadır (1, 29, 46, 56).

Araştırmacılar, ateroskletorik süreç esnasında lipid peroksidlerinin düzeylerinde yükselmeler bulmuşlardır. Bu peroksidler hücre zarında bulunan poliansature yağ asidlerini serbest radikal  $O_2^-$  ve  $OH^-$  etkisi ile peroksidlere yükseltirler. Bu radikaller, sitotoksik ve genotoksiktir. Hücre membranının protein ve fosfolipid yapısını bozarak permabilitiyi değiştirirler. Bu radikallerin aterosklerozdaki etki mekanizması damar duvarındaki prostasiklin ( $PGF_2$ ) ve kan trombositlerindeki tromboksan ( $TxA_2$ ) düzeyleri arasındaki dengenin bulunması ile aydınlatılmıştır (29).

Asıl olay yaralanma bölgesinde endotel geçirgenliğinin

artışı lipoprotein ve trombositlerin kollajene yapışmasına, trombositlerin kümelenmesine ve granüller içindeki serotonin, ADP ve mitojen bir büyüme faktörünün salgılamasıdır (1). Trombositler ve plazma elemanlarının meydana getirdiği bu oluşum düz kasların mediadan intimaya doğru ilerlemesine ve proliferasyonuna yol açar(56). Daha sonra bu oluşumun üzerinde büyük miktarda bağ dokusu matriksi meydana gelir. Lipid toplanması başlar (56). Bu mekanizma ile temel lezyon olan, ateroma veya fibropati oluşur. Bu lezyonlar başlıca proteinlerle kompleks yapmış, kolesterol ve kolesterol esterlerini içeren bir lipid tabakası ve bunu kaplayan fibröz bir kapsülden ibarettir (2). Ateromadaki lipidlerin % 34'ü serbest kolesterol olmak üzere % 80'i kolesteroldür. Aterom plağındaki kolesterol esterlerinin, fosfolipidlerin, kollajen ve elastin tabakalarının metabolizması hızlıdır. Ancak kolesterol monohidrat kristallerinin metabolizması yavaş olur. Ateroskleroza bu tabakanın neden olduğu sanılmaktadır.

Genellikle çocuklardaki sklerozun erken lezyonu düz kasın lipidce zengin oluşu ve makrofaj içermesidir. Bazı araştırmacılar kromer arterlerde yağ birikiminin daha ileri lezyonlardan önce bölgede toplandığını ileri sürmüşlerdir (46).

#### F- LİPİD, LİPOPROTEİN METABOLİZMASI VE ATEROSKLEROZLA İLİŞKİLERİ :

##### 1) Lipidlerin sınıflandırılması :

Plazma lipidlerinin uygun lipid solventleri ile ekstraksiyonu sonucu değişik sınıflara ayrıldığı görülmüştür (38). Bunların başlıcaları; trigliseridler, fosfolipidler, kolesterol ve serbest

yağ asidleridir. Serbest yağ asidleri total yağ asidlerinin % 5 inden daha azını oluşturlar. Metabolik olarak plazmanın en aktif lipidleridir ( 34, 38 ). Sistemik dolaşım sulu bir ortam olduğundan suda erimeyen lipidlerin bu ortamda transportu mümkün değildir. Bu güçlüğü üstesinden gelmek için bir grup lipid taşıyıcı makromoleküller geliştirilmiştir, bunlar plazma lipoproteinleridir ( 38 ).

2) Lipoproteinlerin yapısı : Bu kompleks, protein ve lipid topluluğudur. Miceller bir yapıya sahip olan bu makromoleküllerin yapısının hidrofobik çekirdeğini nonpolar lipidler oluştururken, bunlar trigliserid ve ester kolesteroldür ( 34, 38, 39 ). Bu çekirdek anfipatik lipidler ve proteinlerle çevrilidir. Nonpolar lipidlerin etrafı bir fosfolipid tabakası, serbest kolesterol ve bir veya daha fazla apolipoprotein ile çevrilmiştir ( 34, 36, 38, 39 ). Bu hidrofilik protein ve lipid komponentleri nonpolar lipidlerin sulu ortamda taşınabilmelerine hizmet ederler ( 34, 38, 48 ).

3) Lipoproteinlerin sınıflandırılması : Lipoproteinlerde, lipidin proteine oranı artarsa dansitesi azalır, protein içerikleri artar, lipid içerikleri düşerse dansiteleri yükselir ( 34, 38 ).

Lipoproteinler ultrasantrifügasyonla ve elektroforezle aşağıdaki ana gruplara ayrılırlar ( 38 ).

A- Dansitelerine göre ayırım :

- 1) Şilomikronlar
- 2) Çok düşük yoğunluklu lipoproteinler (Very low density lipoproteins - VLDL)
- 3) Düşük yoğunluklu lipoproteinler (Low density lipoproteins - LDL)

4) Ara dansiteli lipoproteinler (Intermediate density lipoproteins = IDL)

5) Yüksek yoğunluklu lipoproteinler (High density lipoproteins = HDL)

6) Albumin-Serbest yağ asidi kompleksi

B- Elektroforetik ayırım ( 38 ).

I. Bant : Orijinde kalır (şilomikron içerir.)

II. Bant : Beta (LDL içerir.)

III. Bant : Prebeta (VLDL içerir.)

IV. Bant : Alfa globulinlerle hareket eder (HDL içerir.)

IDL Beta lipoproteinlerle hareket eder. Şilomikron kalıntısı (Remnant) beta ve prebetabantlarının arasında yer alır (38).

4- Apoproteinler : Lipoproteinlerin protein kısmına apoprotein denir. İnsan plazmasında A, B, C, D ve E apoproteinleri bulunur (38,39 ). Bu apoproteinler ayrıca alt gruplara ayrılırlar. ApoA'nın iki alt ünitesi vardır. ApoA<sub>I</sub> şilomikron, HDL ve intestinal VLDL'nin yapısına girer. Lesitin-Kolesterol Açıl Transferaz (LCAT) enzimini aktive eder. ApoA<sub>II</sub>, HDL'nin yapısına girer ve lipidlere bağlanır. ApoB, şilomikron, LDL, VLDL, IDL ve şilomikron remnantların yapısına girer. Apo C; ApoC<sub>I</sub>, ApoC<sub>II</sub>, ApoC<sub>III</sub> olmak üzere üç alt üniteye ayrılır. ApoC<sub>I</sub>, VLDL, HDL, şilomikron yapısına girer. LCAT'nin muhtemelen aktivatörüdür. ApoC<sub>II</sub>, şilomikron, VLDL ve HDL'nin yapılarına girer. Ekstrahepatik lipoprotein lipazın aktivasyonunu sağlar. ApoC<sub>III</sub>, VLDL, HDL, şilomikron yapısına girer. ApoD , HDL'nin yapısına girer. Görevi kesinlikle bilinmemekle bera-

Kolesterol Ester Transferaz enzimini aktive ettiği ileri sürülmektedir ( 34,38 ). ApoE, arginine zengin bir apoproteindir. VLDL, şilomikron ve şilomikron remnant yapılarına girer. ApoE<sub>I</sub>, E<sub>II</sub>, E<sub>III</sub> olmak üzere üç alt üniteye ayrılır. Hücrelerin ve lipoproteinlerin birbirini tanımasını sağlar ( 34,38 ). ApoB'nin yaklaşık % 5 mannoz, galaktoz, fukoz, glikoz, glukozamin ve şialik asit gibi karbonhidratlardan oluşur. O halde bazı lipoproteinler aynı zamanda glikoproteindirler. ApoA, ApoB ve ApoC en fazla barsak ve karaciğerde sentezlenir. C apoproteinleri VLDL şilomikronlar ile HDL arasında kolaylıkla transfer olabilir. ApoD'nin sentez yeri belli değildir. ApoE yalnız karaciğerde sentezlenir ( 38, 48 ).

#### 5- Lipoprotein Metabolizması :

a) Şilomikronlar : Şilomikronlar ince barsak mukoza -sında sentezlenirler. En önemli görevleri eksojen trigliseridlerin taşınmasıdır ( 34,38,39 ). En düşük dansiteli lipoproteinlerdir. Kuru ağırlıklarının yaklaşık % 98'i lipiddir. Apoproteinlerin % 66'sı apoC, % 22'si apoB, % 12'si apoA'dır ( 34,38 ). Şilomikron yapısında çok az miktarda da apoE bulunur. ApoC HDL'den transfer olur. Molekül ağırlıkları  $1 \times 10^9$  dur. Işığı kırarlar, yüksek konsantrasyonlarda oldukları zaman plazmaya süt görünümü verirler. Lenfatik sisteme sekrete edilerek Ductus Thoracicus yolu ile plazmaya girerler. Şilomikronla taşınan diğer lipidler kolesteroldür. Kolesterol şilomikronların yapısına girmeden bir kısmı ester kolesterole çevrilir.

Şilomikron trigliseridlerinin dolaşımdaki yarı ömürleri bir saatten kısadır. Şilomikron lipidlerinin % 80'ni adipoz doku kalp ve kasta, yaklaşık % 20'si ise karaciğerde bulunur ( 34,38 ).

Şilomikronlar plazmada daha yüksek dansiteye sahip küçük

partiküllere ayrılırlar. Bu partiküllere şilomikron remnant denilir. Parçalanma olayını lipoprotein lipaz enzimi katalize eder (34, 38). Bu enzimin kaynağı kapiller endoteli ve ekstrahepatik dokulardır. Şilomikron remnant; fosfolipid, kolesterol, kolesterol esteri, ApoE ve az miktarda trigliserid içerir. Bunların dansiteleri VLDL'den düşüktür. Plazmada şilomikron remnantların konsantrasyonunun yükselmesi arteriyel intima tabakasında hasara yol açarak ateroskleroz gelişimini başlatabilir (38).

Şilomikronlar ve şilomikron remnantlar kapiller lipoprotein lipaz tarafından hidrolize uğrarlar. Serbestleşen yağ asitleri adipoz ve kas dokuları tarafından alınır. Arta kalan partikülün kolesterol esterleri ve apoE içeriği yüksektir. Bu partikül karaciğer tarafından tutulur (34, 38).

b) VLDL Metabolizması : VLDL'nin % 90'ını lipidler oluşturur. Bunun % 50-65'i trigliseridlerdir. Başlıca karaciğerde sentezlenirler (34, 38 ). Endojen trigliseridlerin en önemli taşıyıcı araçlarıdır. Trigliseridleri karaciğerden ekstrahepatik dokulara özellikle adipoz dokuya taşırlar (34, 38, 39 ). Apoproteinlerin % 20-30'unu apoB oluşturur, daha sonra HDL'den apoC ve apoE kendisine transfer olur. ApoA'da içerir. VLDL, KC ve barsakta şilomikronlara benzer şekilde sentezlenir. ApoB pürtüklü endoplazmik retikulumun ribozomları tarafından sentezlenir ve düz endoplazmik retikulumunda lipoproteinlerin yapılarına girer. Şilomikron ve VLDL intestinal ve hepatik hücrelerden sekretuar vakuolun hücre membranı ile kaynaşmasıyla salgılanırlar (ters pinositoz). Şilomikronlar intestinal hücre arası boşluklara geçer ve barsağa drene eden lenfatik sisteme (lakteallere) geçerler. VLDL, hepatik parankim hücreleri tarafından



disse boşluğuna ve sonra hepatik sinüzoidlere salgılanır (38). Bu iki işlem şilomikron ve VLDL arasındaki salgı benzerliğini gösterir. VLDL'nin katabolizması sonucu LDL'nin olduğu insanlarda ve deney hayvanlarında gösterilmiştir (34, 38).

c) LDL Metabolizması : LDL'nin çoğunun, VLDL'den ve muhtemelen şilomikronlardan oluşmasına karşın, karaciğer tarafından da direkt olarak ve bağımsız üretimine ait deliller vardır. LDL'nin ana apoproteini apoB'dir (% 98). Lipid olarak en yüksek oranda kolesterol içerir. Bu kolesterolün % 75'i ester kolesterol şeklindedir.

Gece açlığını takiben normal bir insanın plazmasında bulunan kolesterolün büyük çoğunluğu LDL'lerin içindedir. ApoB'nin dolaşımdaki yarı ömrü yaklaşık 2,5 gündür. Apoprotein lizozomlar tarafından yıkılır ve kolesterol tekrar esterleştirilir. Kolesterol sentezinin kontrolünü sağlayan enzim Hidroksi-Metil-Glutaril-KoA redük - tazdır. Kolesterol bütün dokularda sentezlenebilmesine karşın sentezin % 90'ı barsak ve karaciğerde olur ( 34 ).

İnsan fibroblast kültürlerinde, lenfositlerde ve arter düz kas hücrelerinde yapılan çalışmalarda LDL için spesifik bağlanma yerlerinin varlığı gösterilmiştir. Familial hiperkolesterolemide bu yerler bozuktur ( 3 ). Normal hücrelerde bu bağlama reseptörleri düzgün olup, LDL'yi hücre içine alıp metabolize eder.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda hiperkolesterolemi nedeninin karaciğerde LDL reseptörlerinde görülen azalmadan ileri geldiği saptanmıştır ( 3 ). Hücre yüzeyinde LDL bağlama reseptörlerinin sayısı, hücrede membran ve steroid hormon sentezi için gerekli kolesterol miktarına göre düzenlenir ( 3, 34, 38 ).

Plazmada LDL kolesterolü yüksek kişiler ateroskleroz geliş-

mi açısından risk altındadırlar (28, 34, 38, 46).

LDL'nin % 50'si ekstrahepatik dokularda, % 50 ise karaciğerde yıkılır (34, 38).

d) IDL Metabolizması : IDL plazmada VLDL'nin LDL'ye çevrilmesi sırasında ara madde olarak meydana gelir. Trigliserid ve kolesterol içermektedir. Normalde VLDL'nin LDL'ye çevrilmesi çok hızlı ilerlediğinden, gece açlığını takiben alınan kanda IDL akümülasyonu görülmez (38).

e) HDL Metabolizması : Barsak ve karaciğerde sentezlenir. HDL lipoproteinler içinde en fazla fosfolipid taşıyanıdır. Yine en fazla kolesterol taşıyan ikinci lipoproteindir. Ayrıca en az lipid (% 50) ve en fazla protein içeren lipoproteindir. Başlıca apoproteinleri apoA<sub>I</sub>, apoA<sub>II</sub>, apoC, apoD (apoA<sub>III</sub>) ve apoE'dir. HDL'nin HDL<sub>1</sub>, HDL<sub>2</sub> ve HDL<sub>3</sub> olmak üzere 3 alt grubu bulunur. HDL<sub>1</sub> önemsiz miktardadır. HDL<sub>2</sub> düzeyi premenopozal kadınlarda erkeklerden üç kat yüksektir. Bu durum östrojenle ilişkisini göstermektedir (34, 38).

HDL normalde hem apoA hem de apoC içerir. Fakat barsakta sentezlenen öncül HDL'de yalnız apoA bulunur (38). Düşük molekülülü apoC ise karaciğerde sentezlenip VLDL aracılığı ile HDL'ye transfer olmaktadır (23, 38). Hamilton'a göre HDL aynı zamanda kendi sentezinde rol oynayan LCAT enzimini aktive eden apoprotein komponentlerini sağlamaktadır. ApoA<sub>I</sub> tarafından aktive olan LCAT karaciğerde sentezlenen ve protein serbest kolesterol içeren çift fosfolipid tabakasından yapılmış diskoid yapıdaki öncül HDL (Nascent-HDL)'nin yüzeyindeki fosfolipidleri ve serbest kolesterolü, lizolesitin ve ester kolesterole çevirir (34). Lizolesitin albumine bağlanarak plazmaya geçer. Polar olmayan ester kolesterol, Öncül HDL diskinin hid-

rofobik olan iç kısmına doğru ilerler. Polar olmayan çekirdek, çift fosfolipid katmanını dışarı doğru iter. Böylece yüzeyi polar lipid ve apoproteinlerle kaplı küresel yapıda HDL oluşur (38). Bu arada yine HDL'nin bir apoproteini olan apoD<sub>1</sub> oluşan kolesterolü, HDL'den daha aşağı dansiteli lipoprotein olan LDL ve VLDL'ye transfer eder (34, 38, 58). Nikkila ve arkadaşları tarafından kolesterolün dokulardan karaciğere transportu için bir HDL siklüsü ileri sürülmüştür (34, 38). Bu siklüs HDL<sub>2</sub> nin plazma konsantrasyonlarının niçin şilo-mikron ve VLDL konsantrasyonu ile ters, fakat lipoprotein lipaz aktivitesiyle doğru orantılı olarak değiştiğini açıklar. Kolesterolün dokulardan uzaklaştırma miktarını yansıttıklarından dolayı HDL (HDL<sub>2</sub>) konsantrasyonları koroner ateroskleroz insidansı ile ters ilişkilidir (28, 38). HDL'nin ateroskleroza karşı öne sürülen koruyucu mekanizmaları :

- 1) Arter duvarındaki kolesterolün hücreden alınarak katabolize etmek üzere karaciğere transportu.
- 2) LDL'nin selüler uptake'nin inhibisyonu.
- 3) VLDL yıkılımının artırılmasıdır (28, 55).

HDL'nin antiaterosklerotik etkisini gösteren yukarıdaki mekanizmalar yanında dokularda serbest kolesterolü açığa çıkardığı ve suda çözünen hale getirdiğini, ayrıca LDL'nin reseptörlerine bağlanmasını engellediğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Yine son yıllarda ateroskleroz riskinin saptanmasında, HDL'nin yapısına giren apoA<sub>1</sub>'in düzeyindeki düşüklüğün, HDL-Kolesteroldekinden daha belirgin olduğu ve bu nedenle aterosklerotik vakalarda serumda apoA<sub>1</sub> ölçümüne ön planda yer verilmesi önerilmiştir (32). HDL'nin plazmadaki yarı ömrü 10,5 saattir. HDL'nin yıkımı en çok karaciğerde olur (38). Lipopro-

tein lipaz'ın yanında fosfolipaz ve hepatik lipaz enzimlerinin büyük rolü vardır. HDL'nin metabolizmasında, Hidroksi-metil-Glutaril-KoA redüktazın rolünün olmadığı gösterilmiştir (27). HDL metabolizması henüz tam açıklığa kavuşmamıştır. En son bulgular HDL lipoproteinlerin heterojen bir karışımdan ibaret olduğunu düşündürmektedir (34, 38). HDL'lerin bir kısmı karaciğer tarafından alınarak safra asidi üretiminde kolesterol kaynağı olarak kullanılmakta geri kalanı ise adrenal korteks gibi dokularda steroidogenesis için gereken kolesterolün kaynağını oluşturmaktadır (34).

f) HDL<sub>2</sub> ve HDL<sub>3</sub> : HDL ultrasentrifügasyonla iki fraksiyona ayrılır. HDL<sub>2</sub> nin dansitesi 1.060-1.125, HDL<sub>3</sub> ün ise 1.125-1.210 dur. HDL<sub>2</sub>'nin % 40'ı protein, % 45'i lipiddir. Her ikisinin de apoprotein içeriğinin % 90'ından fazlasını, apoA<sub>1</sub> ve apoA<sub>2</sub> oluşturmaktadır. ApoA<sub>1</sub>/ApoA<sub>2</sub> oranı 3/1 dir (34, 38, 48). HDL<sub>3</sub> iki mekanizma ile HDL<sub>2</sub>'ye dönüşebilir.

1) VLDL, şilomikron ve bunların ara bileşiklerinin katabolizması sırasında açığa çıkan lipid ve apoproteinlerin tutulması (uptakei).

2) Dokularda serbestleşen kolesterolün tutulmasıdır.

HDL<sub>3</sub>, LCAT reaksiyonunun gerçekleştiği esas yapıdır (34, 38). Karaciğerde ve barsakta yeni oluşan HDL, önce siferik form olan HDL<sub>3</sub>'e , sonrada HDL<sub>2</sub>'ye çevrilmektedir (34, 38).

G- LIPOPROTEİNLERİN PLAZMADA KOLESTEROL TAŞINMASINA VE  
METABOLİZMASINA ETKİLERİ

Lipoprotein kolesterolünün nereden kaynaklandığı ve nereye gittiği sorusuna henüz tam cevap verilememiştir. HDL partiküllerinin yıkılışıyla günde sadece 150 mg kolesterol serumdan ve periferik kolesterol havuzundan uzaklaştırılabilir. Safra sterol'ü olacak serbest kolesterolün çoğu HDL'den ve hepatik de novo sentezden türer. HDL aynı zamanda serbest kolesterolü esterleştirir ve VLDL ile şilomikronlara transfer edilebilir (23). Şilomikron kolesterolü, hidrofobik çekirdekdeki kolesterol esteri ve kabuktaki serbest kolesterol olmak üzere eşit dağılım gösterir. Barsak lümeninde, emilen kolesterolün çoğu esterleştirilir ve şilomikronların iç kısmında bulunur. 100 gr. yağın şilomikronlarla transportuna 4,3 gr kolesterol eşlik eder. Bu miktarın yarısı kolesterol esteridir. Diğer yarısı ise, şilomikronların kabuk kısmındaki serbest kolesteroldür. Bu durum bu miktarda yağın transportunu yapacak şilomikronların sentezi için, intestinal villüs hücrelerinin minimum kolesterol gereksinimini gösterir.

Diyetsel kolesterolün hepatik kolesterol sentezini inhibe etmesi, fakat intestinal senteze etki etmemesi ilgi çekicidir. İntestinal villüs hücreleri hızla ve hepatositlerden daha aktif olarak kolesterol sentez ederler. Kolesterolün total vücut sentezi normal kişilerde günde 1 gr. la sınırlanmıştır. Günlük şilomikron sentezi için 1 gr. lık kolesterolün üstünde bir eksiklik vardır. Bu eksiklik, periferik hücreler tarafından VLDL yıkılışıyla oluşan LDL tarafından sağlanır. LDL'ye eşlik eden kolesterol normal kişilerde

1,8 gr/gün'dür. Bu LDL'nin çoğu barsak hücreleri tarafından alınır ve yıkılırsa, şilomikronların kolesterol gereksiniminin çoğu karşılanır (23). Yağ alımından sonra şilomikronlar artarken, serum LDL düzeyi düşer. LDL kolesterolünün çoğunun periferel dokularda depolandığı ve KC.'e HDL tarafından taşındığı, birçok araştırmacı tarafından kabul edilmiştir (21,28,34, 38, 54 ). Ancak şilomikronlar, KC.e HDL'nin sınırlı kolesterol taşıma miktarından fazlasını taşıyabilirler (23). Şilomikronların KC.e taşıdığı bu kolesterol, LDL kolesterolünden, intestinal sentezden ve diyetten kaynaklanır (23). Aktif olarak kolesterol kullanan dokuların ana LDL deposu olması mantikidir. Genel olarak periferel hücreler LDL alınımı ve yıkılı-mında inaktiftirler. Normal metabolizmalarında kolesterol kullanmayan hücrelerin, LDL'nin büyük bir kısmını uzaklaştırmaları olanak -sızdır. Barsak, büyük miktarda kolesterol gereksinimi nedeniyle LDL'nin en büyük alıcısı olmaya adaydır (23).

Yine hepatik VLDL sentezi için hergün 2-2,6 gr. kolesterole gerek vardır. Bu miktar şilomikron oluşumu için bağırsaktaki kolesterol gereksinimine eşdeğer bir miktardır. Bununla birlikte VLDL sentezi belirgin olarak arttığında, normalin 10 katı kadar miktarda kolesterole gerek olabilir. Bu miktar kolesterol günde 20-26 gram kadardır. Ve KC.de de novo kolesterol sentezinden türeyen miktardan çok fazladır. KC. e şilomikron kalıntısı olarak gelen şilomikron kolesterolü günde sadece 2-4 gramdır. KC. de VLDL sentezinin gereksiniminin bir kısmı hepatik LDL yıkılımlıyla sağlanır (23). LDL'nin % 40'ı KC. de yıkılır. Buna rağmen LDL, VLDL sentezi için gerekli kolesterolün ancak % 20-28'ini sağlar. Snidelman ve arkadaşları, LDL'nin KC.e kolesterolün geri dönüşü için önemli bir taşıyıcı ola-

rak fonksiyon gördüğünü bildirmişlerdir (23). Bu araştışıcılar, insanlarda LDL kompozisyonundaki arteriyel ve hepatik ven farklılığını ölçmüşlerdir. Karaciğeri terkeden LDL'nin karaciğere gelen LDL'ye göre daha az kolesterol içerdikini bildirmişlerdir. Ayrıca, arterio venöz farklılıklar, VLDL + HDL kolesterol itrah hızına direkt olarak orantılıdır. Bu mekanizmanın, dolaşımdaki LDL'den hergün 24 gr. kolesterol uzaklaştırmağa muktedir olduğu hesaplanmıştır (23).

## ARAÇ, GEREÇ VE YÖNTEMLER

## I. ARAÇLAR

## 1. Teraziler :

a) Elektronik terazi : 0,1 mg-200 gr.  $\pm$  0,05 mg. aralık ve hassasiyette Sartorius 2472 marka.

b) Kefeli terazi.

c) Bebek terazisi : (NAN. No:4916)

## 2. Santrifüjler :

a) Masa santrifüjü : Heraeus Labofuge-I 1620 marka.

b) Soğutmalı santrifüj : Heraeus Christ Minifuge-2 model.

3. Su banyosu : Nüve-EM-100 marka.

4. Vorteks : Sesa marka.



5. Spektrofotometre : Spectronic-88, Bausch-Lomb marka

## II. GEREÇLER

### A- DENEY HAYVANLARI

Çalışmamızda beyaz renkli erkek 20 Yeni Zelanda Tavşanı kullanıldı. Yaşları 7-8 ay arasında olup, ağırlık ortalamaları 1830 gramdı. Ticari yemle beslenen 20 tavşan, Fakültemiz Hayvan Laboratuvarından temin edildi ve 10'ar adetlik iki gruba ayrıldı. Özel olarak hazırlanmış üzeri galvenizli telle örülmüş tahta kafeslere her tavşan ayrı ayrı olmak üzere yerleştirildi. Adaptasyon için bütün tavşanlar bir hafta süre ile yine aynı ticari yemle beslendiler (50,61). Bu sürenin sonunda kontrol grubunu yine kendileri oluşturacağı için, bütün tavşanların kulak marginal veninden 16 saatlik açlıktan sonra (6,7,50), diyet öncesi kan örnekleri alındı ve kiloları tartılarak kaydedildi. Birinci grup soya fasulyesi diyetine, ikinci grup ise kazein diyetine alındı. Diyetler sekiz hafta süresince uygulandı (6,7,50,61). Her iki haftada bir, bütün tavşanlardan yukarıdaki gibi, kan örnekleri alındı ve kiloları kaydedildi.

Beslenme süresince ışıklandırma 14 saat/gün olarak sabit tutulmaya çalışıldı. Diyet yemleri sınırlı bir şekilde hergün saat 09.00-09.30 arasında her tavşan için 70 gr/gün olarak verildi (6,7,50,61). Kafeslerde devamlı su bulunduruldu (7). Her yem verilşte suları da değiştirildi.

### B- DİYETLERİN HAZIRLANIŞI

Çalışmamızda diyet yemleri aşağıdaki formüle göre hazırlandı (6).

- a) Protein (sindirilebilir) % 21
- b) Karbonhidrat % 40,5 (% 42 Nişasta, % 52 Dekstroz, % 6 Sakkaroz),
- c) Yağ % 13 (soya yağı),
- d) Lif (Talaş) % 18,
- e) Mineral % 6 (Tri-kalsiyum fosfat % 50, Sodyum klorür % 10,3, Magnezyum Karbonat % 5,5, Magnezyum oksit % 3,4, Potasyum bikarbonat % 31)
- f) İzmineral + Vitamin : 0,5 gr/gün (her tavşan için)

Yukarıdaki formül oranlarına uyularak, soya fasulyesi ve Kazein proteini diyetleri hazırlandı. Hazırlanan diyetlerin, protein hariç, bileşim ve oranları aynı tutuldu. Protein ise oranı aynı tutularak birinci grup için soya fasulyesi (% 21 protein içerikli) ikinci grup için kazein proteini eklendi. Bu iki diyetin tek farkı kullanılan protein kaynaklarıydı.

a) Soya Fasulyesi Diyetinin Hazırlanışı :

Soya fasulyesi, Antalya Bölge Ziraî Araştırma Enstitüsün - den temin edilerek, hijyenik şartlarda değirmende öğütüldü. Öğütülen soya fasulyesi unu hiçbir işleme tabi tutulmadan kullanıldı.

Yemde kullandığımız soya fasulyesi % 36,1 protein, % 21,2 yağ, % 5,3 selüloz, % 5,6 mineral, % 26,6 karbonhidrat, % 5,2 nem içermekteydi (17).

Soya fasulyesi proteininin sindirilebilirlik oranı % 91-93 olduğu için, protein içeriği bu orana göre düzeltildi (17,41). Daha sonra diyetlerin protein içeriği % 21 olduğundan bu miktara göre gerekli düzeltmeler yapıldı. Buna göre 42,152 kg.'lık soya fasulyesi diyeti aşağıdaki gibi hazırlandı (6).

- Soya fasulyesi unu : 25,532 kg.
- Karbonhidrat karışımı : 9,400 kg.
- Talas (kavak talaşı) : 5,860 kg.
- Mineral karışımı : 1.000 kg.
- İzmineral ve vitamin : 280 gr.

Kazein grubu metionin amino asidi içerdiğinden soya fasulyesi diyetine aynı oranda (80 gr.) metionin amino asidi ilave edildi (6).

Yukarıdaki maddeler hijyenik şartlarda tartılarak plastik bir bidonda karıştırılıp homojenize edildi. Karışıma 8 litre distile su ilave edildi. Tekrar karışım geniş plastik bir küvette plastik eldiven giyilerek hamur haline getirildi. Oluşturulan hamur, yaklaşık 1 cm kalınlığında temiz bir bez üzerine sıkıştırılarak yayıldı. Soğuk vantilatör altında ilave edilen suyun tamamı uçuruldu. Küçük peletler haline getirilen soya fasulyesi diyet yemi 70'er gr. tartılarak naylon poşetlere konuldu (6,7,50).

b) Kazein Diyetinin Hazırlanışı :

Kazein, pınar süt tozundan kazein proteininin çöktürülmesi ile elde edildi (62).

Kazeini elde etmek için kullanılan pınar süt tozunun bileşimi : % 35,8 protein, % 1 yağ, %52,3 laktoz, % 8 mineral (% 1,4 Ca, % 1 P), % 2,9 Nem'dir.

Kazeinin çöktürülmesi için aşağıdaki yol izlendi.

a) Süt tozu % 90 sulandırılarak ( 1 kg. süt tozu+9 litre saf su) normal süt elde edildi.

b) pH 4,5-5 oluncaya kadar HCl ile asitlendirilerek kazein çöktürüldü (62). Oluşan çökelek süzgeç kağıdından süzülerek

süt serumundan ayrıldı.

c) Çökelek (Kazein) ortamdaki  $Cl^-$  iyonunu uzaklaştırmak için 5-6 kez saf su ile yıkandı. Yıkama işlemine süzüntüden alınan numunelere  $AgNO_3$  testi uygulanarak menfi  $Cl^-$  elde edilinceye kadar devam edildi (4).

d) Kazein çökeleği, % 95'lik alkol ile ekstrakte edildi. Bu işlem iki defa tekrar edilerek ortamdaki bütün iyonlar uzaklaştırıldı.

e) Elde edilen kazein  $56^{\circ}C$  de etüvde kurumaya bırakıldı.

f) Kuruyan kazeinden bir miktar alınıp, suda çözüldü. Benedict yöntemi (4) ile laktoz arandı ve sonuç menfi bulundu. Aynı yöntemle süt serumunda laktoz müsbet bulundu. Bu sonuçlar laktozun kazeinle beraber çökmediği ve süt serumunda kaldığını kanıtladılar.

Kurutulmuş kazeinden, 0,3 N NaOH'te çözerek % 10'luk bir çözelti hazırlandı (62).

Bu çözeltide; Biüret yöntemi ile (4) total protein ve albumin kantitatif olarak arandı. Total protein % 3,5 gr. bulunurken albumin tesbit edilmedi. Aynı yöntemle süt serumunda ise protein tesbit edilmedi. Ayrıca kazein çözeltisinde protein elektroforezi yapıldığında, tek bant elde edildi. Bütün bu çalışmaların sonuçları elde ettiğimiz çökeleğin, kazein olduğunu kanıtlamaktadır. Elde edilen bu kazein ikinci diyetin protein kaynağı olarak kullanıldı.

Kazein diyeti de soya fasulyesi diyet formülüne uyularak hazırlandı (6). Yani bileşim ve oranları aynı tutuldu. 42 kg'lık kazein diyeti aşağıdaki miktarlarda maddeler alınarak hazırlandı.

- 8.757 kg. Kazein
- 16.888 kg. Karbonhidrat
- 5.421 kg. Yağ
- 7.506 kg. Talaş (reçinesiz kavak talaşı)
- 2.502 kg. Mineral karışımı
- 280 gr. İzmineral ve vitamin karışımı (Rostres-Roche),

kazein diyet yeminin hazırlanmasında da soya fasulyesi diyeti yöntemi aynen uygulandı.

Çalışmamızda kullanılan diyetlerin kimyasal maddeleri Fakültemiz İbni Sina Araştırma Laboratuvarı tarafından temin edildi.

#### C- ÖRNEKLERİN ELDE EDİLiŞİ

Her iki grubun diyet öncesi alınan kan örnekleri kendilerinin kontrolünü oluşturdu. Daha sonraki kan örnekleri iki hafta zaman aralığı ile dört defa alındı. Her kan alınışından önce tavşanlar 16 saat aç bırakıldı (6, 7, 50). Kan örnekleri sterilizasyon şartlarına dikkat ederek tavşanların marginal kulak venlerinden antikoagülsüz olarak alındı (7, 50). Kan örnekleri oda ısısında iki saat pıhtılaşmaya bırakıldı (7). Bu süre sonunda yine oda ısısında 3000 devir/dk. da 15' dk. santrifüj edilerek serumlar ayrıldı. Alınan serumlar + 4°C'de saklandı.

Alınan her örnekte; Total lipid, Total Kolesterol, Triglycerid, HDL-Kolesterol, HDL<sub>2</sub>-Kolesterol, HDL<sub>3</sub> Kolesterol, Fosfolipid miktarları tayin edildi. Deneyler üç gün içinde tamamlandı.

## III. YÖNTEMLER

## A- SERUMDA TOTAL LİPİD TAYİNİ

Zoeliner ve Kirsch'in sülfosfovanilin yöntemi.

Prensip : C = C bağı içeren lipidler, sıcak derişik  $H_2SO_4$  ile reaksiyona girdiğinde keton ve ketal grupları oluşur. Asidik ortamda vanilin bu bileşiklerle kondanse olarak pembe bir renk oluşturur (55). Bu renkten yararlanarak örnekteki lipid miktarı spektrofotometrik olarak ölçülür.

Ayıracılar :

- 1) Derişik sülfirik asit
- 2) % 0,6'lık vanilin gözeltisi : 1200 mg. vanilin tartılıp 200 ml'lik balon jojeye aktarıldı. Bir miktar distile suda çözünüp, distile su ile 200 ml'ye tamamlandı.
- 3) Fosfovanilin reaktifi : 200 ml % 0,6'lık vanilin gözeltisi 2 litrelik bir erlenmayere aktarılıp devamlı karıştırılarak üzerine 800 ml orto-fosforik asid ( $H_3PO_4$ ) eklendi. Kahverenkli şişede saklandı (55).
- 4) Lipid standardı % 200 mg'lık mısır özü yağı : 200 mg. mısır özü yağı, darası alınmış cam kaptta tartılıp, kloroformla çalkalanarak 100 ml.'lik balon jojeye aktarıldı. Kloroformla çözündükten sonra, hacim etanolle 100 ml'ye tamamlandı.

Standart ve reaktiflerin kontrolu Biomerieux'un Lyotrol<sup>TM</sup> 62371 kontrol serumu ile yapıldı. Bütün reaktifler deney sayısına uygun miktarda her 15 günde bir yeniden hazırlandı.

## Deneyin Yapılışı :

Kapaklı deney tüplerinde standart ve örnekler aşağıda belirtilen şekilde çalışıldı.

	Standart	Örnek
Tavşan serumu	-	0,1 ml
% 200 mg. Lipid standardı	0,1 ml	-
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5 ml	5 ml

Vortekste karıştırılıp, 15 dk. kaynar su banyosunda tutuldu. Sonra soğuk suda tutularak soğutuldu. Örnek ve standart tüplerine bir kör eklenip aşağıdaki yol izlendi.

	Örnek	Standart	Kör
Kaynatılıp soğutulan örnek , karışımı	0,2 ml	-	-
Kaynatılıp soğutulan standart karışımı	-	0,2 ml	-
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-	-	0,2 ml
Fosfovanilin	5 ml	5 ml	5 ml

Vortekste karıştırılıp oda ısısında 30 dk. bekledikten sonra spektrofotometrede 530 nm'de köre karşı örneklerin ve standardın optik dansiteleri okundu.

Hesap :

$$\text{Örneğin konsantrasyonu (\% mg)} = \frac{\text{Standartın konsantrasyonu (\% mg)} \times \text{Örneğin optik dansitesi}}{\text{Standartın optik dansitesi}}$$

B- SERUM TOTAL KOLESTEROL TAYİNİ (ZAK YÖNTEMİ) :

Prensip : Asetik asitle çözülmüş kolesterolün, Demir-III-Klorür (FeCl<sub>3</sub>) ve sülfürik asit (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ile verdiği kırmızı menekşe

renk reaksiyonuna dayanır (42).

Ayıracılar :

- 1) Derişik sülfürik asit
- 2) Derişik glasial asetik asit
- 3) Demir-III-Klorür reaktifi : 140 mg.  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  tartıldı.

Glasial asetik asitte çözünerek 1 litreye tamamlandı. Koyu renkli şişede oda ısısında saklandı.

- 4) Standart : % 100 mg.lık kolesterol standardı; 100 mg. kolesterolin tartılıp, 100 ml.lik balon jojeye kondu. Etanolda çözünüp, 100 ml. ye asetik asitle tamamlandı.

Deneyin Yapılışı :

Standart ve örnekler santrifüj tüplerinde aşağıdaki şekilde çalışıldı.

	<u>Örnek</u>	<u>Standart</u>
Tavşan serumu	0,1 ml	-
Kolesterol standardı	-	0,1 ml
Demir III-Klorür Reaktifi	4 ml	4 ml

Votekste karıştırılıp 30 dk. oda ısısında bekletildi. 15 dk. 3000 devir/dk. santrifüj edildi. Deneye bir kör tüp eklenerek aşağıdaki yol izlendi.

	<u>Örnek</u>	<u>Standart</u>	<u>Kör</u>
Örnek üst sıvısı	2 ml	-	-
Standart üst sıvısı	-	2 ml	-
Demir III-Klorür Reaktifi	-	-	2 ml
Glasial asetik asid	2 ml	2 ml	2 ml
Sülfirik asit	2 ml	2 ml	2 ml



Votekste karıştırılıp, 30 dk. oda ısısında bekledikten sonra 560 nm' de okundu.

Hesap :

Örnekteki kolesterol Standardın konsantrasyonu Örneğin optik konsantrasyonu (% mg) =  $\frac{\text{Standardın konsantrasyonu (\% mg)}}{\text{Standardın optik dansitesi}}$  x dansitesi

C- SERUM HDL-KOLESTEROL TAYİNİ

(Fosfotungustat-MgCl<sub>2</sub> Prensipitasyon Yöntemi)

Prensip : Apoprotein B'nin çöktürülmesi ve üst sıvıda HDL-Kolesterol ölçülmesidir (60). Apoprotein B'ler fosfotungustat-MgCl<sub>2</sub> ile çöktürüldü (30). Üst sıvıda HDL-Kolesterol Zak yöntemi ile saptandı.

Ayırıklar :

1) Fosfotungustik asit çözeltisi : 4.025 gr. H<sub>3</sub>P(W<sub>3</sub>O<sub>10</sub>)<sub>4</sub> H<sub>2</sub>O tartılıp, 50 ml distile suda çözüldü. Üzerine 16 ml 1 mol/lt'lik NaOH çözeltisi eklendi. Hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

2) MgCl<sub>2</sub> 2 mol/lt.

3) Derişik sülfirik asit

4) Derişik glasial asetik asit

5) Demir III-Klorür (FeCl<sub>3</sub>) Reaktifi : Zak yöntemine göre hazırlandı.

6) Standart : % 100 mg'lık kolesterol kullanıldı.

Deneyin Yapılışı :

Örnek sayısı kadar santrifüj tüpü alındı.

	<u>Örnek</u>
Tavşan serumu	1 ml
Fosfotungustik asit	0,1 ml
2 M MgCl <sub>2</sub> çözeltisi	0,025 ml

Vortekste karıştırılıp, oda ısısında 30 dk. bekletildi. + 4°C'de 30 dk. soğutmalı santrifüjde santrifüj edildi. Berrak üst sıvı ile deneye aşağıdaki şekilde devam edildi.

	<u>Örnek</u>	<u>Standart</u>
Örnek üst sıvı	0,3 ml	-
Kolesterol standardı	-	0,1 ml
Demir III-Klorür Reaktifi	5,7 ml	3,9 ml

Bütün tüpler 30 dk. oda ısısında bekletildi. 15 dk. 3000 devir/dk. da santrifüj edildi. Standart ve örnek tüplerine bir kör tüp eklenerek aşağıdaki yol izlendi.

	<u>Örnek</u>	<u>Standart</u>	<u>Kör</u>
Örnek üst sıvısı	4 ml	-	-
Standart üst sıvısı	-	2 ml	-
Demir III-Klorür Reaktifi	-	2 ml	4 ml
Sülfirik asit	2 ml	2 ml	2 ml

Vortekste karıştırıldı. 30 dk. oda ısısında bekletildikten sonra 560 nm'de optik dansiteler köre karşı okundu.

Hesap :

Çöktürme işleminde 1,125 ml çözeltide 1 ml serum bulunduğundan 1/1,125 oranında sulandırılmış oldu.HDL-Kolesterol tayininin-

de 0,3 ml üst sıvıya 5,7 ml  $\text{FeCl}_3$  ilave edildiğinden 1/20 oranında sulandırılmış oldu. Standart ise 0,1 ml standarta 3,9 ml  $\text{FeCl}_3$  ilavesiyle 1/40 oranında sulandırılmış oldu. Ayrıca renk reaksiyonu için örneklerden 4'er ml alınırken, standarttan 2 ml alındığına göre, sonuç olarak son iki işlemde örnekler standarta göre 4 kez daha konsantre olmuş oldu.

Bu nedenle örnek için bulunan değer 4'e bölünüp, başlangıçtaki sulandırma oranı ile çarpıldı.

$$\text{HDL-Kolesterol konsantrasyonu} = \frac{\text{Örneği O.D.} \times \text{St.Kons.x}}{\text{St. O.D.}} \times \frac{1,125}{4}$$

(% mg)

#### D- SERUM HDL<sub>2</sub> ve HDL<sub>3</sub> KOLESTEROL TAYİNİ

Prinsip : Presipitasyon yöntemleri ile önce apoprotein B<sup>1</sup> (LDL ve VLDL) çöktürülür. Üst sıvıdaki total HDL (HDL<sub>2</sub> ve HDL<sub>3</sub>) den HDL<sub>2</sub> fraksiyonu dextran veya dextran sülfatla çöktürülür, üst sıvıda kalan HDL<sub>3</sub> fraksiyonunda kolesterol saptanır. Total HDL kolesterolden HDL<sub>3</sub> kolesterolün çıkartılması HDL<sub>2</sub> kolesterolü verir (20).

Ayırıcılar :

1) Dextran Sulphate : Pharmacia Fine Chemicals Code No:17-0340-01, MwN 500.000/7/=-0,50), 130 mg Dextran sülfat tartılıp 100 ml distile suda çözüldü. % 130 mg.lık solusyon hazırlandı.

2) Dextran sülfat hariç total HDL-kolesterol tayininde kullanılan reaktifler kullanıldı.

3) Kolesterol standardı % 50 mg.

de 0,3 ml üst sıvıya 5,7 ml  $\text{FeCl}_3$  ilave edildiğinden 1/20 oranında sulandırılmış oldu. Standart ise 0,1 ml standarta 3,9 ml  $\text{FeCl}_3$  ilavesiyle 1/40 oranında sulandırılmış oldu. Ayrıca renk reaksiyonu için örneklerden 4'er ml alınırken, standarttan 2 ml alındığına göre; sonuç olarak son iki işlemde örnekler standarta göre 4 kez daha konsantre olmuş oldu.

Bu nedenle örnek için bulunan değer 4'e bölünüp, başlangıçtaki sulandırma oranı ile çarpıldı.

$$\text{HDL-Kolesterol konsantrasyonu} = \frac{\text{Örneği O.D.}}{\text{St. O.D.}} \times \text{St.Kons.} \times \frac{1,125}{4}$$

(% mg)

#### D- SERUM HDL<sub>2</sub> ve HDL<sub>3</sub> KOLESTEROL TAYİNİ

Prensip : Presipitasyon yöntemleri ile önce apoprotein B (LDL ve VLDL) çöktürülür. Üst sıvıdaki total HDL (HDL<sub>2</sub> ve HDL<sub>3</sub>) den HDL<sub>2</sub> fraksiyonu dextran veya dextran sülfatla çöktürülür, üst sıvıda kalan HDL<sub>3</sub> fraksiyonunda kolesterol saptanır. Total HDL kolesterolden HDL<sub>3</sub> kolesterolün çıkartılması HDL<sub>2</sub> kolesterolü verir (20).

Ayırıcılar :

1) Dextran Sulphate : Pharmacia Fine Chemicals Code No:17-0340-01, MwN 500.000/7/≈0,50), 130 mg Dextran sülfat tartılıp 100 ml distile suda çözüldü. % 130 mg.lık solusyon hazırlandı.

2) Dextran sülfat hariç total HDL-kolesterol tayininde kullanılan reaktifler kullanıldı.

3) Kolesterol standardı % 50 mg.

## Deneyin Yapılışı :

Önce total HDL-Kolesterol tayin yöntemi uygulanarak, total HDL-Kolesterolü içeren üst sıvı elde edildi (30,60). Üst sıvıdan 0,2 ml alınıp üzerine 0,2 ml dextran sülfat ilave edildikten sonra 30 dk. + 4°C de inkübe edildi ve 30 dk. 3000 devir/ dk. + 4°C de santrifüj edildi. Üst sıvı alındı. Aşağıdaki yol izlendi.

	Örnek	Standart
Üst sıvı	0,2 ml	-
% 50'lik kolesterol standardı	-	0,05 ml
% 140 mg. FeCl <sub>3</sub> reaktifi	3,8 ml	3,95 ml

Tüpler vortekste karıştırılıp oda ısısında 30 dk inkübe edildi. 15 dk. 6000 devir/dk. santrifüj edildi. Kör tüpü eklenerek deneye aşağıdaki şekilde devam edildi.

	Örnek	Standart	Kör
Örnek üst sıvısı	2 ml	-	-
% 140 mg. FeCl <sub>3</sub> reaktifi	-	-	2 ml
Standart üst sıvısı	-	2 ml	-
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 ml	1 ml	1 ml

Karıştırılıp 30 dk. oda ısısında inkübe edildi. 560 nm'de köre karşı örnek ve standardın optik absorbanları okundu.

Hesap :

$$\% \text{ mg HDL}_3 = \frac{\text{Örneğin O.D.} \quad 50 \times 1.125}{\text{Standartın O.D.} \quad 2} \times \text{---}$$

## E- SERUM TRİGLİSERİD TAYİNİ

(Gottfried ve Rosenberg Yöntemi )

Prensip : Plazma veya serum trigliseridleri izopropanol ile ekstrakte edilir. Ekstrakta şu işlemler uygulanır.

- 1) Trigliserid + KOH  $\longrightarrow$  Gliserol + Yağ asidleri
- 2) Gliserol + Periodat  $\longrightarrow$  Formaldehid
- 3) Formaldehid +  $\text{NH}_4^+$  + Asetil aseton  $\longrightarrow$  Diasetil dihidrotoluidin'e çevrilir. Bu son ürün yeşil renkli olup, 410 nm'de maksimum absorbanans verir.

Ayıraçlar :

- 1) İzopropanol (saf)
- 2) Triolein standardı (Sigma) % 300 mg.
- 3) 1 N KOH
- 4) Periodat gözeltisi : 125 mg Na-meta periodat 50 ml 2 N asetik asitte çözünür.
- 5) Renklendirici gözelti :
  - a- 20 ml amonyum asetat (2 mol/litre)
  - b- 40 ml izopropanol (saf)
  - c- 0,15 ml asetil aseton karıştırılarak hazırlandı.

Deneyin Yapılışı :

Santrifüj tüpleri alınarak aşağıdaki yol izlendi.

	Kör	Standart	Örnek
İzopropanol	5 ml	4,8 ml	5 ml
H <sub>2</sub> O	0,2 ml	0,2 ml	-
Serum	-	-	0,2 ml
Standart gözeltisi	-	0,2 ml	-

Vortekste karıştırıldı ve oda ısısında 5 dk. bekletildi. 15 dk. 3000 devir/dk. da santrifüj edildi. Düz deney tüplerinde işleme devam edildi.

	<u>Kör</u>	<u>Standart</u>	<u>Örnek</u>
Kör üst sıvısı	2 ml	-	-
Standart üst sıvısı	-	2 ml	-
Örnek üst sıvısı	-	-	2 ml
I N KOH	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml

Votekste karıştırıldı. 5 dk. 60°C lik su banyosunda inkübe edildi.

	<u>Kör</u>	<u>Standart</u>	<u>Örnek</u>
Periodat gözeltisi	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml

Hemen karıştırıldı. 10 dk. oda ısısında bekletildi.

	<u>Kör</u>	<u>Standart</u>	<u>Örnek</u>
Renklendirici gözelti	3 ml	3 ml	3 ml

Karıştırıldı. 30 dk. 60°C su banyosunda bekletildi. 415 nm dalga boyunda standart ve örneklerin optik dansiteleri köre karşı okundu.

Hesap :

$$\% \text{ mg Triglicerid} = \frac{\text{Örneğin Optik Dansitesi}}{\text{Standartın Optik Dansitesi}} \times 300$$

## F- SERUMDA FOSFOLİPİD TAYİNİ

Zilversmit ve Briggs Metodu kullanılarak serumda fosfolipid tayini yapıldı (13,63).

Frensip : Fosfolipidler TCA ile proteinlerle beraber çökelir. Çökelek, mineralize edilir. Fosfor ortofosfat formunda kolorimetrik olarak ölçülür. Bu metod lipidlerin ekstraksiyonundan sonra elde edilen sonuçlardan farksızdır (63).

Asid solüsyonundaki fosfatlara amonyum molibdat ilavesi ile fosfomolibdik kompleksi oluşur. Bu kompleks hidrokinon ve sodyum sülfitle indirgenir. Oluşan mavi renk kolorimetrik olarak tayin edilir (13).

## Ayrıağlar :

- 1) % 5 lik TCA
- 2) Nitroperklorik karışımı :
  - Saf nitrik asid : 1 volüm
  - % 70 lik perklorik asid : 2 volüm
- 3) % 20 lik TCA suda çözüldü.
- 4) Molibdik reaktifi : 25 gr.  $4H_2O$ , amonyum molibdat 300 ml distile suda çözüldü. Üzerine konsantre  $H_2SO_4$  ilave edildi.
- 5) % 1 lik hidrokinon çözeltisi : Bu çözelti distile suda hazırlandı, üzerine 4 damla konsantre  $H_2SO_4$  ilave edildi. Bu çözelti saklanamaz, sararma görüldüğü zaman tekrar hazırlanmalıdır.
- 6) % 20 lik sodyum sülfid anhidr distile suda çözümlenerek hazırlandı.
- 7) Fosfor standart çözeltisi : Önceden  $100^{\circ}C$  de kurutulmuş



desikatörde soğutulmuş saf 4,394 gr. monopotasik fosfat tartıldı. İçinde 300 ml distile su bulunan 1 litrelik balon jojeye kondu. Çöz-  
dükten sonra distile su ile litreye tamamlandı. Konservasyon için  
5 ml kloroform ilave edildi. Bu çözelti litrede 1 gr. fosfor içe-  
rir.

#### 8- Briggs Standart Solüsyonu :

Stok fosfor standart çözeltisinden % 1 lik hazırlandı. Bu  
çözelti ml'de 0,01 mgr. fosfor içerir. Bu çözelti uzun süre sakla-  
nılmaz.

#### Deneyin Yapılışı :

a) Mineralizasyon : Bir santrifüj tüpüne 0,5 ml tavşan se-  
rumu, 2 ml distile su kondu. Karıştırıldı ve üzerine % 5 lik TCA  
5 ml damla damla karıştırılarak ilave edildi. Birkaç dakika bekle-  
tildi ve yüksek devirde santrifüj edildi. Üst sıvı uzaklaştırıldı.  
Tüpler bir süzgeç kağıdı üzerine ters çevrilerek üst sıvı tamamen  
emdirildi. Sonra çökelek üzerine 1 ml nitroperklorik karışımı ila-  
ve edildi. Çökelti çeker ocak altında bünzen beki alevi ile yavaş-  
ca çözününceye kadar ısıtıldı. Sonra alev artırıldı ve karışım gri-  
leşti. Nitrik asit buharı uçuruldu ve bir kaç dakika sonra gri sı-  
vı şeffaflaştı. Uzayan mineralizasyon tüplerine dikkatlice birkaç  
damla nitroperklorik asid karışımı eklendi, Sıçramalar önlenerek  
mineralizat 0,5 ml'den aşağı oluncaya kadar konsantre edildi (13,63).

b) Kolorimetri : Mineralizatlar 5 ml distile suda çözüne-  
rek deney tüplerine aktarıldı. Kör ve standart tüplerine de 5 ml  
distile su kondu. Her 3 tüp pirofosfatların ortofosfata dönüşmesi-

ni sağlamak için 15 dakika kaynar su banyosunda tutuldu. Soğutulup aşağıdaki yol izlendi.

	<u>Örnek</u>	<u>Standart</u>	<u>Kör</u>
Molibdik reaktifi	1 ml	1 ml	1 ml
Hidrokinon çözeltisi	1 ml	1 ml	1 ml
Sülfid çözeltisi	1 ml	1 ml	1 ml
Briggs standart çözeltisi	-	0,5 ml	-
Distile su	11,5 ml	11,5 ml	12 ml

Karıştırılıp 30 dk. oda ısısında bekletilip 650 nm'de köre karşı örnekler ve standart okundu.

Hesap :

Lipid fosforunun değeri aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$P (\% \text{ mg}) = \frac{\text{Örneğin Optik Dansitesi}}{\text{Standartın Optik Dansitesi}} \times \frac{\text{Standartın Konsantrasyonu}}{\text{Örneğin Konsantrasyonu}} \times 100$$

Fosfolipid için ise aşağıdaki formül uygulandı.

$$\text{Fosfolipid } (\% \text{ mg}) = \% \text{ mg lipid P} \times 25$$

#### G- PATOLOJİK YÖNTEMLER

Soya fasulyesi ve kazein diyeti ile beslenen her iki gruptan 2'şer tavşanda tam otopsi yapıldı. Otopside ; bütün organlarda makroskopik bulgular değerlendirildikten sonra aorta, karaciğer ve beyinden parçalar alındı. Bu parçalardan dondurma kesitler (Frozen Section) yapılarak total lipid için Oil Red O, trigliseridler için Nile blue Sulphate yöntemi uygulandı (5, 31 ). Ayrıca kesitlere

hematoksilen-eozin boyama yapıldı.

#### H- İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Verilerle zaman arasındaki ilişki için "Korelasyon-Regresyon Testi" uygulandı. Bulgularda anlatılacağı üzere, Korelasyon eğrileri ve regresyon doğrularını içeren grafikler çizildi. Ayrıca her parametre için Korelasyon katsayısı (r) bulundu ve "T" testi uygulanarak anlamlılık derecesi (P) saptandı (57).

Ağırlık değerlerinin istatistiksel değerlendirilmesi :  
"İki Ortalama Arasındaki Önemlilik Testi" uygulandı (57).

Her iki diyet grubunun günlük aldıkları yemlerin ortalamaları, haftalara göre dağılımı hesaplandı ve karşılaştırıldı. Her iki diyet grubunda ikişer haftalık yem alma ortalamaları (gr/gün) ve yine iki grubun ikişer haftalık ağırlık değişimi ortalamaları (gr/gün) olarak hesap edilip, diyetle yararlanabilirlik (Food efficiency=F.E) değerleri aşağıdaki formül ile belirlendi.

$$\text{Food Efficiency (F.E)} = \frac{\text{Verilen yem ortalamaları (gr/gün)} - \text{Artan yem ortalamaları (gr/gün)}}{\text{Ağırlık artışı ortalamaları (gr/gün)}}$$

Her iki grupta bulunan değerler karşılaştırıldı.

## BULGULAR

Soya fasulyesi ve kazein diyetindeki 10'ar tavşanın diyet öncesi alınan kan örnekleri kendi kontrollerini oluşturdu. Bu örneklerde ; Total lipid, Total Kolesterol, HDL-Kolesterol, HDL<sub>2</sub>-Kolesterol, HDL<sub>3</sub>-Kolesterol, Trigliserid ve Fosfolipid çalışıldı. Diyetlere başlandıktan sonra 15., 30., 45. ve 60., günlerde kan örnekleri alınarak yukarıdaki lipid parametreleri çalışıldı. Her zaman dilimi için ortalama değerler hesaplandı.

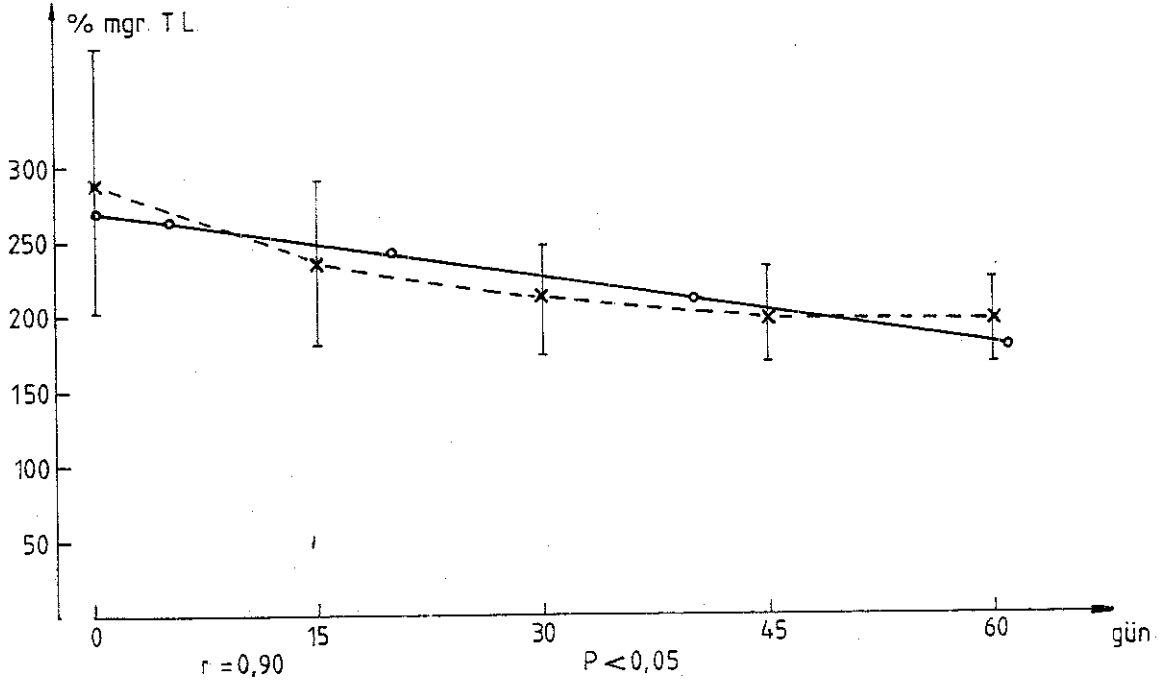
Bulunan tüm değerlere, "Korelasyon-Regresyon Testi" uygulanarak her iki grubun lipid parametreleri için ayrı ayrı regresyon doğrusu ve korelasyon eğrisini gösteren grafikler çizildi. Her lipid parametresinin korelasyon katsayısı (r) hesaplandı. Ayrıca "T" testi uygulanarak her iki diyet grubunun lipid değerleri karşılaştırıldı.

## A- SERUM TOTAL LİPID BULGULARI

Soya ve kazein grubu total lipid değerleri Tablo II, Şekil 1 ve Şekil 2'de gösterilmiştir.

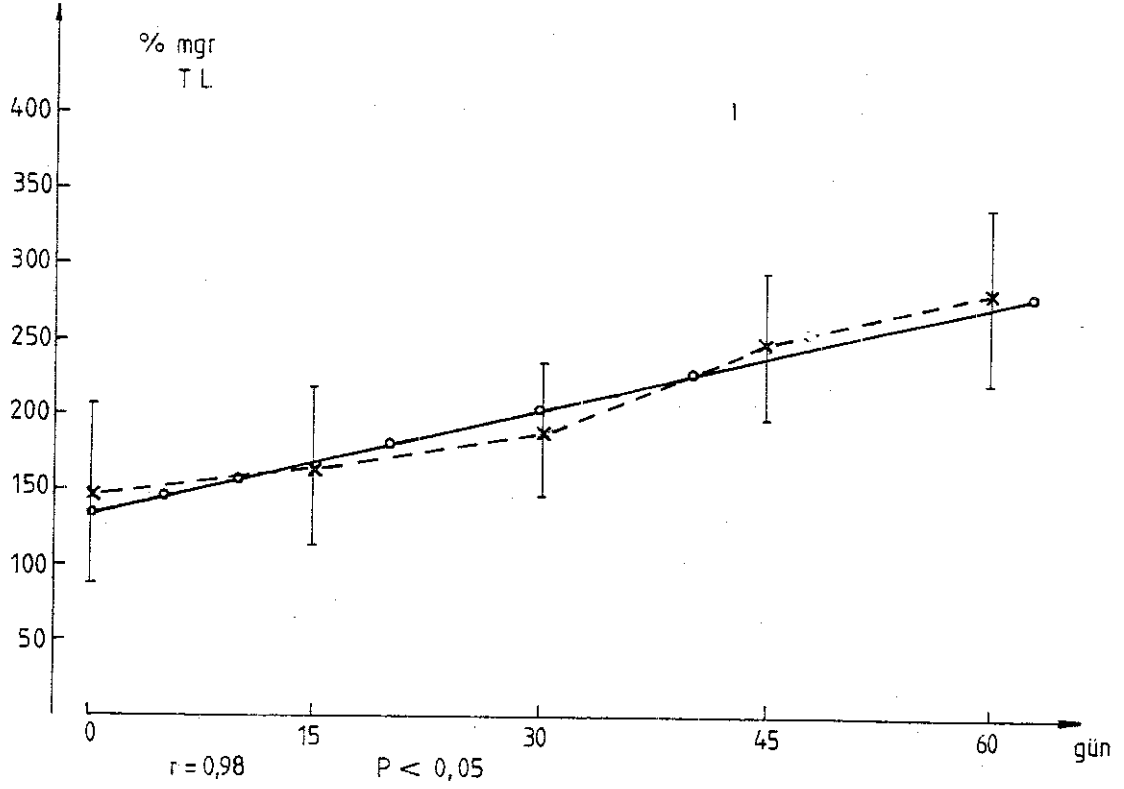
Tablo : II Soya ve Kazein grubu total lipid ortalama düzeyleri (% mg) ile S.D. değerleri karşılaştırılması.

<u>Zaman (gün)</u>	<u>Soya Diyeti Grubu</u>	<u>Kazein Diyeti Grubu</u>
0	291.47 $\pm$ 88.36	148.23 $\pm$ 59.78
15	235.12 $\pm$ 55.00	165.13 $\pm$ 165.72
30	211.37 $\pm$ 36.16	189.58 $\pm$ 44.59
45	200.09 $\pm$ 32.78	244.17 $\pm$ 47.18
60	198.79 $\pm$ 28.59	281.85 $\pm$ 59.09



Şekil : 1 Soya Total lipid ve diyet günü korelasyonu<sup>xx</sup>

Soya fasulyesi diyet grubunda total lipid düzeyleri diyet zamanı içinde düşüş göstermektedir. Total lipid ile diyet günü arasındaki korelasyon katsayısı (r) 0.90 olup, uygulanan "T" testi anlamlı bulundu ( $P < 0,05$ ).



Şekil : 2 Kazein - Total Lipid ve Diyet Günü Korelasyonu<sup>XX</sup>

Kazein diyeti grubunda total lipid düzeyleri diyet zamanı içinde artış göstermektedir. Total lipid ile diyet günü arasındaki korelasyon katsayısı (r) 0,98 olup, uygulanan "T" testi anlamlı bulundu ( $P < 0,05$ ).

XX : -o-o- : Regresyon doğrusunu veren noktalar

-x-x- : Korelasyon eğrisini veren noktalar

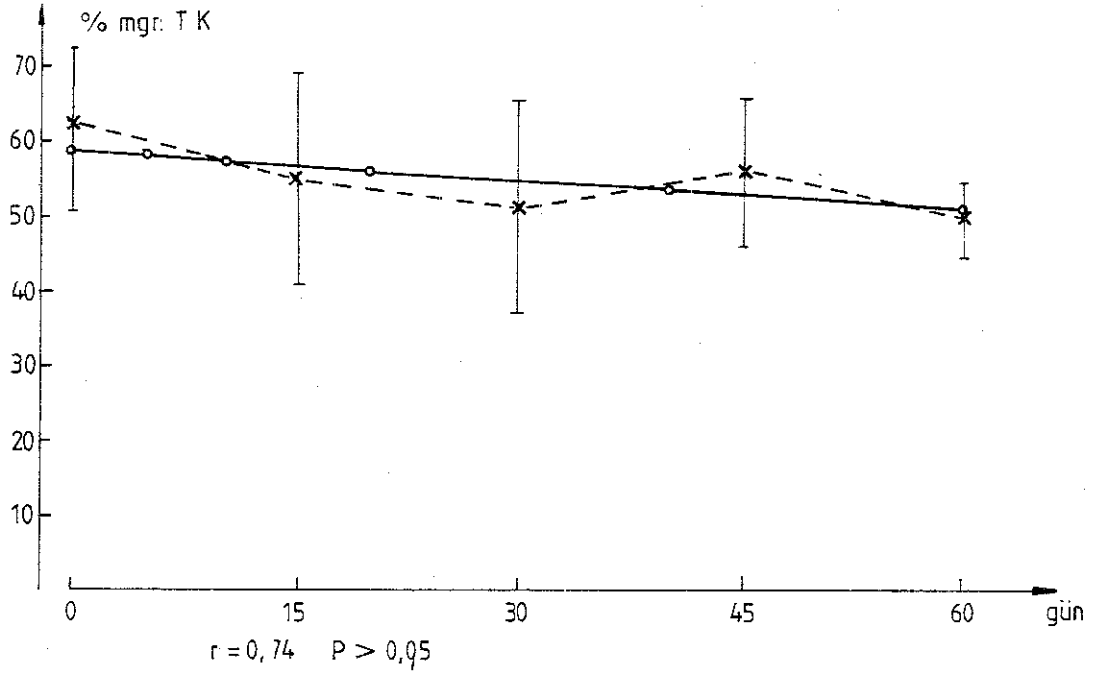
## B- SERUM TOTAL KOLESTEROL BULGULARI

Soya ve kazein grubu total kolesterol değerleri Tablo III, Şekil 3 ve Şekil 4'te gösterilmiştir.

Tablo : III Soya ve kazein grubu total kolesterol ortalama düzeyleri (% mg) ile S.D. değerleri karşılaştırılması.

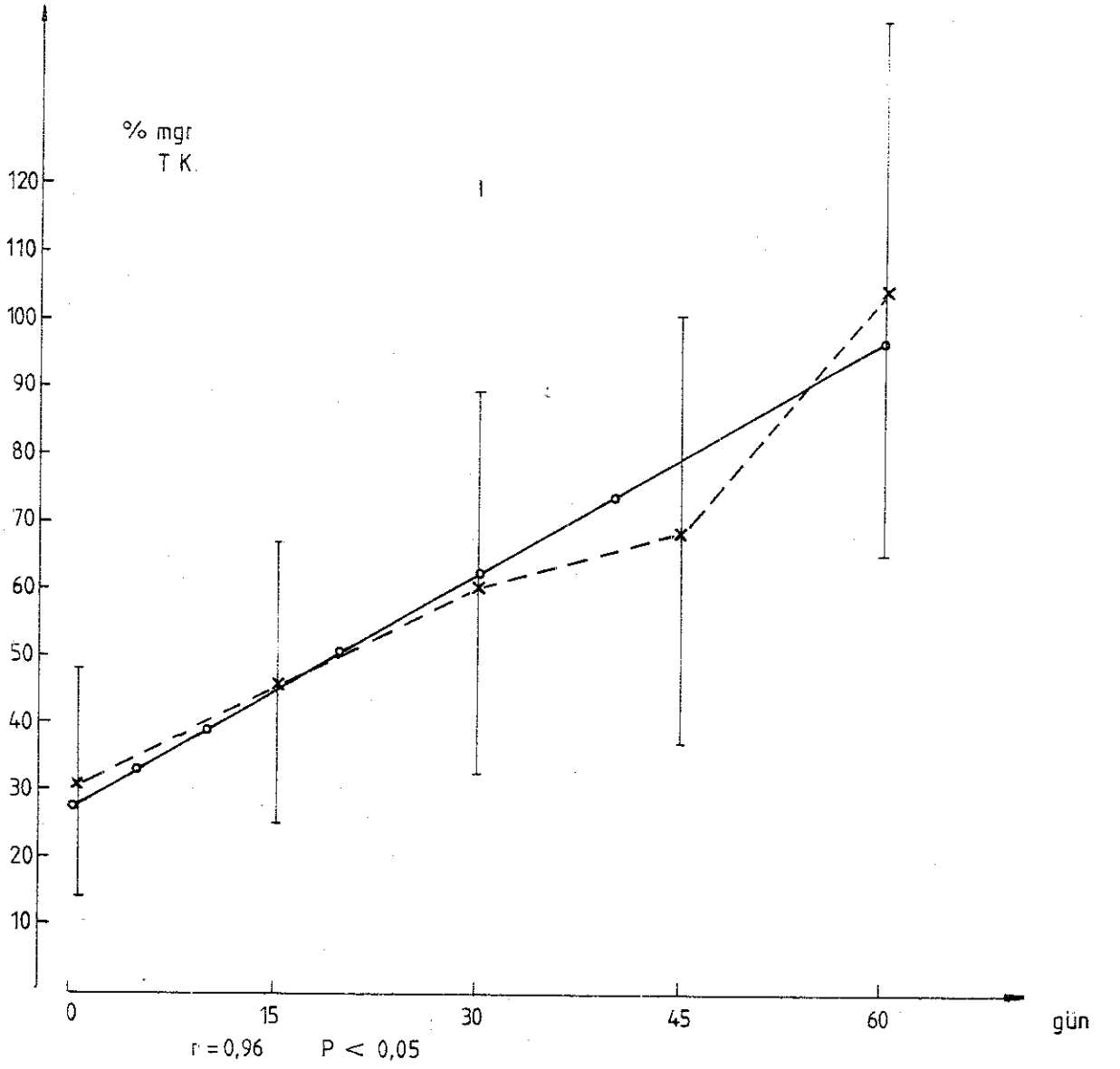
<u>Zaman (gün)</u>	<u>Soya Diyeti Grubu</u>	<u>Kazein Diyeti Grubu</u>
0	61.79 $\pm$ 10.81	30.81 $\pm$ 17.44
15	55.26 $\pm$ 14.52	46.10 $\pm$ 21.34
30	51.02 $\pm$ 13.49	60.61 $\pm$ 28.75
45	56.34 $\pm$ 10.11	68.60 $\pm$ 31.94
60	50.54 $\pm$ 4.97	105.64 $\pm$ 39.90





Şekil : 3 Soya Total Kolesterol ve Diyet Günü Korelasyonu<sup>xx</sup>

Soya fasulyesi diyeti grubunda total kolesterol düzeyleri diyet zamanı içinde hafif bir azalış göstermektedir. Ancak total kolesterol ile diyet günü arasındaki korelasyon katsayısı ( $r$ ) 0,74 olup, "T" testi anlamsız bulundu ( $P > 0,05$ ).



Şekil : 4 Kazein Total Kolesterol ve Diyet Günü Korelasyonu<sup>xx</sup>

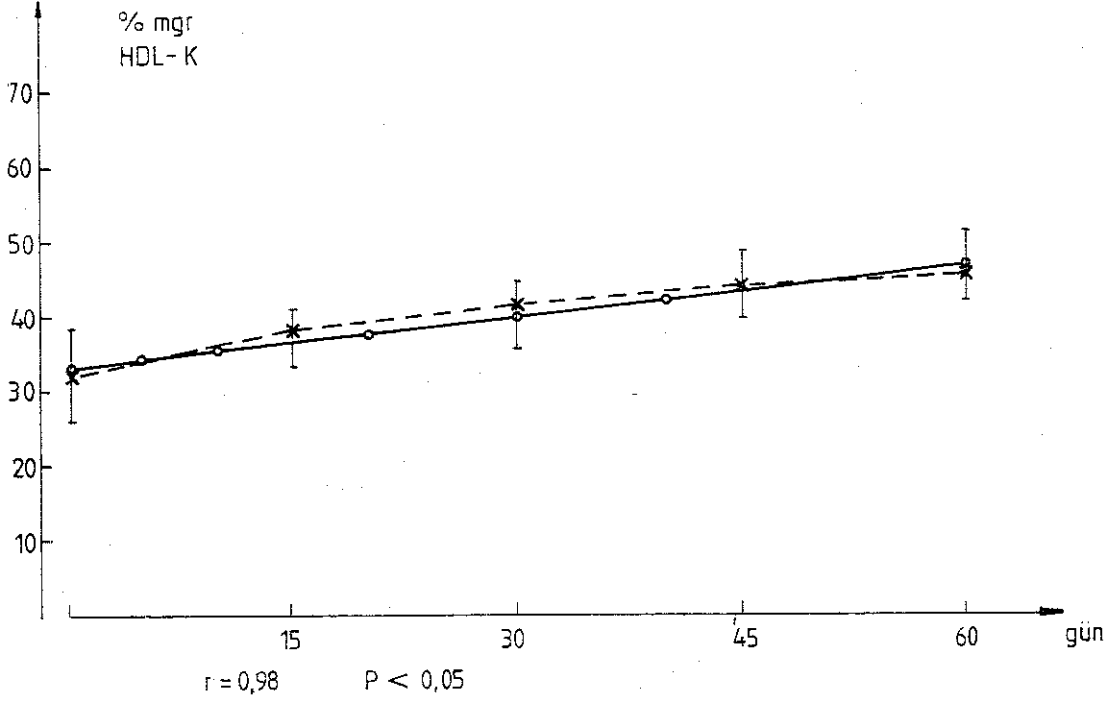
Kazein diyeti grubunda total kolesterol düzeyleri diyet zamanı içinde artış göstermektedir. Total kolesterol ile diyet günü arasındaki korelasyon katsayısı ( $r$ ) 0,96 olup, uygulanan "T" testi anlamlı bulundu ( $P < 0,05$ ).

## C- SERUM HDL-KOLESTEROL BULGULARI

Soya ve kazein grubu HDL-Kolesterol değerleri Tablo IV, Şekil 5 ve Şekil 6'da gösterilmiştir.

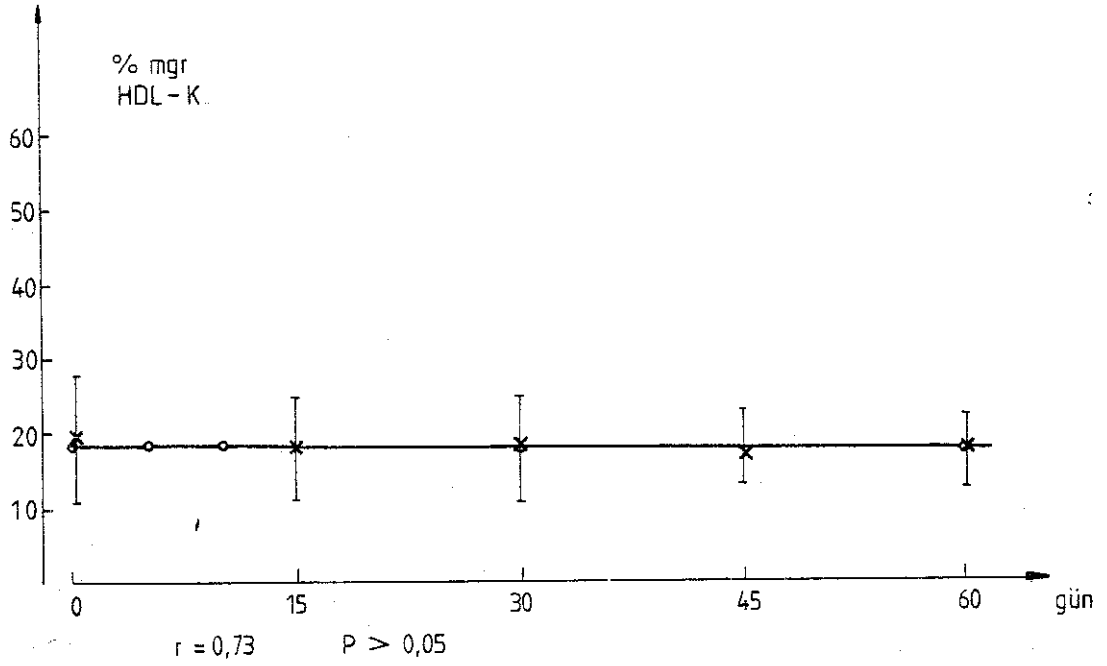
Tablo : IV Soya ve kazein grubu, HDL-Kolesterol ortalama düzeyleri (% mg) ile S.D. değerleri karşılaştırılması.

Zaman (gün)	Soya Diyeti Grubu	Kazein Diyeti Grubu
0	32.01 ± 6.61	19.69 ± 8.48
15	37.42 ± 4.37	18.60 ± 7.71
30	40.80 ± 4.26	18.58 ± 6.79
45	43.99 ± 4.54	17.45 ± 5.15
60	46.44 ± 4.87	17.50 ± 5.00



Şekil : 5 Soya HDL-Kolesterol ve Diyet Günü Korelasyonu<sup>xx</sup>

Soya fasulyesi diyeti grubunda HDL-Kolesterol düzeyleri diyet zamanı içinde artış göstermektedir. HDL-Kolesterol ile diyet günü arasında korelasyon katsayısı (r) 0,98 olup, yapılan "T" testi anlamlı bulundu ( $P < 0,05$ ).



Şekil : 6 Kazein HDL-Kolesterol ve Diyet Günü Korelasyonu<sup>II</sup>

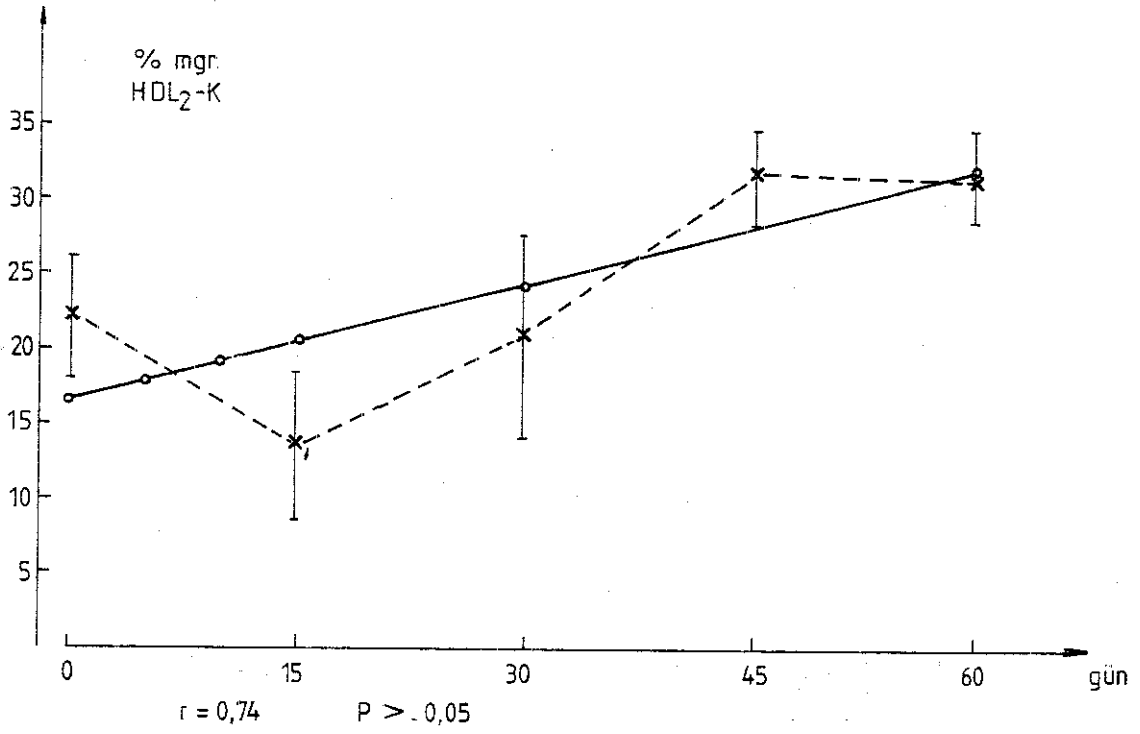
Kazein diyeti grubunda HDL-Kolesterol düzeyleri diyet zamanı içinde bir değişiklik göstermemektedir. HDL-Kolesterol ve diyet günü arasındaki korelasyon katsayısı ( $r$ ) 0,73 olup, yapılan "T" testi anlamsız bulundu ( $P > 0,05$ ).

D- SERUM HDL<sub>2</sub>- KOLESTEROL BULGULARI

Soya ve kazein grubu HDL<sub>2</sub>-Kolesterol değerleri Tablo V, Şekil 7 ve Şekil 8'de gösterilmiştir.

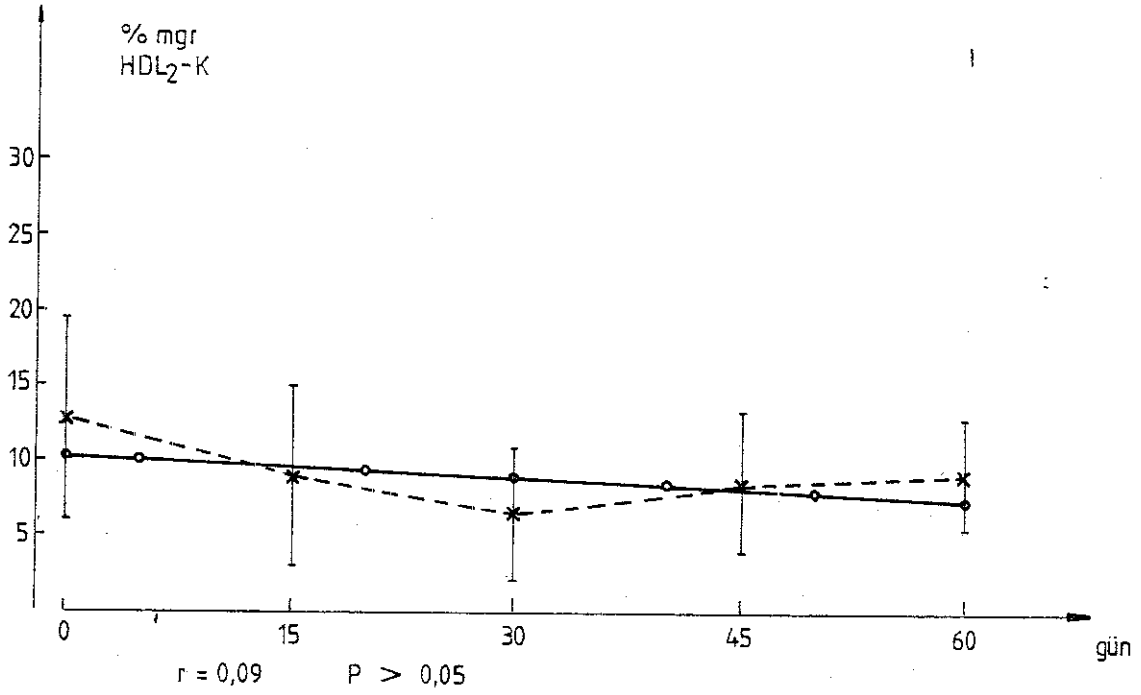
Tablo : V Soya ve Kazein grubu HDL<sub>2</sub>-Kolesterol ortalama düzeyleri (% mg) ile S.D. değerleri karşılaştırılması.

Zaman (gün)	Soya Diyeti Grubu	Kazein Diyeti Grubu
0	22.50 ± 4.65	12.79 ± 7.12
15	13.17 ± 5.03	8.19 ± 6.59
30	20.91 ± 6.62	6.58 ± 4.88
45	32.68 ± 3.57	8.76 ± 5.21
60	31.78 ± 3.07	9.33 ± 3.88



Şekil : 7 Soya HDL<sub>2</sub>-Kolesterol ve Diyet Günü Korelasyonu<sup>xx</sup>

Soya fasulyesi diyet grubu HDL<sub>2</sub>-Kolesterol düzeyleri diyet zamanı içinde bir artış göstermektedir. Ancak, HDL<sub>2</sub>-Kolesterol ile diyet günü arasındaki korelasyon katsayısı ( $r$ ) 0,74 olup, uygulanan "T" testi anlamsız bulundu ( $P > 0,05$ ).



Şekil : 8 Kazein HDL<sub>2</sub>-Kolesterol ve Diyet Günü Korelasyonu<sup>xx</sup>

Kazein diyet grubu HDL<sub>2</sub>-Kolesterol düzeyleri diyet zamanı içinde bir değişiklik göstermemektedir. HDL<sub>2</sub>-Kolesterol ile diyet günü arasındaki korelasyon katsayısı ( $r$ ) 0,09 olup, uygulanan "T" testi anlamsız bulundu ( $P > 0,05$ ).

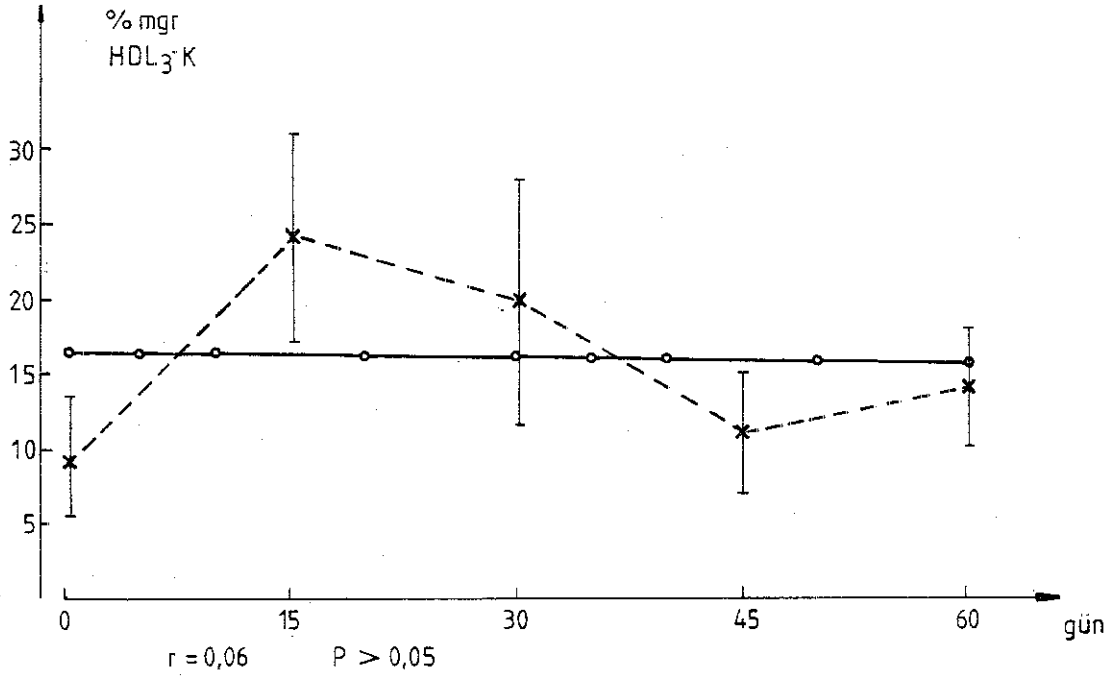


E- SERUM HDL<sub>3</sub>-KOLESTEROL BULGULARI

Soya ve kazein grubu HDL<sub>3</sub>-Kolesterol Değerleri Tablo VI, Şekil 9 ve Şekil 10'da gösterilmiştir.

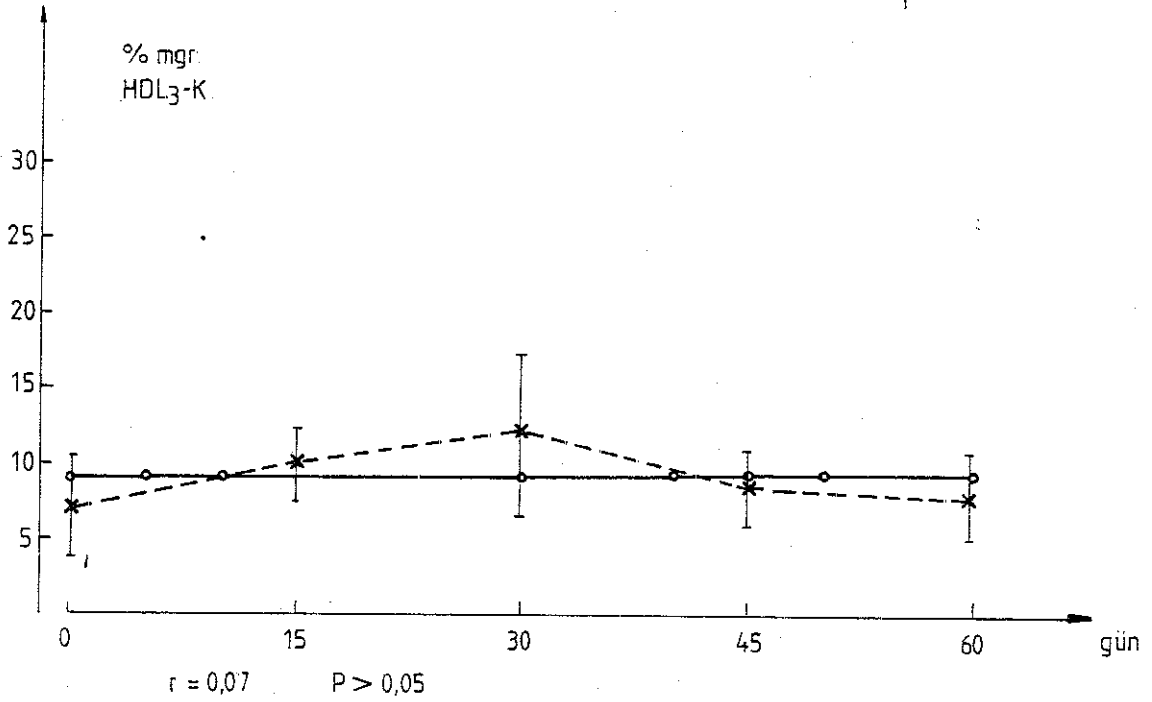
Tablo : VI Soya ve Kazein Grubu HDL<sub>3</sub>-Kolesterol Ortalama Düzeyleri (% mg) ile S.D. Değerleri Karşılaştırması

<u>Zaman (gün)</u>	<u>Soya Diyeti Grubu</u>	<u>Kazein Diyeti Grubu</u>
0	9.51 ± 3.60	6.93 ± 3.43
15	24.25 ± 7.18	10.19 ± 2.62
30	19.82 ± 8.76	12.39 ± 5.44
45	11.31 ± 4.05	8.76 ± 2.64
60	14.67 ± 3.97	8.17 ± 2.86



Şekil : 9 Soya HDL<sub>3</sub>-Kolesterol ve Diyet Günü Korelasyonu<sup>xx</sup>

Soya fasulyesi diyet grubu HDL<sub>3</sub>-Kolesterol düzeyleri diyet zamanı içinde bir değişiklik göstermemektedir. HDL<sub>3</sub>-Kolesterol ile diyetgünü arasındaki korelasyon katsayısı ( $r$ ) 0,06 olup, uygulanan "T" testi, anlamsız bulundu ( $P > 0,05$ ).



Şekil : 10 Kazein HDL<sub>3</sub>-Kolesterol ve Diyet Günü Korelasyonu<sup>xx</sup>

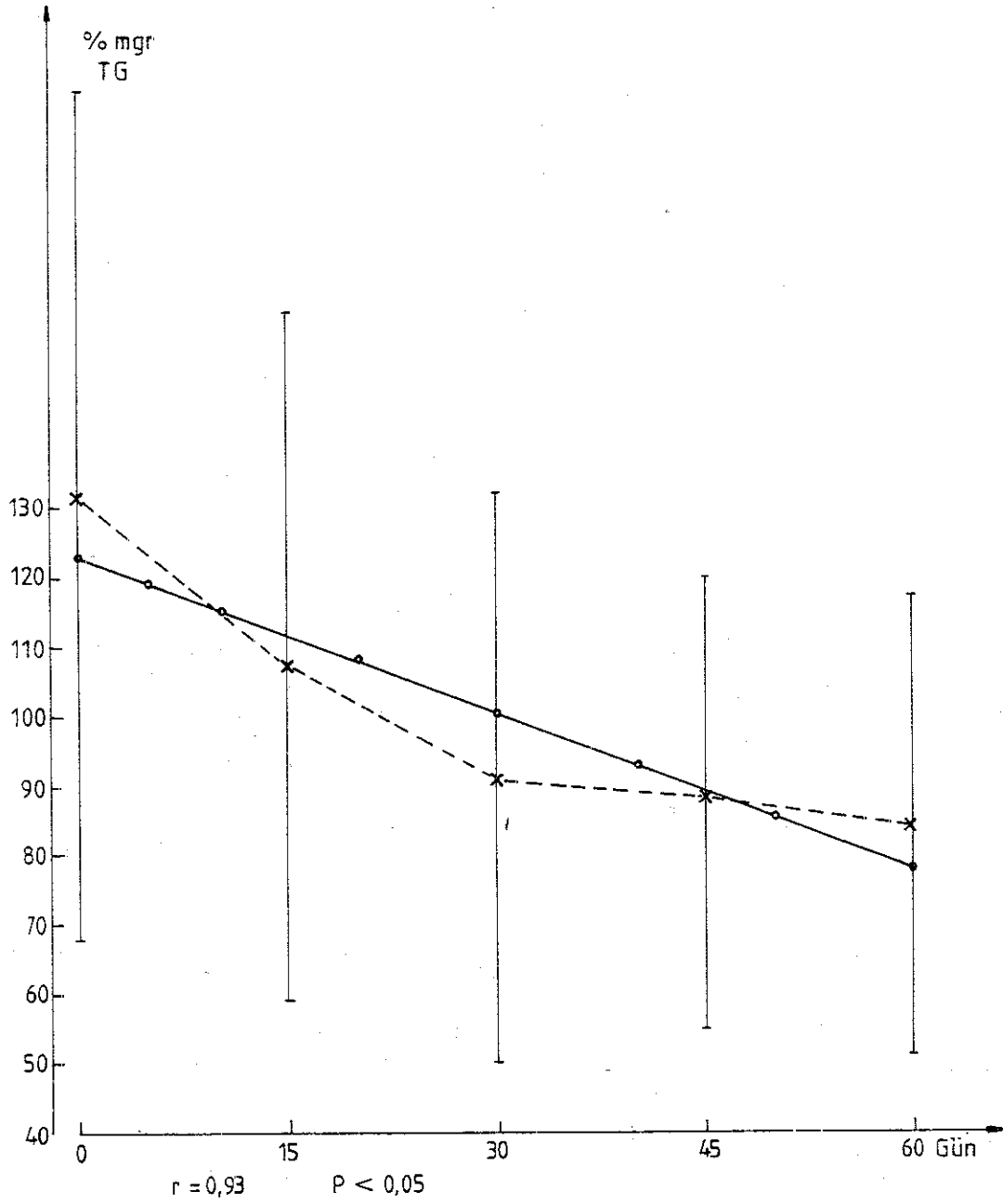
Kazein diyet grubu HDL<sub>3</sub>-Kolesterol düzeyleri diyet zamanı içinde bir değişiklik göstermemektedir. HDL<sub>3</sub>-Kolesterol ile diyet günü arasındaki korelasyon katsayısı (r) 0,07 olup, uygulanan "T" testi anlamsız bulundu (P > 0,05).

## F- SERUM TRİGLİSERİD BULGULARI

Soya ve kazein grubu trigliserid değerleri Tablo VII, Şekil 11 ve Şekil 12'de gösterilmiştir.

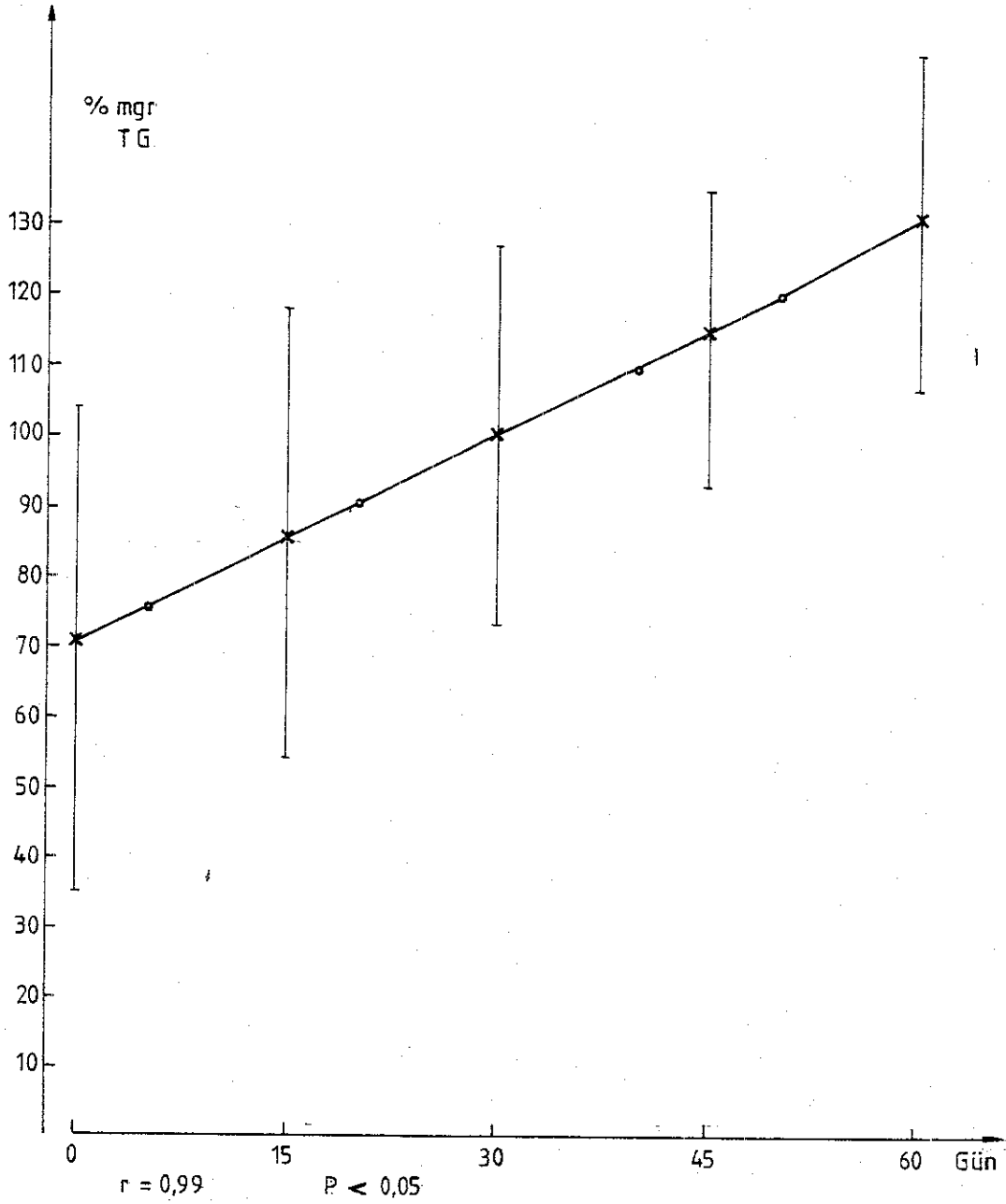
Tablo : VII Soya ve Kazein Grubu Trigliserid Ortalama Düzeyleri (% mg) ile S.D. Değerleri Karşılaştırılması.

<u>Zaman (gün)</u>	<u>Soya Diyeti Grubu</u>	<u>Kazein Diyeti Grubu</u>
0	130.48 $\pm$ 67.04	70.88 $\pm$ 35.70
15	108.26 $\pm$ 49.26	86.04 $\pm$ 31.73
30	91.55 $\pm$ 41.20	100.00 $\pm$ 27.51
45	88.00 $\pm$ 33.27	114.00 $\pm$ 21.66
60	84.62 $\pm$ 33.01	130.66 $\pm$ 24.33



Şekil : 11 Soya Triglisericid ve Diyet Günü Korelasyonu<sup>xx</sup>

Soya fasulyesi diyet grubu Triglisericid düzeyleri diyet zamanı içinde düşüş göstermektedir. Triglisericid ve diyet günü arasındaki korelasyon katsayısı ( $r$ ) 0,93 olup, uygulanan "T" testi anlamlı bulundu ( $P < 0,05$ ).



Şekil : 12 Kazein Triglisericid ve Diyet Günü Korelasyonu<sup>xx</sup>

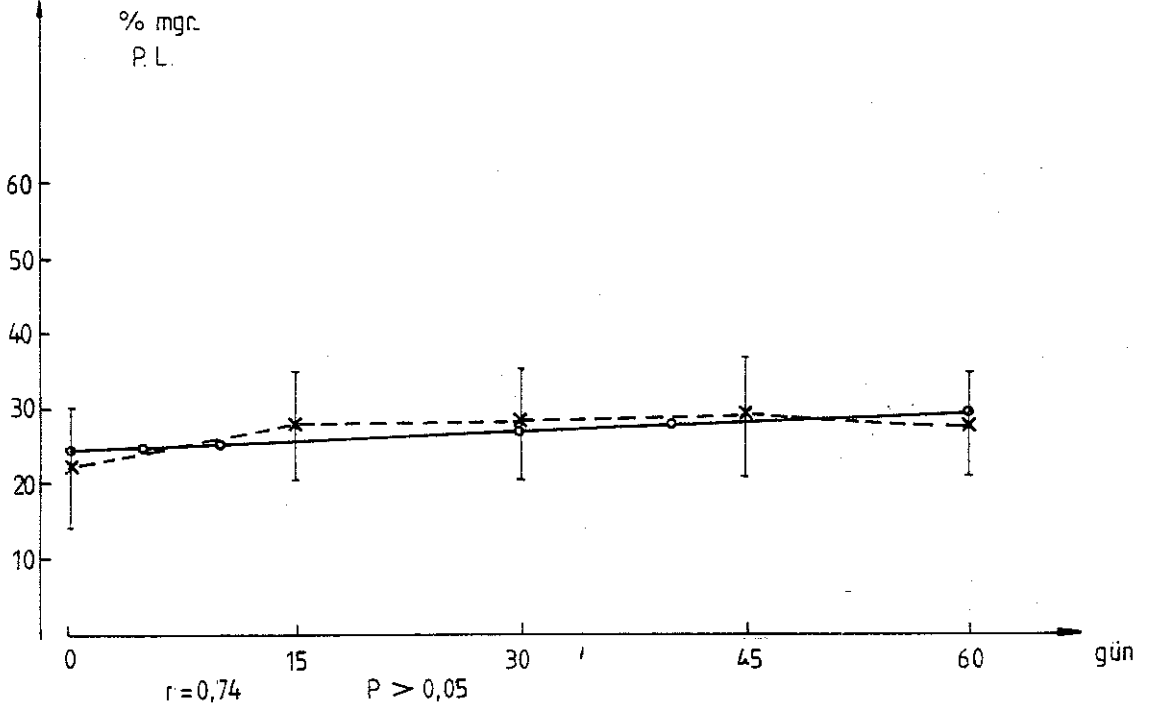
Kazein diyet grubu Triglisericid düzeyleri diyet zamanı içinde artış göstermektedir. Triglisericid ile diyet günü arasındaki korelasyon katsayısı ( $r$ ) 0,99 olup, yapılan "T" testi anlamlı bulundu ( $P < 0,05$ ).

## G- SERUM FOSFOLİPİD BULGULARI

Soya ve kazein grubu fosfolipid değerleri Tablo VIII, Şekil 13 ve Şekil 14'te gösterilmiştir.

Tablo : VIII Soya ve kazein grubu fosfolipid ortalama düzeyleri (% mg) ile S.D. değerleri karşılaştırılması.

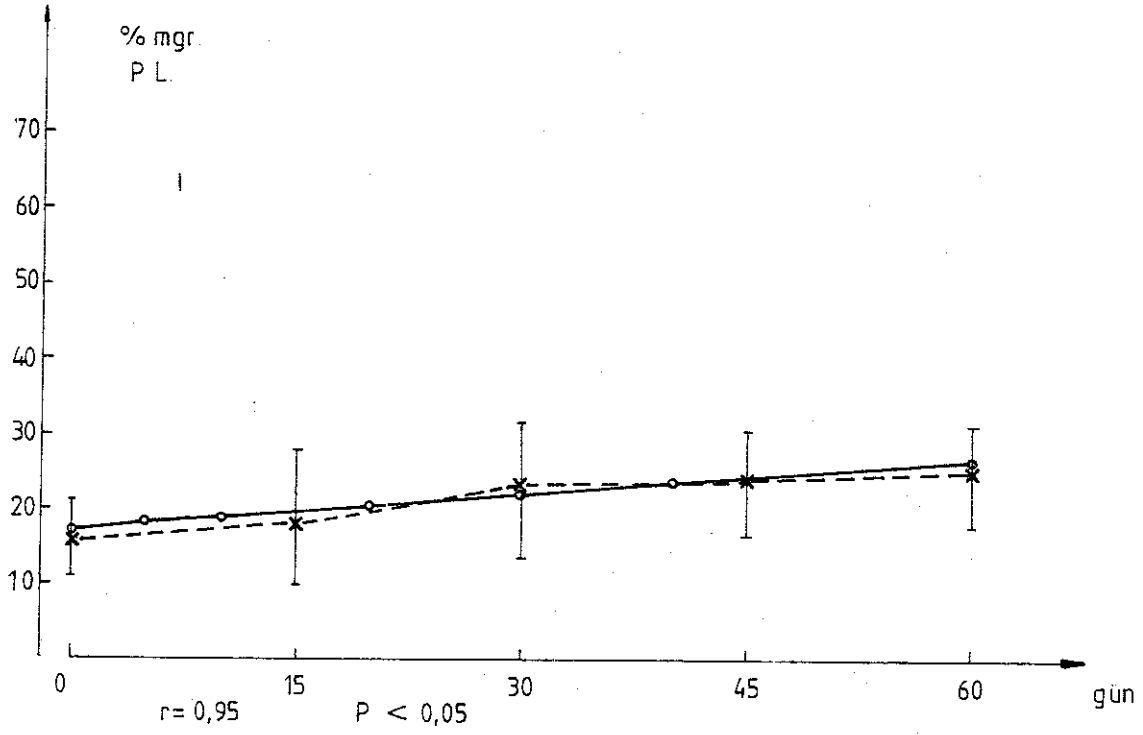
<u>Zaman (gün)</u>	<u>Soya Diyeti Grubu</u>	<u>Kazein Diyeti Grubu</u>
0	22.32 $\pm$ 8.32	16.07 $\pm$ 5.33
15	27.54 $\pm$ 6.87	19.10 $\pm$ 8.78
30	28.64 $\pm$ 7.62	23.08 $\pm$ 9.00
45	28.98 $\pm$ 8.23	24.18 $\pm$ 6.98
60	28.10 $\pm$ 6.91	25.92 $\pm$ 6.62



Şekil : 13 Soya Fosfolipid ve Diyet Günü Korelasyonu<sup>xx</sup>

Soya fasulyesi diyet grubunda fosfolipid diyet zamanı içinde bir değişiklik göstermemektedir. Fosfolipid ile diyet günü arasındaki korelasyon katsayısı ( $r$ ) 0,74 olarak hesaplandı. Yapılan "T" testi anlamsız bulundu ( $P > 0,05$ ).





Şekil : 14 Kazein Fosfolipid ve Diyet Günü Korelasyonu<sup>xx</sup>

Kazein diyeti grubunda fosfolipid düzeyleri diyet zamanı içinde artış göstermektedir. Fosfolipid ile diyet günü arasında korelasyon katsayısı (r) 0,95 olarak hesaplandı. Uygulanan "T" Testi anlamlı bulundu ( $P < 0,05$ ).

H- DENEY HAYVANLARININ AĞIRLIKLARI İLE İLGİLİ BULGULAR

Belli zaman sürelerinde 0., 15., 30., 60. günlerde ölçülen ağırlık değerleri ; her iki grup için de artış gösterdi. Ancak artış soya fasulyesi diyeti grubu için % 11,6, kazeln diyeti grubu için % 22,5 olarak bulundu.

Tablo : IX Soya ve Kazeln Grubu Ağırlık Ortalama Değerleri (gr) ile S.D. Değerleri Karşılaştırılması.

Zaman (Gün)	Soya Diyeti Grubu	Kazeln Diyeti Grubu
0	1851.66 ± 145.21	1808.75 ± 248.85
15	1941.11 ± 246.34	1912.50 ± 263.75
30	2094.44 ± 241.35	1995.00 ± 257.84
45	2087.77 ± 232.47	2087.50 ± 244.58
60	2143.33 ± 220.39	2255.00 ± 382.92

Uygunlaşma "İki Ortalama Arasındaki Önemlilik Testi" ve "T" testi anlamsız bulundu ( $P > 0,05$ ).

## I- PATOLOJİK DEĞERLERLE İLGİLİ BULGULAR

Soya diyeti ile beslenen iki tavşanın otopsisini yapıp, makroskopik olarak tüm aorta açıldığında iç yüz parlak ve düzgün olarak izlendi. Bütün organlar normal görünümde idi. Karaciğerde az sayıda parakim hücrelerinde total lipidler için yapılan Oil Red O' ile pozitif boyanan vakuoller dikkati çekiyordu. Aortta ve beyinde herhangi bir özellik görülmedi. Trigliseridler için uygulanan boyama ile negatif sonuç alındı.

Kazein diyeti ile beslenen diğer iki tavşandan birinin karaciğerinin normale göre kıvamı artmıştı. Diğer organlarda herhangi bir özellik bulunamadı. Mikroskopik olarak total lipid için karaciğer kesitlerine yapılan Oil Red O' boyamada karaciğer hücrelerinin çoğunda pozitif granüller izlendi. Trigliserid için yapılan boyama negatif bulundu. Diğer organlar normal özellikte idi.

Kazein diyeti ile beslenen diğer tavşanda ise makroskopik karaciğerde belirgin yağlanma dikkati çekiyordu. Fakat diğer organlar, aorta iç yüzü normal özellikte idi. Mikroskopik olarak karaciğer hücrelerinin çoğunda nüve bir kenara itilmişti ve büyük vakuoller görülmekteydi. Oil Red O' ile bu vakuoller pozitif boyanmıştı. Trigliseridler için yapılan boyama ise negatifti. Aorta ve beyinde herhangi bir pozitif boyanma izlenmedi.

## J- DENY HAYVANLARININ TAKİPLERİ İLE İLGİLİ BULGULAR

8 haftalık diyete alınan her iki gruptaki tavşanların ilk 4 saat içinde yemlerini bitirdikleri gözlemlendi. Beslenme süresince kafeslerinde devamlı bulundurulmuş suyu içtiler. Diğerleri uzun olan tavşanların yem ve su içmelerine engel olmaması için kostektomla

dişleri kısaltıldı. Böylece daha iyi yem yedikleri ve su içtikleri izlendi.

Soya grubunun dışkıları normal koyu renkte, kazein grubunun dışkıları ise açık (akolorik) beyaz renkte idi. Her tavşanın günlük aldığı yem miktarı yaklaşık olarak kaydedildi. 8 hafta sonunda her grubun yaklaşık yem alma oranı hesaplandı. Bu değerler yaklaşık olarak soya grubu için % 95, kazein grubu için % 89 bulundu.

Kazein grubunda tavşanların tüylerinde 8 hafta sonunda daha belirgin parlaklık ve canlılık izlendi.

Diyete alındıktan sonra ilk hafta içinde, kazein grubundaki bir tavşanda diare görüldü. Yakın takip ve tedaviye alınmasına rağmen eks oldu. Yine soya diyeti grubunda 8. haftada bir tavşan üç gün yemi çok düşük oranda aldı. Takibe rağmen 4. gün eks oldu. Beslenme süresince kazein diyeti grubunda bir vakada otitis media görüldü ve tedavi edildi. Haricen kulaklarında herhangi bir enfeksiyona rastlanmadı.

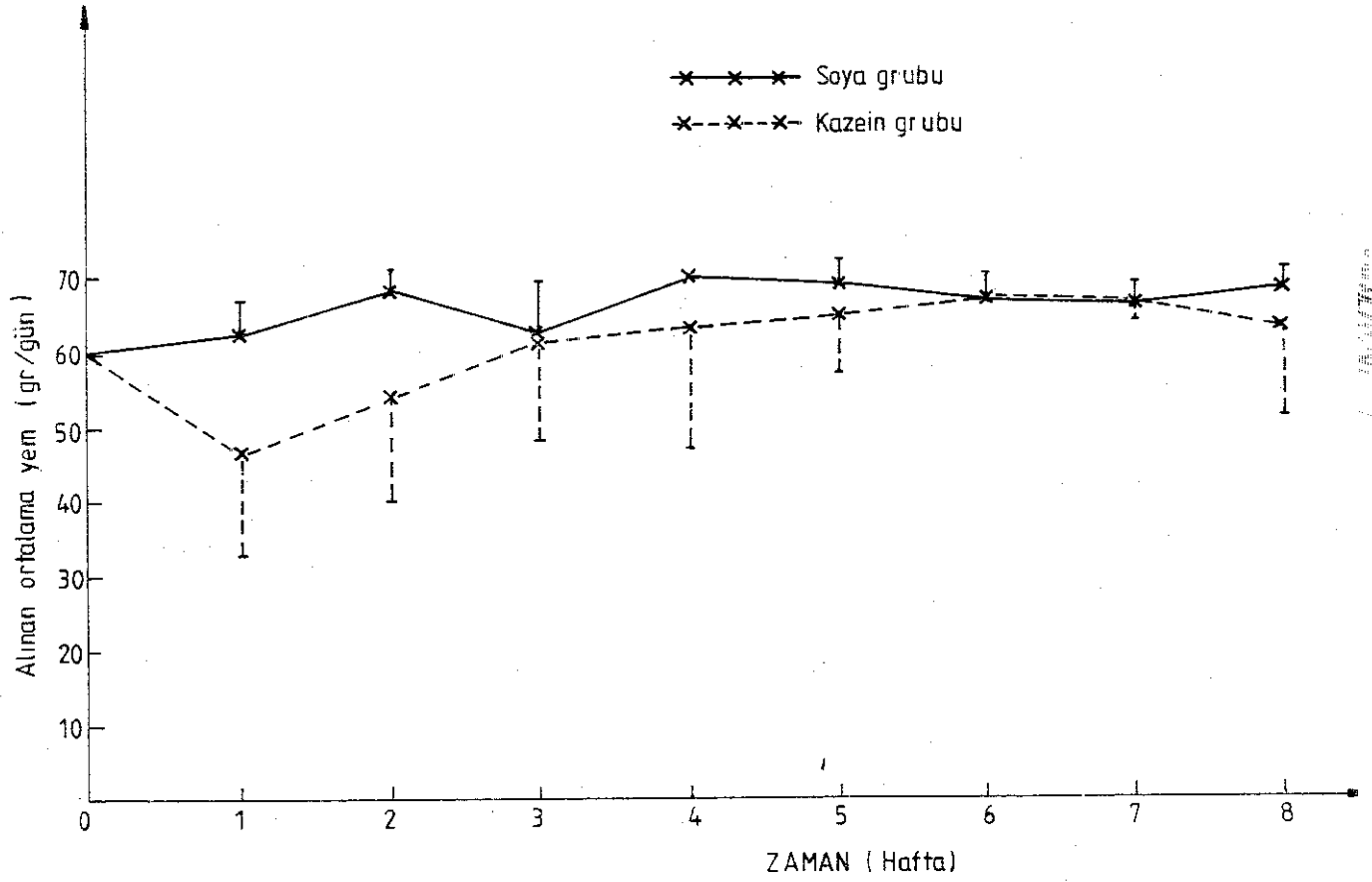
#### DENEY HAYVANLARININ YEM ALIŞI İLE AĞIRLIK DEĞİŞİMİ ARASINDAKİ İLİŞKİ İLE İLGİLİ BULGULAR

Her iki diyet grubunda tavşanların günlük aldıkları yem ortalamalarının (gr/gün) haftalara göre dağılımı ve karşılaştırılması, Tablo X'da ve Şekil 15'te gösterilmiştir.

Tablo : X Soya ve kazein gruplarında yem alma ortalamalarının (gr/gün) haftalara göre dağılımı ve karşılaştırılması.

<u>Zaman (Hafta)</u>	<u>Soya diyeti grubu</u>	<u>Kazein diyeti grubu</u>
I.	62.77 <sup>±</sup> 5.65	46.61 <sup>±</sup> 14.21
II.	68.46 <sup>±</sup> 2.39	53.93 <sup>±</sup> 14.27
III.	62.54 <sup>±</sup> 6.84	61.91 <sup>±</sup> 14.61
IV.	69.78 <sup>±</sup> 0.44	63.68 <sup>±</sup> 17.73
V.	69.11 <sup>±</sup> 2.67	64.78 <sup>±</sup> 8.18
VI.	67.17 <sup>±</sup> 3.32	67.67 <sup>±</sup> 3.20
VII.	66.78 <sup>±</sup> 4.02	66.20 <sup>±</sup> 2.92
VIII.	68.59 <sup>±</sup> 1.99	63.38 <sup>±</sup> 12.02

Kazein grubunun I. ve II. haftaları hariç, diğer haftalarda her iki gruptan da ortalama yem alma (gr/gün) değerleri birbirine çok yakın değerlerde bulundu.



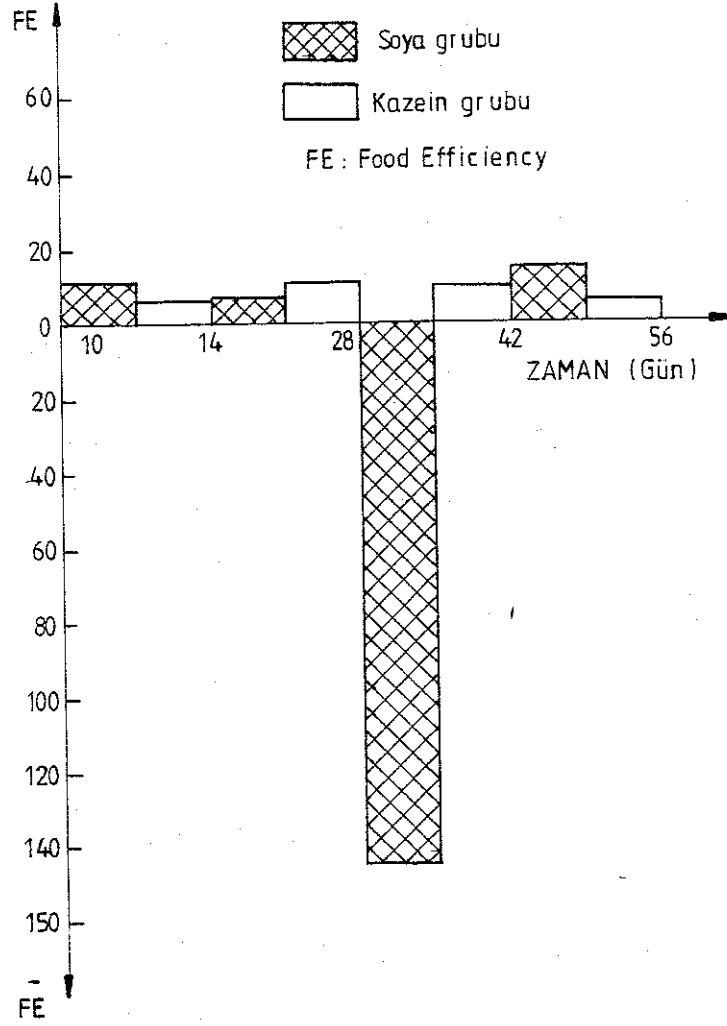
Şekil : 15 Soya ve kazein diyet gruplarının haftalara göre yem alma ortalamalarını gösterir grafik.

Soya ve kazein diyeti gruplarında alınan yem miktarının (gr/gün) ağırlık değişimine (gr/gün) olan etkisinin ikişer haftalık zaman periyotlarına göre dağılımı ve karşılaştırılması Tablo XI ve Şekil 16'da gösterilmiştir.

Tablo : XI Soya ve kazein gruplarında alınan besinin (gr/gün), ağırlık değişimine (gr/gün) oranı (Food Efficiency=F.E) ve karşılaştırılması.

<u>Zaman (gün)</u>	<u>Soya diyeti grubu</u>	<u>Kazein Diyeti grubu</u>
0-14	10.27	6.77
14-28	6.02	10.70
28-42	-145.02	9.98
42-56	14.02	5.40

Tabloda da görüldüğü gibi soya diyeti grubunda en bariz, yemden yararlanamadığı dönem 6. ve 7. haftalara tekabül etmektedir. Soya diyeti grubunun en belirgin yemden yararlanabilme dönemi, 3. ve 4. haftalara, kazein diyeti grubunda ise 1., 2., 7. ve 8. haftalara rastlamaktadır.



Şekil : 16 Soya ve kazein diyeti gruplarında ikişer haftalık zaman periyotlarında alınan yemin ağırlık değişimine etkisini (Food Efficiency=F.E) gösterir grafik.



## TARTIŞMA

## I. TOTAL LİPİD BULGULARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

a) Soya Diyeti Grubu : Total lipid değerleri, soya diyeti grubunda sekiz haftalık beslenme sonunda diyet öncesi düzeylere göre önemli bir düşüş gösterdi. (diyet öncesi % 291,47  $\pm$  88,36 mg, diyet sonu % 198,79  $\pm$  28.59 mg). Tablo II'de görüldüğü gibi en belirgin düşüş ilk iki haftalık sürenin sonunda görüldü. Son haftalarda ise daha yavaş azalma izlendi.

Soya diyet grubunda total lipid ortalama değerlerinin düşüşü ile belli zaman süreleri arasındaki korelasyon pozitif yönde olup, korelasyon katsayısı (r) 0,90 idi. Soya diyeti grubunda total lipid değerlerinin azalışı istatistiksel olarak anlamlı bulundu (P < 0,05).

b) Kazein Diyeti Grubu : Sekiz haftalık bir beslenme sonucu elde edilen total lipid ortalama değerleri, diyet öncesi ortalama total lipid değerlerine göre önemli derecede artış gösterdi. Tablo II'de görüldüğü gibi, diyet öncesi değerler % 148,23  $\pm$  59,78 mg, diyet sonrası % 281,55  $\pm$  59.09 mg. olarak bulundu. Kazein diyeti grubunda beslenme süresince ikişer haftalık süre ile elde edilen total lipid değerleri dört zaman periyodundan da yaklaşık eşit değerlerde yükselme gösterdi. Total lipid değerleri ile zaman periyodu arasında pozitif bir korelasyon görüldü ( $r=0,98$ ). Total lipid değerlerinin kazein grubundaki yükselişi istatistiksel olarak da anlamlı bulundu ( $P < 0,05$ ).

Soya diyeti grubunda, T.Lipid değerlerinin düşüşü, kazein diyeti grubunda ise artışı, her ne kadar ateroskleroz tanısında tek bir tanı parametresi olarak kabul edilmese bile soya fasulyesi diyetinin hipolipidemik ve antiaterojenik olduğunu, kazeinin ise hiperlipidemik ve aterojenik olduğunu düşündürür.

Soya fasulyesinin bu özelliği hiperlipidemi oluşumunun önlenmesinde ve tedavisinde yararlı olabilir. Bazı dislipidemi ve hiperlipoproteinemi vakalarında düşük yağlı diyete proteinin eklenmesinin daha iyi sonuçlar verdiği bildirilmiştir (43, 59).

Soya proteini çalışmalarından alınan sonuçlarla (43, 59) çalışmamızdaki tam soya sonuçları uyum sağlamaktadır. O halde diyete soya proteini yerine tam soya eklemek mümkündür.

## II. TOTAL KOLESTEROL BULGULARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

a) Soya Fasulyesi Diyet Grubu : Total kolesterol düzeyleri sekiz haftalık diyet süresince düşüş göstermesine rağmen bu

düşüş istatistikî olarak anlamlı değildi ( $P > 0,05$ ). Tablo III'te görüldüğü gibi, diyet öncesi % 61,79  $\pm$  10,81 mg. diyet sonu % 50,54  $\pm$  4,97 mg. idi. Total kolesterol değerleri ile belirli zaman periyotları arasındaki korelasyon 5. ve 6. haftalarda uygunsuzluk gösterdi. Yine de tüm değerlerin zaman periyotlarına (2 haftalık) göre korelasyon katsayısı 0,74 bulundu. Soya diyeti grubu diyet öncesi kontrol serum total kolesterol düzeyleri, diğer araştırmacıların kontrol düzeyleri ile uyum sağlamaktadır (6, 47, 53). Beynen ve arkadaşlarının çalışmalarında, sekiz haftalık soya proteini diyetinden sonra serum total kolesterol düzeylerinin düştüğünü bildirmişlerdir (6).

Tavşan, rat, fare ve domuz gibi deney hayvanları ile yapılan araştırmalarda, kolesterol ve kazeinli diyetle veya elektrik gibi diğer etkenlerle hiperkolesterolemi oluşturulmuştur. Bu vakalara soya fasulyesi proteini diyeti uygulandığında hem serum hem de safra total kolesterol düzeylerinin normale döndüğü gösterilmiştir (3, 6, 7, 51, 61).

Soya fasulyesinin bu etkisinden yararlanmak amacı ile tedavi yöntemleri denenmiştir. Bunlardan, Pesciatini ve arkadaşları dislipidemilerin tedavisinde başarılı sonuçlar elde etmişlerdir (43).

Sirtori ve arkadaşları, 20 Tip II hiperkolesterolemik hastaya üç gün soya proteini uygulandıktan sonra yapılan ölçümlerde % 31'lik kolesterol azalışı rapor etmişlerdir. Bu azalış özellikle LDL-Kolesterol fraksiyonunda daha bariz olarak görülmüştür (51).

Bazı son çalışmalar, soya ve diğer bitkisel (pamuk tohumu v.s.) kaynaklı proteinlerin safra taşı oluşumunu azalttığını ve hatta safra taşı tedavisinde etkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir (6, 33, 43).

Mahfouz ve arkadaşları, ticari yemi kontrol olarak kullanarak kazein, soya ve pamuk tohumu proteinlerinin safra taşı oluşumuna etkilerini Hamsterlerde incelemişlerdir. Sonuç olarak bitkisel proteinlerin safra taşı oluşmasını azalttığını ve bu etkisini safra kolesterolünü düşürerek meydana getirdiğini bildirmişlerdir (33).

Soya fasulyesi proteinin kan lipidlerini nasıl düşürdüğü hakkında halen kesin bir delil yoktur. Kritchevsky, bu etkinin soya fasulyesi proteinindeki düşük lizin/Arginin oranına dayandığını ileri sürmüştür (43). Bu görüşe göre etki mekanizması amino asid düzeyinde olmaktadır. Yine Park ve Liepa, bitkisel diyetle alınan lizin ve argininin hipokolesterolemik etkide rolü olabileceğini ileri sürmüşlerdir (33).

Huff, Carroll ve Nagata, tavşanlarda ve ratlarda soya proteininin kazeine göre hipokolesterolemik etki oluşturmasını incelemişler, soya proteininin fekal steroid itrahını artırdığını ve barsakta kolesterol emilimini azalttığını göstermişlerdir (25).

Bir araştırma ratlara soya fasulyesi proteini verilmesinin Hepatik Metil-glutarik KoA Redüktaz ve intestinal Redüktaz aktivitelerini yükselttiğini bildirmişlerdir (25). Barsaktan kolesterol emilimi azaldığından hepatic aktivitedeki artış kolesterogenezin Feed-Back inhibisyonunun kısmen kalkmasına bağlıdır. Aynı şey daha az ölçüde İntestinal Redüktaz içinde geçerlidir. Bu durum soya proteini - nin hipokolesterolemik etkisinin hem karaciğer hem de barsaklar tarafından regüle edildiği kanaatını kuvvetlendirir (25).

Soya proteinin hipokolesterolemik etkisi diyetsel yağların miktarına ve tipine de bağlıdır (25, 43, 59). Bu etki düşük lipidli diyetle daha belirgindir (25, 59). Diyetteki yağ düzeyi artınca

barsaktan kolesterol emilimi artacağından, soya fasulyesi proteini- nin hipokolesterolemik etkisi yalnız karaciğerin katkısı ile olur (25).

b) Kazein Diyeti Grubu : Total kolesterol bulguları se- kiz haftalık bir kazein diyeti uygulandıktan sonra, ortalama de- ğerler diyet öncesi değerlere göre yüksek bulundu. Tablo III'te gö- rüldüğü gibi, diyet öncesi total kolesterol ortalama değeri % 31,81  $\pm$  17.44 mg. diyet sonrası (sekiz haftalık) % 105.64  $\pm$  39.90 mg'a u- laştı.

Kazein grubunun total kolesterol artışının en belirgin dö- nemi son iki haftalık periyotta görüldü. Şekil 4'te görüldüğü gibi kazein grubu total kolesterol değerleri ile belli zaman süreleri a- rasındaki korelasyon pozitif yönde olup, korelasyon katsayısı (r) 0,96 idi. Kazein diyetinin meydana getirdiği hiperkolesterolemik değer, istatistiksel olarak da anlamlı bulundu ( $P < 0,05$ ).

Beynen ve arkadaşlarının, bizim diyete benzer bir kazein di- yeti ile Yeni Zelanda tavşanlarında yaptıkları bir çalışmada, se- kiz haftalık beslemeden sonra total kolesterol düzeyleri, diyet ön- cesi % 84.36  $\pm$  22.05 mg. diyet sonrası % 144.35  $\pm$  61.14 mg. olarak bulmuşlardır (6). Bu artış istatistiksel olarak da anlamlıdır ( $P < 0,05$ ).

Bu araştırma ile bulgularımız uyumlu olmakla beraber, kolesterol dü- zeylerimizdeki artış daha belirgindir. Bir çok araştırmacı kazeinle hazırlanmış semipürifiye diyetle deney hayvanlarında (tavşan, Hams- ter, fare, rat, domuz) ve insanlarda yaptıkları çalışmalarla kazei- nin tartışılmaz bir şekilde hiperkolesterolemik olduğunu göstermiş- lerdir (3, 6, 7, 10, 33, 51). Bu çalışmalarda, kazein diyeti, ya direkt olarak (51), ya da soya veya diğer bitkisel proteinlerle

(pamuk tohumu proteini v.s.) yer değiştirerek (3), veya karşılaş - tırılarak (6,7, 33) uygulanmıştır. Hepsinden elde edilen hiperko - lesterolemik etkiler, bizim bulgularımıza desteklemektedir. Yarı pü - rüfiye kazein diyeti, bu çalışmaların bazılarında yalnız serum ko - lesterolünü değil, aynı zamanda safra kolesterolünü ve karaciğer ko - lesterolünü de anlamlı bir şekilde yükseltmiştir (6,33). Kontrol gruplarında soya proteini diyeti ve ticari yem kullanılmıştır.

Meer, R.V. ve arkadaşları yaptıkları bir çalışma ile kaze - nin hiperkolesterolemik ve diğer etkilerinin kalsiyum tarafından inhibe edildiğini ileri sürmüşlerdir (44). şöyle ki diyetel kalsi - yumun artan miktarı, hem intestinal hem de plazma lipid parametre - leri üzerinde kazeine spesifik etkileri inhibe etmiştir (44). Ayırı - ca serum total ve serbest kolesterolünün fosfolipide oranını artır - mıştır. Çalışmada, kontrol diyeti olarak soya proteini diyeti kul - lanılmışlardır. Bu diyetle herhangi bir değişiklik görülmemiştir (44) Kazein hiperkolesterolemik etkisini safra asitlerinin entero hepa - tik siklüsü üzerinden gösterir (44)

West, C.E., ve arkadaşları da, formaldehidle muamele edil - miş kazeinin, tavşanlarda hiperkolesterolemik etkiyi azalttığını bildirmişlerdir (61). Ayrıca kazeinin hiperkolesterolemik, soya izo - lesinin hipokolesterolemik etkilerini üçüncül yapılarıyla meyda - na getirdiklerini ileri sürmüşlerdir (61). Kazeinin oluşturduğu hi - perkolesterolemideki etki mekanizmasını birçok araştırıcı açıklama - ya çalışmışlardır (3, 10, 25, 44, 61).

Huff ve Carroll kazeinin, kolesterolün safra asidine dönüş - mesini ve fekal steroid itrahinı azalttığını göstermişlerdir (3, 61).

Carroll, kolesterolsüz, kazein içeren yarı sentetik diyetle beslenen tavşanlarda, karaciğerde kolesterol sentezinin bozulduğu rapor etmiştir (3, 10).

Kazeinle beslenen hayvanlarda, ya safra asitleri veya kolesterolün safra ile atılımı azalmakta, yada steroidlerin barsaktan emilimi artmaktadır. Kazein, steroidlerin safra akımını inhibe etmediğine göre, absorpsiyonun artması muhtemelen kazeinin başlıca etkisidir (10). Tavşan, rat ve domuzlarda kazein diyetinin, soya diyetine göre barsaktan kolesterol ve safra asidlerinin absorpsiyonunu artırdığı kanıtlanmıştır (10). Kazeinin sebep olduğu safra asidlerinin artması, vena portada ve karaciğerde daha yüksek safra asidi konsantrasyonuna yol açar. Bu, kolesterol-7- $\alpha$ -hydroxylase'in inhibisyonuna sebep olacaktır. Halbuki bu enzim kolesterolün safra asidine dönüşmesinin ilk adımını katalize etmektedir (10). Bu mekanizma ile hiperkolesterolemi oluşabilir.

Proteinden kaynaklanan plazma kolesterol düzeylerinin belirlenmesinde, hepatik lipoprotein reseptörlerinin diyet proteinleriyle modülasyonun kritik rol oynadığını, Lovati, Cohn ve Nestel ileri sürmüşlerdir (10). Araştırmacılar soya proteini ile karşılaştırıldığında kazeinin hiperkolesterolemik etkisinin VLDL'nin hepatik reseptörlere bağlanmasının azalması ve azalmış VLDL katabolizmasıyla ilgili olduğunu göstermişlerdir (10). Karaciğerde kolesterol alınımını kolaylaştıran LDL reseptörlerinin varlığı bilinmektedir (3). Chai ve arkadaşları Erkek Yeni Zelanda tavşanlarıyla yaptıkları çalışmada, kazeinle beslenen hayvan karaciğer membranında LDL'nin daha az bağlandığını ve EDTA'ya hassas reseptörlerin azaldığını belirlemişlerdir. O halde, kazein, hiperkolesterolemik etkisini karaciğer-

de LDL-C reseptörlerini azaltarak göstermektedir (3). Kazeinin hiper, soyanın hipokolesterolemik etki mekanizmasını izah eden bazı çalışma ve görüşlerde şöylece sıralanabilir,

Proteinlerin sindirilebilirliği, serum kolesterol düzeyleri üzerindeki etkileri açısından önemlidir. Tamamen sindirilemeyen proteinler, safra asidlerinin emilimini bozarlar (61). Aynı zamanda safra asidlerinin enterohepatik dolanımını da bozarlar. Bu da feçesle steroidlerin aşırı kaybına ve daha düşük serum kolesterol düzeylerine yol açar (61). Soya proteini ince barsağın distal kısmında ve safra asidlerinin emiliminin olduğu yerde sindirilebilirliği daha azdır (61). Ayrıca, soya proteini ile beslenen tavşanların kazein diyetindeki tavşanlardan daha fazla steroid itrah ettikleri gösterilmiştir (61). Roy ve Schneeman farelerde yaptıkları çalışmalarda, soya proteinin, kazeinine nazaran daha düşük sindirim hızına sahip olduğunu gözlemişlerdir (61). Ayrıca sindirim sırasında açığa çıkan amino asid sırası önemli olabilir.

#### HDL-KOLESTEROL BULGULARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

a) Soya Grubu HDL-kolesterol Bulguları : Sekiz haftalık soya diyeti ile beslenme sonucu serum HDL-Kolesterol düzeyleri Tablo IV de görüldüğü gibi diyet öncesi HDL-Kolesterol düzeylerine göre yüksek bulundu. Diyet öncesi HDL-Kolesterol düzeyleri %  $32,01^{+6.61}$  mg'dı. Sekiz haftalık diyet sonunda bu düzey %  $46.44^{+4.87}$  mg'a ulaştı. İkişer haftalık zaman sürelerinde saptanan HDL-Kolesterol değerleri ile zaman periyotları arasında Şekil 5'te görüldüğü gibi pozitif yönde bir korelasyon görüldü, ve korelasyon katsayısı (r) 0,98 idi. Soya fasulyesi diyetinin HDL-Kolesterolünde oluşturduğu bu ar-



tış istatistiksel olarak da anlamlı bulundu ( $P < 0,05$ ). Soya fasulyesi diyeti ile ilgili multicentre bir çalışmada, sekiz İtalyan ve bir İsviçre Lipid kliniğinden seçilen 127 stabil tip II hiperlipoproteinemili vakaya hayvansal protein yerine 8 hafta süresince soya fasulyesi diyeti uygulanmıştır. Bu süre sonunda 67 erkek hastada % 23,1, 60 kadın hastada % 25,3 oranında serum kolesterolü düşmesine rağmen HDL-Kolesterolünde anlamlı bir değişiklik olmamıştır (16).

Yine Verrillo, A. ve arkadaşları soya proteini ile Tip II hiperlipoproteinemili 57 kişide yaptıkları çalışmada, HDL-Kolesterol değerlerinde anlamlı bir değişiklik bulamadıklarını bildirmişlerdir (59).

Pesciatini, F., dislipidemi vakalarında, soya proteini ile total kolesterol ve trigliserid düzeylerinde azalma, HDL kolesterolünde ise değişme olmadığını bildirmişlerdir (43).

Forsythe ve arkadaşları, soya diyeti alan domuzlarda yaptıkları çalışmada, HDL-kolesterol düzeylerinin azaldığını bildirmişlerdir (33).

Araştırmacılar, diyetteki hayvansal proteini tamamen soya fasulyesi proteini ile değiştirdiklerinde, ancak uzun süreli tedaviden sonra, HDL-Kolesterolünde artış bildirmişlerdir (43).

Descovich, G.C. ve arkadaşları soya fasulyesi proteini ile soya lesitinini beraber kullandıklarında, HDL-Kolesterol düzeylerinde ölçülebilir hızlı artışlar kaydetmişlerdir (43).

Scott ve Abrams, hipertrigliseridemik ve normotrigliseridemik vakalara, bir aylık soya proteini diyeti uyguladıklarında HDL-Kolesterol düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan artışlar bulmuşlardır (51). HDL-Kolesterolü hipertrigliseridemik vakalar-

da % 27<sup>±</sup>6 mg'dan % 29<sup>±</sup>3 mg'a yükselmiştir. Normotrigliseridemik vakalarda ise % 42<sup>±</sup> 2 mg'dan % 46<sup>±</sup> 4 mg'a yükselmiştir (51).

Bu çalışmaların çoğu, hiperkolesterolemisi ve hiperlipoproteinemisi olan vakalarda yapılmıştır. Daha doğrusu soya proteininin tedavi edici özelliğine yöneliktir (16,43, 59 ). Aynı zamanda çalışmaların çoğu insanlar üzerinde yapılmıştır.

Diyet proteinlerinin serum lipoproteinlerine etkisini açıklayan çok az yayın olmasına rağmen, özellikle diyet proteinin HDL-Kolesterolüne olan etkisini, apoA<sub>1</sub> apoproteinini değiştirerek gösterdiğini ileri süren çalışmalar mevcuttur (25). ApoA<sub>1</sub>'in, hem HDL-Kolesterolün önemli bir apoproteinini oluşu, hem de LCAT'ın aktivatörü oluşu, onun önemini daha da artırmaktadır. Bu konuda soya proteini ile ratlarda yapılan bir çalışmada, apoA<sub>1</sub>'in barsaktaki sentezinin azaldığını tesbit etmiştir (25). Her ne kadar total apoA<sub>1</sub> sentezinin ancak 1/4 ü barsak kaynaklı ise de, apoA<sub>1</sub> in bitkisel proteinler tarafından düşürülmesi ve dolayısıyla HDL-Kolesteroldeki düşüklük, buna eşlik eder (25). Bununla birlikte, bu şartlarda bile HDL-Kolesterolünün VLDL+LDL-Kolesterollerine oranı, kazeinle beslenen ratlara göre aynı veya daha yüksekti (25).

b) Kazein Grubu HDL-Kolesterol Bulguları : Sekiz haftalık kazein diyeti ile besleme sonucu tavşan serum HDL-Kolesterol düzeylerinde çok hafif bir düşüş görüldü. Tablo IV'de görüldüğü gibi diyet öncesi ortalama değer, % 19,69<sup>±</sup>8,48 mg'dı. Sekiz hafta sonunda serum HDL-Kolesterol ortalama değeri % 17,50<sup>±</sup>5 mg'a düştü. İkiser haftalık haftalık zaman peryotları ile HDL-Kolesterol değerleri arasındaki korelasyon, Şekil 6'da görüldüğü gibi, diğer değerlere nazaran düşük olup, korelasyon katsayısı (r) 0,73 olarak hesaplandı.

Kazein diyetinin HDL-Kolesterol değerleri üzerine olan etkisi istatistiksel olarak da anlamsız bulundu ( $P > 0,05$ ). Roberts ve arkadaşları, diyet proteinlerinin, lipoproteinlerin apoprotein komponentlerinin bileşimini ve mekabolizmasını değiştirerek plazma kolesterol düzeylerini etkileyebileceklerini ileri sürmüşlerdir ( 25).

Abraham ve arkadaşları, Leownstein erkek tavşanlarda, % 1 lik kolesterollü diyetle beslenme sonucu HDL de büyük bir azalış, LDL ve VLDL'de ise kompensetuar bir artış olduğunu bildirmişlerdir (54).

Tomikawa ve arkadaşları, % 0,5 lik kolesterollü diyetle, Japane albino erkek tavşanlarda yaptıkları çalışmada HDL-Kolesterolde bir değişme olmadığını, ancak alt fraksiyonlarında ( $HDL_2$ ,  $HDL_3$ ) belirgin bir azalış olduğunu rapor etmişlerdir (54).

Halloran, L.G., ve arkadaşları, HDL-Kolesteroldaki serbest kolesterolün LDL-Kolesteroldaki serbest kolesteroldan daha aktif ve yüksek oranda safra asidi sentezine katıldığını kanıtlamışlardır ( 22). Bu durum safra asidi sentezini etkileyen her diyet proteininin serum HDL-Kolesterol düzeyinide etkileyeceği kanaatını kuvvetlendirir.

Maciejko, J.J., ve arkadaşları, koroner arter hastalarında yaptıkları bir çalışmada, apolipoprotein  $A_1$  düzeyinin, HDL-Kolesterol düzeyinden daha anlamlı bir gösterge olduğunu saptamışlardır ( 32).

Diyet proteininin HDL-kolesterolüne olan etkisi daha çok apoprotein düzeyinde olup, özellikle bu etki apo $A_1$  üzerinde yoğunlaşmaktadır ( 25 ). Bu nedenle, diyet proteininin HDL-Kolesterol düzeylerine etkisini belirlerken, yapıya giren apoproteinlerin serum

düzeylelerini belirlemek gerekecektir (32)

### HDL<sub>2</sub> KOLESTEROL BULGULARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

a) Soya Diyeti Grubunda HDL<sub>2</sub> Kolesterol Bulgularının Değerlendirilmesi : Diyet öncesi ortalama HDL<sub>2</sub> Kolesterol değeri Tablo V'de görüldüğü gibi, % 22.50<sup>±</sup>4.65 mg'dı. Sekiz haftalık soya fasulyesi diyetinden sonra ortalama değer, % 31.78<sup>±</sup>3.07 mg'a yükseldi. İkişer haftalık zaman periyotları ile ortalama değerler arasındaki korelasyon ve korelasyon katsayısı (r=0,74) diğer lipid parametrelerine göre düşük bulundu. Tablo V'de görüldüğü gibi, belli zaman sürelerine göre ortalama HDL<sub>2</sub> Kolesterol değerleri devamlı azalış-yükseliş göstermektedir. Soya diyetinin serum HDL<sub>2</sub> Kolesterol düzeylerine etkisi, istatistiksel olarak da anlamsız bulundu (P>0,05).

b) Kazein Diyeti Grubu HDL<sub>2</sub> Kolesterol Bulgularının Değerlendirilmesi : Kazein diyeti grubunda Tablo V'de görüldüğü gibi diyet öncesi ortalama değer % 12.79<sup>±</sup>7.12 mg'dı. Sekiz haftalık kazein diyetinden sonra HDL<sub>2</sub> Kolesterol ortalama değeri, % 9.33<sup>±</sup>3.88 mg'a düştü. Ortalama değerler ile ikişer haftalık zaman süreleri arasındaki korelasyon katsayısı çok düşük olup, r=0,09 idi. Kazein diyetinin HDL<sub>2</sub> Kolesterol düzeylerine etkisi istatistiksel olarak da anlamsız bulundu (P>0,05).

### HDL<sub>3</sub> KOLESTEROL BULGULARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Tablo VI'da görüldüğü gibi soya diyeti grubunun diyet öncesi ortalama değeri % 9,51<sup>±</sup>3.60 mg'dı. Kazein diyeti grubunun diyet

öncesi ortalama değeri,  $\% 6.93 \pm 3.43$  mg'dı. Soya grubu diyet sonrası (8 haftalık) ortalama değer,  $\% 14.67 \pm 3.97$  mg'a yükseldi. Kazein diyeti grubu için bu değer,  $\% 8.17 \pm 2.86$  mg'a yükseldi. Şekil 9, 10'da görüldüğü gibi her iki diyet grubunda belli zaman süreleri ile ortalama değerler arasındaki korelasyonu uygun olmayıp, korelasyon katsayısı, soya grubu için,  $r=0,06$ , kazein grubu için,  $r=0,07$  idi. Gerek soya diyeti, gerekse kazein diyetinin HDL<sub>3</sub> Kolesterol düzeylerine etkisi, istatistiksel olarak anlamsız bulundu ( $P>0,05$ ). Soya diyeti grubunda, HDL<sub>2</sub> Kolesterolün yükselişi ve kazein diyeti grubunda HDL<sub>2</sub> Kolesterolün azalışı, istatistiksel olarak anlamsız olmasına rağmen, bu iki farklı kaynaklı diyet proteininin HDL-Kolesterolün bir alt fraksiyonu olan HDL<sub>2</sub> Kolesterolüne etkili olduklarını göstermektedir. Antiaterojenik faktör olarak bilinen bu parametreye soya diyeti pozitif yönde, kazein diyeti ise negatif yönde etkili olmuştur.

Serum trigliserid düzeyleri ile serum HDL-Kolesterol ve alt fraksiyonlarının düzeyleri arasında zıt yönde bir ilişkinin varlığı ileri sürülmüştür (23). Çalışmamızda her iki diyet grubunda da bu ilişkiyi destekleyen bulgular gözledik. Soya diyeti grubunda düşük trigliserid değerlerine karşılık, yükselmiş HDL-Kolesterol (HDL<sub>2</sub> Kolesterol, HDL<sub>3</sub> Kolesterol) değerleri bulundu. Kazein diyeti grubunda yükselmiş trigliserid değerlerine karşılık düşük HDL-Kolesterol (HDL<sub>2</sub> Kolesterol) değerleri saptandı. HDL-Kolesteroldeki değişikliklerin hemen hepsi HDL<sub>2</sub> Kolesterol alt fraksiyonundaki farklılıklara bağlıdır (23). Ayrıca kadınlarda ve koşuculardaki yüksek HDL-Kolesterol düzeylerinin, HDL<sub>2</sub> Kolesteroldeki artışın yansıması olduğu ileri sürülmüştür (23). Nedeni, koşucuların, adipoz ve kas lipopro-

tein lipaz aktivitelerinin artışına bağlanmaktadır (23).

HDL<sub>3</sub>, HDL<sub>2</sub>'ye göre daha pasif rol oynamakla beraber, LCAT reaksiyonunun HDL<sub>3</sub> içinde gerçekleşmesi bakımından büyük önem taşımaktadır (23,34,38). HDL<sub>3</sub>-Kolesterolünü LCAT substratı olarak tanımlayan, araştırmacılar da vardır. HDL<sub>2</sub>-Kolesterolünün sentezi için öncül madde oluşu açısından da önem arz etmektedir (34, 38).

Tomikawa ve arkadaşlarının tavşanlarda, kolesterolü diyetle yaptıkları çalışmada, HDL<sub>2</sub>-Kolesterol ve HDL<sub>3</sub>-Kolesterolünün birlikte azalması, her iki alt grubunda diyet kolesterolünden etkilendiğini kanıtlamıştır (54). Bizim çalışmamızda, soya diyeti grubunda HDL<sub>3</sub>-Kolesterolde hafif yükselme gözlemlendi. Kazein diyeti grubunda ise bir değişme saptanamadı.

#### TRİGLİSERİD BULGULARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

a) Soya Fasulyesi Diyeti Grubunda Trigliserid Bulgularının Değerlendirilmesi : Sekiz haftalık soya fasulyesi diyeti uygulanması sonucu, tavşan serum trigliserid düzeylerinde önemli bir düşüş görüldü. Tablo VII'de görüleceği gibi, en belirgin düşüş, ilk iki haftalık döneme rastlamaktadır. Bu düşüş, ilk bakışta ilk iki haftalık dönemde deney hayvanlarının soya diyetine geç adapte olmalarına bağlansa bile, daha sonraki dönemlerde trigliserid düzeylerinin devamlı düşüş göstermesi, bu durumun diyet adaptasyonuna bağlanamayacağını göstermektedir. Tablo VII'de görüldüğü gibi, soya diyeti grubunun diyet öncesi trigliserid ortalama değerleri,  $\% 130.48^{\pm} 67.04$  mg'di. Sekiz haftalık soya diyeti ile beslendikten sonra bu değerler,  $\% 84.62^{\pm} 33.01$  mg'a düştü. Bu değerlerin düşüşü, Şekil 11'de görüldüğü gibi, belli zaman periyotları ile uygun bir korelasyon

gösterdi ve korelasyon katsayısı (r) 0,93 idi. Soya fasulyesi diyetinin, tavşan serum trigliserid düzeylerini düşürücü etkisi istatistiksel olarak da anlamlı bulundu ( $P < 0,05$ ).

b) Kazein Diyeti Grubunda Trigliserid Bulgularınının Değerlendirilmesi : Sekiz haftalık kazein diyeti ile beslendikten sonra tavşan serum trigliserid düzeylerinde önemli derecede yükselme görüldü. Tablo VII'de görüldüğü gibi, diyet öncesi ortalama trigliserid değeri,  $70.88 \pm 35.70$  mg idi. Sekiz haftalık kazein diyeti ile beslendikten sonra serum trigliserid ortalama değeri,  $130.66 \pm 24.33$  mg'a yükseldi. İkişer haftalık zaman periyotları arasındaki yükseliş farkı yaklaşık olarak eşit idi. Şekil 12'de görüldüğü gibi, belli zaman periyotları ile ortalama trigliserid değerleri arasında pozitif yönde bir korelasyon görüldü ve korelasyon katsayısı (r) 0,99 idi. Kazein diyetinin serum trigliserid değerlerini yükselttiğine dair yapılan istatistiksel analizde anlamlı bulundu ( $P < 0,05$ ).

Soya proteinin, trigliserid düzeylerine olan etkisi, daha çok düşük lipidli diyete soya proteini eklenerek tedavi amacıyla yapılan çalışmalarda göze çarpmaktadır. Bu konudaki çalışmalar daha çok insanlar üzerinde yapılmıştır (43, 51, 59).

Pesciatini, F., ve arkadaşlarının Tip II a ve Tip II b Dislipidemili 32 hastada yaptıkları çalışmada 6 hafta sonunda bütün hastaların trigliserid düzeyleri düşmüştür. Aynı zamanda sonuç istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ( $P < 0,05$ ) (43).

Vernillo, A., ve arkadaşları, toplam 57 stabil Tip II hiperlipoproteinemili hastanın 19'unu hayvansal protein yerine soya fasulyesi proteini ile, geri kalan 38 vakayı da standardı düşük lipid diyetine soya fasulyesi proteininin eklenmesi ile hazırlanan diyetle

16 hafta süresince tedavi etmişlerdir. Tedavi sonucunda, trigliserid düzeylerinde, birinci grupta % 11,8'lik, ikinci grupta % 18,2'lik oranda azalış olmuştur (59).

Scott ve Abrahams, 4 hipertrigliseridemik ve 10 normotrigliseridemik vakaya bir ay süresince sıvı kazein ve sıvı soya proteini diyeti uygulamışlardır (51). Bir aylık kazein diyeti sonunda, hipertrigliseridemik vakalarda trigliserid düzeyleri %  $713 \pm 167$  mg'a ulaştı. Bir aylık soya diyeti uygulandığında ise, trigliserid düzeyi %  $479 \pm 99$  mg'a düştü. Bu azalış, VLDL fraksiyonunda barizdi ve sonuçlar anlamlı bulundu ( $P < 0,05$ ) (51). Aynı yol izlenerek normotrigliseridemik vakalarla yapılan çalışmada soya fasulyesi proteini hiçbir parametreyi anlamlı bir şekilde değiştirmedir (51).

Bu çalışmaların hasta insanlarda gerçekleştirilmesine rağmen, soya fasulyesi proteininin, gerek kazein, ve gerekse diğer hayvansal proteinlerin oluşturduğu hipertrigliseridemik etkiyi azaltmasının gösterilmesi (43,51, 59), bizim tavşanlarla olan bulgularımızı desteklemektedir.

Soya fasulyesi proteininin trigliserid düşürücü özelliğinin etki mekanizması kesinlikle bilinmemekle beraber katabolizmadaki artış olabileceği ileri sürülmektedir (51).

#### FOSFOLİPID BULGULARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Tablo VIII'de görüldüğü gibi, soya fasulyesi diyeti grubunda, diyet öncesi ortalama fosfolipid değer, %  $22.32 \pm 8.32$  mg kazein diyeti grubunun diyet öncesi ortalama değer %  $16.07 \pm 5.33$  mg idi. Sekiz haftalık diyet sonucu, soya diyeti grubunda ortalama fosfolipid değeri, %  $28.10 \pm 6.91$  mg'a kazein diyeti grubu için bu değer,



%  $25.92 \pm 6.62$  mg'a yükseldi. Soya diyeti grubunda belli zaman süreleri ile ortalama fosfolipid değerleri arasındaki korelasyon Şekil 13' de görüldüğü gibi pozitif yönde olup, korelasyon katsayısı (r) 0,74 bulundu. Soya fasulyesi diyetinin serum fosfolipid düzeylerine etkisi istatistiksel olarak anlamsız bulundu ( $P > 0,05$ ).

Kazein diyeti grubunda belli zaman periyotları ile ortalama fosfolipid değerleri arasındaki korelasyon Şekil 14'de görüldüğü gibi pozitif yönde olup, korelasyon katsayısı (r) 0,95 bulundu. Kazein diyetinin tavşan serum fosfolipid düzeylerinde oluşturduğu yükseliş, istatistiksel olarak da anlamlı bulundu ( $P < 0,05$ ).

Rutenberg, H., ve arkadaşlarının tavşanlarda, trans ansature yağların ateroskleroza etkisini incelemek için kontrol grubu olarak kullandıkları tavşanlarda serum ortalama fosfolipid değeri %  $29 \pm 3$  mg olup, bu değerler bizim kontrol değerlerimize çok yakındı.

Soya proteini ve kazeinin serum fosfolipid ve diğer lipid parametrelerine olan etkisini inceleyen bir çalışmada, yedi haftalık diyet sonucu, kazein diyeti grubunda fosfolipid ortalama değerlerinin soya proteini diyeti grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür (44). Bu bulgular, bizim bulgularımızla uyum göstermektedir. Ancak çalışmamızda soya proteini yerine, tam soya fasulyesi kullanmamız bir fark oluşturabilir. Yine soya proteini ve kazeinin safra lipid kompozisyonuna olan etkisi ile ilgili bir çalışmada, her iki proteininde safra fosfolipid konsantrasyonlarını değiştirmedikleri gözlenmiştir (6).

Soya fasulyesi Lesitini ile beslenen danalarda plazma kolesterol düzeylerinin yükseldiği gözlenmiştir (11). Bu kolesterol yükselişi, soya fasulyesi lesitini miktarıyla doğru orantılı olarak

artmıştır (11). Yine soya yağı ve soya fosfolipidi ile ratlarda yapılan bir çalışmada, soya fosfolipidinin karaciğer perfüzyon sıvısında ApoA<sub>I</sub> ve kolesterolü anlamlı derecede azalttığı rapor edilmiştir (35). Aynı çalışmada soya fosfolipidinin yukarıdaki etkisini alt fraksiyonu olan fosfatidiletanolamin vasıtasıyla yaptığı kanıtlanmıştır (35). Bu çalışmalar yalnız soya fasulyesi proteininin değil, soya fasulyesi fosfolipid fraksiyonlarında lipid ve lipoprotein metabolizmasında etkili rol oynamaları olasılığını kuvvetlendirmektedir.

#### PATOLOJİK BULGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Soya diyeti grubundaki her iki tavşanın tüm organları makroskopik olarak normal görülmüştür. Mikroskopik olarak her iki tavşanın beyin ve aortaları normal görünümde olup, tavşanlardan birinin yalnız karaciğer parankim hücrelerinin içinde az miktarda Oil Red O' ile pozitif boyanan vakonlar görülmüştür.

Kazein diyeti grubundaki her iki tavşanın aorta ve beyin dokusunda hem makroskopik hem de mikroskopik bir bulguyla karşılaşılmamıştır. Ancak kazein diyetindeki her iki tavşanında karaciğerlerinin normale göre kıvamı artmış ve özellikle birinin karaciğerinde belirgin yağlanma görülmüştür. Mikroskopik olarak da her iki tavşanda karaciğer hücrelerinin çoğunda nüve bir kenara itilmiş, büyük vakouller görülmüş ve Oil Red O boyası ile pozitif boyanmışlardır.

Soya ve kazein ile beslenmiş tavşanların patolojik bulgularını içeren bir çalışmaya literatürde rastlayamadık. Ancak % 18 kolesterol içeren diyetle 8 hafta beslenerek deneysel hiperlipidemi ve ateroskleroz oluşturulan SPF erkek ve dişi tavşanların, karaci-

ger, torasik aortik ark makroskopik ve mikroskopik olarak incelenmiş, kafa anjiyografisi ve beyin komputer tomografisi yapılmıştır. Karaciğerin ve torasik aortanın, total kolesterol ve fosfolipid içeriğinde artış gözlenmiştir (54). Aortik arkın, histolojik muayene - sinde, endotelial hücrelerin altında belirgin lipid vakuelleri, intimanın düz kas hücrelerinde belirgin lipid inklüzyonları ve aortanın iç yüzünde granüler yansımalar gözlenmiştir. Değişik arterlerin lüminasında, lipid depolanışına bağlı daralmalar izlenmiştir (54).

Kato ve Nishimura, hayvanlarda deneysel hiperlipidemi oluşturarak, arterlerin histolojisini, ışık mikroskobu (LM), transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ve scanning elektron mikroskobu (SEM) kullanarak incelemişlerdir. Bu şekilde hiperlipidemi ve ateroskleroz arasındaki ilişkiyi göstermeye çalışmışlardır (54).

Kazein ve soya diyetinin tavşan dokularında bir değişiklik oluşturup oluşturmadıklarını belirlemek amacıyla, bir ön çalışma olarak her iki gruptan, ikişer adet tavşanın dokularını histolojik olarak inceledik. Kazein grubundaki iki tavşanın aorta ve beyinde patolojik bir bulguya rastlanmamasına rağmen, karaciğerde hem makroskopik, hem de mikroskopik olarak lipid birikimi görülmesi, kolesterol diyeti ile beslenen hayvanların bulgularına benzerlik göstermektedir.

Ancak yaptığımız bu ön çalışmada deney hayvanı sayımız kısıtlı olduğundan, bu tür değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu söylemek güçtür. Daha ileri çalışmalarımızda, deney sayısı arttırılarak bu konu belirlenmeye çalışılacaktır.

### AĞIRLIK BULGULARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Tablo IX da görüleceği gibi, her iki diyet grubunda ortalama ağırlık değerleri, 8 hafta sonunda başlangıç değerlere göre artış gösterdi. Ancak bu artış istatistiksel olarak her iki grup içinde anlamsız bulundu ( $P > 0,05$ ). Ağırlık artışı, kazein diyeti grubunda daha yüksek oranda olup, % 22,5 idi. Soya fasulyesi diyeti grubunda ise bu artış oranı % 11,6 idi. Her iki diyet grubunda da, Tablo IX da görüldüğü gibi en belirgin artış, ilk iki haftalık zaman periyodunda, en az artış 5 ve 6. haftalık zaman periyodunda görüldü.

Kazein ve soya fasulyesi proteini ile Hamsterlerde yapılan bir çalışmada plazma ve safra kolesterollerinin değişmelerine rağmen, ağırlıklardaki değişim ve artış anlamlı bulunmamıştır (33).

Beynen ve arkadaşlarının yarı saflaştırılmış kazein, soya ve kolesterol diyetleri ile tavşanlar üzerinde yaptıkları çalışmada her üç diyet grubunda da ağırlık artışı görülmüş ve artış değerleri birbirine paralel olup, istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ( $P < 0,05$ ) (7).

Bizim çalışmamızda her iki grupta ağırlık artışı istatistiksel olarak anlamsız olmakla beraber her iki çalışmada diyetlerin ağırlık üzerine olan etkilerinin artış yönünde oluşu bakımından uygun bulundu.

Yine Beynen ve arkadaşlarının tavşanlarda kazein ve soya diyetinin safra ve plazma kolesterollerine olan etkilerini araştırırken, sekiz haftalık diyetten sonra her iki diyet grubunda da eşit oranda ağırlık artışı görülmüştür (6). Her iki diyet grubunda ağırlık artışı bakımından bizim çalışmamızla uyum göstermektedir.

Sonuç olarak gerek kazein, gerekse soya diyeti ile beslenen tavşanlarda vücut ağırlığında bir kilo artışı olmakta, fakat iki diyet grubu arasındaki ağırlık artış farkı değer bakımından anlamsız bulunmaktadır.

#### YEM ALIŞI VE AĞIRLIK DEĞİŞİMİ ARASINDAKİ İLİŞKİ İLE İLGİLİ BULGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Tablo X'da ve şekil 15'te görüldüğü gibi, kazein grubu I. ve II. haftalarda düşük oranda yem almaları hariç, diğer tüm haftalar süresince her iki grupta birbirlerine yakın ortalama değerlerde yem aldılar.

Kazein grubunun ilk iki haftalık sürede düşük oranda yem almasına rağmen yemden yararlanabilirliği (Food Efficiency) diğer haftalara göre daha yüksek oranlarda bulundu (Tablo XI). Soya diyeti grubunda 5. ve 6. haftalarda tama yakın bir ortalama ile (Tablo X) diyet alınmasına rağmen diyetle yararlanabilirlik (F.E) menfi yönde idi (Tablo XI, Şekil 16). Yukarıda da görüldüğü gibi, çalışmamızda alınan yem miktarı ile ağırlık artışı arasında aynı yönde bir ilişki olmadığı görüldü. O halde alınan yemin miktarından ziyade emilimi ve yararlı olmasının önemi belirlendi.

Çalışmamızda, Tablo XI'de görüldüğü gibi, soya diyeti grubunun yüksek oranda yem almasına rağmen, yemden yararlanabilirliğinin (F.E), kazein diyeti grubuna göre daha düşük olduğu görüldü. Bu durum soya yeminin, kazeine göre daha az emildiğini veya sindiriminin güç olduğu fikrini doğurur.

Her iki grupta, belli zaman periyotlarına göre yemde yararlanabilirlik (F.E) oranında az bir fark görüldü. Buna rağmen diyetlerin, lipid parametreleri üzerindeki spesifik etkileri değişmedi.

## Ö Z E T

Soya fasulyesinin lipid profiline etkisini belirlemek amacıyla, 20 erkek beyaz renkli Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Tavşanların 10 tanesi soya diyetine, 10 tanesi de kontrol grubu olmak üzere kazein diyetine alındı. Beslenme süresi 8 hafta olarak belirlendi.

Her iki diyet grubunda, diyet öncesi ve diyete alındıktan sonra ikişer hafta aralıklarla kan numuneleri alınarak, serumda total lipid, total kolesterol, HDL<sub>2</sub>-Kolesterol, HDL<sub>3</sub>-Kolesterol, trigliserid, fosfolipid parametreleri çalışıldı. Sonuçlar diyet öncesi değerlerle ve kontrol (kazein) grubu ile karşılaştırıldı.

Soya diyeti grubunda;total lipid değerleri, anlamlı bir şekilde düştü ( $P < 0,05$ ). Zamanla ilişkisi bakımından pozitif bir korelasyon gösterdi ( $r=0,90$ ).

Kazein diyeti grubunda; total lipid değerleri anlamlı bir şekilde yükseldi ( $P < 0,05$ ). Zamanla ilişkisi bakımından pozitif bir korelasyon gösterdi ( $r=0,98$ ).

Soya diyeti grubunda; total kolesterol değerleri diyet öncesi değerlere göre düşük bulundu. Fakat bu düşüş değer bakımından anlamsız idi ( $P > 0,05$ ). Zamanla ilişkisi bakımından pozitif yönde bir korelasyon gösterdi ( $r=0,74$ ).

Kazein diyeti grubunda; total kolesterol değerleri anlamlı bir şekilde yükseldi ( $P < 0,05$ ). Zamanla ilişkisi de pozitif korelasyon gösterdi ( $r=0,96$ ).

Soya diyeti grubunda; HDL-Kolesterol değerleri anlamlı bir şekilde yükseldi ( $P < 0,05$ ). Zamanla korelasyonu pozitif yönde idi ( $r=0,98$ ). Soya diyeti HDL<sub>2</sub>-kolesterolü, HDL<sub>3</sub>-Kolesterolü değiştirdi.

Kazein diyeti; HDL- Kolesterolü, HDL<sub>2</sub>-Kolesterolü, HDL<sub>3</sub>-Kolesterolü değiştirmede.

Soya diyeti, trigliserid düzeylerini anlamlı bir şekilde düşürdü ( $P < 0,05$ ). Zamanla korelasyonunda pozitif yönde idi ( $r=0,93$ ). Kazein diyeti, trigliserid düzeylerini anlamlı bir şekilde yükseltti ( $P < 0,05$ ). Zamanla ilişkisi kuvvetli olup, korelasyon pozitif yönde idi ( $r=0,99$ ).

Soya diyeti, fosfolipid değerlerini değiştirmede. Kazein diyeti, fosfolipid değerlerini anlamlı bir şekilde yükseltti ( $P < 0,05$ ). Zamanla ilişkisi bakımından da pozitif bir korelasyon gösterdi ( $r=0,95$ ).

Her iki diyet grubunda da ağırlık artışı görüldü. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamsızdı ( $P > 0,05$ ). Ağırlık artışı ka-

zein diyeti grubunda daha yüksek olup, % 22,5, soya diyeti grubunda % 11,6 idi.

Her iki grupta diyet alma oranı yüksek olup, soya grubu için % 95, kazein grubu için % 89 idi.

Diyette yararlanabilirlik Food Efficiency = alınan yem (gr/gün)/ağırlık artışı (gr/gün), kazein diyeti grubunda daha yüksek bulundu.

Sonuç olarak soya fasulyesi, hipolipidemik, kazein ise, hiperlipidemik bulundu.



## S U M M A R Y

In order to determine the dietary response to soy bean and casein on serum lipid composition, 20 random-bred, male rabbits of the New Zealand White strain were used. The rabbits were divided into two groups each containing 10 animals, and fed with two semipurified diets differing only in their protein component for a period of 8 weeks. The semipurified diets contained either casein or soy bean as protein source.

Samples of blood were taken at the beginning of the experiment and every two weeks. Serum total lipids, total cholesterol, total HDL-cholesterol, HDL<sub>2</sub>, HDL<sub>3</sub>-cholesterol, triglycerides and phospholipids were measured. The results were compared with the initial values and with each other.

The rabbits fed with soy bean showed a significant decrease

in serum total lipid concentration ( $P < 0,05$ ). Also a positive correlation coefficient were obtained ( $r=0,90$ ).

Casein significantly elevated serum total lipids ( $P < 0,05$ ). The correlation coefficient was also positive ( $r=0,98$ ).

In the soy bean group, serum total cholesterol<sub>1</sub> levels were lower than the initial values. But this decrease was not significant. ( $P > 0,05$ ) and the correlation coefficient was positive ( $r=0,74$ ).

Casein significantly elevated serum cholesterol levels ( $P < 0,05$ ) and the correlation coefficient was also positive ( $r=0,96$ ).

Serum HDL-Cholesterol levels were increased significantly in the animals fed soy bean ( $P < 0,05$ ) and a positive correlation coefficient was found ( $r=0,98$ ). No change in the serum HDL<sub>2</sub> and HDL<sub>3</sub>-Cholesterol values was observed.

Casein, also, didn't produce any change in the serum HDL<sub>2</sub> and HDL<sub>3</sub>-Cholesterol levels.

Serum triglyceride values were decreased significantly in the soy bean group ( $P < 0,05$ ) and the correlation coefficient was positive ( $r=0,93$ ).

Serum triglyceride levels were increased significantly in the casein group ( $P < 0,05$ ) and the correlation coefficient was positive ( $r=0,99$ ).

No change in the serum phospholipid levels occurred in the soy bean group. But a significant rise was observed in the casein diet ( $P < 0,05$ ) and the correlation coefficient was positive ( $r=0,95$ ).

In both dietary groups, body weight increases were observed. But these increases were not significant statistically ( $P > 0,05$ ). The body weight increase of the casein group was also significantly

higher than that of the soy group, 22,5 % and 11,6 %, respectively.

The daily food consumption was high, 95 % for the soy bean group, and 89 % for the casein group.

Food efficiency for the casein group was higher than the soy group.

As a result, soy bean when compared to casein, significantly lowers serum lipid levels in rabbits.

## KAYNAKLAR

1. Akyol, T., Oktay, S. : Atherogenesis, Aterosklerozda Risk Faktörleri. Aterosklerotik Kalp Hastalığı Kurs Notları. (Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınlarından), 1981;25-28, 29-34.
2. Anderson, W. A. D., Kissane, J.M. : Pathology. The C.V. Mosby Company, St. Louis. 1977;S. 886-895.
3. Anonymous. : Relationship of Hypercholesterolemia in Rabbits to Lipoprotein Binding Receptors on Liver Membrane. Nutr. Rev. 41 (6) : 192-194, 1983.
4. Atasagünel, M. : İdrarda Kalitatif Glukoz Tayini, Plazma Proteinleri ve Fraksiyonlarının Miktar Tayini, Kanda Klorür Tayini. Klinik Laboratuvar ve Araştırma Metodları (1962), Ankara, S. 104, 232, 507.
5. Bancroft, J.D., Stevens, A. : Theory and Practice of Histological Techniques. Churchill Livingstone. Edinburgh, London and New York. 1977;168-183.
6. Beynen, A.C., West, C.E., Kuyvenhoven, M.W., Visser, J.J., Schouten, J.A. and Van Zutphen, L.F.M. : Biliary Lipid Composition of Rabbit Fed Casein, Soy Protein Or Cholesterol Nutrition Reports International., 4 (31). 869-876, 1985.
7. Beynen, A.C., Scholz, K.E., Van Zutphen, L.F.M., and West, C.E. : Correlation Between the Cholesterolemic Responses Produced by Dietary Cholesterol and Casein in Rabbits. Journal of Nutrition., 113;1204-1211, 1983.
8. Beynen, A.L., et al. : Hypo- and Hyperresponders to dietary Cholesterol (Letter). Am. J. Clin. Nutr., 43 (6) ; 974-978, 1986.
9. Beynen, A.C. and Van Gils, L.G.M. : Increased Concentration of

- Plasma Cholesterol in veal Calves Fed Soyabean Lecithin. *Experientia*, 39 (5) ; 492-493, 1983.
10. Beynen, A.C., der Meer, R.V., West, C.E. : Mechanism of Casein-Induced Hypercholesterolemia : Primary and Secondary Features. *Atherosclerosis*, 60;291-293, 1986.
  11. Beynen, A.C. and Van Gils, L.G.M. : Increased Concentration of plasma Cholesterol in veal Calves Fed Soyabean Lecithin. *Experientia*, 39;(5);492-493, 1983.
  12. Borowska, J., and Kozłowska, H. : Isolates from Fava bean and Soybean with Lowered Content of the Trypsin Inhibitors. *Die Nahrungs.*, 30;(1);11-18, 1986.
  13. Briggs, A.P. *J.Biol. Chem.* 1922, 53, 13 er 1924, 59, 255.  
(J. Rodier. et R. Mallein. *Manuel de Biochimie pratique à l'usage des Laboratoire d'analyses médicales-4<sup>e</sup> ed-maloine, S.A. editeur. 1973, S. 283 ten alınmıştır.*)
  14. Clarkson, T.B., Priedhard, R.W., Bullock, B.C., Clair, R.W.St., Lehner, N.D.M., Jones, D.C., Wagner, W.D. and Rudel, L.L. : Pathogenesis of Atherosclerosis, Some Advances From Using Animal Models. *Experimental and Molecular Pathology*, 24:264-286, 1976.
  15. Dacherik, P.S., Walker, R., Brownell, K.D., Stunkard, A.S. : Determination of High Density Lipoprotein Cholesterol in Stored Human Plasma. *Journal of Lipid Research*. 21:605-616, 1986.
  16. Descovich, G.C., Gaddi, A., Mannino, G., Cattin, L., Senin, U., Carruzzo, C., Fragiaco, C., Sirtori M., Ceredi, C., Benassi, M.S., Colombo, L., Fontana, G., Mannarino, E., Bertelli, E., Nosedà, G., Sirtori, C.R. : Multicentre Study of Soybean Protein Diet for outpatient Hypercholesterolaemic Patients. *The Lancet*. P. 709-

- 712, 1980.
17. Doğan K., Akyıldız, A. : Soyanın ürün değeri soyada bulunan zararlı maddeler, Tam yağlı soya fasulyesi, Soya Üretimi, Kalite Kontrolü ve Değerlendirilmesi. Ankara, 1985;S.14, 19-25, 68.
  18. Feingold, K.R., Zsigmond, G., Lear, S.R., and Moser, A.H. : Effect of food Intake on Intestinal Cholesterol Synthesis In rats. Am.J. Physiol, 251 (14):362-369, 1986.
  19. Fornworth, E.R., Kramer., J.K.G., Çorner, A.H., and Thompson, B.K.: The Methionine and Choline Status of Rat Diets and Their Effects on Nutrition and Myocardial Lesions. The Journal of Nutrition. 113: (12), 2442-2454, 1983.
  20. Frens, G.A., Stocss Galton, D.S., Londons Williams : Measurement of High Density Lipoprotein Subfraction (HDL<sub>2</sub>). Clin. Sci., 62: 16-17, 1982.
  21. Gordon, T., Castelli, W.P., Hjortland, M.C., Kannel, W.B., Dawber, T.R. : High Density Lipoprotein As a Protective Factor Against Coronary Heart Disease. The American Journal of Medicine. 62:707-714, 1977.
  22. Halloran, L.G., Schwartz, C.C., Vlahcevic, Z.R., Nisman, R.M., Swell, L. : Evidence for High-density Lipoprotein-Free Cholesterol As The Primary Precursor For Bileacid Synthesis in man. Surgery, 84 (1) : 1-7, 1978.
  23. Hopkins, P.N., Williams, R.R.: A Simplified Approach to Lipoprotein Kinetics and Factors Affecting Serum Cholesterol and Triglyceride Concentrations. Am. J. Clin. Nutr, 34:2560-2590, 1981.
  24. Imaizumi, K., Mawatari, K., Murata, M., Ikeda, I., Sugano, M., The Contrasting effect of Dietary Phosphatidylethanolamine and phos-

- phatidylcholine on Serum Lipoproteins and Liver Lipids in Rats. *The Journal of Nutrition*, 113 (12):2403-2411, 1983.
25. Kazunari Tanaka, Katsumi, Imaizumi and Michihiro Sugano. : Effects of Dietary proteins on the Intestinal Synthesis and Transport of Cholesterol and Apolipoprotein A-I in Rats. *The Journal of Nutrition*, 113, (7): 1388-1394, 1983.
26. Keys, A. : Serum Cholesterol response to dietary Cholesterol (Letter). *Am. J. Clin. Nutr.*, 44 (2): 309, 1986.
27. Krause, R.M., M.D. : Regulation of High Density Lipoprotein Levels. *Medical Clinics of North America.*, 66 (2) : 403-429, 1982.
28. Kuo, P.T., Pescataway, N.J. : Lipoproteins, platelets, and prostaglandins in atherosclerosis. *American Heart Journal*. 949-953, 1981.
29. Ledwozyw, A., Michalak, J., Stepien, A., and Kadziolka, A., The Relationship, Between plasma Triglycerides, Cholesterol, Total Lipid Peroxidation products During Human Atherosclerosis. *Clinica Chimica Acta*, 155 (3):275-283, 1986.
30. Lopes - Virella, M.F., Stone, P., Ellis, S., Colwell, J. : Cholesterol Determination In High Density Lipoproteins Separated by Three Different Methods. *Clin. Chem.*, 23 (5):882-884, 1977.
31. Luna, L.G.: *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of pathology*. Third Edition Mc Graw-Hill Book Company. The Blakiston Division. New York, Toronto, London, Sydney, 1968, 140-152.
32. Maciejko, J.J., Holmes, D.R., Kottke, B.A., Zinzmeister, A.R., Dinh, D.M., Mao, S.J.T. Apolipoprotein A-I as a Marker of Angiographically Assayed coronary Artery Disease. *The New England Journal of Medicine*

- 309 (7):1983.
33. Mahfouz-Cercone, S., Johnson, J.E., and Liepa, G.U. : Effect of dietary animal and Vegetable protein on Gallstone Formation and Biliary Constituents in the Hamster. *Lipids*, 19 (1):5-10, 1984.
  34. Martin, D.W., Mayes, P.A., Rodwell, V.W.: *Lipids, Metabolism of Lipids, Regulation of Lipid Metabolism*. In *Harpers Review of physiological Chemistry*. Lange Medical Publications, Middle East Edition. Beirut Lebanon, 1981, 186-262.
  35. Masakazu, Katsumi, I., and Michihiro, Sugano.: Hepatic Secretion of Lipids and Apolipoproteins in Rats Fed Soybean Phospholipid and Soybean Oil. *The Journal of Nutrition*, 113 (9):1708-1716, 1983.
  36. Masoro, E.J. : *Lipids and Lipid Metabolism*. *Ann. Rev. Physiol*, (39):301-321, 1977.
  37. Meyer, L.H. : *Food Chemistry (2)*. Reinhold Publishing Corporation New York, 1961, S.294.
  38. Montgomery, R., Dryer, R.L., Conway, T.W., Spector, A.A. : *Lipid Metabolism*. *Biochemistry (4)*. The C.V. Mosby Company. St.Louis, Toronto, London, 1983, 393-424.
  39. Myant, N.B.:Cholesterol transport through the plasma. *Clinical Science*, 62:261-271, 1982.
  40. Nawfal Istfan, Edwina Murray, Morteza Janghorbani, William, J., Evans and Vernon R., Young.:The Nutritional Value of a soy protein Concentrate (STAPRO-3200), for Lang-Term protein Nutritional Maintenance in Young Men. *The Journal of Nutrition*. 113 (12): 2524-2534, 1983.
  41. Naffal, Edwina, Murray, Morteza, Jonghorbani and Vernon, R., Young. An Evaluation of the Nutrition al Value of a soyprotein



- Concentrate In Young Adult Men Using the Short Term N-Balance Method. *The Journal of Nutrition*, 113 (12):2516-2523, 1983.
42. Özkan, K., Türkvan, M.:Zak Metoduyla Serumda Kolesterol Miktar Belirtimi. *Klinik Biyokimya Laboratuvar El Kitabı (Bursa Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınlarından)*, S. 122-125.
43. Pesciattini, F., Cefis, M., Lazzaroni, A., Pansera, P., Cerri, B.: Treatment of Dyblipidaemia With a Simple Low Fat Diet and With a Combination of a Low Fat Diet and a formulation Containing Soybean Protein. *Int. J. Clin. Pharm. Res.*, V(3):199-204, 1985.
44. Roelof, V.D.M., Hielka, D.V., Clive, W, and Hugo, D.W.: Casein-Induced Hypercholesterolaemia in Rabbits is Calcium-Dependent. *Atherosclerosis.*, 56:139-147, 1985.
45. Rukaj, A., and Serougne, C.:Effect of Excess Dietary Cystine on the Biodynamics of Cholesterol in the Rat. *Biochimica et Biophysica Acta*, 753, 29 (1):1-5, 1983.
46. Russell Rass, PH.D.:The pathogenesis of Atherosclerosis An Update. *The New England Journal of Medicine*, 314 (8):488-500, 1986.
47. Ruttenberg, H., Davidson, L.M., Little, N.A., Klurfeld, D.M., and Kritchevsk, D.:Influence of Trans Unsaturated Fats on Experimental Atherosklerosis In Rabbits. *The Journal of Nutrition*, 113 (4):835-844, 1983.
48. Schaefer, E.J., Eisenberg, S., and Levy, R.I.:Lipoprotein Apoprotein Metabolism. *Journal of Lipid Research*. 9:667-687, 1978.
49. Schmeisser, D.D., Kummerow, F.A., and Baker, D.H.:Effect of Excess Dietary Lysine on plasma Lipids of the Chick. *The Journal of Nutrition*, 113 (9):1777-1783, 1983.
50. Scholz, Katharina, E., Beynen, A.C., and West, Clive, E.:

- Comparison between Hypercholesterolemia In Rabbits Induced by semipurified Diets Containing either Cholesterol or Casein. *Atherosclerosis*, 44 (1):85-98, 1982.
51. Scott, M.G., Jeffrey, J.A.: Comparison of Actions of Soy protein and Casein on Metabolism of plasma Lipoproteins and Cholesterol in Humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 38:245-252, 1983.
  52. Scrimshaw, N.S., Wayler, A.H., Murray, E., Steinke, F.H., William, M.R., and Vernon, R. Young.: Nitrogen Balance Response in Young Men Given one of Two Isolated Soy Proteins or Milk proteins. *The Journal of Nutrition*, 113 (12):2492-2497, 1983.
  53. Skopinska-Rozewska, E., Wroblewska, A., Malkowska, W., and Bentlejewska, B.: Differential Effects of Experimental Hyperlipidemia On Various Types of Rabbit Peripheral Blood Lymphocyte Receptors. *Mechanisms of Ageing and Development*. 29(2):111-116, 1985.
  54. Sodao, Mitsvaki, S., Mayumi, T., Hiremi, G., Hajime, Y., and Koji, S. : Experimental Hyperlipidemia and Atherosclerosis Induced By Cholesterol Diet In SPF Japanese With Rabbits. *Japan J. Pharmacol.* 33(2):279-289, 1983.
  55. Sonnenwirth, A.C., Ph. D, Jarett, L, M.D.: Lipids and Lipoproteins in Gradwohl Clinical Laboratory Method and Diagnosis 1980, 272-304.
  56. Stanley, L., Robbins, M.D., Ramzi, S., Cotran, M.D., Vinay Kumar, M.D.: *Pathologic Basis of Disease.*, W.B. Saunders Company, 1984, 589-611.
  57. Sümbüloğlu, K.: Korrelasyon ve Regresyon. Sağlık Bilimlerinde Araştırma Teknikleri ve İstatistik. Ankara. 1978. S. 121-123, 187-193.

58. Tall, A.R. : Plasma Lipids Transfer proteins. *Journal of Lipid Research.*, (27):361-367, 1986.
59. Verillo, A., De Teresa, A., Giarrusso, P.C., La Rocca, S.: Soybean protein Diets in the Management of Type II Hyperlipoproteinaemia., *Atherosclerosis*, 54:321-331, 1985.
60. Warnick, G.R., Albers, J.J.: Evaluation of The Heparin-Manganase precipitasyon procedure for Estimating High Density Lipoprotein Cholesterol. *Journal of Lipid Research.*, 19:65-76, 1978.
61. West, C.E., Beynen, A.C., Scholz, K.E., Terpstra, A.H.M., Schutte, J.B., Devring, K., and Van Gils, L.G.M.: Treatment of Dietary Casein With Formaldehyde Reduces Its Hypercholesterolemic effect in Rabbits. *Journal of Nutrition.*, 114:17-25, 1984.
62. Windholdz, M.Ed.: Casein (9) in *The Merck Index an Encyclopedia of Chemicals and Drugs*. Rahway, N.J., U.S.A. 1976, P.1871.
63. Zilversmit D.B. et Davis A.L. *Metod J. Lab. Clin. Med.* 1950, 35, 155. (J.Rodier et R. Mallein *Manuel de biochimie pratique à l'usage des Laboratare d'analyses me'dicales*. 4<sup>e</sup> ed malcine.S.A. éditeur. 1973'ten alınmıştır. S.283.)