

**BASRI SATILMIŞ**

**DOKTORA TEZİ 2015**

**TBİO D-19**

**T.C.**

**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI BESİNSEL YAĞLARIN  
ŞİLOMİKRON SENTEZİ VE  
POSTPRANDIAL HİPERLİPİDEMİYE  
ETKİLERİNİN SİRKADYEN RİTME  
GÖRE KARŞILAŞTIRILMASI**

**DOKTORA TEZİ**

**Basri SATILMIŞ**

**TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Tayfun GÜLDÜR**

**MALATYA-2015**

**T.C.**  
**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI BESİNSEL YAĞLARIN**  
**ŞİLOMİKRON SENTEZİ VE**  
**POSTPRANDIAL HİPERLİPİDEMİYE**  
**ETKİLERİNİN SİRKADYEN RİTME GÖRE**  
**KARŞILAŞTIRILMASI**

**Basri SATILMIŞ**

**Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. Tayfun GÜLDÜR**

**Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon**  
**Birimi tarafından 2012/64 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**MALATYA-2015**

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Biyokimya Programında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ  
İnönü Üniversitesi

Danışman

Prof. Dr. Tayfun GÜLDÜR  
İnönü Üniversitesi

Üye

Prof. Dr. M. Hanifi EMRE  
İnönü Üniversitesi

Üye

Doç. Dr. Süleyman AYDIN  
Fırat Üniversitesi

Üye:

Prof. Dr. M. Çağatay TAŞKAPAN  
İnönü Üniversitesi

ONAY :

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu ...../.../ 2015 tarih ve 2015/.....sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı' nda yapmış olduğum doktora tez çalışmam süresince, fikir ve tecrübelerinden yararlandığım tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Tayfun GÜLDÜR' e, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Başak KAYHAN' a, yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşım Yrd. Doç. Dr. A. Burçin UYUMLU' ya, hayatım boyunca desteklerini her zaman hissettiğim sevgili aileme ve ayrıca çalışmamı destekleyen İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi' ne teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

Sirkadyen ritim, çeşitli fizyolojik süreçleri günün aydınlık karanlık döngüsüne göre ayarlamaktadır. Lipid ve lipoprotein metabolizması ve sirkadyen ritim karşılıklı olarak birbirlerini etkilemektedir. Postprandial hiperlipidemi ateroskleroz gelişiminde bir risk faktörü olarak değerlendirilmektedir. Ancak, yağ asidi kompozisyonu farklı yağların sirkadyen ritmin farklı fazlarında verilmesinin postprandial plazma lipid seviyeleri ve lipoprotein sentezi ile ilgili parametrelere etkisi bilinmemektedir. Bu çalışmada, balıkyağı, zeytinyağı ve tereyağı gibi farklı yağ asidi kompozisyonlarına sahip olan besinsel yağların günün farklı zaman dilimlerinde akut olarak tüketilmesinin ratlarda şilomikron sentezi ve postprandial hiperlipidemiye etkilerinin belirlenmesi amaçlandı. Ratlar için pasif fazda yer alan 08:00 ve 14:00 ile aktif fazda yer alan 20:00 ve 02:00 saatlerinde akut olarak besinsel yağların uygulanmasından sonra alınan kan örneklerinde TAG, Total, HDL- ve LDL-K seviyeleri, ince bağırsak örneklerinde ise MTP aktivitesi ile ApoB-48, ApoA-IV, MTP ve HNF-4 $\alpha$  gen ifadeleri ölçüldü.

Genel olarak aktif fazda bütün yağlar pasif faza göre daha yüksek TAG seviyelerine neden olurken, yüksekte düşüğe doğru zeytinyağı, balıkyağı ve tereyağı şeklinde sıralandı. Zeytinyağı grubundaki MTP aktivitesi ile balıkyağı grubundaki MTP ve HNF-4 $\alpha$  gen ifade seviyeleri diğer yağ grupları ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılıklar sadece pasif ortası fazda meydana geldi. Bu durum, farklı yağların sirkadyen ritim ile etkileşimlerinin farklı sonuçlar doğurabileceğini işaret etmektedir.

Postprandial hiperlipideminin ortaya çıkmasına etki eden besinsel yağların miktarı ve yağ asidi kompozisyonu gibi faktörlere ek olarak, tüketim zamanı da besinsel yağların aterojenik özelliklerinin belirlenmesinde önemli bir etken olabilir.

**Anahtar kelimeler: Sirkadyen ritim, besinsel yağlar, şilomikron, mikrozomal trigliserid transfer protein, hiperlipidemi**

**COMPARISON OF EFFECTS OF VARIOUS DIETARY FATS ON  
CHYLOMICRON SYNTHESIS AND POSTPRANDIAL HYPERLIPIDEMIA  
ACCORDING TO CIRCADIAN RHYTHM**

**ABSTRACT**

Circadian rhythm arranges various physiological processes according to daily light/dark cycle. Lipid/lipoprotein metabolism and circadian rhythm affect each other reciprocally. Postprandial hyperlipidemia has been considered as a risk factor in the pathogenesis of atherosclerosis. However, effects of consumption of dietary fats with different fatty acid composition in different phase of circadian rhythm on postprandial plasma lipid levels and lipoprotein synthesis parameters have not been considered before. To this end, effects of acute consumption of dietary fats, fish oil, olive oil and butter with different fatty acid composition in different time period of the day on chylomicron synthesis and postprandial hyperlipidemia were determined in rats. After acute administration of dietary fats at 08:00 and 14:00 in passive phase and at 20:00 and 02:00 in active phase of the rats, TAG, Total-, HDL- and LDL-C in blood samples, MTP activity and ApoB-48, ApoA-IV, MTP and HNF-4 $\alpha$  gene expression levels in small intestine samples were measured.

In general, all the fats tested caused higher TAG levels in active phase compared to that in passive phase. The plasma TAG levels after fat administration can be arranged in descending order as olive oil, fish oil and butter. Significant differences in MTP activity of olive oil group and MTP and HNF-4 $\alpha$  gene expression levels of fish oil compared to other dietary fat groups were found only in the middle of the passive phase. The present results point out that interactions of different dietary fats with circadian rhythm might lead to different responses.

In addition to factors which are known to be important in postprandial hyperlipidemia, amount and fatty acid composition of dietary fats, the time of ingestion can also be significant factor in determination of atherogenic feature of dietary fats.

**Keywords: Circadian rhythm, dietary fats, chylomicron, microsomal triglyceride transfer protein, hyperlipidemia**

**İÇİNDEKİLER**

<b>ONAY SAYFASI</b>	iii
<b>TEŞEKKÜR</b>	iv
<b>ÖZET</b>	v
<b>ABSTRACT</b>	vi
<b>İÇİNDEKİLER</b>	vii
<b>SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ</b>	xi
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	xv
<b>TABLolar DİZİNİ</b>	xvii
<b>1. GİRİŞ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	7
2.1. Postprandial hiperlipidemi	7
2.1.1. Postprandial hiperlipidemiye etki eden faktörler	7
2.1.1.1. Besin miktarı ve bileşimi	7
2.1.1.1.1. Besinsel yağ miktarı	7
2.1.1.1.2. Besinsel yağ türü	8
2.1.1.1.2.1. Doymuş yağ asitleri	8
2.1.1.1.2.2. Doymamış yağ asitleri	10
2.1.1.1.2.2.1. Tekli-doymamış yağ asitleri	10
2.1.1.1.2.2.2. Çoklu-doymamış yağ asitleri	11
2.1.1.1.2.2.2.1. $\omega$ -6 Çoklu-doymamış yağ asitleri	12
2.1.1.1.2.2.2.2. $\omega$ -3 Çoklu-doymamış yağ asitleri	14
2.1.1.1.2.3. Postprandial hiperlipidemiye etkileri	15
2.1.1.1.3. Kolesterol	17
2.1.1.1.4. Karbonhidrat	17
2.1.1.1.5. Protein	18
2.1.1.1.6. Lifli besinler	18
2.1.1.2. Yaşam tarzı	18
2.1.1.2.1. Fiziksel aktivite	18
2.1.1.2.2. Sigara	19
2.1.1.2.3. Alkol	19

2.1.1.3. Fizyolojik faktörler	19
2.1.1.3.1. Yaş	19
2.1.1.3.2. Cinsiyet	20
2.1.1.4. Patolojik faktörler	20
2.1.1.4.1. Hipertriacilgliserolemi	20
2.1.1.4.2. Obezite	20
2.1.1.4.3. Tip 2 diyabet	21
2.1.2. Postprandial hiperlipidemi ile kalp damar hastalıkları ilişkisi	21
2.1.2.1. Endotel disfonksiyon	22
2.1.2.2. Lipoprotein artıklarının endotel ile etkileşimi	22
2.1.2.3. İnflamasyon	23
2.1.2.4. HDL- ve LDL-K seviyeleri	23
2.2. Şilomikron sentezi	24
2.2.1. Besinsel triacilgliserollerin hidrolizi	24
2.2.2. Besinsel yağ asitlerinin emilimi	25
2.2.2.1. Plazma membran yağ asidi bağlayıcı protein	26
2.2.2.2. Yağ asidi taşıyıcı proteinler	26
2.2.2.3. Yağ asidi translokaz	27
2.2.3. Besinsel yağ asitlerinin hücre içinde taşınması	27
2.2.4. Besinsel substratlardan triacilgliserol sentezi	28
2.2.4.1. Yağ açıl-KoA sentezi	28
2.2.4.2. Diaçilgliserol sentezi	28
2.2.4.3. Triacilgliserol sentezi	28
2.2.5. Triacilgliserollerin şilomikronlarda paketlenmesi	29
2.2.5.1. Apolipoprotein B-48	31
2.2.5.2. Apolipoprotein A-IV	32
2.2.5.3. Mikrozomal trigliserid transfer protein	33
2.2.5.4. Hepatosit nükleer faktör-4 $\alpha$	35
2.3. Sirkadyen ritim	36
2.3.1. Tanım	36
2.3.2. İşleyişi ve düzenlenmesi	36
2.3.3. Nükleer reseptörler ve sirkadyen ritim	37



2.3.4. İnce bağırsakta sirkadyen ritim	39
2.3.5. Sirkadyen ritmin şilomikron sentezi ile ilişkisi	39
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	41
3.1. Deneysel plan	41
3.1.1. Şilomikron sentezinin değerlendirilmesi	41
3.1.1.1. Deney hayvanları	41
3.1.1.2. Besinsel yağların uygulanması	42
3.1.1.3. Kan ve ince bağırsak örneklerin alınması	42
3.1.1.4. Serum TAG düzeyinin ölçülmesi	43
3.1.1.5. Serum kolesterol düzeylerinin ölçülmesi	45
3.1.1.6. İnce bağırsak MTP aktivitesinin ölçülmesi	47
3.1.1.7. İnce bağırsak ApoB-48, ApoA-IV, MTP ve HNF-4 $\alpha$ gen ifadelerinin ölçülmesi	49
3.1.1.7.1. RNA izolasyonu	49
3.1.1.7.2. cDNA sentezi	50
3.1.1.7.3. RT-PCR ölçümleri	51
3.1.2. Postprandial hiperlipideminin değerlendirilmesi	52
3.1.2.1. Deney hayvanları	52
3.1.2.2. Besinsel yağların uygulanması	52
3.1.2.3. Kan örneklerinin alınması	52
3.1.2.4. Retinil palmitat miktarının ölçülmesi	53
3.1.2.5. Serum TAG düzeyinin ölçülmesi	55
3.1.2.6. Serum kolesterol düzeylerinin ölçülmesi	55
3.2. İstatistiksel Analiz	55
<b>4. BULGULAR</b>	56
4.1. Şilomikron sentezinin değerlendirilmesi	56
4.1.1. Serum TAG seviyeleri	56
4.1.2. Serum Total-K seviyeleri	57
4.1.3. Serum HDL-K seviyeleri	58
4.1.4. Serum LDL-K seviyeleri	59
4.1.5. İnce bağırsak MTP aktivitesi	60
4.1.6. İnce bağırsak ApoB-48, ApoA-IV, MTP ve HNF-4 $\alpha$ gen ifadeleri	61

4.2. Postprandial hiperlipideminin değerlendirilmesi	65
4.2.1. Serum TAG seviyeleri	65
4.2.2. Serum Total-K seviyeleri	67
4.2.3. Serum HDL-K seviyeleri	69
4.2.4. Serum LDL-K seviyeleri	71
4.2.5. Serum retinil palmitat seviyeleri	73
<b>5. TARTIŞMA</b>	77
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	84
<b>KAYNAKLAR</b>	85
<b>EK-1</b> Deney hayvanları etik kurulu kararı	106
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	107

## SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

$\alpha$	: Alfa	8
ACSL	: Uzun zincir açıl-KoA sentetaz	28
Apo	: Apolipoprotein	2
$\beta$	: Beta	8
Bmal1	: Beyin ve kas aril hidrokarbon reseptörü nükleer translokasyon benzeri-1	36
C	: Karbon	9
$^{\circ}\text{C}$	: Santigrad derece	41
cDNA	: Tamamlayıcı deoksiribonükleik asit	50
CD36/FAT	: Yağ asidi translokaz	26
CETP	: Kolesterol ester transfer protein	23
Clock	: Sirkadyen lokomotor veri siklus kaput	36
cm	: Santimetre	42
COOH	: Karboksil	24
COPII	: Kaplama protein kompleksi II	30
Cry	: Kriptokrom	36
$C_t$	: Eşik siklus	51
ÇDYA	: Çoklu doymamış yağ asitleri	2
$\delta$	: Delta (küçük harf)	38
$\Delta$	: Delta (büyük harf)	10
DAG	: Diaçilgliserol	25
DGAT	: Diaçilgliserol açil transferaz	28
DHA	: Dokozahekzaenoik asit	14
dk	: Dakika	42
dL	: Desilitre	7
DNA	: Deoksiribonükleik asit	37
DR-1	: Direkt tekrar-1	35
DYA	: Doymuş yağ asitleri	2
EPA	: Eikozapentaenoik asit	14
ER	: Endoplazmik retikulum	2

FAA	: Besin bekleme aktivitesi	80
FABP	: Yağ asidi bağlayıcı protein	27
FABPpm	: Plazma membran yağ asidi bağlayıcı protein	26
FATP	: Yağ asidi taşıyıcı protein	26
$\gamma$	: Gamma	11
g	: Gram	1
g	: Yerçekimi	45
GAPDH	: Gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz	51
HDL-K	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterol	21
HNF-1	: Hepatosit nükleer faktör-1	40
HNF-4 $\alpha$	: Hepatosit nükleer faktör-4 $\alpha$	4
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi	48
ICAM-1	: İntersellüler adezyon molekül-1	23
IDL	: Orta yoğunluklu lipoprotein	3
Insig2	: İnsülin indüklenmiş gen 2	38
IU	: Uluslararası Ünite	52
IUPAC	: Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği	9
kcal	: Kilokalori	24
kDa	: Kilodalton	26
kg	: Kilogram	42
L	: Litre	43
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein	3
LDL-K	: Düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol	21
LPL	: Lipoprotein lipaz	3
MAG	: Monoaçilgliserol	25
MCP-1	: Monosit kemoatraktan protein-1	23
$\mu$ g	: Mikrogram	45
mg	: Miligram	7
MGAT	: Monoaçilgliserol açıl transferaz	28
$\mu$ L	: Mikrolitre	42
mL	: Mililitre	29
$\mu$ m	: Mikrometre	54

mm	: Milimetre	54
mM	: Milimolar	43
mmol	: Milimol	43
mRNA	: Mesajcı ribonükleik asit	3
MTP	: Mikrozomal trigliserid transfer protein	2
nm	: Nanometre	29
nmol	: Nanomol	47
$\omega$	: Omega	2
OD	: Optik yoğunluk	44
OH	: Hidroksil	24
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyon	50
PDI	: Protein disülfid izomeraz	34
Per	: Periyot	36
pmol	: Pikomol	48
PPAR	: Peroksizom çoğaltıcı aktiflenmiş reseptör	38
ppm	: Milyonda bir parçacık	53
PPRE	: Peroksizom çoğaltıcı cevap elemanı	38
Rev-erba	: Ters eritroblastosis virus $\alpha$	37
RNA	: Ribonükleik asit	49
RNaz	: Ribonükleaz	50
ROR $\alpha$	: Retinoik-asit ilişkili reseptör $\alpha$	37
rpm	: Dakidaki dönüş sayısı	42
RT-PCR	: Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyon	51
s	: Saniye	50
SCN	: Suprakiazmatik nukleus	4
SHP	: Küçük heterodimer partner	40
sn	: Stereospesifik numaralandırma	25
SREBP1c	: Sterol düzenleyici eleman bağlayıcı protein-1c	38
SRE/IRE	: Sterol ve insülin cevap elemanı	34
TAG	: Triaçilgliserol	1
TDYA	: Tekli doymamış yağ asitleri	2
VAMP7	: Vezikül ilişkili membran protein 7	30

VCAM-1	: Vasküler hücre adezyon molekülü-1	23
VLDL	: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein	3
%	: Yüzde	2

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Palmitik asit' in yapısı	9
Şekil 2.2. Stearik asit' in yapısı	9
Şekil.2.3. Oleik asit' in yapısı	11
Şekil 2.4. Linoleik asit' in yapısı	12
Şekil 2.5. Araşidonik asit' in yapısı	12
Şekil 2.6. Linolenik asit' in yapısı	14
Şekil 2.7. Eikozapentaenoik asit' in yapısı	14
Şekil 2.8. Dokozahekzaenoik asit' in yapısı	15
Şekil 2.9. Şilomikron sentezinin genel basamakları	31
Şekil 2.10. Sirkadyen ritmin moleküler mekanizması	38
Şekil 3.1. TAG standart grafiği	44
Şekil 3.2. Kolesterol standart grafiği	47
Şekil 3.3. MTP aktivitesi standart grafiği	49
Şekil 3.4. Retinil palmitat standart grafiği	54
Şekil 4.1. Besinsel yağ uygulamasından 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki TAG seviyeleri	56
Şekil 4.2. Besinsel yağ uygulamasından 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki Total-K seviyeleri	58
Şekil 4.3. Besinsel yağ uygulamasından 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki HDL-K seviyeleri	59
Şekil 4.4. Besinsel yağ uygulamasından 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki LDL-K seviyeleri	60
Şekil 4.5. Besinsel yağ uygulamasından 4 saat sonra alınan ince bağırsak örneklerindeki MTP aktivitesi	61
Şekil 4.6. Besinsel yağ uygulamasından 4 saat sonra alınan ince bağırsak örneklerindeki ApoB-48 gen ifadesi	62
Şekil 4.7. Besinsel yağ uygulamasından 4 saat sonra alınan ince bağırsak örneklerindeki ApoA-IV gen ifadesi	63
Şekil 4.8. Besinsel yağ uygulamasından 4 saat sonra alınan ince bağırsak örneklerindeki MTP gen ifadesi	63

Şekil 4.9. Besinsel yağ uygulamasından 4 saat sonra alınan ince bağırsak örneklerindeki HNF-4 $\alpha$ gen ifadesi	64
Şekil 4.10. 08:00' da besinsel yağ uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki TAG seviyeleri	66
Şekil 4.11. 20:00' da besinsel yağ uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki TAG seviyeleri	67
Şekil 4.12. 08:00' da besinsel yağ uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki Total-K seviyeleri	68
Şekil 4.13. 20:00' da besinsel yağ uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki Total-K seviyeleri	69
Şekil 4.14. 08:00' da besinsel yağ uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki HDL-K seviyeleri	70
Şekil 4.15. 20:00' da besinsel yağ uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki HDL-K seviyeleri	71
Şekil 4.16. 08:00' da besinsel yağ uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki LDL-K seviyeleri	72
Şekil 4.17. 20:00' da besinsel yağ uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki LDL-K seviyeleri	72
Şekil 4.18. 08:00' da besinsel yağ uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki retinil palmitat seviyeleri	74
Şekil 4.19. 20:00' da besinsel yağ uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki retinil palmitat seviyeleri	75



**TABLolar DİZİNİ**

Tablo 2.1. Besinsel yağlarda yer alan başlıca doymuş yağ asitleri	9
Tablo 2.2. Doymuş yağ asidi yönünden zengin besinsel yağların yağ asidi bileşenlerinin ortalama % değerleri	10
Tablo 2.3. Besinsel yağlarda yer alan başlıca tekli doymamış yağ asitleri	11
Tablo 2.4. Tekli-doymamış yağ asidi yönünden zengin besinsel yağların yağ asidi bileşenlerinin ortalama % değerleri	12
Tablo 2.5. Besinsel yağlarda yer alan başlıca $\omega$ -6 çoklu-doymamış yağ asitleri	13
Tablo 2.6. $\omega$ -6 çoklu-doymamış yağ asidi yönünden zengin besinsel yağların yağ asidi bileşenlerinin ortalama % değerleri	13
Tablo 2.7. Besinsel yağlarda yer alan başlıca $\omega$ -3 çoklu-doymamış yağ asitleri	14
Tablo 2.8. $\omega$ -3 çoklu-doymamış yağ asidi yönünden zengin besinsel yağların yağ asidi bileşenlerinin ortalama % değerleri	15
Tablo 3.1. Standart pellet yem içeriği	41
Tablo 4.1. 08:00 ve 20:00' da besinsel yağ uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki TAG/Retinil palmitat oranları	76

## 1. GİRİŞ

Tüm dünyadaki ölümlerin birincil nedeni olan koroner kalp hastalıkları, gelişmiş ülkelerdeki ölümlerin ise açık ara en yaygın nedenidir (1, 2). Zilversmit' in “şilomikronlar ve artıkları aterosklerozda rol oynayabilir” önerisinden beri, postprandial triaçilgliserol (TAG) seviyelerinin kalp damar hastalıklarındaki önemi tartışılmaktadır (3). İlk başlarda bu fikir fazla kabul görmemesine rağmen, son yıllarda yapılan epidemiyolojik, klinik ve deneysel çalışmalardan elde edilen sonuçlar öneriyi destekler nitelikte olup, postprandial TAG seviyelerinin ateroskleroz ve kalp damar hastalıkları gelişimi için bağımsız bir risk faktörü olduğunu göstermektedir (4-6).

Lipid ve lipoprotein metabolizması ile ateroskleroz ve kalp damar hastalıkları gelişimi arasındaki ilişki hakkında sahip olduğumuz bilgilerin büyük kısmı, temel olarak endojen metabolizmayı yansıtan açlık durumundaki ölçümlere dayanmaktadır. Açlık durumunda yapılan ölçümler, klinik değerlendirmeler ve terapötik kararlar için önemli bir temel oluşturmasına rağmen, bütün gün boyunca kan lipid seviyelerinde devamlı bir dalgalanma gözlemlendiği ve günün büyük kısmının da postprandial durumda geçtiği bilinmektedir (7).

Batı tarzı beslenme modelinde, insanlar günde her biri 20-70 g yağ içeren üç veya daha fazla öğünde yemek yemektedir. Bu öğünlerin her biri, büyük ihtimalle bir önceki öğünden kaynaklanan plazma TAG seviyeleri lipemik düzeylerden normale dönmeden önce tüketilmektedir (8). Besinsel yağları içeren yemeklerin yenmesi, sindirim ve emilimi sonrasında dolaşıma geçmesi ile oluşan metabolik süreç postprandial hiperlipidemi olarak adlandırılmaktadır (9). Postprandial hiperlipidemisinin şiddeti ve süresi, TAG yönünden zengin lipoproteinlerin sentez hızı, dolaşımda metabolize edilmesinde görev alan enzimlerin aktivitesi ve reseptör aracılı olarak dolaşımdan uzaklaştırılmasındaki hız gibi çok sayıda metabolik süreç ile etkilenmektedir (4).

Postprandial hiperlipidemi, tüketilen yemekteki besinsel yağların miktarı ve yağ asidi kompozisyonu, karbonhidrat, protein ve lif miktarı ile sigara ve alkol gibi yaşam tarzı, yaş ve cinsiyet gibi fizyolojik faktörler ve obezite, diyabet ve metabolik

sendrom gibi patolojik durumlarla ilişkilidir (8, 10, 11). Besinlerin sindirilip, emilmesini takiben ince bağırsakta sentezlenen şilomikronların büyüklüğü, sayısı ve yağ asidi kompozisyonu tüketilen besinsel yağların türüne bağlıdır. Doymuş yağ asitleri (DYA) en yüksek postprandial hiperlipidemiye neden olurken, onu sırasıyla tekli doymamış yağ asitleri (TDYA),  $\omega$ -6 çoklu doymamış yağ asitleri (ÇDYA) ve en düşük derecede postprandial hiperlipidemiye neden olan  $\omega$ -3 ÇDYA izlemektedir (8, 12, 13).

Organizmada enerjinin en önemli depo ve taşınma formu TAG' lerdir. İnce bağırsak lumeninden kan dolaşımına taşınması olarak tanımlanan besinsel TAG' lerin emilimi, büyüme ve gelişmenin sürdürülmesi için gereklidir. Duodenum ve proksimal jejunumda yer alan enterositler lipid emiliminde görev alan esas hücrelerdir. Besinsel lipidlerin lumen içerisinde hidrolizi ile başlayan TAG emilimi, hidroliz ürünlerinin enterositlerin apikal kısmından hücre içine alınması, hücre içinde endoplazmik retikulum (ER)' a taşınması, TAG' lerin tekrar sentezlenmesi ve şilomikron formunda paketlenmesi ile devam edip, salgı için enterositlerin basolateral kısmına doğru hücre içinde taşınması ve torasik lenf kanalına salgılanması ile son bulmaktadır (14).

Postprandial periyotta sentezlenen şilomikronlar besinsel lipidlerin taşınması için gerekli olup, lipid içeriğinin yaklaşık % 85-90' lık kısmını TAG' ler oluşturmaktadır. Şilomikronların oluşumu, yapısal apolipoprotein (Apo) olan ApoB-48' in mikrozomal trigliserid transfer protein (MTP) tarafından ER içinde lipidlendirilmesi ile başlamaktadır. Lipidlendirilmesi sonucunda ER membranından ayrılan ApoB-48, çekirdek kısmında nötral lipidleri içeren primordial şilomikron yapısını oluşturmaktadır (14). Primordial şilomikron, MTP aktivitesi ile daha fazla lipid molekülünün yapıya katılması sonucunda çekirdek kısımları büyüyerek pre-şilomikron' a dönüşmektedir (15). Pre-şilomikron' a dönüşüm sırasında, ince bağırsakta lipid emilimi üzerinde önemli rol oynayan ApoA-IV yapıya katılarak, çekirdek kısmı genişleyerek büyüyen şilomikron partiküllerinin yüzey kısmının stabilize edilmesine yardımcı olmaktadır. Pre-şilomikronlar, ER' dan golgiye pre-şilomikron transport vezikül aracılığıyla taşınmaktadır (14). Golgi içerisinde ApoA-I ve lipidlerin eklenmesi ile oluşan olgun şilomikronlar, salgı kesecikleri içerisinde

golgiden ayrılarak lamina propria' ya salınmak üzere basolateral membran ile kaynaşmaktadır (16).

TAG yönünden zengin lipoproteinlerin sentez ve sekresyonu için gerekli olan ApoB, öne çıkan yapısal apolipoproteindir. Karaciğer ve bağırsakta sentezlenen ApoB, aynı gende kodlanmalarına rağmen mesajcı ribonükleik asit (mRNA)' in dokuya özgü posttranskripsiyonel düzenlenmesi ile ApoB-100 ve ApoB-48 olmak üzere iki formda bulunmaktadır (17). Karaciğerde, ApoB proteinini kodlayan mRNA' in posttranskripsiyonel düzenlenmeye uğramaması sonucu sentezlenen 4536 amino asit içeren ApoB-100, çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL), orta yoğunluklu lipoprotein (IDL) ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) yapılarında yer almaktadır. ApoB-100'ün bağırsağa özgü olarak posttranskripsiyonel düzenlenmesi sonucu olarak, N-terminal %48'lik kısmından oluşan 2152 amino asit içeren ApoB-48 ise bağırsaklarda şilomikron oluşumunda kullanılmaktadır (14).

Lipid emilimi süresince enterositlerde sentezlenen ApoA-IV, şilomikron sentezinin erken aşamalarında yüzeysel eleman olarak şilomikron yapısına katılır (18). Lesitin-kolesterol açıltransferaz (19), lipoprotein lipaz (LPL) (20), kolesterol ester transfer protein (21) gibi lipoprotein metabolizmasında önemli görevler üstlenen proteinlerin ifadelerinin (ekspresyonlarının) düzenlenmesi ve ters yönde kolesterol taşımına aracılık etmesi (22) gibi çeşitli fizyolojik işlemlere sahip olan ApoA-IV için son zamanlarda antioksidan (23) ve antiinflamatuvar (24) özellikler de tanımlanmaktadır. Bununla birlikte, bağırsak lumenindeki lipid miktarına en hassas cevabı veren apolipoprotein olan ApoA-IV' ün en önemli biyolojik fonksiyonunun lipid emiliminin düzenlenmesi olduğu bilinmektedir. Son çalışmalar, ApoA-IV ifadesindeki artış ile şilomikron ve TAG oluşumu, şilomikron içerisinde paketlenen TAG miktarı ve MTP ifadesindeki artışın ilişkili olduğunu göstermektedir (25, 26).

Heterodimer yapıdaki MTP, hepatosit ve enterosit ER' unda TAG, kolesterol esterler ve fosfolipidleri ApoB-100 ve ApoB-48 üzerine eklemektedir. MTP-aracılı lipid transfer aktivitesi durduğunda, ApoB-48 parçalanmaya uğrar ve buna bağlı olarak bağırsaklarda şilomikron sentezlenemez (14). Bu mekanizma aracılığı ile ApoB' nin erken parçalanmasının ve uygun olmayan konformasyonlarda katlanmasının engellenmesinde MTP önemli bir rol oynamaktadır (27). MTP' in

lipoprotein oluşumunda anahtar rol üstlenen bir enzim olmasından dolayı, MTP düzenlenmesini kontrol eden mekanizmaların belirlenmesi önem taşımaktadır. Bağırsak ve karaciğer kaynaklı MTP' in, besinsel yağlarla ve hepatosit nükleer faktör-4 $\alpha$  (HNF-4 $\alpha$ ) gibi transkripsiyon faktörleri ile düzenlenebilmesi hiperlipideminin engellenmesinde ve tedavisinde bu tarz farklı yaklaşımlara yol açmaktadır (28, 29).

Nükleer reseptör süperaillesinin bir üyesi olan HNF-4 $\alpha$ , karaciğer, ince bağırsak, böbrek ve pankreas adacık hücrelerinde ifade edilen bir transkripsiyon faktörüdür. Yağ asidi ve kolesterolün sentez ve metabolizmasında görev alan enzimlerin hedef genlerindeki promotör bölgelerine bağlanarak ifadelenmelerini düzenlemektedir (30). İnsan duodenum lumenindeki postprandial miçellerin, HNF-4 $\alpha$  için bağlanma bölgesine sahip olan ve enterositlerde lipid metabolizmasında anahtar görevler üstlenen ApoB, ApoA-IV ve MTP proteinlerinin ifadelenmesini düzenlediği in vitro çalışmalarda gösterilmiştir (31). Yakın zamana kadar herhangi bir ligandının olmadığı bilinmesine rağmen, 12 karbondan daha uzun zincirli doymuş ve doymamış yağ açıl KoA tiyoesterlerinin HNF-4 $\alpha$ ' nın ligand bağlayıcı bölgesine bağlanabildiği gösterilmiştir. HNF-4 $\alpha$  transkripsiyonel aktivitesinin 14-16 karbonlu doymuş yağ asitleri ile artırılıp,  $\omega$ -3 ÇDYA ile baskılanması postprandial hiperlipideminin kontrolünde görev alabileceğine işaret etmektedir (29).

Bazı biyolojik, fizyolojik ve davranışsal aktivitelerin gün doğumu ve batımına ayak uydurarak, 24 saatlik aralıklarla gösterdiği karakteristik dalgalanmalara sirkadyen ritim denir. Memelilerde hipotalamustaki suprakiazmatik nükleusta (SCN) yer alan merkezi sirkadyen ritim aydınlık/karanlık siklusu ile yürütülmektedir (32). Işığın retinadaki nöronlar tarafından tanınmasından sonra, bu bilginin retinohipotalamik yol aracılığı ile SCN' a iletilmesi, saat genleri olarak ifade edilen transkripsiyon faktörlerinin ifadelenmesi ile başlayan fizyolojik ve davranışsal değişikliklere yol açmaktadır. SCN' ta yer alan merkezi saat, nöronal ve hormonal mekanizmalar ile periferal dokulardaki sirkadyen saati senkronize edebilirken, karaciğer, kalp ve ince bağırsak gibi periferdeki dokular besinler ve beslenme zamanı gibi uyaranların etkisi ile kendi sirkadyen saatlerini de kontrol edebilmektedir (33).

İnsanlarda ve kemirgenlerde sirkadyen ritim gösteren plazma TAG konsantrasyonu, lipoprotein üretim ve yıkımı arasındaki denge ile belirlenmektedir (34). 12'şer saatlik karanlık/aydınlık periyodunda tutulan deney hayvanlarında plazma TAG seviyeleri sirkadyen değişim göstermekte (35), ApoB içeren lipoproteinlerin seviyesindeki değişimden dolayı TAG seviyeleri geceleri yüksek düzeyde bulunmaktadır (33). Sirkadyen ritme bağlı olarak plazma TAG düzeylerindeki değişimin temel olarak ApoB lipoproteinlerin miktarındaki değişimden kaynaklandığının bilinmesine ek olarak, ince bağırsak ve karaciğerde MTP gen ifadesinin de ritmik değişime sahip olduğu gösterilmiştir (34). Sirkadyen ritmin sağlanmasında görev alan saat genindeki mutasyonun daha fazla TAG'ün emilmesine ve MTP ifadesinin artmasına neden olması, plazma TAG seviyeleri üzerinde sirkadyen ritmin önemini göstermektedir (32, 33). Sirkadyen ritim ve farklı yağ asidi kompozisyonuna sahip besinsel yağların ayrı ayrı postprandial lipoprotein sentezi ve hiperlipidemiye etkileri bilinmesine rağmen, karşılıklı etkileşimlerinin bu süreçleri nasıl etkilediği hakkında bilgi mevcut değildir.

Uzun yıllardan beri, LDL' in ve özellikle okside LDL' in, ateroskleroz başlangıç ve gelişiminde önemli rol oynadığı bilinmekte, ilgili olduğu moleküler mekanizmalar yoğun bir şekilde araştırılmaktadır (36, 37). Bununla birlikte, yağ içeren besinlerin yenmesini takiben TAG yönünden zengin lipoproteinlerin dolaşımdaki konsantrasyonunun artması ile ortaya çıkan postprandial hiperlipidemi de, son yıllarda ateroskleroz için risk faktörü olarak değerlendirilmektedir (4, 38). Şilomikron artıklarının insan aort intimasından ve aterosklerotik plaklardan izole edilmesi, dolaşımdan uzaklaştırılmasındaki gecikmenin aterosklerotik lezyon oluşumuna neden olması, subendotelyal boşlukta tutulması ve arter duvarlarını geçmesi gibi aterojenik özelliklere sahip olması, postprandial hiperlipideminin ortaya çıkmasına katkıda bulunan şilomikron metabolizmasının önemini ortaya koymaktadır (39). Bu nedenle, farklı besinsel yağ asitleri ile farklı şekilde düzenlenebilen HNF-4 $\alpha$  aracılığı ile şilomikron sentezinde önemli görevlere sahip olan ApoB-48, ApoA-IV ve MTP ifadelerinin sirkadyen ritme göre nasıl değiştiğinin aydınlatılması, postprandial hiperlipidemi-ateroskleroz ilişkisi bakımından önem taşımaktadır.

Şilomikron sentezinde önemli görevler üstlenen ApoB-48, ApoA-IV ve MTP' in ifadeleri, hem sirkadyen ritme bağılı olarak hem de besinsel yağ asitleri ile transkripsiyonel aktivitesi değiştirilebilen HNF-4 $\alpha$  aracılığı ile düzenlenebilmektedir. Bu amaçla, tereyağı, zeytin yağı ve balık yağı gibi farklı yağ asidi kompozisyonlarına sahip besinsel yağların şilomikron sentezi ve postprandial hiperlipidemi üzerine etkilerinin sirkadyen ritme göre karşılaştırılması amaçlanmıştır. Bu perspektif ile farklı sirkadyen ritim periyotlarında tüketilen farklı besinsel yağların ApoB-48, ApoA-IV, MTP ve HNF-4 $\alpha$ ' nın ifadeleri üzerindeki muhtemel değişimler ortaya konulabilecek, böylelikle farklı besinsel yağların tüketilme zamanlarına bağılı olarak şilomikron sentezi ve postprandial hiperlipidemiye etkileri belirlenerek, aterojenik özelliklerinin değerlendirilmesine olanak sağlanacaktır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Postprandial hiperlipidemi**

Gün içerisinde sıklıkla yemek tüketilmesinden dolayı, insanlar günün yaklaşık olarak 18 saat gibi büyük bir kısmını postprandial periyotta geçirmektedir (4). 30 g' dan daha fazla besinsel yağ içeren yemeklerin yenmesini takiben, şilomikron ve VLDL gibi TAG yönünden zengin olan lipoproteinlerin plazma seviyelerindeki artış ile karakterize olan postprandial hiperlipidemi, açlık durumu ile karşılaştırıldığında lipoproteinlerin göreceli olarak hızlı bir şekilde yeniden modellendiği dinamik bir durumu ifade eden metabolik bir süreçtir (8, 12, 40).

Postprandial hiperlipidemisinin ateroskleroz ve bununla ilişkili kalp damar hastalıkları için güçlü bir risk faktörü olduğunu destekleyen araştırmaların sayısı arttıkça, postprandial hiperlipidemiye etki eden faktörlerin aydınlatılması önem kazanmaktadır (41).

#### **2.1.1. Postprandial hiperlipidemiye etki eden faktörler**

Postprandial hiperlipidemiye etki eden faktörler besin miktarı ve bileşimi, yaşam tarzı, fizyolojik ve patolojik ana başlıkları altında toplanabilir (8).

##### **2.1.1.1. Besin miktarı ve bileşimi**

Postprandial hiperlipidemisinin ortaya çıkmasında rol oynayan en önemli besinsel bileşen faktörü olan besinsel yağların miktar ve türünün yanı sıra, kolesterol, karbonhidrat, protein ve lifler gibi diğer besin bileşenlerinin de postprandial hiperlipidemi üzerine etkileri gösterilmiştir (8, 10).

###### **2.1.1.1.1. Besinsel yağ miktarı**

Sağlıklı, gönüllü katılımcılarla yürütülen doz-cevap çalışmalarında, 5 g gibi çok az ve 15 g gibi az miktarda besinsel yağ içeren test yemeklerinin tüketilmesi sonucunda postprandial TAG seviyelerinde anlamlı artışlar gözlenmemektedir (40, 42). Orta düzeydeki miktarlar olarak belirtilen 30-50 g aralığında besinsel yağ içeren yemekler, postprandial TAG seviyelerinde doza bağımlı olarak artışa neden olmaktadır. Başlangıç TAG seviyelerine göre, 30 g besinsel yağ tüketimi 80 mg/dL,



50 g besinsel yağ tüketimi ise 115 mg/dL civarında bir artışa neden olmaktadır. 80 g ve üzerindeki miktarlarda tüketilen besinsel yağlar, daha yüksek postprandial TAG seviyelerine neden olmakla beraber, bu düzeylerdeki artışın dozdan bağımsız olduğu gözlenmektedir (43). İnsanların tükettiği yemeklerin büyük kısmı 20-40 g besinsel yağ içermektedir. İki ya da üç ana öğünde tüketilen bu yemekler ve ilave olarak ara öğünlerden oluşan bir beslenme modelinde, dolaşımdaki TAG seviyeleri günün büyük kısmında açlık seviyelerinin üzerinde kalmaktadır. Bu nedenle, besinsel yağ içeren öğünlerin birbirini takip eden düzende tüketilmesi de postprandial hiperlipideminin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (8).

#### **2.1.1.1.2. Besinsel yağ türü**

Postprandial hiperlipideminin ortaya çıkmasında besinsel yağ miktarının yanı sıra, besinsel yağların yağ asidi bileşimi, yağ asitlerinin zincir uzunluğu, doymuşluğu ve doymamışlığı gibi faktörlerin de etkili olduğu rapor edilmektedir (44-46).

Batı tipi beslenme modelinde, alınan kalenin yaklaşık olarak %42' lik kısmını oluşturan besinsel lipidlerin %95' ini çoğunlukla uzun zincirli yağ asitleri içeren TAG' ler oluşturmaktadır (47). Hidrokarbon zinciri ve karboksil grubu taşıyan moleküller olan yağ asitleri, gliserol ile esterleşerek besinsel yağların temel bileşeni olan TAG yapılarını oluşturmaktadır. Hidrokarbon zinciri içerisinde karbon-karbon çift bağı içerip içermemesine göre yağ asitleri, doymuş ve doymamış yağ asitleri olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (48).

##### **2.1.1.1.2.1. Doymuş yağ asitleri**

Yağ asitlerindeki karbon atomları çoğunlukla karboksil ucundaki karbon atomunun 1 ile numaralandırılması ile başlamaktadır. Komşu pozisyondaki 2 ve 3 numaralı karbon atomları sırasıyla  $\alpha$  ve  $\beta$ , hidrokarbon zincirinin ucundaki metil karbonu ise  $\omega$  olarak isimlendirilir. Hidrokarbon zinciri içerisinde karbon-karbon çift bağı taşımayan yağ asitleri olan DYA, zincir uzunluklarına göre kısa, orta ve uzun zincirli DYA olmak üzere alt gruplara ayrılmaktadır (48).

**Tablo 2.1.** Besinsel yağlarda yer alan başlıca doymuş yağ asitleri (49,50).

Gösterim Biçimi (Karbon Sayısı : Çift Bağ Sayısı)	IUPAC Sistemik Adı	Genel Kullanım Adı
4:0	Tetranoik asit	Butirik asit
6:0	Hekzanoik asit	Kaproik asit
8:0	Oktanoik asit	Kaprilik asit
10:0	Dekanoik asit	Kaprik asit
12:0	Dodekanoik asit	Laurik asit
14:0	Tetradekanoik asit	Miristik asit
16:0	Hekzadekanoik asit	Palmitik asit
18:0	Oktadekanoik asit	Stearik asit

Dört karbonlu ( $C_4$ ) butirik asit ve daha kısa alifatik zincirli yağ asitleri, kısa-zincirli yağ asitleri; kaproik, kaprilik ve kaprik asit gibi  $C_6$ - $C_{10}$  arası alifatik zincirli yağ asitleri, orta-zincirli yağ asitleri;  $C_{12}$  laurik asit ve daha uzun alifatik zincirli yağ asitleri ise uzun-zincirli yağ asitleri olarak tanımlanmaktadır (49). İnsanların beslenmesinde yer alan başlıca DYA' nin gösterim biçimi, genel kullanım ve IUPAC sistemik adı Tablo 2.1.' de, palmitik ve stearik asitin yapısı Şekil 2.1. ve 2.2.' de, DYA yönünden zengin besinsel yağların yağ asidi bileşimleri Tablo 2.2.' de gösterilmektedir.

**Şekil 2.1.** Palmitik asit' in yapısı (51).**Şekil 2.2.** Stearik asit' in yapısı (51).

**Tablo 2.2.** Doymuş yağ asidi yönünden zengin besinsel yağların yağ asidi bileşenlerinin ortalama % değerleri (49).

Yağ asidi	Hindistan cevizi yağı	Palm yağı	Kakao yağı	Tereyağ
4:0	-	-	-	3,2
6:0	0,5	-	-	2,0
8:0	7,8	3,3	-	1,2
10:0	6,7	3,4	-	2,5
12:0	47,5	48,2	-	2,6
14:0	18,1	16,2	-	7,4
16:0	8,8	8,4	25,0	21,7
18:0	2,6	2,5	38,0	10,0
18:1 $\omega$ -9	6,2	15,3	32,0	17,0
18:2 $\omega$ -6	1,6	2,3	3,0	2,2
18:3 $\omega$ -3	-	-	-	0,3

#### 2.1.1.1.2.2. Doymamış yağ asitleri

Hidrokarbon zinciri içerisinde en az bir tane karbon-karbon çift bağı taşıyan yağ asitleri olan doymamış yağ asitleri, içerdikleri çift bağ sayısına göre alt gruplara ayrılmaktadır. Doymamış yağ asitlerindeki karbon-karbon çift bağının zincir içerisindeki pozisyonu, karboksil karbonuna göre  $\Delta$  sembolüne yazılan üst indis ile belirtilmektedir. Karbon-9 (C-9) ile C-10 arasında bir tane çift bağ içeren oleik asit, 18:1 $\Delta^9$  şeklinde ifade edilmektedir. Tek çift bağa sahip olanlar tekli-doymamış yağ asitleri (TDYA), birden fazla çift bağa sahip olanlar çoklu-doymamış yağ asitleri (ÇDYA) olmak üzere alt gruplara ayrılmaktadır (48).

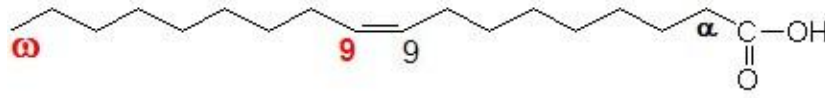
##### 2.1.1.1.2.2.1. Tekli-doymamış yağ asitleri

Besinsel yağlar içerisinde yer alan TDYA grubunun başlıca temsilcileri oleik, vaksenik ve palmitoleik asit iken, diğer yağ asitleri daha az düzeylerde bulunmaktadır (49). İnsanların beslenmesinde yer alan başlıca TDYA' nin gösterim

biçimi, genel kullanım ve IUPAC sistematik adı Tablo 2.3.' te, oleik asit' in yapısı Şekil 2.3.' te gösterilmektedir.

**Tablo 2.3.** Besinsel yağlarda yer alan başlıca tekli doymamış yağ asitleri (49,50).

Gösterim Biçimi (Karbon Sayısı : Çift Bağ Sayısı ve Pozisyonu)	IUPAC Sistematik Adı	Genel Kullanım Adı
14:1 $\omega$ -5	<i>cis</i> -9-tetradekenoik asit	Miristoleik asit
16:1 $\omega$ -7	<i>cis</i> -9-hekzadekenoik asit	Palmitoleik asit
18:1 $\omega$ -9	<i>cis</i> -9-oktadekenoik asit	Oleik asit
18:1 $\omega$ -9	<i>trans</i> -9-oktadekenoik asit	Elaidik asit
18:1 $\omega$ -7	<i>cis</i> -11-oktadekenoik asit	Vaksenik asit



**Şekil.2.3.** Oleik asit' in yapısı (51).

Oleik asit' in ana besinsel kaynağı zeytinyağı olmakla beraber, kanola, yer fıstığı, fındık ve badem yağları da önemli miktarlarda oleik asit içermektedir (49). TDYA yönünden zengin besinsel yağların yağ asidi bileşimleri Tablo 2.4.' te verilmiştir.

#### 2.1.1.1.2.2.2. Çoklu-doymamış yağ asitleri

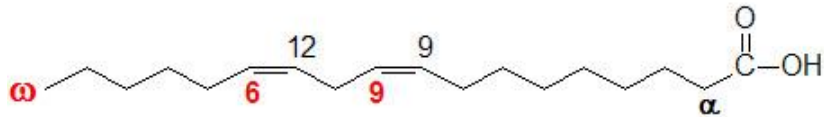
C-6 ve C-7, C-9 ve C-10 ile C-12 ve C-13 arasında üç tane çift bağ taşıyan  $\gamma$ -linolenik asit, 18:3 $\Delta^{6,9,12}$  şeklinde ifade edilmektedir.  $\omega$  karbonuna en yakın pozisyonda yer alan çift bağa göre de tanımlanabilmektedir. C-12 ve C-13 arasında yer alan çift bağ  $\omega$  karbonuna göre 6. pozisyonda yer aldığından  $\gamma$ -linolenik asit, 18:3 $\omega$ -6 şeklinde de ifade edilebilmektedir. ÇDYA  $\omega$  sınıflandırmasına göre,  $\omega$ -3 ve  $\omega$ -6 ÇDYA alt gruplarına ayrılmaktadır (48).

**Tablo 2.4.** Tekli-doymamış yağ asidi yönünden zengin besinsel yağların yağ asidi bileşenlerinin ortalama % değerleri (49).

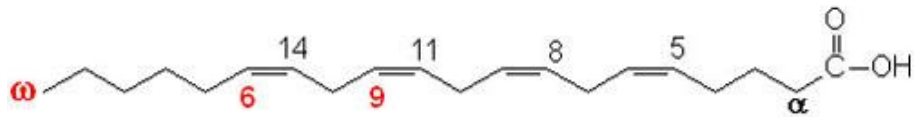
Yağ asidi	Zeytinyağı	Kanola yağı	Yerfıstığı yağı	Fındık yağı	Badem yağı
16:0	11,0	4,0	9,5	5,2	7,0
18:0	2,0	2,0	2,2	2,0	2,0
18:1 $\omega$ -9	71,0	62,0	44,8	77,8	69,0
18:2 $\omega$ -6	10,0	18,6	32,0	10,1	17,0
18:3 $\omega$ -3	1,0	9,0	-	-	-

### 2.1.1.1.2.2.1. $\omega$ -6 Çoklu-doymamış yağ asitleri

$\omega$ -6 ÇDYA ailesinin temel üyesi linoleik asit iken, metabolik ürünleri olan  $\gamma$ -linolenik asit, dihomo- $\gamma$ -linolenik asit, araşidonik asit ve dokozapentaenoik asit diğer üyeleri oluşturmaktadır. İnsanların beslenmesinde yer alan başlıca  $\omega$ -6 ÇDYA' nin gösterim biçimi, genel kullanım ve IUPAC sistematik adı Tablo 2.5.' te, linoleik ve araşidonik asit' in yapısı Şekil 2.4. ve 2.5.' te gösterilmektedir.



**Şekil 2.4.** Linoleik asit' in yapısı (51).



**Şekil 2.5.** Araşidonik asit' in yapısı (51).

**Tablo 2.5.** Besinsel yağlarda yer alan başlıca  $\omega$ -6 çoklu-doymamış yağ asitleri (49,50).

Gösterim Biçimi (Karbon Sayısı : Çift Bağ Sayısı ve Pozisyonu)	IUPAC Sistemik Adı	Genel Kullanım Adı
18:2 $\omega$ -6	<i>cis,cis</i> -9,12- oktadekadienoik asit	Linoleik asit
18:3 $\omega$ -6	all <i>cis</i> -6,9,12- oktadekatrienoik asit	$\gamma$ -linolenik asit
20:3 $\omega$ -6	all <i>cis</i> -8,11,14- eikozatrienoik asit	Dihomo- $\gamma$ -linolenik asit
20:4 $\omega$ -6	all <i>cis</i> -5,8,11,14- eikozatetraenoik asit	Araşidonik asit
22:5 $\omega$ -6	all <i>cis</i> -4,7,10,13,16- dokozapentaenoik asit	-

Ayçiçek, soya, mısır, susam ve ceviz yağları insan beslenmesinde önemli yer tutan,  $\omega$ -6 ÇDYA yönünden oldukça zengin olan besinsel yağlardır (49).  $\omega$ -6 ÇDYA içeren besinsel yağların yağ asidi bileşimleri Tablo 2.6.' da verilmiştir.

**Tablo 2.6.**  $\omega$ -6 çoklu-doymamış yağ asidi yönünden zengin besinsel yağların yağ asidi bileşimlerinin ortalama % değerleri (49).

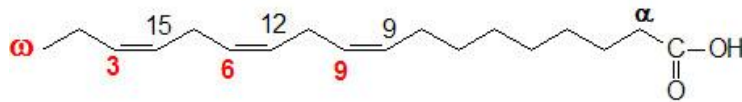
Yağ asidi	Ayçiçek yağı	Mısır yağı	Susam yağı
16:0	7,0	11,0	9,0
18:0	5,0	2,0	4,0
18:1 $\omega$ -9	19,0	28,0	42,0
18:2 $\omega$ -6	68,0	58,0	45,0
18:3 $\omega$ -3	1,0	1,0	-

### 2.1.1.1.2.2.2. $\omega$ -3 Çoklu-doymamış yağ asitleri

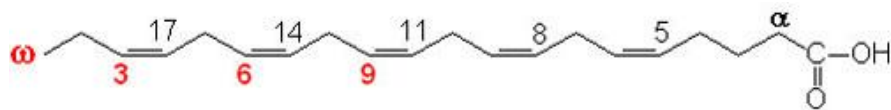
$\omega$ -3 ÇDYA ailesinin temel üyesi linolenik asit iken, metabolik ürünleri olan eikozapentaenoik asit (EPA), dokozahekzaenoik asit (DHA), dokozapentaenoik asit diğer üyeleri oluşturmaktadır. İnsanların beslenmesinde yer alan başlıca  $\omega$ -3 ÇDYA' nin gösterim biçimi, genel kullanım ve IUPAC sistematik adı Tablo 2.7.' de, linolenik, eikozapentaenoik ve dokozahekzaenoik asit' in yapısı sırasıyla Şekil 2.6., 2.7. ve 2.8.' de gösterilmektedir.

**Tablo 2.7.** Besinsel yağlarda yer alan başlıca  $\omega$ -3 çoklu-doymamış yağ asitleri (49,50).

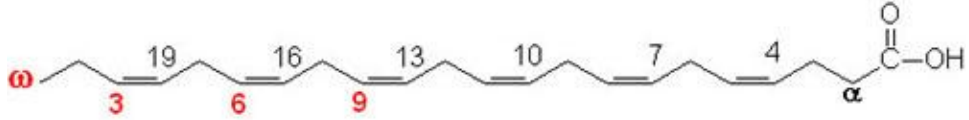
Gösterim Biçimi (Karbon Sayısı : Çift Bağ Sayısı ve Pozisyonu)	IUPAC Sistematik Adı	Genel Kullanım Adı
18:3 $\omega$ -3	all <i>cis</i> -9,12,15- oktadekatrienoik asit	Linolenik asit
20:5 $\omega$ -3	all <i>cis</i> -5,8,11,14,17- eikozapentaenoik asit	EPA
22:5 $\omega$ -3	all <i>cis</i> -7,10,13,16,19- dokozapentaenoik asit	-
22:6 $\omega$ -3	all <i>cis</i> -4,7,10,13,16,19- dokozahekzaenoik asit	DHA



**Şekil 2.6.** Linolenik asit' in yapısı (51).



**Şekil 2.7.** Eikozapentaenoik asit' in yapısı (51).



**Şekil 2.8.** Dokozahekzaenoik asit' in yapısı (51).

Linolenik asit' in besinsel kaynaklarını keten tohumu, kendir tohumu, ceviz ve soya fasulyesi gibi bitkilerden elde edilen yağlar oluşturmaktadır. Linolenik asit' in metabolitleri olan EPA ve DHA ise yağlı balıkların tüketilmesi ile alınmaktadır. Sardalya, uskumru, somon ve ton balığı gibi yağlı balıkların 150 g' lık porsiyonlarından yaklaşık 2 g EPA ve DHA sağlanabilmektedir (49). ω-3 ÇDYA içeren besinsel yağların yağ asidi bileşimleri Tablo 2.8.' de verilmiştir.

**Tablo 2.8.** ω-3 çoklu-doymamış yağ asidi yönünden zengin besinsel yağların yağ asidi bileşenlerinin ortalama % değerleri (49).

Yağ asidi	Keten tohumu yağı	Kendir tohumu yağı	Ceviz yağı	Soya yağı
16:0	5,0	6,0	7,0	11,0
18:0	4,0	2,0	2,0	4,0
18:1ω-9	21,0	12,0	22,2	22,5
18:2ω-6	16,0	58,0	52,0	50,0
18:3ω-6	-	2,0	-	-
18:3ω-3	53,0	20,0	10,0	7,0

### 2.1.1.1.2.3. Postprandial hiperlipidemiye etkileri

DYA yönünden zengin olan besinsel yağlar ile beslenme sonucunda ortaya çıkan postprandial hiperlipideminin şiddeti, doymamış yağ asitleri yönünden zengin besinsel yağlara göre daha yüksek gözlenmektedir (4). Hindistan cevizi, palm ve kakao yağı gibi DYA yönünden zengin bir besinsel yağ olmasına rağmen, tereyağı içeriğindeki önemli miktardaki kısa ve orta-zincirli yağ asidi bileşenleri nedeniyle diğer besinsel yağlara göre daha düşük postprandial hiperlipidemiye neden olmaktadır. Kısa ve orta-zincirli yağ asitleri, dolaşıma şilomikron sentezi yerine



portal yolla katıldığından dolayı postprandial hiperlipidemiye katkısı sınırlı düzeydedir (8).

En yüksek postprandial hiperlipidemiye neden olan DYA içeren besinsel yağlardan sonra, TDYA yönünden zengin besinsel yağlar gelmektedir. DYA yönünden zengin besinsel yağ tüketimi ile karşılaştırıldığında, TDYA tüketimi postprandial TAG seviyelerinde anlamlı derecede azalmaya sebep olmamasına rağmen, ApoB-48 miktarında %21-54 arasında belirgin bir düşüşe neden olmaktadır. Postprandial TAG seviyeleri ile ApoB-48 ifadesi birlikte değerlendirildiğinde, TDYA tüketiminin daha az sayıda ancak daha büyük boyutlarda şilomikron sentezi ile sonuçlandığı çıkarılabilmektedir (52). Şilomikron sentezinde ApoB-48' in MTP tarafından lipidlendirilmesi basamağı, mevcut olan besinsel yağ asitlerinin yapısıyla ilgilidir. Özellikle oleik asitin MTP tarafından şilomikron yapısına katılmasının daha etkin bir şekilde gerçekleşmesi, daha büyük boyutlarda şilomikron sentezlenmesine olanak sağlamaktadır (53).

Postprandial hiperlipidemiye etkileri bakımından TDYA içeren besinsel yağlardan sonra,  $\omega$ -6 ÇDYA içeren besinsel yağlar gelmektedir.  $\omega$ -6 ÇDYA, zeytinyağı ve kolza yağı gibi TDYA yönünden zengin besinsel yağlarla karşılaştırıldığında postprandial hiperlipidemiye etkileri daha düşük gözlenmektedir (46, 54).  $\omega$ -6 ÇDYA' nin büyük kısmını oluşturan linoleik asit' in emilim ve dolaşımdan uzaklaştırılma hızı daha yüksek olduğundan dolayı, postprandial hiperlipidemi seviyeleri daha düşük bulunmaktadır (54).

Besinsel yağlar içerisinde en düşük derecede postprandial hiperlipidemiye neden olan grup  $\omega$ -3 ÇDYA içeren yağlardır. Sterol cevap eleman bağlayıcı protein-1' i baskılayarak lipogenez ve VLDL sentezini azaltan  $\omega$ -3 ÇDYA, ters kolesterol taşınmasını ve LPL aktivitesini artırırken, ApoC-III konsantrasyonu üzerinde de azaltıcı etki göstermektedir (55-57). İnsanların ortalama günlük tüketiminden fazla miktarda  $\omega$ -3 ÇDYA içeren test yemekleri postprandial TAG cevabını azaltmaktadır (58). Günde 2,7 ile 4 g gibi yüksek miktarlarda  $\omega$ -3 ÇDYA içeren besinlerin tüketilmesi postprandial hiperlipidemi seviyelerini düşürmektedir (59).  $\omega$ -3 ÇDYA tüketimi hem şilomikron hem de VLDL sentez ve salınmasını azalttığı için postprandial hiperlipidemide azalma gözlenmektedir (60). Bununla birlikte,  $\omega$ -3

ÇDYA tüketimi ile azalan postprandial hiperlipidemi, LPL aktivitesindeki artış ile orantılı olarak, TAG yönünden zengin lipoproteinlerin dolaşımdan uzaklaştırılma hızındaki artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (61). Sonuç olarak, şilomikron ve VLDL sentez ve salımındaki azalma ile birlikte dolaşımdan uzaklaştırılmasındaki artış,  $\omega$ -3 ÇDYA tüketiminin postprandial hiperlipidemiye nasıl düşürdüğünü açıklamaktadır (8).

#### **2.1.1.1.3. Kolesterol**

Her öğünde 140 mg gibi orta düzeyde kolesterol tüketimi, sağlıklı bireylerde plazma ve şilomikron TAG seviyelerinde belirgin ölçüde bir artışa neden olmamaktadır. Öte yandan, öğün başına 280-700 mg gibi yüksek düzeyde kolesterol içeren yemeklerin tüketilmesi postprandial hiperlipidemiyi şiddetinin artmasına ve özellikle şilomikron TAG seviyelerinde yükselmeye sebep olmaktadır (62). Kolesterol tüketimi ile postprandial hiperlipidemi arasındaki ilişkide dikkat çekici olan diğer bir nokta ise, besinsel yağların aksine kolesterol tüketimini takip eden üç öğün sonrası periyotta bile şilomikronlar içerisinde kolesterolün yer almasıdır (63).

#### **2.1.1.1.4. Karbonhidrat**

Yemekler içerisinde yer alan sindirilebilir karbonhidratların postprandial lipid metabolizmasını değiştirdiği bilinmektedir (64). Sağlıklı bireylerle yapılan araştırmada, test öğünlerine eklenen glukoz postprandial hiperlipidemi seviyelerini anlamlı düzeyde değiştirmezken, fruktoz ve sükrözün öğünlere eklenmesi postprandial TAG seviyelerini dikkat çekici biçimde yükseltmektedir (65, 66). Beyaz ekmek ve makarna gibi nişasta yönünden zengin besinlerin tüketilmesi ile ortaya çıkan hiperglisemi ve hiperinsülinemi, postprandial TAG seviyelerini anlamlı derecede değiştirmezken şilomikronların postprandial periyotta birikmesine neden olmaktadır (67). İnsülin direnci bulunan bireylerde, düşük glisemik indeksli besinler yerine yüksek glisemik indeksli besinlerin tüketilmesi, ApoB-48 ve ApoB-100 içeren TAG yönünden zengin lipoproteinlerin birikimiyle sonuçlanmaktadır (68).

### **2.1.1.1.5. Protein**

Besinsel proteinlerin miktarı ve türü ile ilgili olarak, postprandial hiperlipidemik cevaba olan etkileri hakkındaki verilerin, diğer besin bileşenleri ile kıyaslandığında daha az veri olduğu görülmektedir (9). İlimli düzeyde hipertrigliseridemik bireylerde, postprandial şilomikron konsantrasyonları düşük düzeyde protein içeriği ile beslenmede yağsız kırmızı et ile beslenenlere göre artmaktadır (69). Tip 2 diyabetli bireylerde, besinsel yağ yönünden zengin test öğünlerine eklenen peynir altı suyu proteinleri morina balığı, kazein ve gluten gibi diğer proteinlere göre daha düşük postprandial lipemi düzeylerine neden olmaktadır (70).

### **2.1.1.1.6. Lifli besinler**

Lifli besinlerin kaynağı olan bitkisel ürün tüketiminin ince bağırsakta lipidlerin kullanımına etkisi bilinmektedir (64). Lif kaynağı olan besinlerin öğün başına 4-10 g seviyelerinde test yemeklerine eklenmesi, sağlıklı bireylerde postprandial hiperlipidemiye %17-24 oranında azaltmıştır (71, 72). Lif kaynağı olan yulaf kepeği ve TAG seviyelerini düşürücü özelliklere sahip buğday tohumunun test öğünlerine eklenmesi, ince bağırsak lumeninde lipidlerin hidrolizi, miçel oluşturması ve emilmesini azaltarak, dolaşıma geçen şilomikron miktarını %37 oranında düşürmektedir (72).

### **2.1.1.2. Yaşam tarzı**

Besin miktarı ve bileşiminin yanı sıra, fiziksel aktivite, sigara ve alkol kullanımı gibi yaşam tarzı faktörlerinin de postprandial hiperlipidemiye etkilediği bildirilmiştir (73).

#### **2.1.1.2.1. Fiziksel aktivite**

Besinsel yağ yönünden zengin besinlerin tüketilmesi sonucu oluşan postprandial lipeminin azaltılması, fiziksel aktivitenin yoğunluğu ve enerji tüketimi ile ilişkilidir. Gün içerisinde gerçekleştirilen fiziksel aktiviteler, önceki öğünlerde tüketilen yüksek yağlı besinlerin etkisi sonucu dolaşıma geçen lipoproteinlerin dolaşımdan uzaklaştırılma hızını arttırmaktadır (74). Antrenmansız kişilerle

karşılaştırıldığında, sürekli antrenman yapanlarda hem oral yağ yüklemesi sonrası oluşan postprandial cevap daha yavaştır, hem de TAG yönünden zengin lipoproteinlerin dolaşımından uzaklaştırılması daha hızlıdır (75).

#### **2.1.1.2.2. Sigara**

Sigara içen bireylerde, açlık durumundaki TAG seviyelerinde değişme olmaksızın, postprandial TAG seviyelerinde %50' lik bir artış gözlenmektedir (76). Şilomikronlar ile dolaşıma geçen retinil esterleri ve ApoB-48 seviyeleri %170 artarken, ApoB-100 seviyelerinde değişiklik bulunmamaktadır (77). Sigara içmeyenlere göre postprandial retinil palmitat ve ApoB-48 seviyelerinde belirlenen artış, sigara kullanımının postprandial TAG metabolizmasını öncelikli olarak dolaşıma geçen şilomikron düzeylerini arttırarak etkilediğini göstermektedir (78).

#### **2.1.1.2.3. Alkol**

Besinlerle birlikte etanol tüketimi, plazma ve VLDL-TAG seviyelerini arttırmaktadır. 50,9 g besinsel yağ içeren öğüne eklenen 47,5 g alkol, postprandial TAG seviyelerinde yaklaşık %60' lık bir artışa neden olmaktadır. Etanol tüketiminin büyük boyutlarda VLDL sentezini artırması sebebiyle postprandial hiperlipidemiye neden olduğu düşünülmektedir (79).

#### **2.1.1.3. Fizyolojik faktörler**

Besin miktarı ve bileşimi ile yaşam tarzına ek olarak yaş ve cinsiyet gibi fizyolojik faktörlerin de postprandial hiperlipidemi ile ilişkili olduğu bilinmektedir (73).

##### **2.1.1.3.1. Yaş**

Yaş ile birlikte besinsel yağ toleransının azalması sonucunda, yaşlı bireylerde genç bireylere göre daha yüksek postprandial hiperlipidemi seviyeleri gözlenmektedir (80). Yaş ile birlikte LPL aktivitesindeki azalma ve buna bağlı olarak gözlenen postprandial hiperlipidemi seviyelerindeki yükselme, insanların ilerleyen yaşlarda kilo alma sebepleri arasında gösterilmektedir (81).

### **2.1.1.3.2. Cinsiyet**

Araştırma sonuçları, açlık ve postprandial TAG seviyelerinin erkeklerde kadınlara göre daha yüksek olduğunu göstermektedir. Yağ içeren besinlerin tüketilmesini takiben, kadınlarda postprandial lipid cevabının daha düşük olması, LPL aktivitesindeki yükselme sebebiyle lipoproteinlerin dolaşımdan uzaklaştırılma kapasitesindeki artış ile açıklanmaktadır (8, 80).

Kadınlarda postmenopozal dönemde, östrojen eksikliği ile ilişkili olarak açlık ve postprandial lipoprotein profilindeki değişimler, bu dönemde kalp damar hastalıklarındaki risk artışını açıklayabilir (73, 82). Premenapozal dönemde, östradiol'ün LDL reseptörü aktivitesi veya subkutanöz yağ dokuda yağ asitlerinin daha kolay tutulması üzerine muhtemel etkileri, kalp damar hastalıkları riskini azaltmaktadır (8).

### **2.1.1.4. Patolojik faktörler**

Besin miktarı ve bileşimi, yaşam koşulları ve fizyolojik faktörlerin yanı sıra hipertrigliserolemi, obezite ve tip 2 diyabet gibi patolojik faktörlerin de postprandial lipemik cevaba etki ettiği bilinmektedir (8).

#### **2.1.1.4.1. Hipertrigliserolemi**

Açlık ölçümlerinde hipertrigliserolemik bulunan bireylerde, postprandial lipid düzeyleri uzun süre yüksek kalmaktadır. Muhtemelen LPL aktivitesindeki azalmadan dolayı, özellikle şilomikronlar olmak üzere, dolaşımdaki TAG yönünden zengin lipoproteinlerin yarı ömrü yaklaşık dört kat artmaktadır (8).

#### **2.1.1.4.2. Obezite**

Aşırı yüksek postprandial lipemiye neden olan hipertrigliserolemi ve hiperinsülinemi gibi çeşitli metabolik bozukluklarla ilişkili bir durum olan obezite, göbek bölgesinde aşırı yağlanma ile karakterize patolojik bir durumdur. Obezite ile ilişkili metabolik bozuklukların görülmediği obez bireylerde bile, üç kat daha yüksek postprandial TAG seviyeleri gözlenmektedir (83, 84). Aşırı yağlanma ile birlikte karaciğere taşınan serbest yağ asidi miktarındaki artmanın sonucu olarak gerçekleşen

hepatik TAG sentezindeki artış, obezite ile postprandial lipemi arasındaki ilişkiyi açıklamaktadır (73).

#### **2.1.1.4.3. Tip 2 diyabet**

Tip 2 diyabetli bireyler, kalp damar hastalıkları bakımından yüksek risk altındadır. Açlık ölçümlerinde yüksek TAG ve düşük HDL-K (yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterol) düzeylerine sahip olan bu bireyler, hem ince bağırsak hem de karaciğer kökenli lipoproteinler ve onların artıklarının yüksek düzeyleri ile karakterize olan postprandial lipid metabolizması bakımından da bozukluklara sahiptir (85, 86). İyi bir glukoz kontrolüne ve normal bir açlık TAG düzeyine sahip olan tip 2 diyabetli bireyde bile, yüksek yağlı yemekleri takiben anormal postprandial lipid cevabı oluşmaktadır (87). İnsülin'in VLDL sentezi üzerindeki inhibe edici etkisinin azalması nedeniyle VLDL sentezindeki artışa ek olarak, LPL aktivitesinde ve karaciğer tarafından dolaşımdan uzaklaştırılma hızındaki azalma gibi muhtemel mekanizmalar aracılığıyla şilomikron ve artıklarındaki artma gibi lipid metabolizması bozuklukları görülmektedir (87, 88). İnsülin direncinin olduğu durumlarda, TAG ve VLDL aşırı üretiminin patogenezisinde hiperinsülineminin rolü üzerinde henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. İnsan ve hayvanlardaki çalışmalar, genel olarak kronik hiperinsülineminin VLDL sentezi için yeterli substratın olması şartıyla VLDL üretimini kolaylaştırdığını göstermektedir. Ancak, hepatositler üzerinde yapılan in vitro çalışmaların çoğu insülinin akut etkisine işaret etmektedir (89). Bu nedenle, tip 2 diyabetli bireyler için kalp damar hastalıkları riski değerlendirilirken, açlık durumu yerine postprandial lipid profilinin göz önünde bulundurulması önerilmektedir (73).

#### **2.1.2. Postprandial hiperlipidemi ile kalp damar hastalıkları ilişkisi**

Postprandial hiperlipidemi ile kalp damar hastalıkları riski arasındaki ilişki ortaya koyulmasına rağmen, TAG yönünden zengin olan bu lipoproteinlerin damar duvarı ile etkileşimini açıklayan mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır. Endotel disfonksiyon, TAG yönünden zengin lipoproteinlerin artıklarının damar duvarı ile etkileşimi, inflamasyon ve HDL- ve LDL-K (düşük yoğunluklu lipoprotein-

kolesterol) seviyelerindeki değişim gibi muhtemel mekanizmalar üzerinde çalışmalar mevcuttur (4).

### **2.1.2.1. Endotel disfonksiyon**

Endotel, güçlü bir vazodilatör olan ve düz kas gevşemesini sağlayan nitrik oksit gibi vazoaaktif maddelerin salımı ile damar tonusunun ayarlanmasında kritik bir görev üstlenmektedir (90). Damar düz kaslarının kasılmasındaki artış ve gevşemesindeki azalma ile karakterize olan endotel disfonksiyon, kalp damar hastalıkları ile ilişkili olup, ateroskleroz gelişiminin erken evrelerinde yer alan ve kontrol edilebilen faktörler arasındadır (91). 36-80 g gibi orta-yüksek düzeyde yağ içeren besinleri tüketen sağlıklı bireylerin alımı takiben 2-8 saatlik periyotta endotel fonksiyonlarında bozulmalar gözlenmektedir (92). İnsanların günün büyük çoğunluğunu postprandial periyotta geçirdiği düşünüldüğünde, gün içerisinde bu geçiş durumunun birkaç kez yaşanması uzun dönemde kalp damar hastalıkları riski için önemli bir faktördür (4).

### **2.1.2.2. Lipoprotein artıklarının endotel ile etkileşimi**

Karaciğerde sentezlenen VLDL ve artıklarına ek olarak, klinik çalışmalarda yapılan ApoB-48 ölçümlerinin sonuçları, ince bağırsak kökenli şilomikronlar ve artıklarının da ateroskleroz patogeneğinde yer alabileceğini göstermektedir (4). Ateroskleroz gelişiminin bir belirteci olarak değerlendirilen karotid intima-media kalınlığındaki artış, plazma ApoB-48 konsantrasyonundaki artış ile korelasyon göstermektedir (93). Şilomikron artıklarının da LDL gibi arter duvarından geçebildiği ve arteriyal lezyonlardaki lipidlerin şilomikron artıklarından da sağlandığı bilinmektedir (94). “Postprandial periyotta dolaşımda bulunan TAG yönünden zengin lipoproteinler yağ asidi bileşimine göre damar endoteli üzerinde farklı etkiler gösterebilir” hipotezini destekler nitelikteki sonuçların sayısı giderek artmaktadır. DYA yönünden zengin beslenen bireylerin plazmalarından elde edilen TAG yönünden zengin lipoproteinler, in vitro ölçümlerde endotel hücreleri üzerinde bozucu etki göstermektedir (41). TDYA ve ÇDYA yönünden zengin besinsel yağlar tüketen bireylerin plazmalarından elde edilen TAG yönünden zengin lipoproteinler ise endotel hücreleri üzerindeki bozucu etkiyi ortadan kaldırmaktadır (95).

### 2.1.2.3. İnflamasyon

Kronik inflamasyon, ateroskleroz ve kalp damar hastalıkları ile güçlü bir ilişkisi olan patolojik bir olaydır. İntersellüler adezyon molekül-1 (ICAM-1: intercellular adhesion molecule-1) ve vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1: vascular cell adhesion molecule-1) gibi adezyon molekülleri ile monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1: monocyte chemoattractant protein-1) ifadesinde artış görülen endotel disfonksiyonda, intima içerisinde monositlerin birikmesi ve proinflamatuvar durum devam etmektedir (96). Her öğünün, klasik inflamatuvar hastalıklara göre daha kısa süreli ve daha düşük şiddette inflamatuvar cevap oluşturması, postprandial metabolik inflamasyon olarak kabul edilmektedir. Besinler ile obezite, diabetes mellitus ve hareketsiz yaşam gibi besinlerden bağımsız faktörler postprandial metabolik inflamasyonu etkilemektedir. Açlık durumunda da kronik düşük seviyeli metabolik inflamasyona sebep olan besinlerden bağımsız faktörler, yemek sonrası oluşan postprandial inflamasyonun şiddetini arttırmaktadır (97). Postprandial metabolik inflamasyonun besin kaynaklı en güçlü tetikleyicisi DYA yönünden zengin olan besinsel yağlardır (98). Bununla birlikte, postprandial inflamasyonun en önemli belirteci ÇDYA' lerinin  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 oranıdır (99).  $\omega$ -6 ÇDYA proinflamatuvar özellikleri nedeniyle kalp damar hastalıkları açısından risk faktörü iken,  $\omega$ -3 ÇDYA güçlü anti-inflamatuvar etkileri sayesinde koruyucu etki göstermektedir (97).

### 2.1.2.4. HDL- ve LDL-K seviyeleri

TAG yönünden zengin lipoproteinlerin dolaşımdan uzaklaştırılmasındaki gecikme, kolesterol esterlerinin transfer edileceği lipoproteinlerin sayısındaki artış ile sonuçlanmaktadır. Postprandial lipemik koşullar altında, kolesterol ester transfer protein (CETP: kolesterol ester transfer protein) TAG yönünden zengin lipoproteinlerdeki TAG moleküllerini LDL ve HDL' e, HDL' deki kolesterol esterlerini ise TAG yönünden zengin lipoproteine transfer etmektedir (100). LDL ve HDL' in lipid içeriklerinin değiştirilmesi bu molekülleri lipaz etkisi için uygun birer substrat haline getirmektedir. Lipaz etkisi ile oluşan, daha küçük ve yoğun bir molekül olan HDL3 dolaşımdan hızlıca uzaklaştırılmakta ve böylelikle HDL-K seviyelerinde azalma gözlenmektedir. HDL ile benzer şekilde, lipaz etkisi sonucunda



oluşan küçük ve yoğun molekül LDL3, LDL-reseptörüne daha düşük bağlanma ilgisi göstermektedir. Bunun sonucu olarak, dolaşımdaki seviyeleri ve arter duvarını geçme hızlarında artış gözlenmektedir (4). Dolaşımdaki HDL-K seviyelerindeki azalma ve LDL3 molekülünün sayıca fazlalığı aterojenik lipoprotein fenotipi olarak değerlendirilmektedir (100).

## **2.2. Şilomikron sentezi**

9 kcal/g enerji içeriği ile karbonhidrat ve proteinlerin yaklaşık iki katı enerji sağlayan besinsel yağlar, besin bileşenleri içerisinde en önemli enerji kaynağı olarak öne çıkmaktadır (101). Enerji kaynağı olmasının yanı sıra, besinsel yağlar ile birlikte, esansiyel yağ asitleri ve yağda çözünen A, D, E ve K vitaminleri vücuda alınmaktadır. Yetişkinler için beslenme tavsiyeleri %20-35 aralığında olmasına rağmen, batı tipi beslenme modelinde besinsel lipidler enerjinin yaklaşık %42' lik kısmını oluşturmaktadır (47). Besinsel lipidlerin %95' ini genellikle uzun zincirli yağ asitlerinden oluşan TAG, %4,5' ini fosfolipidler ve %0,5' ini kolesterol ve esterleri oluşturmaktadır (48).

İnce bağırsak, TAG homeostazı için çok önemli bir organdır. Yüksek miktarlarda besinsel yağ tüketimi, plazma TAG konsantrasyonlarında artışa neden olmaktadır. Besinsel yağ yönünden zengin beslenme, kalp damar hastalıkları, obezite, diyabet, metabolik sendrom ve kanser için önemli bir risk faktörü olduğundan dolayı, çok sayıda çalışma hem insanlarda hem de laboratuvar hayvanlarındaki yağ asidi emiliminin fiziksel, kimyasal, hücrel ve genetik temellerinin aydınlatılması üzerine odaklanmaktadır (48).

### **2.2.1. Besinsel triaçilgliserollerin hidrolizi**

Gliserol molekülünün sahip olduğu üç adet –OH grubunun her birinin, yağ asitlerinin –COOH grupları ile esterleşmesi sonucunda TAG molekülü oluşmaktadır. TAG' ler içerdikleri yağ asitlerine göre basit ve kompleks TAG olmak üzere ikiye ayrılırlar. Basit TAG yapısında aynı yağ asidi yer alırken, en yaygın olarak bulunan kompleks TAG' ler ise farklı yağ asitlerinin gliserol ile esterleşmesinden oluşmaktadır. Her üç –OH grubu farklı yağ asitleri ile esterleştiğinde, her bir ester

bağı stereokimyasal olarak farklılık gösterdiğinden dolayı, stereospesifik numaralandırma biçimi olan sn-1, sn-2 ve sn-3 ile ifade edilmektedir (48).

Besinsel TAG'lerin sindirimi, lingual ve gastrik enzimlerin etkisi ile midede başlamaktadır. Preduodenal lipazların etkisi ile kısmi TAG hidrolizi ve peristaltik hareketler ile emülsifiye edilmesi ile sonuçlanmaktadır. Suda nerdeyse hiç çözünmeyen besinsel TAG'ler, ağız ve midedeki fiziksel ve kimyasal etkileşimler sonucunda kısmi olarak parçalanıp, duodenumda safra salgısı içerisinde çözünür hale gelmektedir (14). Tükürük bezlerinden salınan lingual lipaz ile gastrik mukozadan salınan gastrik lipaz, TAG molekülünün sn-3 pozisyonundaki yağ asidini hidroliz ederek diaçilgliserol (DAG) oluştururlar. Mide, pankreatik lipaz aktivitesinin etkin biçimde gerçekleşmesi için besinsel TAG moleküllerinin mekanik olarak emülsifiye edilmesinde önemli bir göreve sahiptir. Emülsifiye edilme işlemi, lipazların etkisi ile açığa çıkan DAG ve serbest yağ asitleri ile besinsel fosfolipidlerin katkısıyla gerçekleşmektedir (48).

Sonraki aşamada, besinsel yağların tüketilmesine cevap olarak, içeriğinde pankreatik lipaz, pankreatik lipaz ilişkili protein-1 ve -2 ile karboksil ester lipaz bulunan pankreatik sıvı duodenum lumenine dökülmektedir (14). Mideden ince bağırsağa geçen çapları 500 nm' den küçük olan lipid emülsiyonlarının kimyasal bileşimleri, safra ve pankreatik sıvının birlikte gösterdikleri etki sonucunda ince bağırsağın üst kısımlarında önemli oranda değişmektedir. Su ile yağ fazlarının arayüzünde fonksiyon gösteren pankreatik lipaz, sn-1 ve sn-3 pozisyonlarındaki yağ asitlerini hidroliz ederek monoaçilgliserol (MAG) moleküllerini oluştururlar. Pankreatik lipaz'ın, ince bağırsaktaki fizyolojik rolünü yerine getirmesi için kolipaz gereklidir. Pankreastan prokolipaz olarak salındıktan sonra, ince bağırsakta N-terminal pentapeptidin yapıdan ayrılması ile oluşan kolipaz, safra asitleri tarafından sarılan lipid damlacıkları içerisindeki TAG moleküllerine pankreatik lipazın erişimini sağlayarak, besinsel TAG'lerin sindirimini kolaylaştırmaktadır (48).

### **2.2.2. Besinsel yağ asitlerinin emilimi**

İnce bağırsak lumeninde lipazların etkisi ile açığa çıkan MAG ve yağ asitleri, konsantrasyonları yüksek olduğu zaman enterosit membranından difüzyon yoluyla

geçebilmektedir. Aynı zamanda, bu ürünler taşıyıcı proteinlerin aracılığı ile enterositlerde konsantrasyon farkına karşı taşınabilmektedir. MAG' e özgü olan herhangi bir taşıyıcı protein bulunmamasına rağmen, uzun zincirli yağ asitlerinin taşınmasında görevli olan birkaç protein tanımlanmıştır. Yağ asidi emilimi temel olarak şu basamaklarda gerçekleşmektedir; lümendeki yağ asitlerinin enterosit membranının dış tabakası ile etkileşimi, membran çift tabakası içerisinde flip-flop ve enterosit membranının iç tabakasından hücre içine salım (14). Plazma membran yağ asidi bağlayıcı protein (FABP<sub>pm</sub>: fatty acid binding protein plasma membrane), yağ asidi taşıyıcı proteinler (FATP: fatty acid transport protein) ve yağ asidi translokaz (CD36/FAT: cluster determinant/fatty acid translocase) yağ asidi emilimine katılan başlıca proteinlerdir (102, 103).

#### **2.2.2.1. Plazma membran yağ asidi bağlayıcı protein**

40 kDa' luk bir protein olan FABP<sub>pm</sub>, transmembran yağ asidi akışının yüksek olduğu karaciğer, jejunal mikrovillus, adipoz doku ve kardiyomiyosit gibi memeli dokularında bulunmaktadır (104-107).

#### **2.2.2.2. Yağ asidi taşıyıcı proteinler**

FATP ailesi, insanlarda farklı dokularda dağılım gösteren altı izoforma sahiptir. İnce bağırsakta yer alan izoform olan FATP4, jejunumdaki enterositlerde yer almaktadır (108). Farelerden izole edilen enterositlerle yapılan çalışmalarda, uzun zincirli yağ asitlerinin emilim etkinliğindeki artış, FATP4 ifade seviyeleri ile pozitif korelasyon göstermektedir (109). FATP4' ün üç boyutlu yapısında uzun zincirli yağ asitlerini bağlayıcı bölgenin bulunmaması, FATP4 aracılı yağ asidi taşınması ile ilgili soru işaretleri doğurmaktadır (110). FATP4, uzun ve çok uzun zincirli yağ asitleri için açıl-KoA sentetaz aktivitesi gösterdiğinden dolayı, enterosit içerisinde yağ asitlerinin açılmasını sağlayıp, konsantrasyon farkının sürdürülmesine aracılık ederek, pasif difüzyon ile gerçekleşen yağ asidi emilimine katkı sağlamaktadır (111).

### 2.2.2.3. Yağ asidi translokaz

Çok fonksiyonlu bir glikoprotein olan CD36, lipid metabolizmasının yoğun olduğu dokularda yüksek oranda ifade edilmektedir. Uzun zincirli yağ asitleri ile nanomolar konsantrasyon düzeyinde etkileşim gösteren CD36, her bir mol protein için üç mol yağ asidi bağlayabilmektedir (110). Kollajen, anyonik fosfolipidler, okside LDL gibi molekülleri de bağlayabilmesinden dolayı, B tipi çöpçü reseptör ailesi içerisinde yer almaktadır (112). CD36, duodenum ve jejunum' un fırçamsı yüzeyinin apikal kısmında yer alıp, temel olarak enterositlerde ifade edilmektedir (113). Yüksek besinsel yağ içeren diyet CD36' nın ifadenmesinde artışa neden olurken, yağ oranı düşük öğünler azalmaya neden olmaktadır (113, 114). ER' da sentezlenen pre-şilomikronların golgiye transferini sağlayan pre-şilomikron transport vezikülleri de CD36 ifadesi ile ilişkilidir. CD36' nın bu basamaktaki kesin işlevi tam olarak aydınlatılamamasına rağmen, CD36 ifadesinin durdurulması sonucunda pre-şilomikron transport vezikül oluşumunun bloke olması CD36' nın mekanizmadaki önemli rolünü açıklamaktadır (115).

### 2.2.3. Besinsel yağ asitlerinin hücre içinde taşınması

Yağ asitleri enterosit içerisine girdiği zaman, belirgin metabolik bölgelere sitozolik yağ asidi bağlayıcı protein (FABP: fatty acid binding protein) aracılı olarak taşınmaktadır (116). Dokuz üyesi bulunan FABP ailesinin üyeleri dokuya özgü ifade farklılıkları gösterebilmektedir. FABP2 yalnızca ince bağırsakta ifade edilirken, ailenin diğer üyeleri birden fazla dokuda ifadesi edilebilmektedir. İki molekül yağ asidi bağlayabilme kapasitesine sahip olan FABP1 hariç, diğerleri yağ asitleri için yüksek affinite gösteren tek bağlanma bölgesine sahiptir (14). FABP ailesinin ince bağırsakta ifade edilen iki üyesi olan FABP1 ve FABP2, sitozolik proteinlerin %4-6' sını oluşturmaktadır. Enterosit stoplazmasına geçen serbest besinsel yağ asitlerinin FABP1 ve FABP2' ye bağlanması, konsantrasyon gradyeninin oluşmasına neden olarak, yağ asitlerinin pasif diffüzyon ile stoplazmaya geçmesini sağlamaktadır (117).

## 2.2.4. Besinsel substratlardan triaçilgliserol sentezi

### 2.2.4.1. Yağ açıl-KoA sentezi

Serbest yağ asitlerinin enterosit stoplazmasına girmesinden sonraki süreç, uzun zincirli ve çok uzun zincirli yağ asitleri için spesifik olan açıl-KoA sentetaz (ACSL: long chain acyl-CoA synthetase) tarafından yağ açıl-KoA türevlerine dönüştürülmesi ile başlamaktadır (118). İnce bağırsakta ACSL3 ve ACSL5 başlıca sentetazlar olarak görev yaparken, ACSL1 daha düşük seviyelerde ifade edilmektedir (116). ACSL3 fosfolipid, ACSL5 ise TAG sentezi için yağ açıl-KoA dönüşümünü sağlamaktadır (118).

### 2.2.4.2. Diaçilgliserol sentezi

ACSL izoformları tarafından aktifleştirilen yağ asitleri, MAG açıl transferaz (MGAT: monoacylglycerol acyltransferase) enzimleri tarafından MAG' e transfer edilerek DAG oluşmaktadır. İnce bağırsakta sentezlenen TAG moleküllerinin yaklaşık % 75' i lümen emilen MAG moleküllerinden sentezlendiğinden dolayı, MGAT aktivitesi TAG sentezi için önem taşımaktadır (119). MGAT' ın üç izoformu içerisinde MGAT2 ve MGAT3 ince bağırsakta ifadelenmesi en yüksek olanlardır. İnce bağırsağın proksimalinde en yüksek ifade edilme miktarına ulaşan MGAT2' nin protein ifadesi ve aktivitesi lipid yüklemesine cevap olarak artmaktadır. Daha distalde ifade edilen MGAT3 ise lipid yüklemesine cevap vermemektedir. MGAT, sn-1-MAG' den ziyade sn-2-MAG' ü açıllemeyi tercih etmektedir. sn-2-MAG' ün açıllemesi ile sn-1,2-DAG oluşurken, sn-1-MAG ile sn-1,3-DAG oluşmaktadır. (16).

### 2.2.4.3. Triaçilgliserol sentezi

TAG sentezindeki son basamak, sn-1,2-DAG' ün DAG açıl transferaz (DGAT: diacylglycerol acyltransferase) aktivitesi ile yağ açıl-KoA' nın esterleşmesi sonucunda TAG oluşumudur (16). Farklı amino asit dizisi ve yapılarına rağmen, DGAT1 ve DGAT2 ince bağırsağın proksimalinde yüksek ifadelenme seviyelerine ulaşmaktadır (120). ER membranına bağlı olan DGAT1 ince bağırsaktaki toplam DGAT aktivitesinin yaklaşık %85' ini oluşturmaktadır (121). DGAT1 gibi ER

membranına bağlı bulunmasına ek olarak, stoplazmik lipid damlacıklarında da DGAT2 aktivitesi görülmektedir. İnce bağırsakta lipid emilim sürecinde, TAG' ün geçici olarak depolanmasına olanak sağlayan stoplazmik lipid damlacıkları şilomikron oluşumuna katkı sağlamaktadır (110). DGAT1 eksikliği olan deney hayvanları normal düzeyde besinsel yağ ile beslendiği zaman DGAT2 aktivitesi lipid emiliminin sürdürülmesine yetmesine rağmen, yüksek düzeyde besinsel yağ ile beslendiğinde salınan şilomikronların boyutlarında azalma ve ince bağırsakta TAG depolanmasında artış gözlenmektedir (122, 123). Bugünkü veriler, DGAT1 ve DGAT2' nin besinsel yağların ince bağırsaktaki sürecinde birbirlerinin tamamlayıcısı olduklarını, enterositlerde TAG depolanması ile şilomikronların salınımı arasındaki dengeyi birlikte kontrol ettikleri belirtilmiştir (110).

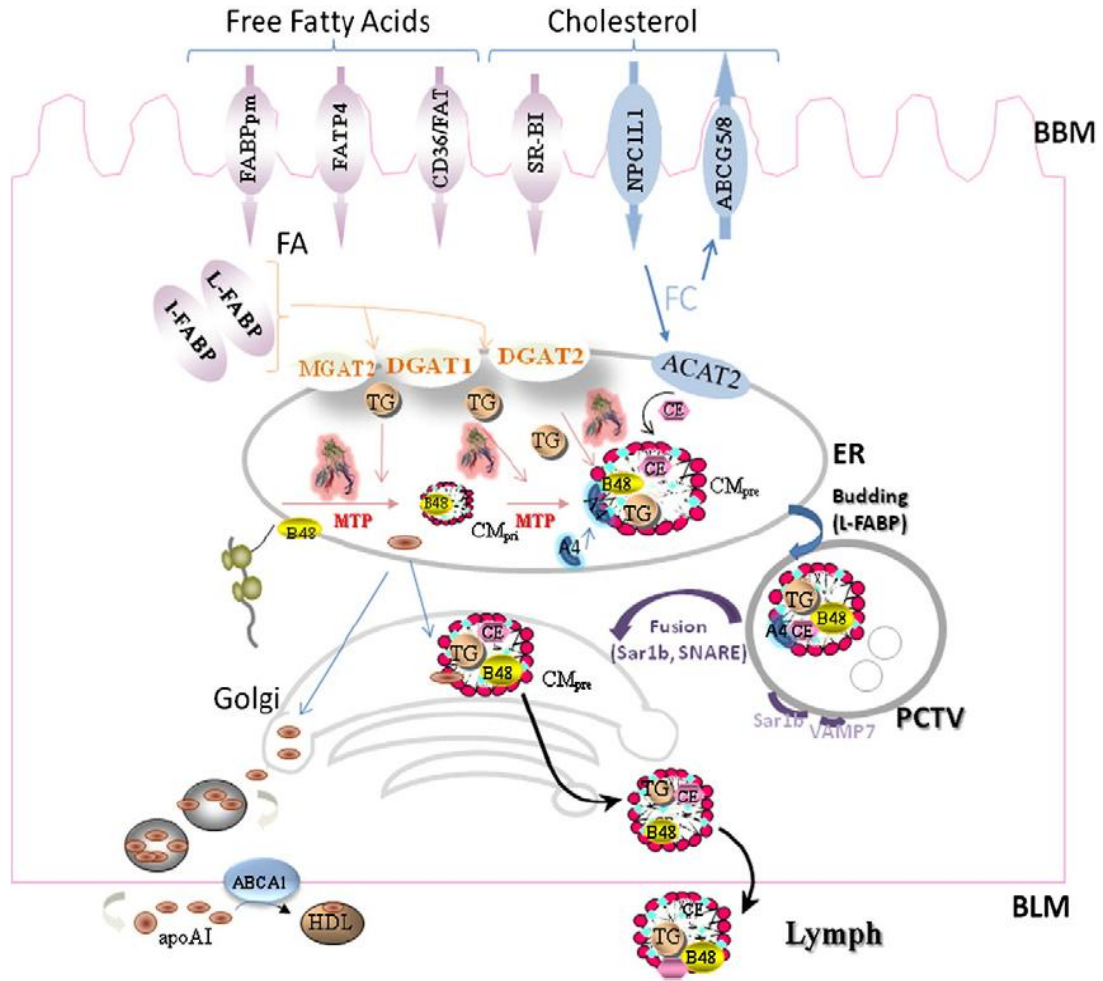
### **2.2.5. Triaçilgliserollerin şilomikronlarda paketlenmesi**

İnce bağırsak lumeninden emilen besinsel yağ asitleri ve MAG kullanılarak enterositlerde yeniden sentezlenen TAG molekülleri, şilomikron yapısına katılmaktadır. 80-1000 nm çapa ve 0,93 g/mL ' den daha düşük yoğunluğa sahip olan şilomikronlar, TAG yönünden çok zengin olan bir lipoproteindir. Geniş ve küresel yapıdaki partikülün içeriğinin %85-90' ı TAG, %7-9' u fosfolipidler, %3-5' i kolesterol esterleri, %1-3' ü serbest kolesterol ve %1-2' si apolipoproteinlerden oluşmaktadır. Şilomikron partiküllerinin çekirdek kısmında nonpolar TAG ve kolesterol esterleri yer alırken, küresel yapının yüzeyel kısımlarında amfipatik fosfolipidler, serbest kolesterol ve apolipoproteinler yer almaktadır (48, 110).

Şilomikronların sentezi ER içerisinde iki basamakta gerçekleşmektedir. Primordial şilomikron yapısının oluştuğu ilk basamakta ApoB-48 üzerine MTP tarafından az miktarda fosfolipidler, kolesterol esterleri ve TAG taşınmaktadır. Yoğun partikül olarak da adlandırılan bu yapının yoğunluğu HDL' inki benzerdir (124). Bu partikülün en önemli parçası ApoB-48' dir. Translasyonu tamamlandıktan sonra MTP tarafından lipidlendirilen ApoB-48, ER membranından ayrılarak ER lumenine geçmektedir. ApoB-48 içeren primordial şilomikron, ikinci basamakta lipid yönünden zengin, protein yönünden fakir partiküller ile ER lumeni içerisinde kaynaşarak pre-şilomikron' a dönüşmektedir. Hafif partikül olarak adlandırılan lipid yönünden zengin partikül büyük çoğunlukla TAG ve kolesterol esterlerinden

oluşmaktadır (17). Sentezlenen pre-şilomikron partiküllerinin boyutu, substrat varlığının yanı sıra ApoA-IV ifadesindeki artış ile büyümektedir (25).

Pre-şilomikron yapıları ER içinde sentezlendikten sonra, bir sonraki aşamanın gerçekleştirileceği *cis*-golgi' ye taşınmaktadır. Pre-şilomikron' ların ER' dan çıkışı, enterosit içerisinde gerçekleşen şilomikron sentezinin hız kısıtlayıcı basamağı olarak tanımlanmaktadır (125). Olgunlaşmamış pre-şilomikronlar, ER' dan golgiye pre-şilomikron transport vezikülleri aracılığı ile taşınmaktadır. Pre-şilomikron transport vezikülleri, şilomikrona özgü apolipoproteinler olan ApoB-48 ve ApoA-IV' ün dışında kaplama protein kompleksi II (COPII: coat protein complex), vezikül ilişkili membran protein 7 (VAMP7: vesicle associated membrane protein7), CD36 ve FABP-1 proteinlerini içermektedir (14). FABP-1, pre-şilomikron transport veziküllerinin ER' dan tomurcuklanarak ayrılmasını sağlarken, CD36 ve VAMP7 proteinleri veziküllerin hedefe doğru bir şekilde yönlendirilmesine ve *cis*-golgi membranı ile kaynaşmasına aracılık etmektedir (110, 126). Pre-şilomikron transport vezikülleri *cis*-golgi membranı ile kaynaştığında içeriğindeki pre-şilomikronları golgi lumenine boşaltmaktadır. Golgi lumeninde, pre-şilomikron yapısında yer almayan ApoA-I' in yapıya katılması ve ApoB-48' in glikozilasyona uğraması gibi başlıca iki dönüşüm gerçekleşmektedir (127, 128). Olgunlaşmış şilomikronların *trans*-golgi' den bazolateral membrana taşındığı bilinmesine rağmen, bu partiküllerin golgi' den ayrılıp bazolateral membran ile nasıl kaynaştığı hakkında fazla bilgi bulunmamaktadır. *trans*-golgi' den tomurcuklanarak ayrılan veziküller içerisinde taşınan olgunlaşmış şilomikron, veziküllerin bazolateral membran ile kaynaşması sonucunda lamina propria içerisine salındıktan sonra torasik lenf kanalı yoluyla genel dolaşıma verilmektedir (14). Şilomikron sentezinin genel basamakları Şekil 2.9' da gösterilmektedir.



Şekil 2.9. Şilomikron sentezinin genel basamakları (14).

### 2.2.5.1. Apolipoprotein B-48

TAG yönünden zengin lipoproteinlerin sentez ve salınmaları için gerekli olan ApoB, en önemli yapısal protein olarak görev yapmaktadır. Karaciğer ve ince bağırsakta yüksek oranda ifade edilmektedir. Aynı gen tarafından kodlanmalarına rağmen, mRNA'ın dokuya özgü olarak posttranskripsiyonel düzenlenmesindeki farklılıktan dolayı, ApoB-100 ve ApoB-48 olmak üzere iki farklı şekli mevcuttur. İnsan karaciğerinde, mRNA posttranskripsiyonel düzenlenmeye uğramadığından dolayı, translasyon sonucu oluşan 4536 amino asit içeren polipeptide ApoB-100 adı verilmektedir (14). Yetişkin insan ve rat ince bağırsağında sentezlenen tek ApoB



şekli olan ApoB-48, ApoB-100' ün N-terminal %48' lik kısmından oluşan bir apolipoproteindir (17).

2153. kodonda bulunan sitozin yerine urasil geçmesiyle meydana gelen dur kodonu nedeniyle oluşan 2152 amino asitten oluşan polipeptid, 4536 amino asit içeren ApoB-100' in N-terminal %48' lik kısmından oluştuğundan dolayı ApoB-48 olarak ifade edilmektedir (14).

ApoB' nin tamamen veya kısmen translasyona uğrayan her iki şekli de kolaylıkla parçalanabilmektedir (129). Bu nedenle, parçalanmayı önlemek için ApoB içeren lipoproteinlerin oluşması ApoB' nin translasyonu tamamlanmadan önce, halen polizom' a bağlı iken başlamaktadır (130). ApoB-48' in translasyonu tamamlandığında, içeriğinde MTP tarafından transfer edilmiş olan az miktarda fosfolipid, kolesterol esterleri ve TAG bulunan ApoB-48 içeren primordial şilomikron, ER membranından ayrılarak lumene geçmektedir (17). Lumene geçen primordial şilomikronlar, MTP tarafından lipidlerin eklenmesi ve daha önceden sentezlenmiş olan kolesterol esterleri ve TAG yönünden zengin lipid damlacıkları ile kaynaşması sonucunda çekirdek kısmı genişleyerek pre-şilomikronlara dönüşmektedir (15).

### **2.2.5.2. Apolipoprotein A-IV**

Lipoproteinler arasında serbestçe taşınabilen bir apolipoprotein olan ApoA-IV, lipid emilimi süresince yoğun olarak ince bağırsakta ifade edilmektedir (131). 1974 yılındaki ilk keşfinden bu yana, ApoA-IV için postprandial doygunluk sinyali (132), ters kolesterol taşınmasına aracılık (22), antioksidan (23), antiaterosklerotik ve antiinflamatuvar (24) gibi özellikler atfedilmesine rağmen, birincil işlevinin ince bağırsaktaki lipid emiliminin düzenlenmesi olduğu düşünülmektedir (25). Şilomikron sentezinin ER içindeki erken dönem basamakları sırasında yapıya katılan ApoA-IV, küresel yapıdaki şilomikronların yüzeyinde yer alarak dolaşıma salınmaktadır (133). Dolaşımda, ApoA-IV' ün büyük kısmı şilomikron yüzeyinden ayrılarak lipoprotein yapısından bağımsız olarak yer almaktadır (134).

İnce bağırsakta lipid emilimi ile ilişkili bütün genler içerisinde, bağırsak lumeninde yer alan lipid miktarına verilen cevap ApoA-IV için diğer genlerden daha

yüksektir (134). Kısa zincirli yağ asitlerinin emilimi sırasında bir değişiklik gözlenmemesine rağmen, uzun zincirli yağ asitlerinin emilimi sırasında ince bağırsak enterositlerinde ApoA-IV sentezi yaklaşık 5 kat artmaktadır (134-136). ApoA-IV, şilomikron içerisinde daha fazla lipid moleküllerinin paketlenmesini kolaylaştırarak, ince bağırsaktan daha büyük boyutlarda şilomikronların sentezlenmesine aracı olmaktadır (25). TAG moleküllerinin, şilomikronlar içerisinde paketlenmesindeki artışın ApoA-IV' ün yapısal özellikleri ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Diğer apolipoproteinler ile karşılaştırıldığında, ApoA-IV' ün daha hidrofilik karakterdeki amfipatik  $\alpha$ -heliks tabakaları içermesi lipid tabakaları içerisine dalmasını engellemektedir. Bu hidrofilik karakterdeki helikslerin varlığı, ApoA-IV' ün lipid arayüzeyinde elastik ve basınca hassas konformasyon almasını sağlamaktadır. Şilomikron sentezi sırasında genişleyen partikülün yüzeyinde yer alan ApoA-IV, arayüzde sabit bir elastiklik sağlayarak, şilomikron partiküllerinin dengeli bir biçimde büyümesine ve çekirdek yapıda daha fazla lipid molekülünün paketlenmesine aracı olmaktadır (137). Önerilen bir diğer mekanizmaya göre ise, ApoA-IV' ün ApoB-48 ile etkileşimi ER içerisinde pre-şilomikron trafiğini yavaşlatarak şilomikron çekirdeklerinin daha fazla lipidlendirilmesine zaman sağlamaktadır (138).

### **2.2.5.3. Mikrozomal trigliserid transfer protein**

ApoB içeren TAG yönünden zengin lipoproteinlerin biyosentezi, lipidler ve apolipoproteinlerin yanı sıra MTP' i gerektirmektedir. MTP, lipidlerin yeni sentezlenmekte olan lipoprotein partiküllerine aktarılmasına aracılık ederek ApoB' nin uygun olmayan konformasyonlarda katlanmasını ve proteazomlar tarafından parçalanmaya uğramasını engellemekte, böylelikle ApoB içeren lipoproteinlerin hücre içinde sentezlenmesine katkı sağlamaktadır (139).

Plasenta, kalp, böbrek, pankreas, testis ve yumurtalıklarda daha düşük seviyelerde mRNA ifadesi bulunmasına rağmen, MTP ifadenmesinin gerçekleştiği başlıca organlar karaciğer ve ince bağırsaktır (140). ER' da yer alan MTP, TAG, kolesterol esterleri ve fosfolipidlerin taşınmasını sağlamaktadır. MTP, fosfolipidlere göre TAG ve kolesterol esterlerinin taşınmasını belirgin biçimde tercih etmektedir (141).

MTP, ER' da sık rastlanan protein disülfit izomeraz (PDI) alt ünitesi ile işlevsel MTP alt ünitesinden oluşan heterodimer yapıda bir proteindir (139). Proteinlerin biyosentezi sırasında disülfit bağlarının oluşumunu izomeraz aktivitesi ile kolaylaştıran PDI, MTP alt ünitesi ile birleştiğinde bu aktivitesini yitirmektedir. Tek başına lipid transfer aktivitesi bulunmayan PDI' ın MTP alt ünitesi ile birleşmesi işlevsel lipid transfer kompleksi MTP' in ortaya çıkmasına neden olmaktadır. MTP heterodimer yapısının çeşitli ajanlarla bozulması, MTP alt ünitesinin ayrılması ve lipid transfer aktivitesinde kayıp ile sonuçlanmasından dolayı, PDI alt ünitesinin MTP yapısındaki görevinin aktif alt üniteden ziyade, yapısal denge elemanı olduğunu göstermektedir (141).

MTP alt ünitesinin ApoB-lipoproteinlerin sentezlenmesindeki önemi ilk olarak abetalipoproteinemili bireylerin gözlenmesi ile fark edilmiştir. MTP geninde meydana gelen mutasyondan dolayı, karaciğer ve ince bağırsakta lipid transfer aktivitesi kaybolduğu için bu kişilerin plazmalarında ApoB içeren lipoproteinler yer almamaktadır (142). MTP alt ünitesinin başlıca üç yapısal bölgesi olduğu bilinmektedir. N-terminal  $\beta$ -fiçli bölgesi ApoB, orta  $\alpha$ -heliks bölgesi PDI ve ApoB ile etkileşirken, C-terminal  $\beta$ -tabaka bölgesi lipid bağlama ve transfer aktivitesinden sorumludur (139, 143).

ApoB-lipoproteinlerin sentezlenmesindeki öneminden dolayı, MTP' in promotör, transkripsiyonel kontrol mekanizmaları ve posttranskripsiyonel düzenlenmesi dikkat çekicidir. MTP' in promotör bölgesi hem hepatosit nükleer faktör (HNF)-1, HNF-4 ve direkt tekrar (DR: direct repeat)-1 gibi pozitif düzenleyiciler hem de sterol ve insülin cevap elemanı (SRE/IRE: sterol and insulin response element) gibi negatif düzenleyiciler içermektedir (140). HNF-4 pozitif düzenlenme bölgesine bağlanan HNF-4 $\alpha$  transkripsiyon faktörünün yokluğunda MTP gen ifadesinin durması, MTP ifadenmesi için HNF-4 $\alpha$ ' nın kesin olarak gerekliliğini ortaya koymaktadır (144). Bununla birlikte, MTP gen ifadesinin besin bileşenlerindeki değişim ile de düzenlenebildiği bilinmektedir. Yüksek miktarda DYA ve kolesterol tüketimi ince bağırsakta MTP gen ifadesinde artış ile sonuçlanmaktadır. MTP aktivitesindeki artışın, MTP promotör bölgesindeki negatif

düzenleyici olan SRE/IRE' na bağlanmadaki azalma ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (140).

#### 2.2.5.4. Hepatosit nükleer faktör-4 $\alpha$

Karaciğer, ince bağırsak, böbrek ve pankreas adacık hücrelerinde ifade edilen bir transkripsiyon faktörü olan HNF-4 $\alpha$ , nükleer reseptör süperailisinin bir üyesi olup, yağ asidi, kolesterol, glukoz ve üre sentez ve metabolizmasında görev alan enzimlerin hedef genlerindeki promotör bölgelerine bağlanarak ifadelenmelerini düzenlemektedir (30, 145). HNF-4 $\alpha$  tarafından düzenlenen transkripsiyonel aktivasyon, hedef genlerin promotör bölgelerinde bulunan DR-1 kısmına HNF-4 $\alpha$ 'nın homodimer oluşturarak bağlanması ile gerçekleşmektedir (146). HNF-4 $\alpha$  tarafından aktivasyonları gerçekleştirilen genlerin kodladığı transkripsiyon faktörleri, enzimler ve proteinler, hematopoez, koagülasyon/fibrinoliz lipid/lipoprotein ile glukoz metabolizması gibi çok sayıda işlemde görev yapmaktadır (145-147).

Hepatositlerin oluşumu, epitelyal morfoloji, hücre bağlantı proteinlerinin genlerinin kodlanması ve sinüzoidal endotelin düzenlenmesi gibi önemli işlevlerin yerine getirilmesi için HNF-4 $\alpha$  gerekli olduğundan dolayı, yoğun olarak karaciğer ve hepatosit hücre hatlarında HNF-4 $\alpha$ 'nın rolü araştırılmıştır (148, 149). İnce bağırsakta gösterdiği yüksek miktardaki gen ifadesi ile morfoloji ve fonksiyondaki önemli rolüne rağmen, karaciğer ile karşılaştırıldığında HNF-4 $\alpha$ 'nın ince bağırsaktaki rolü ile ilgili veriler sınırlı düzeydedir (150).

Enterositlerde yapılan geniş kapsamlı transkriptom analizlerinin sonuçları, postprandial miçellerin hücre adezyon ve yapısı, hücre sinyali ve glukoz/lipid metabolizması gibi üç ana kategori ile ilişkili olan 47 adet genin ifadelenmesini düzenleyebileceğini göstermektedir. 47 gen arasında, içlerinde ApoB, ApoA-IV ve MTP' in de yer aldığı 20 gen HNF-4 $\alpha$  için bağlanma bölgelerine sahiptir (31). Transkriptom analizlerinden elde edilen veriler, HNF-4 $\alpha$ 'nın enterositlerdeki lipid metabolizmasında önemli roller üstlenebileceğini göstermektedir (151).

HNF-4 $\alpha$  ligand bağlanmasından bağımsız olarak yapısal transkripsiyonel aktivasyona sahip olmasına rağmen, bazı ligandlar tarafından transkripsiyonel aktivasyonun gerçekleştirilebileceği düşünülmektedir. Yakın zamana kadar herhangi

bir ligandının varlığı bilinmediği için "öksüz nükleer reseptör" olarak adlandırılan HNF-4 $\alpha$ 'nın ligand bölgesinde bağlı durumdaki yağ asitlerinin varlığı ortaya çıkarılmıştır (152). C<sub>12</sub>' dan daha uzun doymuş ve doymamış yağ açıl-KoA tiyoesterlerinin HNF-4 $\alpha$ 'nın ligand bölgesine bağlanabildiği gösterilmiştir. HNF-4 $\alpha$ 'nın transkripsiyonel aktivitesi, ligand bölgesine bağlanan yağ asidinin zincir uzunluğuna ve doymamışlık derecesine göre farklılık gösterebilmektedir (153, 154). C<sub>14</sub> ve C<sub>16</sub> gibi doymuş yağ asitleri HNF-4 $\alpha$  transkripsiyonel aktivitesini arttırırken,  $\omega$ -3 ÇDYA bu aktiviteyi güçlü bir biçimde baskılamaktadır (154).

### **2.3. Sirkadyen ritim**

#### **2.3.1. Tanım**

Dünyanın güneş ve kendi etrafında dönüşü, bütün canlıları etkileyen baskın bir çevresel faktör olan gece ve gündüz oluşumuna neden olmaktadır (35). Gece ve gündüz oluşumuna göre, biyolojik, fizyolojik ve davranışsal aktivitelerin 24 saat aralıklarla karakteristik olarak tekrarlanmasına sirkadyen ritim denmektedir (32). Gün içerisinde, gün ışığında meydana gelen değişimler retinadaki nöronlar tarafından algılandıktan sonra, bu bilgi retinal ganglion hücreler aracılığı ile beyinde ön hipotalamusta yer alan SCN' a aktarılmaktadır. SCN, alınan bu bilgi ile otonom sirkadyen ritmin ortaya çıkmasını ve ışık varlığı ile yürütülen ritmik dalgalanmaların meydana gelmesini sağlamaktadır (155). Işık varlığı ile elde edilen bilgi, ışık varlığı ile yürütülen ritmik dalgalanmaların vasıtasıyla, çeşitli biyolojik fonksiyonları etkileyen sinyallere dönüştürülmektedir. Bu dönüşüm, SCN' ta saat genleri olarak ifade edilen transkripsiyon faktörlerinin gen ifadenmesini düzenleyerek, fizyolojik ve davranış değişikliklerine yol açmaktadır (35).

#### **2.3.2. İşleyişi ve düzenlenmesi**

Sirkadyen ritim, saat genleri olarak bilinen transkripsiyon faktörlerinin transkripsiyonel, translasyonel ve posttranslasyonel geri-beslemeli döngüsünden ortaya çıkmaktadır. Sirkadyen lokomotor veri siklus kaput (Clock: circadian locomotor output cycle kaput), beyin ve kas aril hidrokarbon reseptörü nükleer translokasyon benzeri-1 (Bmal1: brain and muscle Arnt-like protein-1), periyot (Per: period) genleri (Per1, Per2 ve Per3), kriptokrom (Cry: cryptochrome) genleri (Cry1

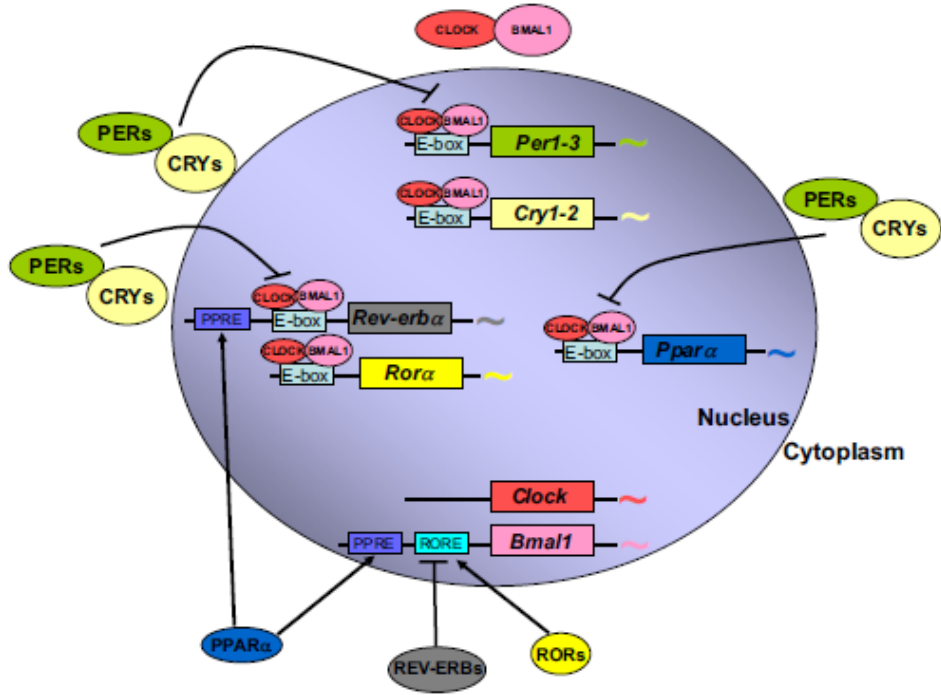
ve Cry2), ters eritroblastosis virus  $\alpha$  (Rev-erba: reverse erythroblastosis virus- $\alpha$ ) ve retinoik-asit ilişkili reseptör  $\alpha$  (ROR $\alpha$ : retinoic acid related receptor  $\alpha$ ) sirkadyen ritmin ortaya çıkmasına katkı sağlayan saat genleridir (35, 155).

Sirkadyen ritim düzenlenme mekanizmasının merkezinde yer alan saat genleri Clock ve Bmal1' dir (155). Clock' un mRNA ve protein ifadenmesi SCN' ta sürdürülmekte iken, Bmal1 transkripsiyonu, sirkadyen ritmin gece periyodunun ortasında en üst seviyeye ulaşmaktadır (156). Protein-protein etkileşim bölgeleri aracılığı ile stoplazmada heterodimer kompleksi oluşturan Clock-Bmal1, çekirdeğe geçerek, promotör bölgesinde CACGTG DNA dizisine sahip E-kutusu bölgesini içeren hedef genlerin transkripsiyonunu aktif hale getirmektedir. Clock-Bmal1 heterodimeri aracılığı ile transkripsiyonu sağlanan saat genleri Per ve Cry' dur (157, 158). Bmal1' in transkripsiyon seviyelerinin en üst seviyeye ulaştığı gece periyodunun aksine, Per ve Cry transkripsiyonunun üst seviyeleri gündüz periyodunun orta ve geç zaman dilimlerinde görülmektedir (155). Transkripsiyonu gerçekleşen Per ve Cry proteinlerinin stoplazmadaki konsantrasyonları arttığında, Per-Cry heterodimerleri çekirdeğe geçerek Clock-Bmal1 kompleksinin transkripsiyonel aktivitesini ortadan kaldırıp, Per ve Cry mRNA seviyelerini azaltmaktadır (159). Sirkadyen ritim mekanizmasının pozitif ayağı kabul edilen Clock ve Bmal1' in transkripsiyonunu baskıladığı için, Per ve Cry mekanizmanın negatif ayağı olarak değerlendirilmektedir (155). Sirkadyen ritmin moleküler mekanizması Şekil 2.10' da gösterilmektedir.

### 2.3.3. Nükleer reseptörler ve sirkadyen ritim

Son yıllarda ortaya çıkan kanıtlar, nükleer reseptörler ve onlara ait ligandların besin sensörleri olarak sirkadyen ve metabolik yollara etki edebileceğini göstermektedir (160). Sirkadyen ritim mekanizmasının pozitif ve negatif ayaklarına ek olarak, yardımcı mekanizmaların da sirkadyen ritmin ayarlanmasına katkı sağladığı bilinmektedir. Clock-Bmal1 heterodimerinin transkripsiyonunu sağladığı nükleer reseptörler olan Rev-erba ve ROR $\alpha$ , Bmal1 ifadenmesini düzenlemektedir. Bmal1' in promotör bölgesine bağlanan Rev-erba gen ifadenmesini baskımlarken, ROR $\alpha$  aktiflemektedir (161). Böylece, Bmal1' in ifadenmesi Rev-erba ve ROR $\alpha$  tarafından sırasıyla negatif ve pozitif olarak düzenlenebilmektedir (162). Çalışmalar,

kolesterol ve oksisterollerin ligand olarak görev yaptığı ROR $\alpha$ 'nın bir lipid sensörü gibi çalıştığını göstermektedir (163, 164). ROR $\alpha$ , sterol düzenleyici eleman bağlayıcı protein-1c (SREBP1c: sterol regulatory element binding protein 1c) transkripsiyon faktörünün ifadenmesini arttırarak lipojenik yolları aktif hale getirir (165). Rev-erb $\alpha$  ise SREBP1c aktivitesinin negatif düzenleyicisi olarak görev yapan insülin indüklenmiş gen 2 (Insig2: insulin induced gen2)'nin sirkadyen gen ifadesini kontrol etmektedir (166).



Şekil 2.10. Sirkadyen ritmin moleküler mekanizması (167).

Nükleer reseptörlerden olan peroksizom çoğaltıcı aktiflenmiş reseptör (PPAR: peroxisome proliferator activated receptor) ailesine ait proteinler olan PPAR $\alpha$ ,  $\gamma$  ve  $\delta$ 'nin sentezi sirkadyen ritme bağlı olarak düzenlenmektedir (168). Ayrıca, PPAR ailesinin üyeleri de saat genlerinin ifadenmesini düzenlemektedir (160). Clock-Bmal1 heterodimerinin transkripsiyonunu arttırdığı PPAR $\alpha$ , hem Bmal1 hem de Rev-erb $\alpha$ 'nın ifadenmesini promotör bölgelerindeki peroksizom çoğaltıcı cevap elemanı (PPRE: peroxisome proliferator response element)'na bağlanarak arttırmaktadır (167).

### 2.3.4. İnce bağırsakta sirkadyen ritim

Sirkadyen ritim sadece SCN ile sınırlı olmayıp, periferde yer alan kalp, karaciğer ve ince bağırsak gibi organlarda da bulunmaktadır (169, 170). Kültür ortamındaki hücreler bile, ritmi sürdürebilmesi için gerekli olan uyaranlar zamanında sağlandığında, gen ifadesinde sirkadyen ritim özelliği göstermektedir (35).

Gün ışığı dışında, biyolojik, fizyolojik ve davranışsal aktiviteleri düzenleyebilen bir diğer uyaran ise besinlerdir. Bu nedenle, yemek tüketimi ile periferel dokulardaki saat genlerinin ifadelenmesi ve çeşitli biyokimyasal aktiviteler, gün ışığı ile gerçekleştirilen senkronizasyondan bağımsız olarak değiştirilebilmektedir (171).

Kıtalararası seyahat ve gece vardiyasında çalışmak gibi sirkadyen ritmi bozan durumlarda gözlenen bağırsak rahatsızlıkları, bağırsaklardaki bazı işlevlerin sirkadyen ritme bağlı olarak gerçekleştiğini desteklemektedir. Bu nedenle, sirkadyen ritim ile ilişkili bağırsak işlev ve patolojilerin aydınlatılması için, saat genleri ile işlev arasındaki bağlantı çözülmeye çalışılmaktadır (172).

Gen ifadesinin varlığının yanı sıra, saat genlerinin bağırsaklardaki ifadelenme şekli sirkadyen ritim göstermektedir. Bağırsaklardaki saat genlerinin ifadelenmesinin en üst seviyeye ulaştığı sirkadyen periyot, diğer dokulardaki saat genleri ile aynı olmasına karşın, SCN' taki ifadelenmesi ile karşılaştırıldığında biraz gecikme gözlenmektedir (170, 173). Bu durum, bağırsaklardaki saat genlerinin humoral veya nöronal yollar ile SCN tarafından yönetildiğini göstermektedir. SCN tarafından sirkadyen ritmin ayarlanmasının dışında, bağırsak besin varlığında kendi sirkadyen ritmini ayarlayabilmektedir. Saat genlerinin ifadelenmesinin en üst düzeye ulaşma süresi oldukça kısa olmasından dolayı, besinlerin varlığında, SCN tarafından gerçekleştirilen sirkadyen ritim düzenlenmesinin geçersiz kaldığı düşünülmektedir (172).

### 2.3.5. Sirkadyen ritmin şilomikron sentezi ile ilişkisi

İnsanlarda ve kemirgenlerde, yemek sonrası plazma TAG seviyelerinde gözlenen yükselmenin, sindirim ve emilim hızındaki artış ile ilgili olabileceği



düşünülmektedir (34, 174). Bununla birlikte, dört gün boyunca aç bırakılan ratların plazma TAG ve serbest yağ asidi düzeyleri sirkadyen ritim göstermektedir. Ancak açlık süresi boyunca ölçülen TAG düzeyleri, tokluk durumlarından daha düşük gözlenmektedir (175). Sirkadyen ritim gösteren plazma lipoprotein seviyeleri insanlarda gündüz, kemirgenlerde ise gece yüksek seviyelere ulaşmaktadır. Sirkadyen ritme bağlı olarak gerçekleşen değişimin Clock mutant farelerde gözlenmemesi, plazma lipoprotein seviyelerinin gün içindeki değişiminin kontrolünde Clock geninin rolüne dikkat çekmektedir. Besin varlığı, şilomikron mobilizasyonu için en önemli uyarandır. Mutant olmayan farelerde besinlerin mevcut olduğu koşullarda şilomikronların sentez ve salımında artış gözlenmektedir. Öğün zamanlarında şilomikron sentezindeki bu artış, fareler sürekli karanlık veya aydınlığa maruz bırakıldığında ortadan kalkmaktadır (32-34).

Gün içerisinde, plazma TAG seviyelerinde gözlenen değişim ile MTP gen ifadesindeki sirkadyen varyasyon aynı zamana rastlamaktadır (34). Ancak, deney hayvanları sabit karanlık veya aydınlığa maruz bırakıldığında ve Clock geni susturulduğunda, plazma TAG seviyeleri ile MTP gen ifadesinde gözlenen sirkadyen ritim kaybolmaktadır (32). Bu durum, plazma TAG seviyeleri ve MTP gen ifadesindeki değişim ile Clock gen ifadesi arasında anlamlı bir korelasyon olduğuna işaret etmektedir (172). Plazma TAG seviyelerinde gözlenen sirkadyen ritmin düzenlenmesinin moleküler temelinde Clock geni yer almaktadır. Işık veya besin varlığı gibi dış uyaranlar ile Clock genine iletilen bilgi, küçük heterodimer partner (SHP: small heterodimer partner) aracılığı ile MTP gen ifadenmesinde kullanılmaktadır. Clock aracılığı ile transkripsiyonu artan SHP, MTP promotör bölgesindeki HNF-4 $\alpha$ /LRH-1/HNF-1 $\alpha$  aktivatörleri ile etkileşerek MTP gen ifadenmesini baskılamaktadır. Farelerde günün aydınlık periyodunda artan Clock-SHP promotör etkileşimi ile MTP azalırken, karanlık periyotta azalan Clock-SHP promotör etkileşimi ile MTP artmaktadır (32).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Deneysel plan

Deney hayvanı çalışmaları şilomikron sentezi ve postprandial hiperlipideminin değerlendirileceği iki kısma ayrıldı.

##### 3.1.1. Şilomikron sentezinin değerlendirilmesi

###### 3.1.1.1. Deney hayvanları

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu' nun 2011/A-101 protokol numarası ile onayladığı çalışmada, İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi' nden sağlanan 96 adet Wistar albino erkek rat kullanıldı. Ortalama 5-6 aylık ve 300-350 g ağırlığındaki ratlar 21-22 °C sıcaklıkta, 12 saat aydınlık-12 saat karanlık ortamda tutuldu. Gruplara ayrılan deney hayvanları besinsel yağ uygulamalarına kadar *ad libitum* standart pellet yem ve musluk suyu ile beslendi. Standart pellet yem içeriği Tablo 3.1' de gösterilmektedir.

**Tablo 3.1.** Standart pellet yem içeriği.

Yem bileşeni	En az - En çok	Ağırlıkça %
Su	En çok	%12
Ham protein	En az	%24
Ham selüloz	En çok	%7
Ham kül	En çok	%8
HCl' de çözünmeyen kül	En çok	%2
Sodyum klorür	En çok	%1
Kalsiyum	En az - En çok	%1-2,8
Fosfor	En az	%0,9
Sodyum	En az - En çok	%0,5-0,7

Deney hayvanlarının gruplandırılması için sirkadyen ritmin aktif ve pasif fazlarının başlangıç zamanları olan 20:00 ve 8:00 ile birlikte, aktif ve pasif fazların ortalarına karşılık gelen 02:00 ve 14:00 saatleri 4 farklı uygulama zamanı olarak belirlendi.

Kontrol grubu ile DYA olarak tereyağ (Pınar, Geleneksel tereyağ, Pınar Süt Mamülleri San. A.Ş., İzmir, Türkiye), TDYA olarak zeytinyağı (Komili, Sızma Zeytinyağı, Ana Gıda İhtiyaç Mad. San. Tic. A.Ş., İstanbul, Türkiye) ve  $\omega$ -3 ÇDYA balık yağı (Seven Seas, Pure Cod Liver Oil, Seven Seas Limited, Hull, UK), 4 farklı uygulama zamanına göre, her bir grupta 6 hayvan olacak şekilde gruplandırıldı.

### **3.1.1.2. Besinsel yağların uygulanması**

Besinsel yağ uygulamasından 10 saat önce kafeslerden yemler alındı, su tüketimine izin verildi. Belirlenen uygulama saatlerinde kontrol gruplarına 1 mL serum fizyolojik, diğer gruplara ise aynı hacimde ilgili besinsel yağ oral gavaj yoluyla verildi.

### **3.1.1.3. Kan ve ince bağırsak örneklerin alınması**

Serum fizyolojik ve besinsel yağ uygulamalarından 4 saat sonra Ksilazin (5 mg/kg) (Alfazyne %2, Alfasan International B.V., Woerden, Holland) ve Ketamin (80 mg/kg) (Alfamine %10, Alfasan International B.V., Woerden, Holland) anestezisi altında servikal dislokasyon ile ötenazi edilen hayvanlardan, kan ve ince bağırsak örnekleri alındı.

Kardiyak ponksiyon ile alınıp, plastik serum tüplerine aktarılan kan örnekleri, +4 °C' de 4000 rpm' de 10 dk santrifüj (Hettich, 320R, Hettich GmbH & Co., KG, Tuttlingen, Germany) edilerek serum elde edildi. Serum örnekleri, 500  $\mu$ L' lik eş hacimler halinde, TAG, toplam-K, LDL-K ve HDL-K ölçümleri için -30 °C' de derin dondurucuda (Sanyo Biomedical Freezer, MDF-U333, Sanyo Electric Co. Ltd., Osaka, Japan) saklandı.

Pilordan itibaren alınan 20 cm' lik ince bağırsak, 5' er cm' lik kısımlara bölündü. Sırasıyla duodenum, proksimal jejunum, distal jejunum ve ileum olarak

belirlenen ince bağırsak kısımları 117 mM NaCl, 5,4 mM KCl, 2,6 mM NaHCO<sub>3</sub>, 5 mM HEPES, 5,5 mM Glukoz ve 0,96 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> içeren 10 mL yıkama tamponu ile yıkandı (176). Yıkanan ince bağırsak, kısımlarına göre etiketlenip -80 °C' de derin dondurucuda (Herafreeze HFU 586 basic, Heraeus Instruments, Hanau, Germany) muhafaza edildi. Proksimal ve distal jejunum örnekleri, MTP aktivitesi ile ApoB-48, ApoA-IV, MTP ve HNF-4 $\alpha$  gen ifadelerinin ölçülmesinde kullanıldı.

#### **3.1.1.4. Serum TAG düzeyinin ölçülmesi**

Serum TAG düzeyinin ölçülmesi, temin edilen trigliserid ölçüm kitinin (BioAssay Systems, EnzyChrom<sup>TM</sup> Triglyceride Assay Kit, BioAssay Systems, Hayward, CA, USA) yöntemine uygun olarak gerçekleştirildi.

TAG ölçümü, hazırlanan çalışma reaktifi ile TAG hidrolizi ve gliserol oluşumunu takiben boya reaktifinin okside edilmesi sonucunda renkli ürün meydana gelmesi ile gerçekleşmektedir. Oluşan ürünün 570 nm' deki absorbanısı, serum örneğindeki TAG konsantrasyonu ile orantılıdır.

#### **Standartların hazırlanması**

100 mmol/L konsantrasyondaki trigliserid standardı distile su ile seyreltilerek, 0, 0,3, 0,6 ve 1 mmol/L konsantrasyonlardaki trigliserid standartları (Standart 1, 2, 3 ve 4) elde edildi.

#### **Serum örneklerinin hazırlanması**

Distile su ile 5 kat seyreltilen serum örnekleri trigliserid ölçümünde kullanıldı.

#### **Çalışma reaktifinin hazırlanması**

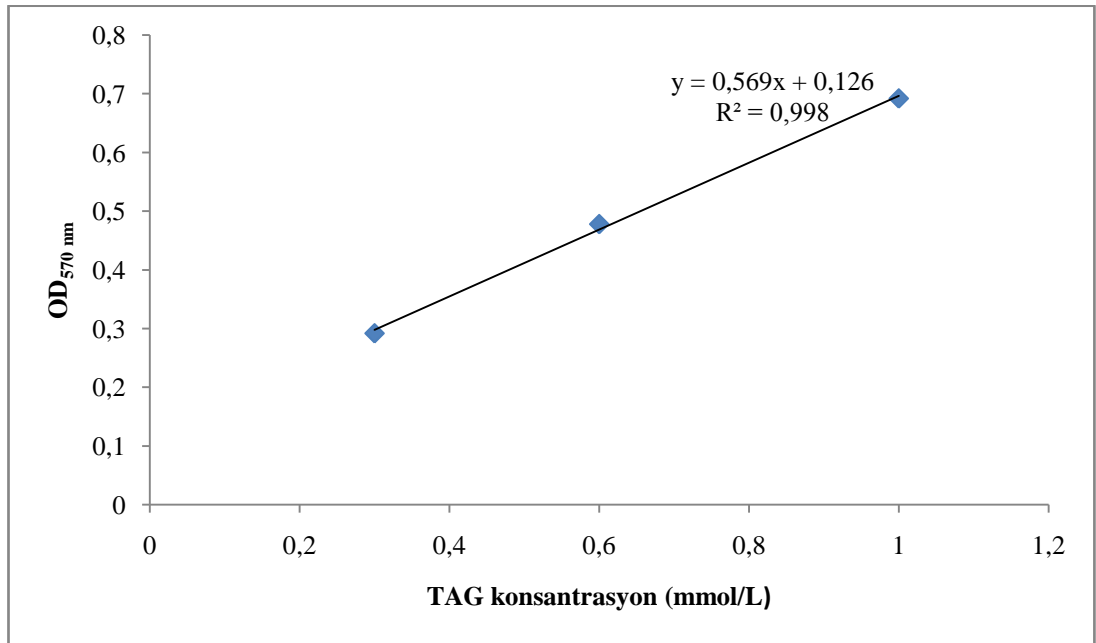
Bir kuyucukta gerçekleştirilecek ölçümde, 100  $\mu$ L ölçüm tamponu, 2  $\mu$ L enzim karışımı, 5  $\mu$ L lipaz, 1  $\mu$ L ATP ve 1  $\mu$ L boya reaktifinin karıştırılması ile hazırlanan çalışma reaktifinin 100  $\mu$ L' si kullanıldı.

### Ölçüm işlemleri

1. Standartlar ve seyreltilmiş serum örneklerinin 10 µL' si, belirlenen kuyucuklara pipetlendi.
2. Standart ve serum içeren bütün kuyucuklara 100 µL çalışma reaktifi eklendikten sonra, 96-kuyucuklu mikrolaka karıştırıldı.
3. Oda sıcaklığında 30 dk inkübe edildikten sonra, 570 nm' deki absorbans mikrolaka okuyucu (BioTek, Synergy H1m monochromator-based multi-mode microplate reader, BioTek Instruments, Winooski, VT, USA) ile tespit edildi.

### Hesaplama

1. Standart 1' in (blank) absorbans değeri, diğer standartların absorbanslarından çıkarıldı.
2. Standartlara ait absorbans ve konsantrasyon değerleri kullanılarak standart grafiği elde edildi. TAG standart grafiği Şekil 3.1' de gösterilmektedir.
3. Standart grafiğine ait denklem kullanılarak örneklerin konsantrasyonları hesaplandı.



Şekil 3.1. TAG standart grafiği.

### 3.1.1.5. Serum kolesterol düzeylerinin ölçülmesi

Serum toplam-, LDL- ve HDL-kolesterol düzeyinin ölçülmesi, temin edilen kolesterol ölçüm kitinin (Abcam, ab65390 HDL and LDL/VLDL Cholesterol assay kit, Abcam, Cambridge, MA, UK) yöntemine uygun olarak gerçekleştirildi.

Kolesterolün okside edilmesi ile açığa çıkan ürün, kolesterol prob ile reaksiyona girerek renkli ürün meydana getirmektedir. Oluşan renkli ürünün 570 nm' deki absorbanısı, serum örneğindeki kolesterol konsantrasyonu ile orantılıdır.

#### Standartların hazırlanması

1. 0,25  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  konsantrasyonda kolesterol standardı hazırlamak için, 2  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  konsantrasyondaki kolesterol standardının 20  $\mu\text{L}$ ' si 140  $\mu\text{L}$  kolesterol ölçüm tamponu ile karıştırıldı.
2. Belirlenen kuyucuklara 0,25  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  konsantrasyonda kolesterol standardından 0, 4, 8, 12, 16 ve 20  $\mu\text{L}$  eklendi.
3. Kuyucuklardaki hacim kolesterol ölçüm tamponu ile 50  $\mu\text{L}$ ' ye tamamlandığında, sırasıyla 0, 1, 2, 3, 4 ve 5  $\mu\text{g}/\text{kuyucuk}$  konsantrasyondaki standartlar elde edildi.

#### Toplam-K ölçümü için serum örneklerinin hazırlanması

10 mM pH 7,4 fosfat tamponu ile 10 kat seyreltilen serum örnekleri toplam-K ölçümünde kullanıldı.

#### HDL-K ölçümü için serum örneklerinin hazırlanması

1. 100  $\mu\text{L}$  serum örneği ile 100  $\mu\text{L}$  çöktürme tamponu mikrosantrifüj tüpü içerisinde karıştırıldı.
2. Oda sıcaklığında 10 dk inkübe edildikten sonra, 2000 x g' de 10 dk santrifüj (Eppendorf, 5415R, Eppendorf AG, Hamburg, Germany) edildi.
3. Süpernatant içerisinde yer alan HDL-K fraksiyonu başka bir mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı.

4. 10 mM pH 7,4 fosfat tamponu ile 5 kat seyreltildikten sonra HDL-K ölçümünde kullanıldı.

#### **LDL-K ölçümü için serum örneklerinin hazırlanması**

1. HDL-K fraksiyonunun yer aldığı süpernatant tamamen uzaklaştırıldıktan sonra, presipitat 2000 x g' de 10 dk tekrar santrifüj edildi.
2. Santrifüj sonrasında oluşan süpernatant tüpten uzaklaştırıldı.
3. LDL-K içeren çökelti, 200 µL 10 mM pH 7,4 fosfat tamponu ile çözünür hale getirildi.
4. 10 mM pH 7,4 fosfat tamponu ile 5 kat seyreltildikten sonra LDL-K ölçümünde kullanıldı.

#### **Reaksiyon karışımının hazırlanması**

Bir kuyucukta gerçekleştirilecek ölçüm için, 44 µL kolesterol ölçüm tamponu, 2 µL kolesterol prob, 2 µL enzim karışımı ve 2 µL kolesterol esterazdan oluşan 50 µL' lik reaksiyon karışımı hazırlandı.

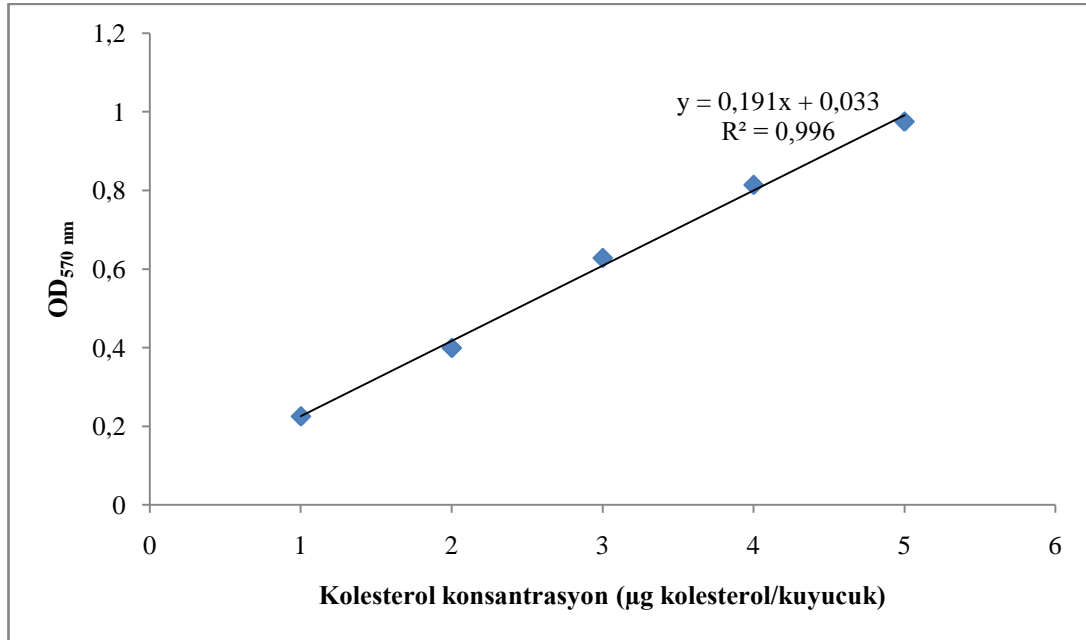
#### **Ölçüm işlemleri**

1. Standartlardan ve numunelerden 50' şer µL belirlenen kuyucuklara pipetlendi.
2. Standart ve serum içeren bütün kuyucuklara 50 µL reaksiyon karışımı eklendikten sonra, 96-kuyucuklu mikropłaka karıştırıldı.
3. Karanlık ortamda, 37 °C' de 1 saat inkübe edildikten sonra, 570 nm' deki absorbans mikropłaka okuyucu ile ölçüldü.

#### **Hesaplama**

1. Standart 1' in (blank) absorbans değeri, diğer standartların absorbanslarından çıkarıldı.
2. Standartlara ait absorbans ve konsantrasyon değerleri kullanılarak standart grafiği elde edildi. Kolesterol standart grafiği Şekil 3.2' de gösterilmektedir.

3. Standart grafiğine ait denklem kullanılarak örneklerin konsantrasyonları hesaplandı.



Şekil 3.2. Kolesterol standart grafiği.

### 3.1.1.6. İnce bağırsak MTP aktivitesinin ölçülmesi

İnce bağırsaktaki MTP aktivite ölçümü, temin edilen ölçüm kitinin (Roar MTP Activity Assay Kit, Roar Biomedical, Inc., New York, NY, USA) yöntemine uygun olarak gerçekleştirildi.

MTP aktivitesi ile donör partiküllerden akseptör partiküllere gerçekleştirilen nötral lipid transferi, floresans şiddetinde artmaya yol açmaktadır. Uyarım 465 nm ve yayılım 535 nm dalga boyunda gerçekleştirilen florometrik ölçüm ile MTP aktivitesi belirlenmektedir.

### Standartların hazırlanması

1. 260 nmol/L konsantrasyondaki floresans substrat kullanılarak 5 adet standart hazırlandı.



2. 5 µL floresans substrata HPLC saflıkta izopropanol eklenerek hacim 2 mL' ye tamamlandı. 650 pmol/L konsantrasyondaki Standart 5 elde edildi.
3. Seri seyreltmeler sonucunda, 325 pmol/L konsantrasyonda Standart 4, 162,5 pmol/L konsantrasyonda Standart 3, 81,25 pmol/L konsantrasyonda Standart 2 ve 40,625 pmol/L konsantrasyonda Standart 1 elde edildi.

### **Örneklerin hazırlanması**

1. 1 cm uzunluğundaki ince bağırsak örneği 150 mM NaCl, 10 mM Tris, 1 mM EDTA ve %2 proteaz inhibitör kokteyli içeren homojenizasyon tamponunun 1 mL' si ile homojenize (Ultra-Turrax T25, IKA Werke GmbH, Staufen, Germany) edildi (176).
2. Homojenat 16000 x g' de 1 saat santrifüj edildikten sonra elde edilen süpernatant, MTP aktivite ölçümünde kullanıldı.

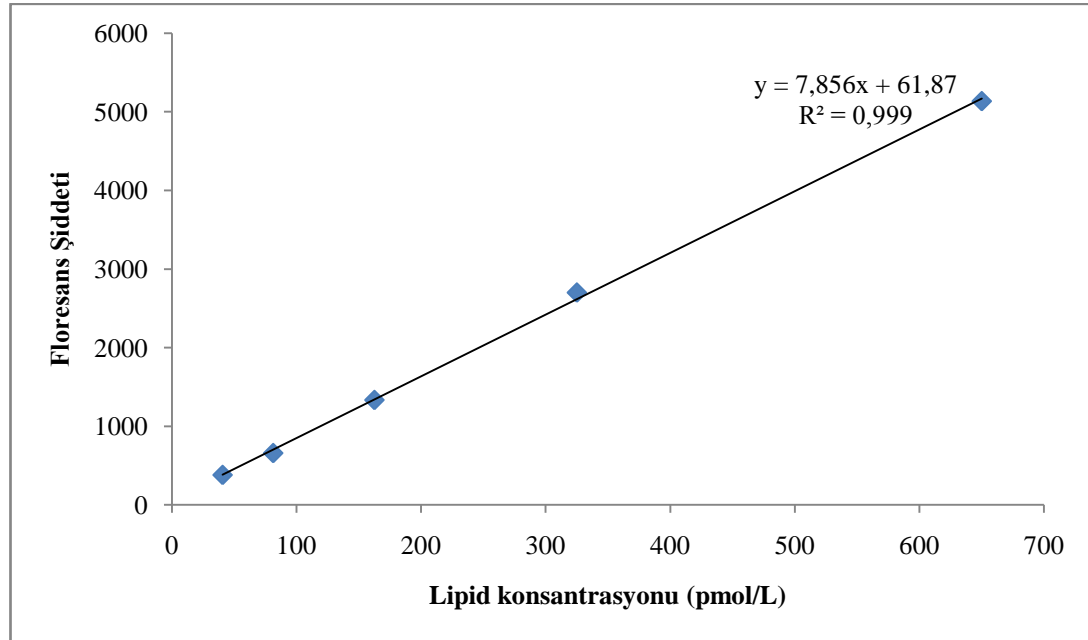
### **Ölçüm işlemleri**

1. 100 µg protein içeren süpernatant ile 4 µL donör partikül ve 4 µL akseptör partikül karıştırıldıktan sonra, reaksiyon hacmi ölçüm tamponu ile 200 µL' ye tamamlandı.
2. 37 °C' de 3 saat boyunca inkübe edilen örneklerin floresans şiddetindeki artış, uyarım 465 nm ve yayılım 535 nm dalga boyunda gerçekleştirilen florometrik ölçüm mikropłaka okuyucu (BioTek, Synergy H1m monochromator-based multi-mode microplate reader, BioTek Instruments, Winooski, VT, USA) ile gerçekleştirildi.

### **Hesaplama**

1. Kör ölçümün floresans şiddeti, diğer standartların floresans şiddetinden çıkarıldı.
2. Standartlara ait floresans şiddeti ve konsantrasyon değerleri kullanılarak standart grafiği elde edildi. MTP aktivitesi standart grafiği Şekil 3.3' te gösterilmektedir.

3. Standart grafiğine ait denklem kullanılarak örneklerin konsantrasyonları hesaplandı.



Şekil 3.3. MTP aktivitesi standart grafiği.

### 3.1.1.7. İnce bağırsak ApoB-48, ApoA-IV, MTP ve HNF-4a gen ifadelerinin ölçülmesi

#### 3.1.1.7.1. RNA izolasyonu

İnce bağırsak örneklerinden RNA izolasyonu, temin edilen kitin (Qiagen, RNeasy Mini Kit, QIAGEN, Valencia, CA, USA) yöntemine uygun olarak gerçekleştirildi.

1. 20-30 mg ağırlığında tartılan (Radwag, AS 310.R2, RADWAG, Radom, Poland) ince bağırsak örnekleri 600 µL RLT tampon ile 1 dk homojenize edildi.
2. Homojenat 16000 x g' de 3 dk santrifüj edildi.
3. Süpernatant başka bir mikrosantrifüj tüpüne pipetlendi.
4. Süpernatant ile aynı hacimde %70 Etanol karıştırıldı.

5. Karışımın 700 µL' si toplama tüpüne yerleştirilmiş olan spin kolona pipetlendikten sonra, 8000 x g' de 15 s santrifüj edilip, süpernatant atıldı.
6. 700 µL RW1 tampon spin kolona pipetlendikten sonra, 8000 x g' de 15 s santrifüj edilip, süpernatant atıldı.
7. 500 µL RPE tampon spin kolona pipetlendikten sonra, 8000 x g' de 15 s santrifüj edilip, süpernatant atıldı.
8. 500 µL RPE tampon spin kolona pipetlendikten sonra, 8000 x g' de 2 dk santrifüj edilip, süpernatant atıldı.
9. Spin kolon 16000 x g' de 1 dk santrifüj edildi.
10. Toplama tüpüne yerleştirilen spin kolonun tam ortasına 40 µL RNaz içermeyen su pipetlendikten sonra, 8000 x g' de 1 dk santrifüj edilip, RNA elüe edildi.
11. RNA saflığı ve miktarı spektrofotometrik (MaestroNano spectrophotometer, Maestrogen, Las Vegas, NV, USA) olarak ölçüldü.

#### **3.1.1.7.2. cDNA sentezi**

İzole edilen RNA örneklerinden cDNA sentezi, temin edilen kitin (Qiagen, RT<sup>2</sup> HT First Strand Kit, QIAGEN, Maryland, MD, USA) yöntemine uygun olarak gerçekleştirildi.

1. 6 µL GE2 tamponu PCR tüpünün tam ortasına pipetlendikten sonra, üzerine 8 µL RNA eklenip, oda sıcaklığında 10 dk bekletildi.
2. 6 µL BC4 tamponu eklenip, birkaç kez pipetleme yapıldı.
3. PCR tüpleri termal çeviriciye (Sensoquest labcyler, SensoQuest GmbH, Göttingen, Germany) yerleştirildikten sonra, 42 °C' de 15 dk, 95 °C' de 5 dk ve 4 °C' de 1 saat şeklinde olan program çalıştırıldı.

### 3.1.1.7.3. RT-PCR ölçümleri

Sentezlenen cDNA ile RT-PCR ölçümleri, temin edilen kitin (Qiagen, RT<sup>2</sup> SYBR Green ROX Fast Master Mix, QIAGEN, Maryland, MD, USA) yöntemine uygun olarak gerçekleştirildi.

1. Sentezlenen cDNA ile 5 farklı gen ifadenmesi çalışılacağı için 5 farklı PCR tüpü alındı.
2. PCR tüpleri housekeeping gen GAPDH, ApoB-48, ApoA-IV, MTP ve HNF-4 $\alpha$  için işaretlendi.
3. Her bir tüpe, 12,5  $\mu$ L SYBR Green Master Mix, 5,5  $\mu$ L RNaz içermeyen su ve 1  $\mu$ L cDNA eklendikten sonra birkaç kez pipetleme yapıldı.
4. İşaretlenen PCR tüplerine ilgili gen primerinden 1  $\mu$ L eklenip, birkaç kez pipetleme yapıldı.
5. RT-PCR cihazına (Qiagen, Rotor Gene Q, QIAGEN, Hilden, Germany) yerleştirilen örnekler 95 °C' de 10 dk bekledikten sonra, 60 °C 30 s ve 95 °C 10 s şeklindeki çevrim 40 kez tekrar edildi.
6. Genlere ait C<sub>t</sub> değerleri cihazın yazılımı (Qiagen, Rotor Gene Q Series Software, QIAGEN, Hilden, Germany) kullanılarak hesaplandı.
7. ApoB-48, ApoA-IV, MTP ve HNF-4 $\alpha$ ' ya ait C<sub>t</sub> değerlerinden referans gen olan GAPDH' in C<sub>t</sub> değeri çıkarılarak hedef genler için Formül 3.1' deki  $\Delta$ C<sub>t</sub> değerleri hesaplandı.

$$\Delta C_t = C_{t(\text{hedef gen})} - C_{t(\text{GAPDH})} \quad (3.1)$$

### **3.1.2. Postprandial hiperlipideminin değerlendirilmesi**

#### **3.1.2.1. Deney hayvanları**

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu' nun 2011/A-101 protokol numarası ile onayladığı çalışmada, İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi' nden sağlanan 120 adet Wistar albino erkek rat kullanıldı. Ortalama 5-6 aylık ve 300-350 g ağırlığındaki ratlar 21-22 °C sıcaklıkta, 12 saat aydınlık-12 saat karanlık ortamda tutuldu. Gruplara ayrılan deney hayvanları besinsel yağ uygulamalarına kadar ad libitum standart pellet yem ve musluk suyu ile beslendi.

Postprandial hiperlipideminin sirkadyen ritme bağlı olarak değerlendirilmesi için, sirkadyen ritmin aktif ve pasif periyotlarının başlangıç zamanları olan 20:00 ve 8:00 uygulama zamanı olarak belirlendi. Serum fizyolojik ve besinsel yağ (balıkyağı, zeytinyağı, tereyağı) uygulamalarının ardından 1, 2 ve 4. saatlerde alınacak kan örneklerine göre, her saat için 5 hayvan olacak şekilde, her bir grupta 15 adet deney hayvanı gruplandırıldı.

#### **3.1.2.2. Besinsel yağların uygulanması**

Besinsel yağ uygulamasından 10 saat önce kafeslerden yemler alındı, su tüketimine izin verildi. Belirlenen uygulama saatlerinde kontrol gruplarına serum fizyolojik, diğer gruplara ise 5000 IU/50 µL dozda retinil palmitat (Sigma, R1512, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) içeren ilgili besinsel yağ oral gavaj yoluyla 1 mL hacimde verildi (177).

#### **3.1.2.3. Kan örneklerinin alınması**

Serum fizyolojik ve besinsel yağ uygulamalarından 4 saat sonra Ksilazin (5 mg/kg) ve Ketamin (80 mg/kg) anestezisi altında servikal dislokasyon ile ötenazi edilen hayvanlardan, kan örnekleri alındı.

Kardiyak ponksiyon ile alınıp, plastik serum tüplerine aktarılan kan örnekleri, +4 °C' de 4000 rpm' de 10 dk süreyle santrifüj edilerek serum elde edildi. Serum örnekleri, 500 µL' lik eş hacimler halinde, retinil palmitat miktarı, TAG, toplam-K,

LDL-K ve HDL-K ölçümleri yapılincaya kadar  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de derin dondurucuda saklandı.

#### **3.1.2.4. Retinil palmitat miktarının ölçülmesi**

Besinsel yağlar ile birlikte oral gavaj yoluyla uygulanan retinil palmitat, ince bağırsakta emildikten sonra şilomikronlar içerisinde paketlenerek dolaşıma geçmektedir. Bu nedenle serum retinil palmitat düzeyleri şilomikron miktarını yansıtmaktadır (177).

#### **Standartların hazırlanması**

31,25 ppm' lik en yüksek konsantrasyondaki Standart 7 kullanılarak yapılan seri seyreltmeler sonucunda, 15,625 ppm konsantrasyonda Standart 6, 7,812 ppm konsantrasyonda Standart 5, 3,9 ppm konsantrasyonda Standart 4, 1,95 ppm konsantrasyonda Standart 3, 0,976 ppm konsantrasyonda Standart 2 ve 0,488 ppm konsantrasyonda Standart 1 hazırlandı.

#### **Örneklerin hazırlanması**

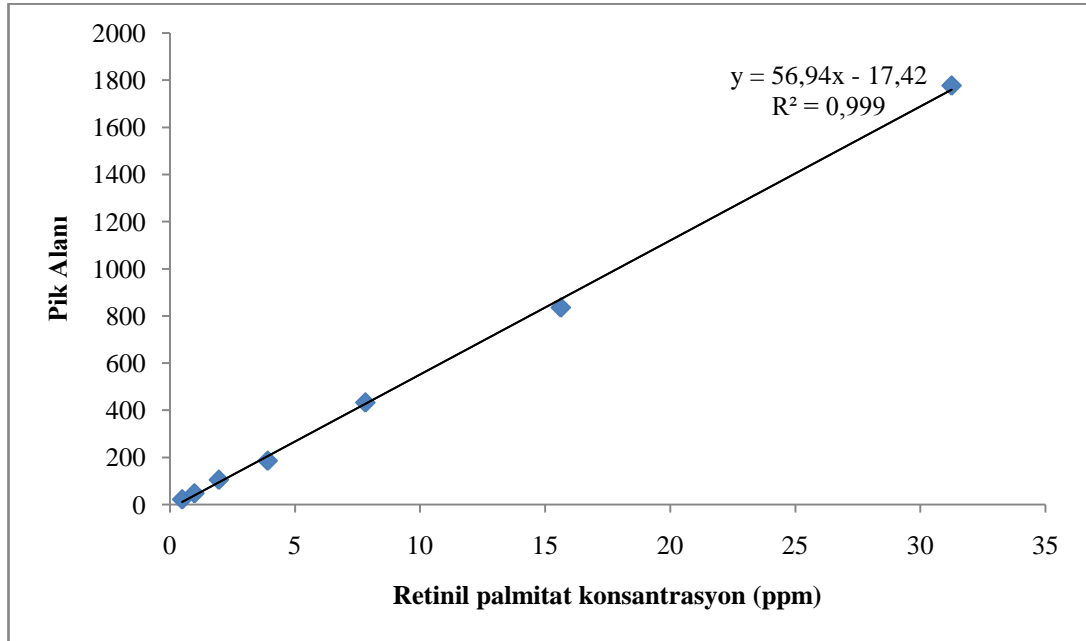
1. 200  $\mu\text{L}$  serum üzerine 200  $\mu\text{L}$  soğuk etanol eklendikten sonra, karışım 1 dk boyunca vortekslenildi (Nüve vorteks, Nüve Sanayi Malzemeleri, Ankara, Türkiye).
2. 500  $\mu\text{L}$  soğuk hekzan eklendikten sonra 5 dk vortekslenildi,  $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de 16000 x g' de 8 dk süreyle santrifüj edildi.
3. Üstte kalan hekzan fazı başka bir tüpe aktarıldı.
4. Hekzan ekstraksiyon aşaması aynı şartlar altında bir kez daha tekrar edilip, elde edilen hekzan fazları birleştirildi.
5. Hekzan ekstraktları azot altında uçuruldu.
6. Uçurma işleminden sonra tüpte kalan tortu 200  $\mu\text{L}$  soğuk etanol ile tekrar çözünür hale getirildikten sonra, 1 dk vortekslenip amber kromatografi viallerine aktarıldı.

### Yüksek performanslı sıvı kromatografisi analizi

1. Retinil palmitatın yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) analizi izokratik koşullar altında, 5 µm boyutunda partiküller içeren, 4,6 mm iç çaplı ve 250 mm uzunluğundaki C18 kolon (Fortis, UniverSil C18, Fortis Technologies, Cheshire, UK) ile gerçekleştirildi.
2. Metanol : Etanol (75:25, v:v) karışımından oluşan mobil faz, HPLC sistemine (Agilent, 1100 Series, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) 0,8 mL/dk akış hızı ile verilirken, dalga boyu 325 nm' ye ayarlandı.

### Hesaplama

1. Standartlara ait pik alanı ve konsantrasyon değerleri kullanılarak standart grafiği elde edildi. Retinil palmitat standart grafiği Şekil 3.4' te gösterilmektedir.
2. Standart grafiğine ait denklem kullanılarak örneklerin konsantrasyonları hesaplandı.



Şekil 3.4. Retinil palmitat standart grafiği.

### **3.1.2.5. Serum TAG düzeyinin ölçülmesi**

Serum TAG düzeyleri, çalışmanın şilomikron sentezinin değerlendirildiği kısımdaki TAG düzeylerinin ölçülmesinde kullanılan kit ve ölçüm yöntemi ile belirlendi.

### **3.1.2.6. Serum kolesterol düzeylerinin ölçülmesi**

Serum toplam-, HDL- ve LDL-K düzeyleri, çalışmanın şilomikron sentezinin değerlendirildiği kısımdaki kolesterol düzeylerinin ölçülmesinde kullanılan kit ve ölçüm yöntemi ile belirlendi.

## **3.2. İstatistiksel Analiz**

Veriler, SPSS 16.0 istatistik programı kullanılarak analiz edildi. Veriler medyan, minimum ve maksimum değerler ile tanımlandı. Grup karşılaştırmalarında Mann Whitney U testi ve Kruskal Wallis varyans analizi kullanıldı. Kruskal Wallis varyans analizi sonrasında ikili karşılaştırmalar Conever yöntemiyle yapıldı. Tüm testlerde istatistiksel anlamlılık düzeyi 0,05 olarak kabul edildi.

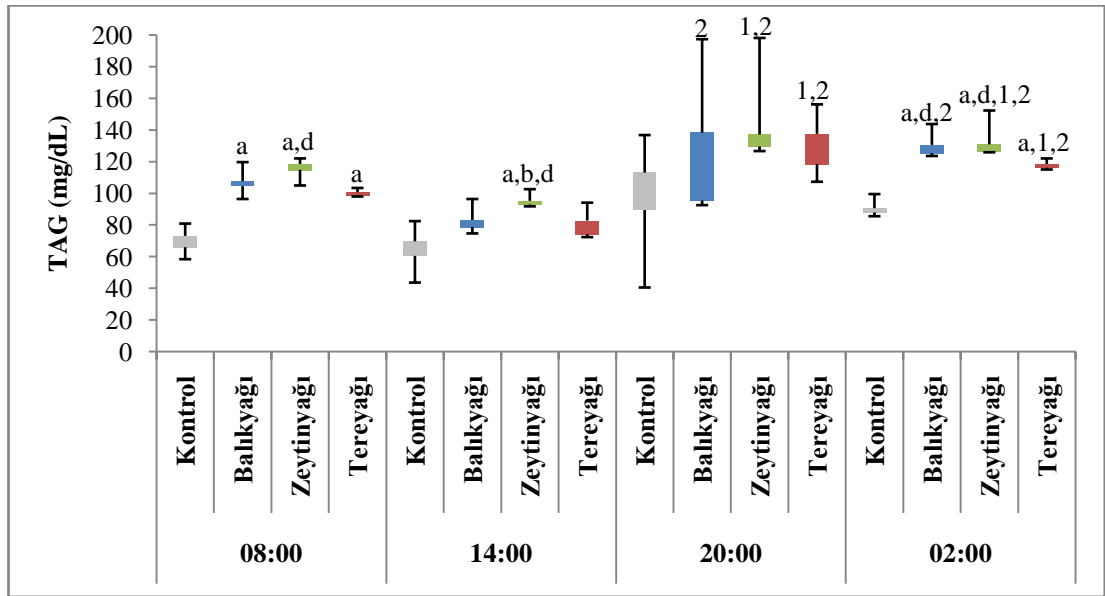


## 4. BULGULAR

### 4.1. Şilomikron sentezinin değerlendirilmesi

#### 4.1.1. Serum TAG seviyeleri

Belirlenen dört farklı uygulama zamanında besinsel yağların verilmesinden sonra alınan kan örneklerindeki TAG seviyeleri, Şekil 4.1' de gösterilmektedir. 08:00 uygulamasında, kontrole göre her üç yağ için istatistiksel olarak anlamlı yükselişler gözlemlendi. Zeytinyağı grubunda, tereyağı grubuna göre TAG seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı yükselişler gözlemlendi ( $p < 0,05$ ). 14:00 uygulamasında, zeytinyağı grubundaki yükseliş diğer gruplardan istatistiksel olarak farklı bulunmasına rağmen ( $p < 0,05$ ), diğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunmadı ( $p > 0,05$ ). 20:00 uygulamasında, yağ gruplarında kontrole göre TAG seviyelerinde yükselme gözlenmesine rağmen, istatistiksel olarak fark bulunmadı ( $p > 0,05$ ). 02:00 uygulamasında ise, kontrole göre farklı bulunan yağ gruplarından balıkyacağı ve zeytinyağı, tereyağı grubuna göre TAG seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı yükselmelere neden oldu ( $p < 0,05$ ).



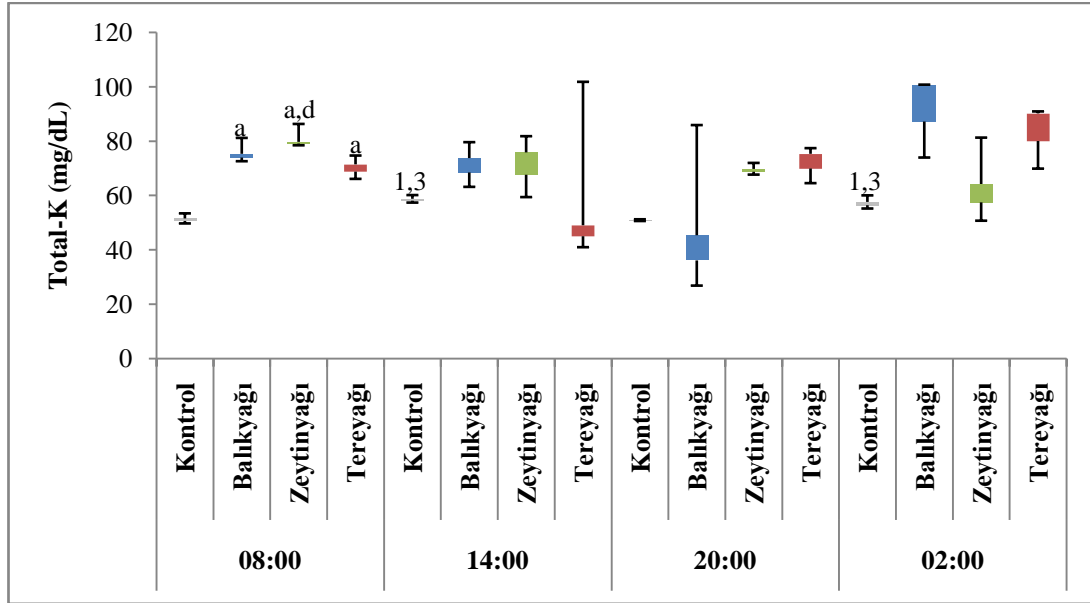
Şekil 4.1. Besinsel yağ uygulamasından 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki TAG seviyeleri.

Uygulama zamanı içinde grupların karşılaştırılması; a: kontrole göre, b: balıkyağına göre, c: zeytinyağına göre, d: tereyağına göre istatistiksel olarak anlamlı. Uygulama zamanları arasında grupların karşılaştırılması; 1: 08:00' a göre, 2: 14:00' a göre, 3: 20:00' a göre, 4: 02:00' a göre istatistiksel olarak anlamlı.

Her besinsel yağın TAG seviyelerine etkisi uygulama saatlerine göre değerlendirildiğinde, zeytinyağı ve tereyağı için 20:00 ve 02:00 uygulamalarının 08:00 ve 14:00 uygulamalarına göre TAG seviyelerini istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yükselttiği gözlenirken ( $p<0,05$ ), balıkyağı grubunda 20:00 ve 02:00 uygulamaları sadece 14:00 uygulamasına göre anlamlı ölçüde yüksek bulundu ( $p<0,05$ ).

#### **4.1.2. Serum Total-K seviyeleri**

Belirlenen dört farklı uygulama zamanında besinsel yağların verilmesinden sonra alınan kan örneklerindeki Total-K seviyeleri, Şekil 4.2' de gösterilmektedir. 08:00 uygulamasında, kontrole göre her üç yağ için istatistiksel olarak anlamlı yükselişler gözlemlendi. Zeytinyağı grubunda, tereyağı grubuna göre Total-K seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı yükselişler gözlemlendi ( $p<0,05$ ). Diğer uygulama zamanlarında ise istatistiksel olarak anlamlı değişimler gözlenmedi ( $p>0,05$ ). Kontrol grubunda 14:00 ve 02:00 uygulamaları, 08:00 ve 20:00 uygulamalarından istatistiksel olarak farklı bulundu ( $p<0,05$ ).



**Şekil 4.2.** Besinsel yağ uygulamasından 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki Total-K seviyeleri.

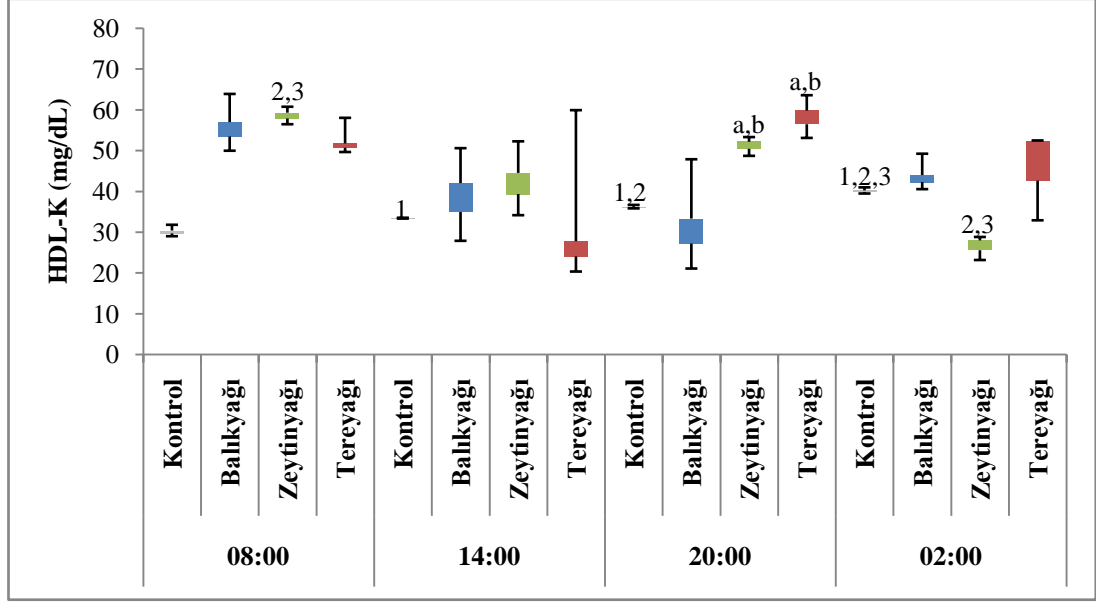
Uygulama zamanı içinde grupların karşılaştırılması; a: kontrole göre, b: balıkyağına göre, c: zeytinyağına göre, d: tereyağına göre istatistiksel olarak anlamlı. Uygulama zamanları arasında grupların karşılaştırılması; 1: 08:00' a göre, 2: 14:00' a göre, 3: 20:00' a göre, 4: 02:00' a göre istatistiksel olarak anlamlı.

#### 4.1.3. Serum HDL-K seviyeleri

Belirlenen dört farklı uygulama zamanında besinsel yağların verilmesinden sonra alınan kan örneklerindeki HDL-K seviyeleri, Şekil 4.3' te gösterilmektedir. 08:00 uygulamasında, kontrole göre her üç yağ grubunda da HDL-K seviyelerinde artış gözlenmesine rağmen, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0,05$ ). 20:00 uygulamasında, zeytinyağı ve tereyağı grupları ile kontrol ve balıkyağı grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ). Diğer uygulama zamanlarında ise gruplar arasında HDL-K seviyelerinde anlamlı farklılıklar gözlenmedi ( $p>0,05$ ).

Her besinsel yağın HDL-K seviyelerine etkisi uygulama saatlerine göre değerlendirildiğinde, zeytinyağı uygulaması 02:00 ve 08:00 gruplarında, 14:00 ve 20:00 gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı değişimlere neden oldu ( $p<0,05$ ).

Kontrol grubunda ise, 14:00 uygulaması 08:00' den, 20:00 uygulaması 08:00 ve 14:00' den, 02:00 uygulaması ise bütün zamanlardan istatistiksel olarak farklı bulundu ( $p<0,05$ ).

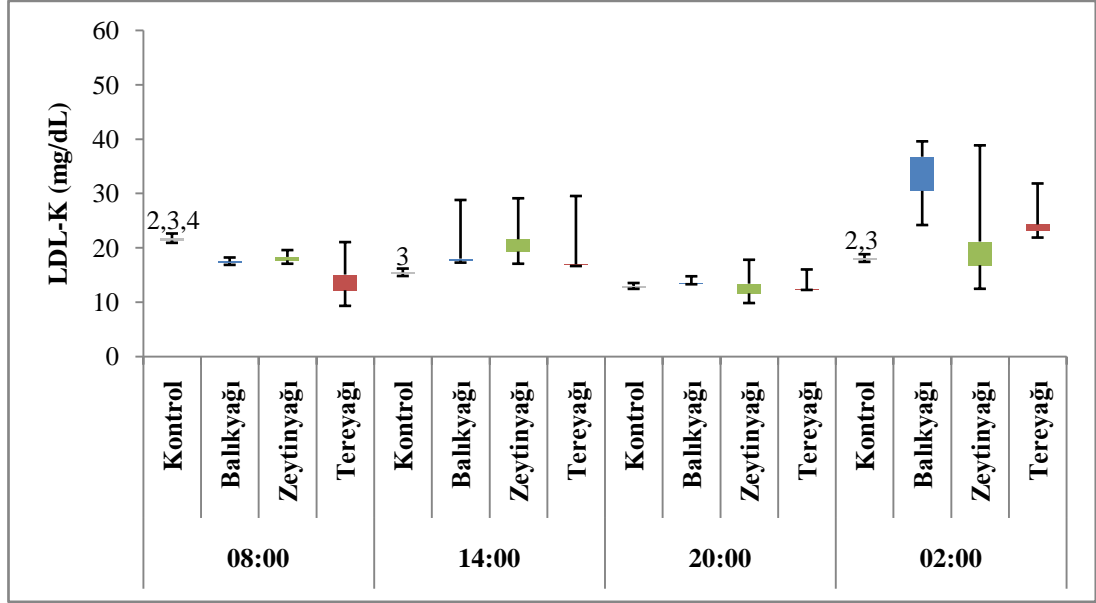


**Şekil 4.3.** Besinsel yağ uygulamasından 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki HDL-K seviyeleri.

Uygulama zamanı içinde grupların karşılaştırılması; a: kontrole göre, b: balıkyağına göre, c: zeytinyağına göre, d: tereyağına göre istatistiksel olarak anlamlı. Uygulama zamanları arasında grupların karşılaştırılması; 1: 08:00' a göre, 2: 14:00' a göre, 3: 20:00' a göre, 4: 02:00' a göre istatistiksel olarak anlamlı.

#### 4.1.4. Serum LDL-K seviyeleri

Belirlenen dört farklı uygulama zamanında besinsel yağların verilmesinden sonra alınan kan örneklerindeki LDL-K seviyeleri, Şekil 4.4' te gösterilmektedir. Farklı uygulama saatleri ve besinsel yağların, LDL-K seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı değişimlere neden olmadığı görüldü ( $p>0,05$ ). Kontrol grubunda, 14:00 uygulaması 20:00' den, 02:00 uygulaması 14:00 ve 20:00' den, 08:00 uygulaması ise bütün uygulama zamanlarından farklı bulundu.

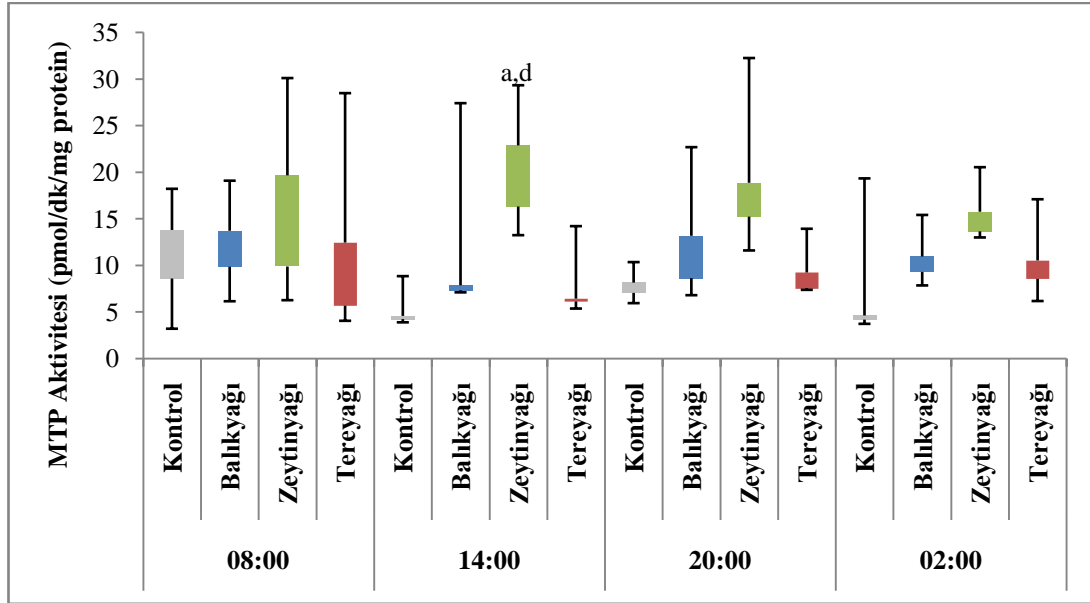


**Şekil 4.4.** Besinsel yağ uygulamasından 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki LDL-K seviyeleri.

Uygulama zamanı içinde grupların karşılaştırılması; a: kontrole göre, b: balıkyağına göre, c: zeytinyağına göre, d: tereyağına göre istatistiksel olarak anlamlı. Uygulama zamanları arasında grupların karşılaştırılması; 1: 08:00' a göre, 2: 14:00' a göre, 3: 20:00' a göre, 4: 02:00' a göre istatistiksel olarak anlamlı.

#### 4.1.5. İnce bağırsak MTP aktivitesi

Belirlenen dört farklı uygulama zamanında besinsel yağların verilmesinden sonra alınan ince bağırsak örneklerindeki MTP aktivitesi, Şekil 4.5' te gösterilmektedir. 14:00 uygulamasında, zeytinyağı grubuna ait MTP aktivitesindeki yüksek seviye, kontrol ve tereyağı grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0,05$ ). Diğer uygulama zamanlarında ise, özellikle zeytinyağı grubunda yükselmeler gözlenmesine rağmen, kontrol ve diğer yağ gruplarına göre MTP aktivitesi bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmedi ( $p > 0,05$ ).

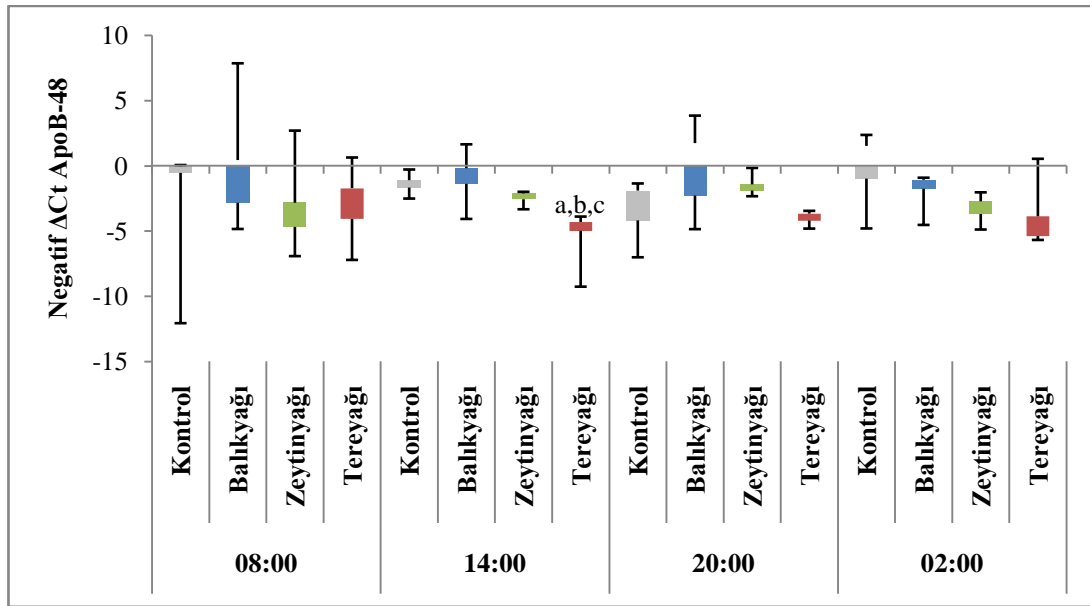


**Şekil 4.5.** Besinsel yağ uygulamasından 4 saat sonra alınan ince bağırsak örneklerindeki MTP aktivitesi.

Uygulama zamanı içinde grupların karşılaştırılması; a: kontrole göre, b: balıkyağına göre, c: zeytinyağına göre, d: tereyağına göre istatistiksel olarak anlamlı. Uygulama zamanları arasında grupların karşılaştırılması; 1: 08:00' a göre, 2: 14:00' a göre, 3: 20:00' a göre, 4: 02:00' a göre istatistiksel olarak anlamlı.

#### 4.1.6. İnce bağırsak ApoB-48, ApoA-IV, MTP ve HNF-4a gen ifadeleri

Belirlenen dört farklı uygulama zamanında besinsel yağların verilmesinden sonra alınan ince bağırsak örneklerindeki ApoB-48 gen ifade seviyesi, Şekil 4.6' da gösterilmektedir. Tereyağı gruplarının, bütün uygulama zamanlarında kontrol grubuna eşit veya kontrol grubundan daha az gen ifade seviyelerine sebep olduğu, 14:00 uygulamasındaki ApoB-48 gen ifade seviyesinin diğer gruplardan ve kontrolden istatistiksel olarak farklı olduğu görüldü ( $p < 0,05$ ).

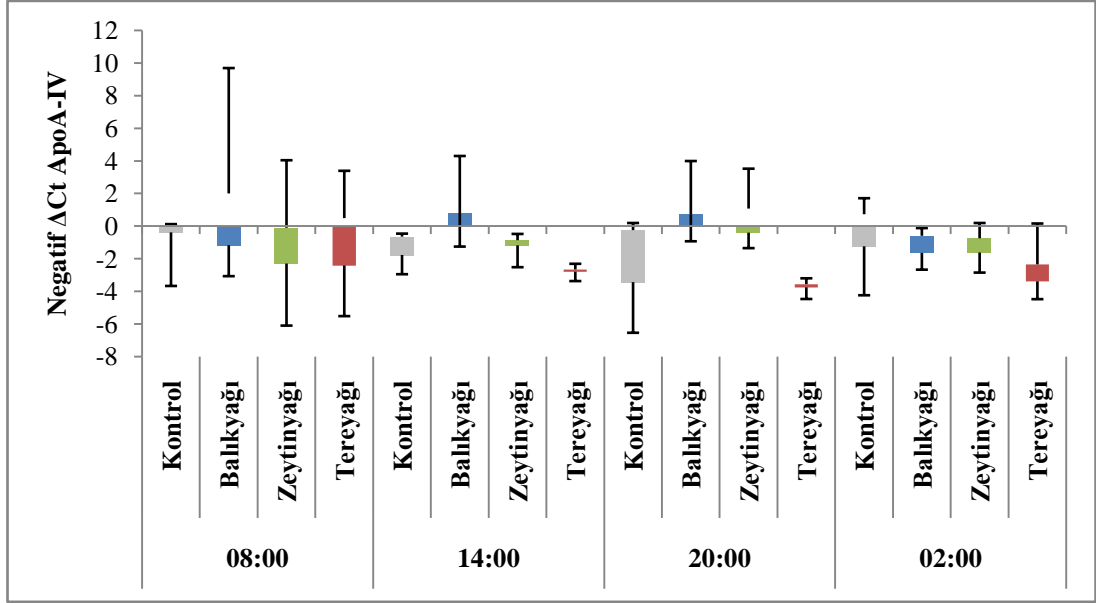


**Şekil 4.6.** Besinsel yağ uygulamasından 4 saat sonra alınan ince bağırsak örneklerindeki ApoB-48 gen ifadesi.

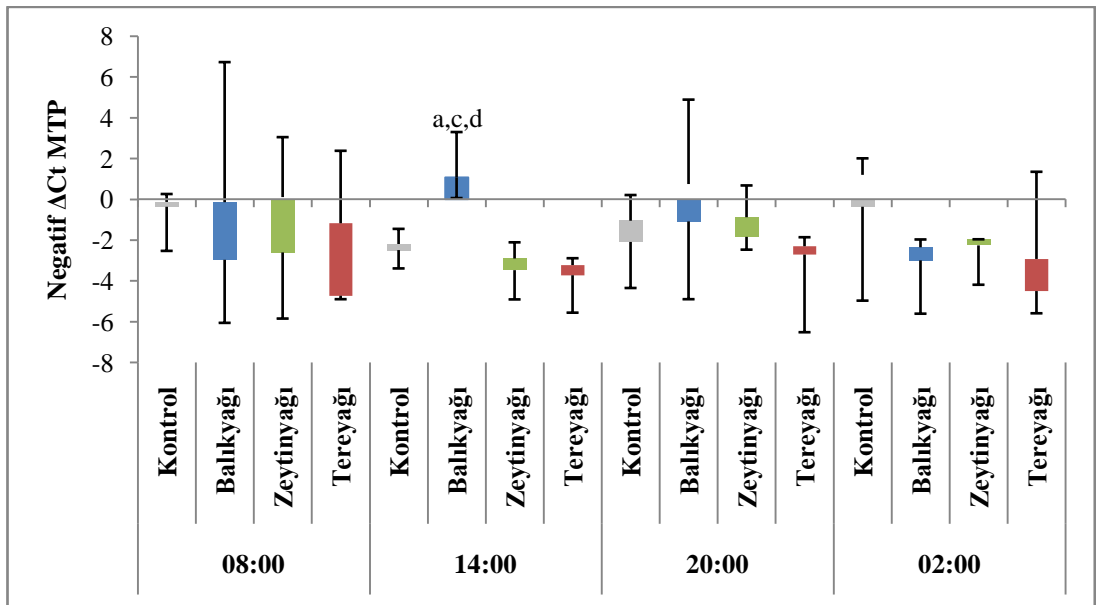
Uygulama zamanı içinde grupların karşılaştırılması; a: kontrole göre, b: balıkyağına göre, c: zeytinyağına göre, d: tereyağına göre istatistiksel olarak anlamlı. Uygulama zamanları arasında grupların karşılaştırılması; 1: 08:00' a göre, 2: 14:00' a göre, 3: 20:00' a göre, 4: 02:00' a göre istatistiksel olarak anlamlı.

Belirlenen dört farklı uygulama zamanında besinsel yağların verilmesinden sonra alınan ince bağırsak örneklerindeki ApoA-IV gen ifade seviyesi, Şekil 4.7' de gösterilmektedir. Farklı uygulama saatleri ve besinsel yağların, ApoA-IV gen ifade seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı değişimlere neden olmadığı görüldü ( $p > 0,05$ ).

Belirlenen dört farklı uygulama zamanında besinsel yağların verilmesinden sonra alınan ince bağırsak örneklerindeki MTP gen ifade seviyesi, Şekil 4.8' de gösterilmektedir. 14:00 uygulamasında, balıkyağı grubunda MTP gen ifade seviyelerindeki artış kontrol ve diğer yağ gruplarından istatistiksel olarak farklı bulundu ( $p < 0,05$ ). Diğer uygulama zamanlarında ise gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi.



**Şekil 4.7.** Besinsel yağ uygulamasından 4 saat sonra alınan ince bağırsak örneklerindeki ApoA-IV gen ifadesi.

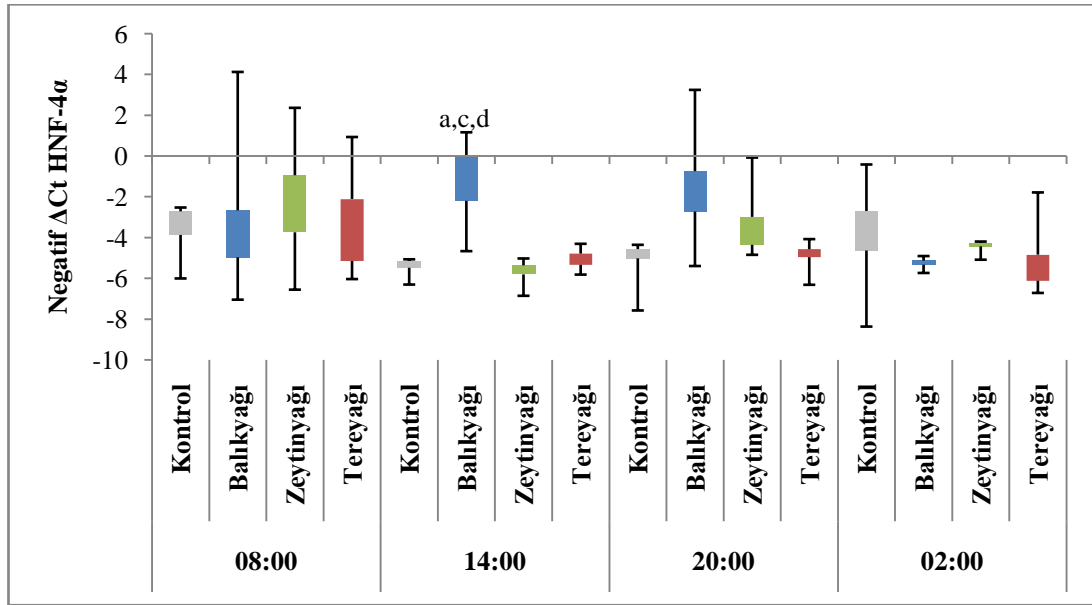


**Şekil 4.8.** Besinsel yağ uygulamasından 4 saat sonra alınan ince bağırsak örneklerindeki MTP gen ifadesi.



Uygulama zamanı içinde grupların karşılaştırılması; a: kontrole göre, b: balıkyağına göre, c: zeytinyağına göre, d: tereyağına göre istatistiksel olarak anlamlı. Uygulama zamanları arasında grupların karşılaştırılması; 1: 08:00' a göre, 2: 14:00' a göre, 3: 20:00' a göre, 4: 02:00' a göre istatistiksel olarak anlamlı.

Belirlenen dört farklı uygulama zamanında besinsel yağların verilmesinden sonra alınan ince bağırsak örneklerindeki HNF-4 $\alpha$  gen ifade seviyesi, Şekil 4.9' da gösterilmektedir. 14:00 uygulamasında, balıkyağı grubunda HNF-4 $\alpha$  gen ifade seviyelerindeki artış kontrol ve diğer yağ gruplarından istatistiksel olarak farklı bulundu ( $p < 0,05$ ).



**Şekil 4.9.** Besinsel yağ uygulamasından 4 saat sonra alınan ince bağırsak örneklerindeki HNF-4 $\alpha$  gen ifadesi.

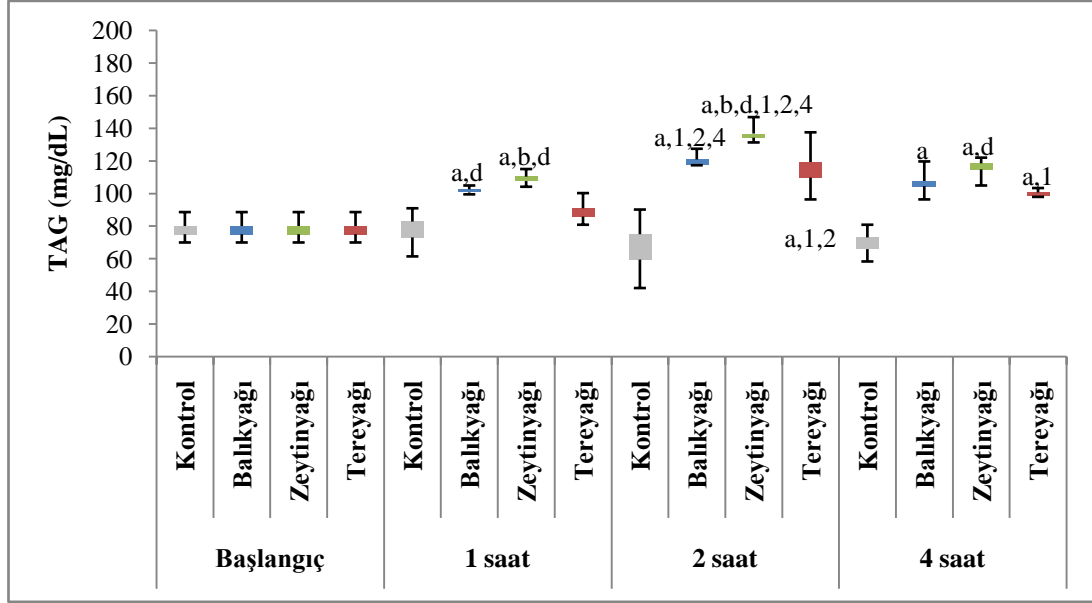
Uygulama zamanı içinde grupların karşılaştırılması; a: kontrole göre, b: balıkyağına göre, c: zeytinyağına göre, d: tereyağına göre istatistiksel olarak anlamlı. Uygulama zamanları arasında grupların karşılaştırılması; 1: 08:00' a göre, 2: 14:00' a göre, 3: 20:00' a göre, 4: 02:00' a göre istatistiksel olarak anlamlı.

## 4.2. Postprandial hiperlipideminin değerlendirilmesi

### 4.2.1. Serum TAG seviyeleri

08:00' da besinsel yağların uygulanmasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki TAG seviyeleri, Şekil 4.10' da gösterilmektedir. 1. saat sonuçlarına göre, zeytinyağı grubundaki TAG seviyeleri kontrol ve diğer yağ gruplarına göre, balıkyaağı grubundaki TAG seviyeleri, kontrol ve tereyağı grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulundu ( $p<0,05$ ). 2. saat sonuçlarına göre, zeytinyağı grubundaki TAG seviyeleri 1. saat sonuçlarındaki gibi kontrol ve diğer yağ gruplarına göre, balıkyaağı ve tereyağı gruplarındaki TAG seviyeleri ise kontrole göre istatistiksel olarak farklı bulundu ( $p<0,05$ ). 4. saat sonuçlarına göre, zeytinyağı grubundaki TAG seviyeleri kontrol ve tereyağı grubuna göre, balıkyaağı ve tereyağı gruplarındaki TAG seviyeleri, kontrole göre istatistiksel olarak farklı bulundu ( $p<0,05$ ).

Balıkyaağı ve zeytinyağı gruplarında 2. saat sonunda ölçülen TAG seviyeleri, her grubun kendi içindeki başlangıç, 1 ve 4. saat sonu ölçümleri ile belirlenen TAG seviyelerinden istatistiksel olarak yüksek bulunurken, tereyağı grubunda 2. saat TAG seviyeleri başlangıç ve 1. saat seviyelerine göre, 4. saat seviyeleri ise başlangıç seviyelerine göre istatistiksel olarak yüksek bulundu ( $p<0,05$ ).



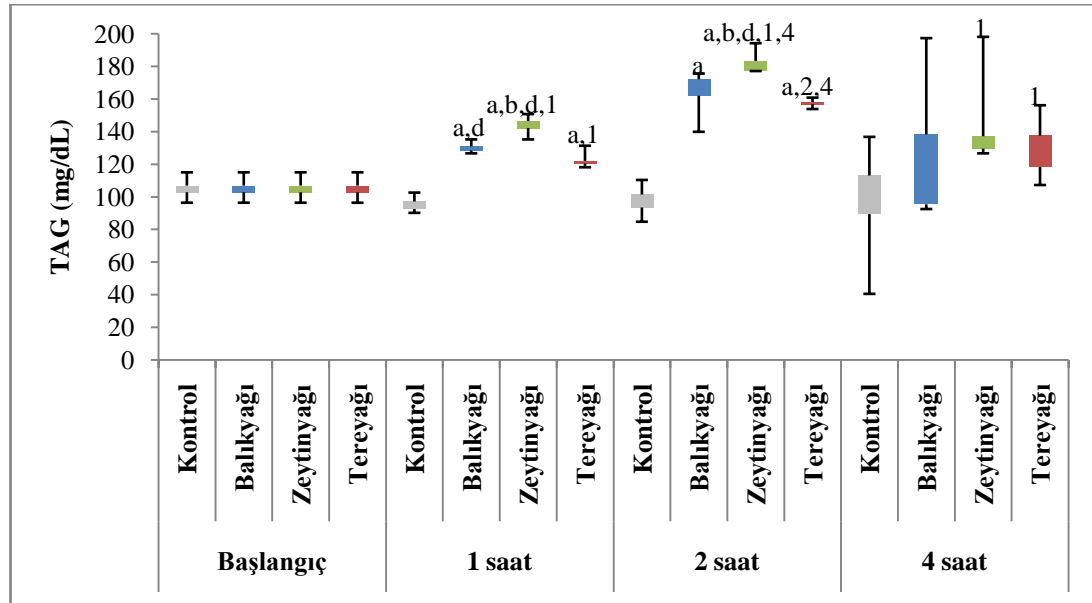
**Şekil 4.10.** 08:00' da besinsel yağ uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki TAG seviyeleri.

Uygulama zamanı içinde grupların karşılaştırılması; a: kontrole göre, b: balıkyağına göre, c: zeytinyağına göre, d: tereyağına göre istatistiksel olarak anlamlı. Uygulama zamanları arasında grupların karşılaştırılması; 1: başlangıca göre, 2: 1. saate göre, 3: 2. saate göre, 4: 4. saate göre istatistiksel olarak anlamlı.

20:00' da besinsel yağların uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki TAG seviyeleri, Şekil 4.11' de gösterilmektedir. 1. saat sonuçlarına göre, zeytinyağı grubundaki TAG seviyeleri kontrol ve diğer yağ gruplarına göre, balıkyağı grubundaki TAG seviyeleri kontrol ve tereyağı grubuna göre, tereyağı grubundaki TAG seviyeleri de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulundu ( $p < 0,05$ ). 2. saat sonuçlarına göre, zeytinyağı grubundaki TAG seviyeleri 1. saat sonuçlarındaki gibi kontrol ve diğer yağ gruplarına göre, balıkyağı ve tereyağı gruplarındaki TAG seviyeleri kontrole göre istatistiksel olarak farklı bulundu ( $p < 0,05$ ). 4. saat sonuçlarına göre, TAG seviyelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $p > 0,05$ ).

Tereyağı grubunda 2. saat sonunda ölçülen TAG seviyeleri, 1 ve 4. saat sonu ölçümleri ile belirlenen TAG seviyelerinden, 1 ve 4. saat sonu ölçümleri ise

başlangıç seviyelerinden istatistiksel olarak farklı bulunurken, zeytinyağı grubunda 2. saat TAG seviyeleri 4. saat seviyelerine göre, 1, 2 ve 4. saat TAG seviyeleri başlangıca göre istatistiksel olarak yüksek bulundu ( $p<0,05$ ). Balıkyağı grubunda saatlere göre TAG seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı.

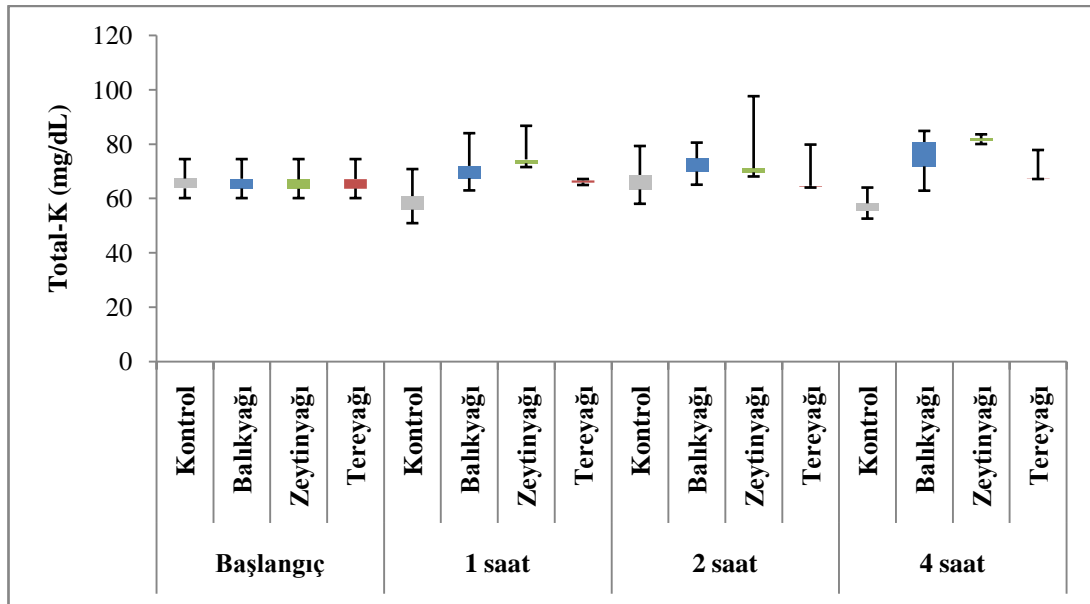


**Şekil 4.11.** 20:00' da besinsel yağ uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki TAG seviyeleri.

Uygulama zamanı içinde grupların karşılaştırılması; a: kontrole göre, b: balıkyağına göre, c: zeytinyağına göre, d: tereyağına göre istatistiksel olarak anlamlı. Uygulama zamanları arasında grupların karşılaştırılması; 1: başlangıca göre, 2: 1. saate göre, 3: 2. saate göre, 4: 4. saate göre istatistiksel olarak anlamlı.

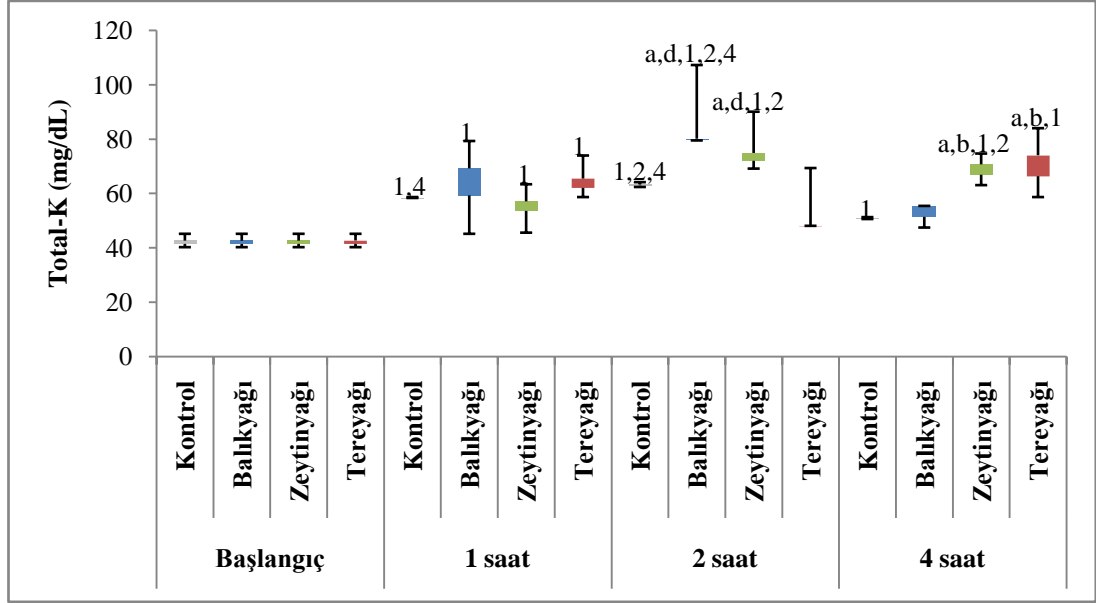
#### 4.2.2. Serum Total-K seviyeleri

08:00' da besinsel yağların uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki Total-K seviyeleri, Şekil 4.12' de gösterilmektedir. Total-K seviyelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $p>0,05$ ).



**Şekil 4.12.** 08:00' da besinsel yağ uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki Total-K seviyeleri.

20:00' da besinsel yağların uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki Total-K seviyeleri, Şekil 4.13' te gösterilmektedir. 1. saat sonuçlarına göre, Total-K seviyelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $p>0,05$ ). 2. saat sonuçlarına göre, balıkyağı ve zeytinyağı grubundaki Total-K seviyeleri, kontrol ve tereyağı grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulundu ( $p<0,05$ ). 4. saat sonuçlarına göre ise, zeytinyağı ve tereyağı grubundaki Total-K seviyeleri, kontrol ve balıkyağı grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulundu ( $p<0,05$ ). Kontrol grubunda, 4. saat seviyeleri başlangıçtan, 1. saat seviyeleri başlangıç ve 4. saatten, 2. saat seviyeleri ise bütün zamanlardan istatistiksel olarak farklı bulundu ( $p<0,05$ ). Balıkyağı grubunda 2. saat seviyeleri bütün zamanlardan istatistiksel olarak farklı bulundu ( $p<0,05$ ). Zeytinyağı grubunda, 2 ve 4. saat seviyeleri başlangıç ve 1. saat seviyelerinden, 1. saat seviyeleri ise başlangıç seviyelerinden istatistiksel olarak farklı bulundu ( $p<0,05$ ). Tereyağı grubunda, 1 ve 4. saat seviyeleri, başlangıç seviyelerinden istatistiksel olarak farklı bulundu ( $p<0,05$ ).

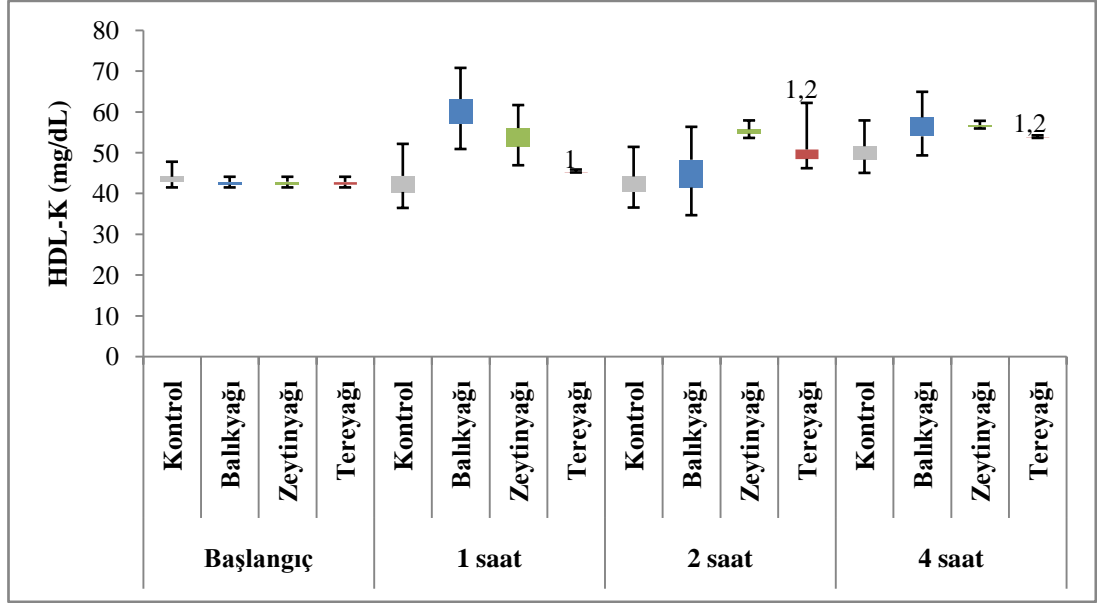


**Şekil 4.13.** 20:00' da besinsel yağ uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki Total-K seviyeleri.

Uygulama zamanı içinde grupların karşılaştırılması; a: kontrole göre, b: balıkyağına göre, c: zeytinyağına göre, d: tereyağına göre istatistiksel olarak anlamlı. Uygulama zamanları arasında grupların karşılaştırılması; 1: başlangıca göre, 2: 1. saate göre, 3: 2. saate göre, 4: 4. saate göre istatistiksel olarak anlamlı.

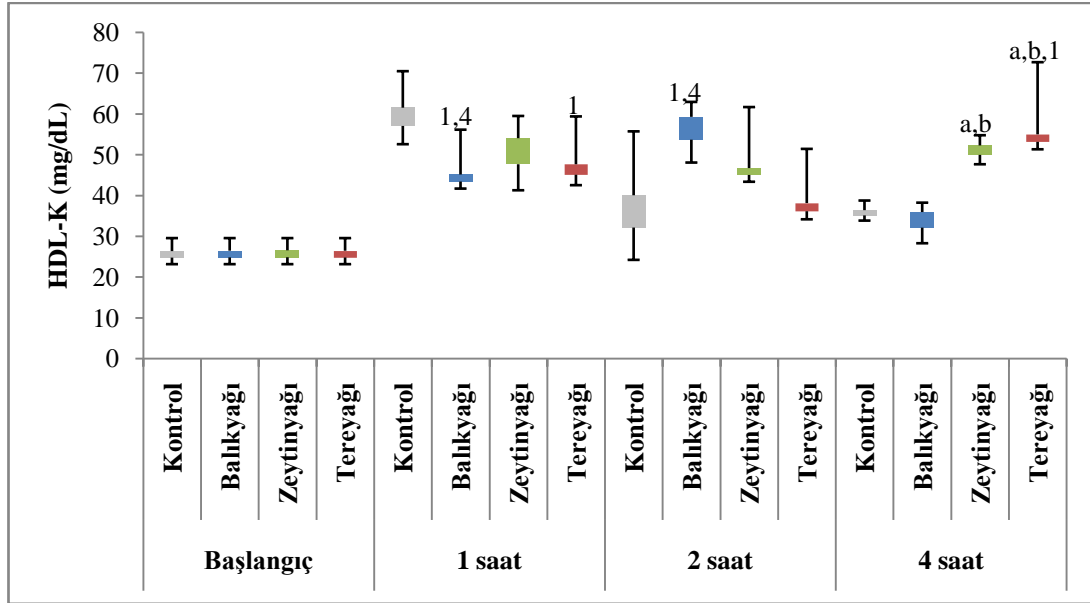
#### 4.2.3. Serum HDL-K seviyeleri

08:00' da besinsel yağların uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki HDL-K seviyeleri, Şekil 4.14' te gösterilmektedir. HDL-K seviyelerinde uygulama saatleri içinde yağ grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $p > 0,05$ ). Tereyağı grubunda, 2 ve 4. saat seviyeleri başlangıç ve 1. saat seviyelerine göre, 1. saat seviyeleri ise başlangıç seviyelerine göre istatistiksel olarak farklı bulundu.



**Şekil 4.14.** 08:00' da besinsel yağ uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki HDL-K seviyeleri.

20:00' da besinsel yağların uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki HDL-K seviyeleri, Şekil 4.15' te gösterilmektedir. 1 ve 2. saat sonu ölçümlerinde HDL-K seviyelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $p > 0,05$ ). 4. saat sonuçlarına göre, zeytinyağı ve tereyağı grubundaki HDL-K seviyeleri, kontrol ve balıkyağı grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulundu ( $p < 0,05$ ). Balıkyağı grubunda, 1 ve 2. saat seviyeleri başlangıç ve 4. saat seviyelerinden istatistiksel olarak farklı bulundu ( $p < 0,05$ ). Tereyağı grubunda, 1 ve 4. saat seviyeleri, başlangıç seviyelerinden istatistiksel olarak farklı bulundu ( $p < 0,05$ ).



**Şekil 4.15.** 20:00' da besinsel yağ uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki HDL-K seviyeleri.

Uygulama zamanı içinde grupların karşılaştırılması; a: kontrole göre, b: balıkyağına göre, c: zeytinyağına göre, d: tereyağına göre istatistiksel olarak anlamlı. Uygulama zamanları arasında grupların karşılaştırılması; 1: başlangıca göre, 2: 1. saate göre, 3: 2. saate göre, 4: 4. saate göre istatistiksel olarak anlamlı.

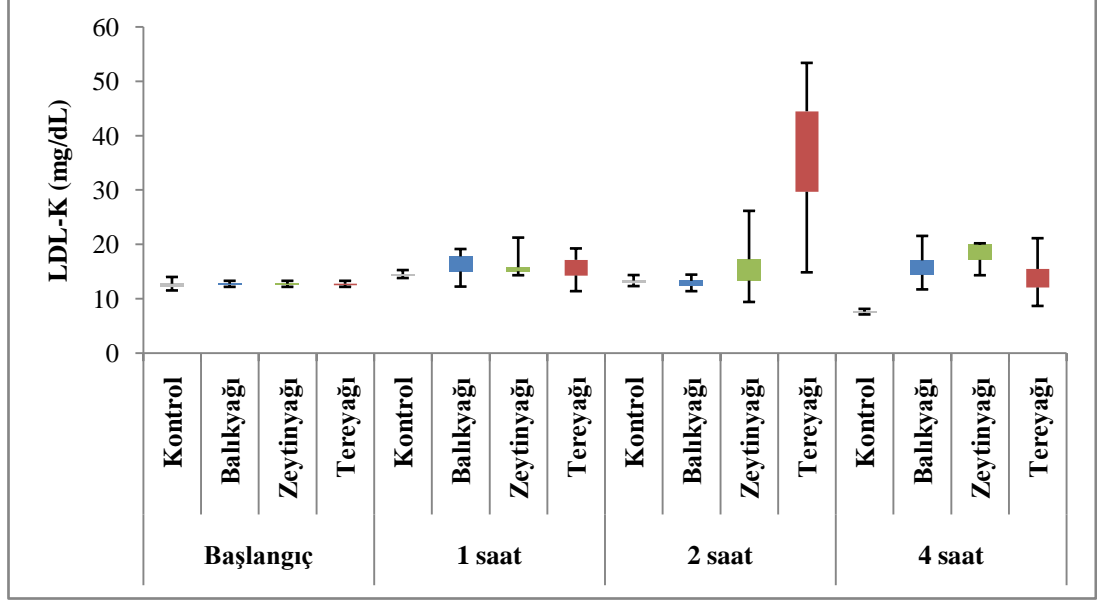
#### 4.2.4. Serum LDL-K seviyeleri

08:00' da besinsel yağların uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki LDL-K seviyeleri, Şekil 4.16' da gösterilmektedir. LDL-K seviyelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $p > 0,05$ ).

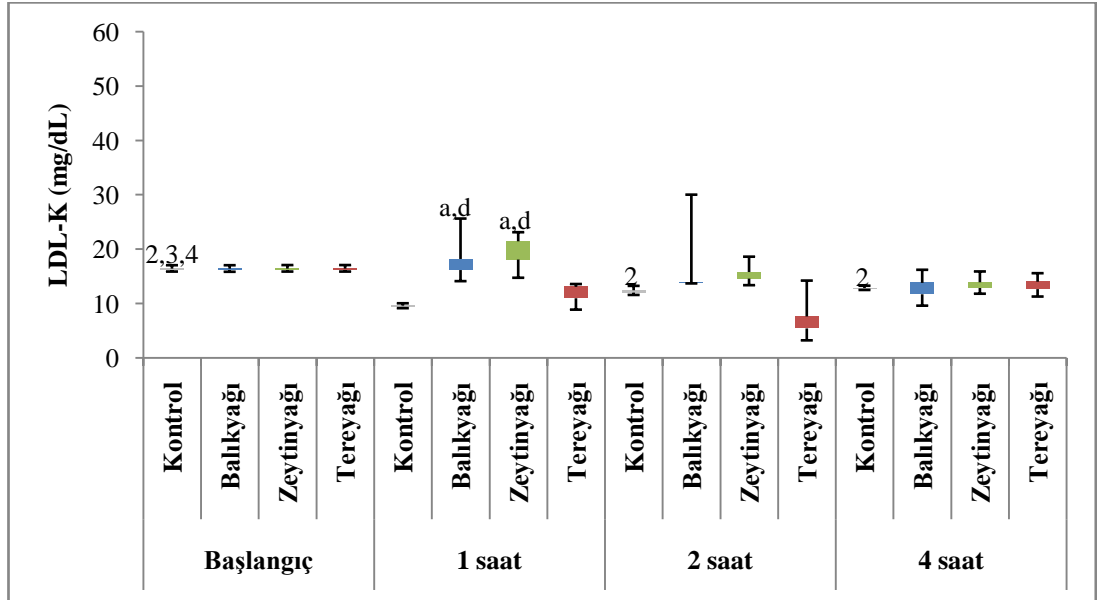
20:00' da besinsel yağların uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki LDL-K seviyeleri, Şekil 4.17' de gösterilmektedir. 1. saat ölçümlerine göre, balıkyağı ve zeytinyağı grubundaki LDL-K seviyeleri, kontrol ve tereyağı grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulundu ( $p < 0,05$ ). 2 ve 4. saat ölçümlerine göre, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $p > 0,05$ ).



Kontrol grubunda, başlangıç seviyeleri bütün zamanlara göre, 2 ve 4. saat seviyeleri de 1. saat verilerine göre istatistiksel olarak farklı bulundu ( $p < 0,05$ ).



Şekil 4.16. 08:00' da besinsel yağ uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki LDL-K seviyeleri.



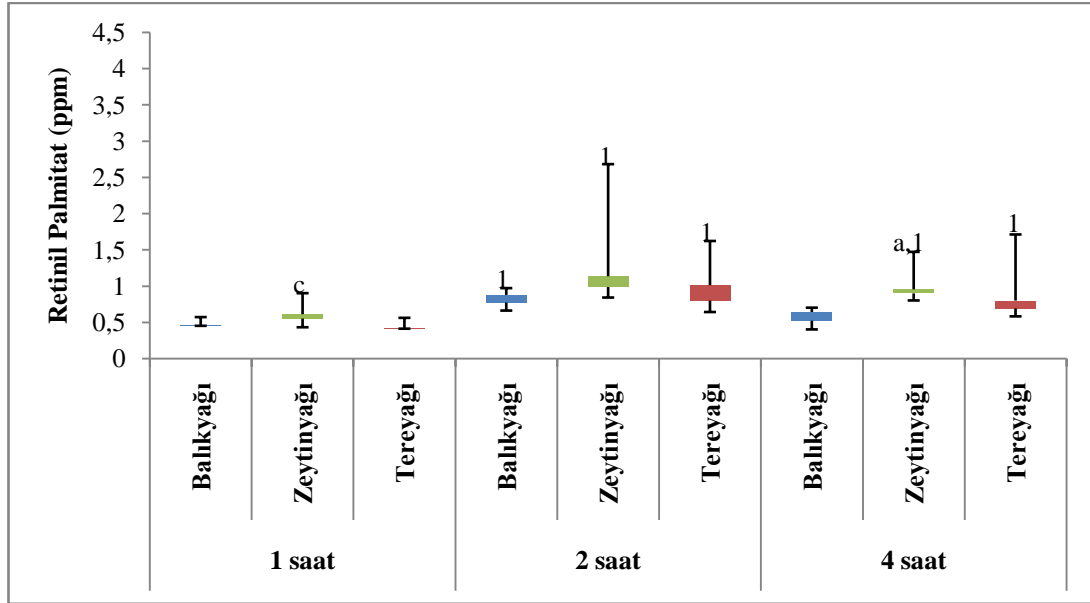
Şekil 4.17. 20:00' da besinsel yağ uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki LDL-K seviyeleri.

Uygulama zamanı içinde grupların karşılaştırılması; a: kontrole göre, b: balıkyağına göre, c: zeytinyağına göre, d:tereyağına göre istatistiksel olarak anlamlı. Uygulama zamanları arasında grupların karşılaştırılması; 1: başlangıca göre, 2: 1.saate göre, 3: 2. saate göre, 4: 4. saate göre istatistiksel olarak anlamlı.

#### **4.2.5. Serum retinil palmitat seviyeleri**

08:00' da besinsel yağların uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki retinil palmitat seviyeleri, Şekil 4.18' de gösterilmektedir. 1. saat sonuçlarına göre, zeytinyağı grubunda retinil palmitat seviyelerindeki artış tereyağı grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ). 2. saat sonuçlarına göre, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı. 4. saat sonuçlarına göre, zeytinyağı grubundaki retinil palmitat seviyeleri, balıkyağı grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulundu ( $p<0,05$ ).

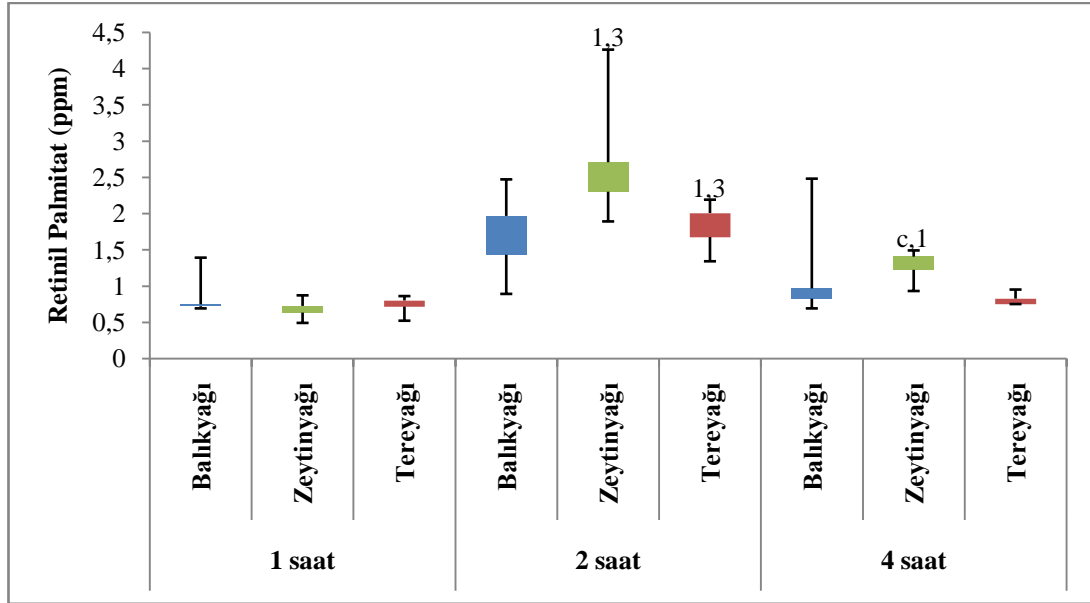
Zeytinyağı ve tereyağı gruplarında 2 ve 4. saat sonunda ölçülen retinil palmitat seviyeleri, her grubun kendi içindeki 1. saat ölçümleri ile belirlenen retinil palmitat seviyelerinden istatistiksel olarak farklı bulunurken, balıkyağı grubunda 2. saat retinil palmitat seviyeleri 1. saat sonuçlarına göre istatistiksel olarak farklı bulundu ( $p<0,05$ ).



**Şekil 4.18.** 08:00' da besinsel yağ uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki retinil palmitat seviyeleri.

Uygulama zamanı içinde grupların karşılaştırılması; a: balıkyağına göre, b: zeytinyağına göre, c: tereyağına göre istatistiksel olarak anlamlı. Uygulama zamanları arasında grupların karşılaştırılması; 1: 1. saate göre, 2: 2. saate göre, 3: 4. saate göre istatistiksel olarak anlamlı.

20:00' da besinsel yağların uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki retinil palmitat seviyeleri, Şekil 4.19' da gösterilmektedir. 1. saat sonuçlarına göre, gruplar arasında retinil palmitat seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0,05$ ). 2. saat sonuçlarına göre, zeytinyağı grubunda retinil palmitat seviyelerindeki artış balıkyağı ve tereyağı grubuna göre daha yüksek gözlenmesine rağmen, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0,05$ ). 4. saat sonuçlarına göre, zeytinyağı grubundaki retinil palmitat seviyeleri, tereyağı grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ). Zeytinyağı grubunda 4. saat seviyeleri 1. saatten, 2. saat seviyeleri ise 1 ve 4. saatten istatistiksel olarak farklı bulundu. Tereyağı grubunda ise, 2. saat seviyeleri 1 ve 4. saat seviyelerinden istatistiksel olarak farklı bulundu ( $p<0,05$ ).



**Şekil 4.19.** 20:00' da besinsel yağ uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki retinil palmitat seviyeleri.

Uygulama zamanı içinde grupların karşılaştırılması; a: balıkyağına göre, b: zeytinyağına göre, c: tereyağına göre istatistiksel olarak anlamlı. Uygulama zamanları arasında grupların karşılaştırılması; 1: 1. saate göre, 2: 2. saate göre, 3: 4. saate göre istatistiksel olarak anlamlı.

08:00 ve 20:00' da besinsel yağların uygulanmasını takiben 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki TAG/retinil palmitat oranları Tablo 4.1' de gösterilmektedir. Her iki uygulama zamanında da 1. saat örneklerinde TAG konsantrasyonunun retinil palmitata göre daha hızlı yükseldiği, 2. saat örneklerinde ise artan retinil palmitat konsantrasyonu ile birlikte TAG/retinil palmitat oranlarında düşüşler olduğu gözlenmektedir. 4. saat sonunda ise 2. saat örneklerine göre TAG/retinil palmitat oranının yükseldiği belirlenmiştir.

**Tablo 4.1.** 08:00 ve 20:00' da besinsel yağ uygulamasından 1, 2 ve 4 saat sonra alınan kan örneklerindeki TAG/Retinil palmitat oranları.

	<b>1.saat</b>		<b>2.saat</b>		<b>4.saat</b>	
	<b>08:00</b>	<b>20:00</b>	<b>08:00</b>	<b>20:00</b>	<b>08:00</b>	<b>20:00</b>
<b>Balıkyığı</b>	226,712	175,23	137,805	87,482	167,842	143,003
<b>Zeytinyığı</b>	180,598	202,121	120,582	67,688	124,188	97,558
<b>Tereyığı</b>	218,654	152,466	117,985	78,754	125,965	166,616

## 5. TARTIŞMA

Obezite ve diyabet gibi metabolik hastalıkların sonrasında gelişen ateroskleroz ve kalp damar hastalıklarının yayılması, besinsel yağ tüketimindeki artış gibi beslenme alışkanlıklarındaki önemli değişikliklerle ilişkilendirilmektedir. Enerji homeostazında meydana gelen bu bozulmanın temelleri geniş biçimde analiz edilmesine rağmen, bu süreçte görev alan ince bağırsağın etkisi çok az dikkate alınmaktadır. Besinlerin sindirim ürünleri ile ilk olarak karşılaşan organ olan ince bağırsak, besinsel lipidlerin emilimi, metabolizması ve transfer edilmesi işlemlerini aktif bir şekilde kontrol ettiğinden dolayı, lipid ve lipoprotein metabolizması ile ilişkili patolojilerin ortaya çıkmasına da katkıda bulunabilir (31). Beslenme alışkanlıklarındaki değişimler, ateroskleroz ve kalp damar hastalıkları için risk faktörü olan metabolik hastalıkların artışı ile sonuçlanmaktadır. Açlık hiperlipidemisi olmayan insanlarda bile, bu patolojilerin gelişiminin uzamış postprandial hiperlipidemi ile ilişkili olduğu ifade edilmektedir (176). Besinsel yağların sindirilmesi ve emilmesini takiben ortaya çıkan metabolik durum olan postprandial hiperlipidemi, yeme sıklığına bağlı olarak bazı bireylerde günlük yaklaşık olarak 18 saatlik bir zaman dilimini kapsayabilmektedir. İnce bağırsakta şilomikronların sentezlenme hızı postprandial hiperlipidemisinin büyüklüğünü ve süresini etkileyen önemli faktörlerden birisidir (4).

Lipoprotein üretimi ve katabolizması arasındaki denge ile dar bir aralıkta tutulan plazma lipid seviyeleri sirkadyen ritim göstermektedir (34). Çeşitli davranışsal, biyolojik ve biyokimyasal aktivitelerin sirkadyen ritim göstermesindeki en önemli faktör gün ışığı olmakla beraber, bir diğer önemli faktör ise besin varlığıdır (172). Gün ışığı ile yürütülen sirkadyen ritim ile uyumsuz olarak gerçekleşen besin tüketimi, ince bağırsak gibi periferel dokularda sirkadyen ritmi kontrol eden saat genlerinin ifadesini SCN' tan bağımsız olarak ciddi şekilde değiştirmektedir (171). Şilomikron sentezinde kritik görevler üstlenen ApoB-48, ApoA-IV ve MTP' in gen ifade seviyeleri de sirkadyen ritme bağlı olarak değiştiğinden dolayı, ince bağırsakta sirkadyen ritmin sürdürülmesinde besinlerin tüketilme zamanlarının etkisi önem kazanmaktadır (34, 178).

ApoB-48, ApoA-IV ve MTP' nin ince bağırsaktaki gen ifade seviyelerinin sirkadyen ritmi, hem gün ışığı varlığı ile SCN' ta yürütülen merkezi sirkadyen saat genlerinin periferdeki dokuları kontrol etmesi ile hem de ince bağırsaktaki sirkadyen saat genlerinin besinlerin tüketilme zamanına bağlı olarak düzenlenmesi ile kontrol edilmektedir (179). Merkezi ve periferel sirkadyen ritme ek olarak, bu üç proteinin gen ifade seviyelerinin, farklı zincir uzunluğu ve doymamışlık derecesine sahip yağ asitleri ile aktivitesi değişebilen bir transkripsiyon faktörü olan HNF-4 $\alpha$ ' nın promotör bölgelerine bağlanması ile de ayarlanabileceği düşünülmektedir (154, 180).

Bu çalışmada, farklı yağ asidi kompozisyonlarına sahip besinsel yağların günün farklı zaman dilimleri içerisinde akut olarak tüketilmesinin şilomikron sentezi ve postprandial hiperlipidemiye etkilerinin karşılaştırılması hedeflendi. Bu amaçla,  $\omega$ -3 ÇDYA yönünden zengin bir besinsel yağ olan balıkyacağı, TDYA yönünden zengin bir besinsel yağ olan zeytinyağı ile DYA yönünden zengin bir besinsel yağ olan tereyağının, sirkadyen ritmin aktif ve pasif fazlarındaki toplam dört uygulama zamanındaki etkisi karşılaştırıldı.

Memelilerde sirkadyen ritim hem besin alımı ile hem de ışık ile düzenlenmektedir. Deneysel planımızda, gavaj yolu ile verilen yağların sindirim ve emilimlerinin artırılmasını sağlamak amacıyla, besinsel yağ uygulamalarından 10 saat önce ratlar aç bırakıldı. Ancak, besin verilme zamanlarının standart prosedürün dışına çıkarılmasının bazı periferel dokularda faz kaymalarına sebep olduğu iyi bilinmektedir (160, 181). Hayvanlar yeni beslenme düzenine ancak birkaç gün sonra adapte olduklarından (182, 183) çalışmamızda tek seferde yapılan besinsel yağ uygulamaları öncesinde aç bırakılma işleminin faz değişikliklerine neden olması düşünülemez. Bu sebeplerle, ölçülen parametrelerdeki değişimler sadece verilen yağların yağ asidi kompozisyonlarına ve uygulama zamanlarına bağlıdır.

Çalışmada kullanılan ratlar insanlardan farklı olarak, geceleri aktif periyotta iken gündüzleri ise pasif periyotta yer almaktadır. Besinsel yağların akut olarak tüketimi sonucunda, genel olarak her yağın aktif periyotta iken neden olduğu postprandial TAG cevap, pasif periyotta göre anlamlı derecede yüksek bulundu. Sirkadyen ritim gösteren plazma TAG seviyeleri insanlarda gündüz, kemirgenlerde ise gece daha yüksek seviyelerde seyretmektedir (34). Sirkadyen ritmin

sürdürülmesinde anahtar bir göreve sahip olan Clock saat geninin knockout edildiği veya sürekli olarak karanlık ya da aydınlığa maruz bırakılan farelerde TAG seviyelerinde gözlenen sirkadyen ritim ortadan kalkmaktadır (32). Bu durum TAG seviyelerindeki sirkadyen ritmin devam ettirilmesinde karanlık-aydınlık siklusunun önemini göstermektedir. Sirkadyen ritim, TAG seviyeleri üzerine olan etkisini gün ışığına bağlı olarak Clock saat geni aracılığı ile MTP gen ifadesinin düzenlenmesi üzerinden gerçekleştirmektedir (172).

Uygulama zamanları içinde besinsel yağların TAG seviyelerine etkileri değerlendirildiğinde, yüksekte düşüğe doğru zeytinyağı, balıkyağı ve tereyağı şeklinde genel bir profil ortaya çıkmaktadır. Aktif periyodun başlangıç kısmına denk gelen 20:00 uygulaması hariç, zeytinyağı grubundaki TAG seviyeleri 02:00 ve 08:00 uygulamalarında tereyağına, 14:00 uygulamasında ise her iki yağa göre anlamlı derecede yüksek bulundu. Zeytinyağı grubunda yüksek TAG seviyeleri gözlenmesine rağmen, şilomikron sentezinde görev alan ApoB-48, ApoA-IV ve MTP' in gen ifadelerinde balıkyağı ve tereyağına göre, bu sonuca paralel bir artış gözlenmemektedir. Ancak, pasif fazın ortasına denk gelen 14:00 uygulaması dışında diğer uygulama zamanlarında istatistiksel olarak anlamlı yükseliş gözlenmemesine rağmen, balıkyağı ve tereyağına göre bütün uygulama zamanlarında zeytinyağı daha yüksek MTP aktivitesine neden oldu. Şilomikron sentezinde ApoB-48, ApoA-IV ve MTP' in gen ifadelerine ek olarak, MTP aktivitesi de belirleyici bir parametredir (14). Şilomikronların oluşumu sırasında, ApoB-48' e MTP tarafından TAG moleküllerinin transfer edilmesi büyük ölçüde mevcut durumdaki yağ asitlerinin yapısına bağlıdır (7). Van Greevenbroek ve arkadaşları zeytinyağının başlıca yağ asidi bileşeni olan oleik asidin, MTP tarafından lipoproteinlere daha etkin bir şekilde transfer edildiğini göstermiştir (53). Bu durum, diğer yağ gruplarına göre zeytinyağı grubunda daha yüksek TAG seviyeleri gözlenmesinin sebebi olabilir.

Balıkyağının akut uygulamasının postprandial hiperlipidemiye yansımaları zeytinyağından daha düşük gözlenmesine rağmen, MTP ve HNF-4 $\alpha$  gen ifadeleri balıkyağı grubunda daha yüksek gözlenmektedir. Bu durumun, balıkyağının başlıca yağ asidi bileşenleri olan EPA ve DHA' nın lipoprotein metabolizması üzerindeki etkisi ile ortaya çıkabileceği düşünülmektedir. Yağ asitleri sadece hücrelerin enerji



kaynağı ve yapısal bileşeni olarak değil, aynı zamanda çeşitli nükleer reseptörler ve transkripsiyon faktörleri aracılığıyla gen ifadelerini etkileyerek hücre fonksiyonlarını düzenleyen moleküller olarak da önemli roller oynarlar (184). EPA ve DHA, yağ asidi sentezini kontrol eden proteinlere ait genlerin transkripsiyonu baskılayarak, yağ asidi oksidasyonunda görevli olan enzimlerin gen ifadesini indükleyerek gösterdiği hipolipidemik etkisini PPAR- $\alpha$  aracılığı ile gerçekleştirmektedir (185). Ayrıca,  $\omega$ -3 yağ asitlerinin LPL aktivitesini artırması ve ApoC-III konsantrasyonlarını azaltması, postprandial TAG seviyelerinin yüksek gen ifadesine rağmen neden düşük olduğunu gösterebilir (57).

Bütün uygulama zamanlarında en düşük postprandial TAG seviyelerinin gözleendiği tereyağı grubunda genel olarak, hem gen ifadeleri hem de MTP aktivitesi TAG seviyelerindeki sonuçlar gibi zeytinyağı ve balıkyağı gruplarına göre daha düşük gözleendi. Yağ asitlerinin enterosit içerisine alındıktan sonra tekrar sentez yolağına girmesi besinsel yağ asitleri arasındaki farklılığa dikkat çekmektedir (46). Uzun zincirli doymuş yağ asitleri ile karşılaştırıldığında, oleik ve linoleik asit varlığında enterositin bazolateral kısmından salınan TAG yönünden zengin lipoproteinlerin miktarında iki katlık bir artış gözlenmektedir (53). Doymuş ve doymamış uzun zincirli yağ asitlerinin tersine, kısa ve orta zincirli DYA şilomikron sentezine girmeden portal ven yoluyla dolaşıma geçmektedir. Tereyağı içerisinde yer alan yağ asitlerinin yaklaşık %20 gibi bir kısmını oluşturan kısa ve orta zincirli DYA, postprandial TAG seviyelerindeki azalma ile ilişkili olabilir (46).

Gen ifade seviyeleri değerlendirildiğinde, en yüksek seviyelerin gözleendiği balıkyağı grubunu takiben zeytinyağı ve tereyağı grubu şeklinde genel bir sıralama ortaya çıkmaktadır. Yüksek seviyeler gözlenmesine rağmen, sadece pasif fazın ortasındaki uygulamada MTP ve HNF-4 $\alpha$  için anlamlı yükselmeler bulundu. Bu farklılığın besin bekleme aktivitesi (FAA: food anticipatory activity) ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Organizma besin varlığı ile yürütülen ritmik dalgalanmaların kontrolü altında olan endojen sirkadyen zaman sistemini kullanarak besinlerin varlığını tahmin edebilmektedir. Besin varlığı ile yürütülen ritmik dalgalanmalar, yemek saatinden önce sindirim ve emilim için gerekli olan enzim ve proteinlerin sentez ve sekresyonunu aktive etmektedir (186). Sınırlandırılmış besin

erişimi ile hergün aynı saatte tek öğün yemek düzeni, yemek saatinden 1-3 saat önce hazırlık döneminin başladığını göstermektedir (187). Pasif fazın ortasından itibaren artan besin bekleme aktivitesi ile birlikte besinsel yağların uygulanması gen ifade seviyelerinde artışa neden olabilir. Ancak, gen ifade seviyelerindeki bu artış postprandial TAG seviyelerine aktif fazda yansımaktadır.

Pasif faz ortasında balıkyağı grubunda HNF-4 $\alpha$  gen ifade seviyelerinde gözlenen anlamlı yükseliş, MTP gen ifade seviyelerinde yükselmeye neden olmaktadır. Besinsel yağlarla indüklenen HNF-4 $\alpha$ ' nın hedef geni olan MTP' in ifadesindeki artış,  $\omega$ -3 yağ asitlerinin hipolipidemik etkisi sebebiyle TAG seviyelerine etkisini göstermediği düşünülebilir (57, 185).

Pasif faz ortasında gen ifade seviyelerinde bulunan anlamlı yükselmelere benzer şekilde, MTP aktivitesi de bu zaman diliminde zeytinyağı grubunda anlamlı derecede yüksek bulundu. Zeytinyağının MTP aktivitesi üzerine etkisi diğer zaman dilimlerinde de yüksek olmasına rağmen, FAA sonucu olarak pasif faz ortasında istatistiksel olarak daha yüksek seviyelerde gözlenmesini açıklayabilir (186, 187).

10 hafta süreyle yüksek yağlı besin ile beslenen farelerde ölçülen metabolitlerin %77' si diyete, % 45' i ise zamana bağlı değişim gösterdi. Metabolitlerin % 43' ü hem yağlı hem normal beslenme, % 30' u normal beslenme, % 38' i ise yalnızca yüksek yağlı beslenme sonucunda osilasyon göstermektedir. Bununla birlikte, yüksek yağ diyeti sirkadyen ritme bağlı osilasyon gösteren transkript ve metabolitleri normal düzeninin dışına çıkarabilmektedir. Yüksek yağlı diyet metabolitlerin veya transkriptlerin osilasyon düzenini etkilerken ya mevcut osilasyonlarını ortadan kaldırmakta, ya faz değişimlerine neden olmakta ya da osilasyonda düzensizliklere sebep olmaktadır (188). Bu nedenle, zeytinyağı grubunda MTP aktivitesi, balıkyağı grubunda MTP ve HNF-4 $\alpha$  gen ifadesinde diğer besinsel yağlara göre anlamlı yükselişlerin sadece pasif ortası fazda (14:00) ortaya çıkması, besinsel yağlar ile sirkadyen ritim etkileşiminin farklı sonuçlara neden olabileceğini göstermektedir.

Farklı yağ asidi kompozisyonlarına sahip besinsel yağların, pasif ve aktif fazın başlangıç zamanlarına denk gelen 08:00 ve 20:00 uygulamalarının postprandial

periyodun 1, 2 ve 4. saatlerinde TAG seviyelerine etkileri değerlendirildiğinde, yüksekten düşüğe doğru zeytinyağı, balıkyağı ve tereyağı şeklinde genel bir sıralama ortaya çıkmaktadır. Pasif ve aktif fazlar birbirleri ile karşılaştırıldığında ise, besinsel yağların TAG seviyelerine etki sırası değişmemesine rağmen, aktif periyottaki seviyelerin pasif periyottaki seviyelere göre daha yüksek olduğu dikkat çekmektedir. Bu durum, çalışmanın şilomikron sentezinin değerlendirildiği kısımdaki TAG verileri ile örtüştüğü görülmektedir. Pasif ve aktif fazlar arasında ortaya çıkan bu farklılığın, aydınlık-karanlık siklusu ile senkronize bir şekilde etkileşim seviyeleri değişen Clock-SHP aracılığı ile MTP gen ifade düzeylerinin ayarlanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (32).

Aktif ve pasif fazın başında besinsel yağlar ile birlikte verilen retinil palmitatın postprandial periyodun 1, 2 ve 4. saatlerinde dolaşıma geçen miktarlarında da TAG sonuçlarına benzer şekilde zeytinyağı grubundaki seviyeler yüksek bulunurken, balıkyağı ve tereyağı grupları arasında net bir sıralama görülmemektedir. Besinsel yağlar ile birlikte verilmesinden sonra, ince bağırsakta enterosit içinde şilomikron yapısına katılan retinil palmitat, şilomikronlar içerisinde dolaşıma geçmektedir (177, 189). Şilomikron yapısında yer alan TAG'lerin LPL aracılığı ile hidroliz edilmesinden sonra oluşan şilomikron remnantların, başlangıçta şilomikron içerisinde paketlenen retinil palmitatın büyük kısmını içerdiği düşünülmektedir (190). Retinil palmitatın dolaşımdan uzaklaştırılması, TAG yönünden zengin lipoproteinlerin klirens hızını yansıtmaktadır (177). Besinsel yağ tüketimini takiben 1 saat içinde, özellikle ilk 30 dk, TAG seviyelerinde gözlenen yükselişin muhtemelen enterosit içerisinde depolanmış lipidlerden ya da bir önceki öğünden dolayı lenfte yer alan şilomikronlardan kaynaklandığı öne sürülmektedir (191). Ağırlıklı olarak test öğünlerinde yer alan besinsel yağ asitlerinden kaynaklanan TAG, yemekten ancak 1-2 saat sonra gözlenebilmektedir (192). Hem çalışmanın sonlandırıldığı zaman olmasından dolayı hem de besinsel yağların metabolizmaya etkilerinin daha sağlıklı olarak belirlenebilmesi için, 4. saatteki TAG/retinil palmitat verilerinin değerlendirilmesinin önemli olduğu düşünülmektedir. Aktif ve pasif faz verilerine göre, 4. saat sonunda zeytinyağı grubundaki TAG ve retinil palmitat konsantrasyonları diğer yağlara göre yüksek bulunmasına rağmen, TAG/retinil palmitat oranı ile birlikte değerlendirildiğinde

zeytinyağı gruplarındaki oranların beklenenin aksine daha düşük olduğu görülmüştür. Aktif faz verilerinde daha belirgin bir şekilde ortaya çıkan bu durum, zeytinyağı grubunda postprandial lipoprotein metabolizmasının sentez ve klirens açısından diğer yağlara göre daha hızlı bir şekilde gerçekleştiğini işaret edebilir (193).

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ateroskleroza bağlı gelişen koroner kalp hastalıkları tüm dünyadaki ölüm nedenleri arasında ilk sırada yer almaktadır. Aterosklerozun gelişiminde okside LDL' in bilinen rolüne ek olarak, postprandial hiperlipidemi de artık bir risk faktörü olarak değerlendirilmektedir. İnsanların yemek sıklığına bağlı olarak, günün 18 saatlik büyük kısmını postprandial periyotta geçirmesi postprandial hiperlipidemi-ateroskleroz ilişkisine dikkat çekmektedir.

Postprandial hiperlipideminin ortaya çıkmasına katkıda bulunan şilomikronların sentezi, hem besinsel yağlarla hem de sirkadyen ritme bağlı olarak düzenlenebilmektedir. Bu nedenle, çalışmada akut olarak uygulanan farklı yağ asidi kompozisyonuna sahip besinsel yağların ve sirkadyen ritmin birlikte gösterdikleri etkinin, şilomikron sentezi ve postprandial hiperlipidemiye yansımaları değerlendirildi.

Besinsel yağların TAG seviyelerine etkisi yüksekten düşüğe doğru zeytinyağı, balıkyağı ve tereyağı şeklindeki sırası aktif ve pasif fazda aynı olmasına karşın, aktif fazdaki seviyeler pasif faza göre daha yüksek gözlemlendi. Zeytinyağının TAG seviyeleri üzerindeki etkisinin diğer yağlara göre daha yüksek bulunan MTP aktivitesi ile ilgili olduğu düşünülebilir. MTP ve HNF-4 $\alpha$  gen ifadeleri balıkyağında daha yüksek bulunmasına rağmen,  $\omega$ -3 yağ asitlerinin hipolipidemik etkileri nedeniyle TAG seviyelerinin zeytinyağına göre daha düşük bulunmasını açıklayabilir. Zeytinyağı grubunda MTP aktivitesi, balıkyağı grubunda ise MTP ve HNF-4 $\alpha$  gen ifadesi seviyelerinin pasif faz ortasında diğer besinsel yağ gruplarına göre anlamlı yükselişler göstermesi, farklı yağ asidi kompozisyonuna sahip besinsel yağların sirkadyen ritim ile etkileşiminin farklı sonuçlar oluşturabileceğine işaret etmektedir.

Zeytinyağı grubunda gözlenen yüksek TAG seviyeleri ile retinil palmitat verileri birlikte değerlendirildiğinde, zeytinyağının TAG seviyelerinin artmasına sağladığı katkıyı, dolaşımdan uzaklaştırılmasında da gösterdiği söylenebilir.

Çalışmanın sonuçlarına göre, postprandial hiperlipideminin ortaya çıkmasına etki eden besinsel yağların miktarı ve yağ asidi kompozisyonu gibi faktörlere ek olarak tüketim zamanı da besinsel yağların aterojenik özelliklerinin belirlenmesinde önemli bir etken olabilir.

## KAYNAKLAR

1. Braunwald, E. (1997). Shattuck lecture-Cardiovascular medicine at the turn of the millennium: triumphs, concerns and opportunities. *N Eng J Med*, 337, 1360-1369.
2. Roger, V. L., Go, A. S., Lloyd-Jones, D. M., Benjamin, E. J., Berry, J. D., Borden, W. B., Bravata, D. M., Dai, S., Ford, E. S., Fox, C. S., Fullerton, H. J., Gillespie, C., Hailpern, S. M., Heit, J. A., Howard, V. J., Kissela, B. M., Kittner, S. J., Lackland, D. T., Lichtman, J. H., Lisabeth, L. D., Makuc, D. M., Marcus, G. M., Marelli, A., Matchar, D. B., Moy, C. S., Mozaffarian, D., Mussolino, M. E., Nichol, G., Paynter, N. P., Soliman, E. S., Sorlie, P. D., Sotoodehnia, N., Turan, T. N., Virani, S. S., Wong, N. D., Woo, D., Turner, M. B. (2012). Heart disease and stroke statistics-2012 update. *Circulation*, 125, e2-e220.
3. Zilversmit, D. B. (1997). Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation*, 60, 473-485.
4. Jackson, K., G., Poppitt, S. D., Minihane, A. M. (2012). Postprandial lipemia and cardiovascular disease risk: Interrelationships between dietary, physiological and genetic determinants. *Atherosclerosis*, 220, 22-33.
5. Alipour, A., Elte, J. W. F., van Zaanen H. C. T., Rietveld, A. P., Castro Cabezas, M. (2008). Novel aspect of postprandial lipemia in relation to atherosclerosis. *Atheroscler Suppl*, 9, 39-44.
6. O'Keefe, J. H., Bell, D. S. H. (2007). Postprandial hyperglycemia/hyperlipidemia (postprandial dysmetabolism) is a cardiovascular risk factor. *Am J Cardiol*, 100, 899-904.
7. Perez-Martinez, P., Ordovas, J. M., Garcia-Rios, A., Delgado-Lista, J., Delgado-Casado, N., Cruz-Teno, C., Camargo, A., Yubero-Serrano, E. M., Rodriguez, F., Perez-Jimenez, F., Lopez-Miranda, F. (2011). Consumption of diets with different type of fat influences triacylglycerols-rich lipoproteins particle number and size during the postprandial state. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 21, 39-45.

8. Lopez-Miranda, J., Williams, C., Lairon, D. (2007). Dietary, physiological, genetic and pathological influences on postprandial lipid metabolism. *Br J Nutr*, 98, 458-473.
9. Lairon, D., Defoort, C. (2011). Effects of nutrients on postprandial lipemia. *Curr Vasc Pharmacol*, 9, 309-312.
10. Lairon, D. (2008). Macronutrient intake and modulation on chylomicron production and clearance. *Atheroscler Suppl*, 9, 45-48.
11. Lairon, D., Lopez-Miranda, J., Williams, C. (2007). Methodology for studying postprandial lipid metabolism. *Eur J Clin Nutr*, 61, 1145-1161.
12. Bravo, E., Napolitano, M., Botham, K. M. (2010). Postprandial lipid metabolism: the missing link between life-style habits and the increasing incidence of metabolic diseases in western countries? *Open Trans Med J*, 2, 1-13.
13. Klop, B., Proctor, S., Mamo, J. C. L., Botham, K. M., Castro Cabezas, M. (2012). Understanding postprandial inflammation and its relationship to lifestyle behaviour and metabolic disease. *Int J Vasc Med*, 2012, 947417.
14. Pan, X., Hussain, M. M. (2012). Gut triglyceride production. *Biochim Biophys Acta*, 1821, 727-735.
15. Hussain, M. M., Sumbul, F., Pan, X., Iqbal, J. (2005). Intestinal lipoprotein assembly. *Curr Opin Lipidol*, 16(3), 281-285.
16. Mansbach II, C. M., Gorelick, F. (2007). Development and physiological regulation of intestinal lipid absorption. II. Dietary lipid absorption, complex lipid synthesis, and the intracellular packaging and secretion of chylomicrons. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 293, G645-G650.
17. Mansbach, C. M., Siddiqi, S. A. (2010). The biogenesis of chylomicrons. *Annu Rev Physiol*, 72, 315-333.
18. Black, D. D. (2007). Development and physiological regulation of intestinal lipid absorption. I. Development of intestinal lipid absorption: cellular events in chylomicron assembly and secretion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 293, G519-G524.

19. Steinmetz, A., Utermann, G. (1985). Activation of lecithin-cholesterol acyltransferase by human apolipoprotein A-IV. *J Biol Chem*, 260, 2258-2264.
20. Goldberg, I. J., Scheraldi, C. A., Yacoub, L. K., Saxena, U., Bisgaier, C. L. (1990). Lipoprotein apoC-II activation of lipoprotein lipase. Modulation by apolipoprotein A-IV. *J Biol Chem*, 265, 4266-4272.
21. Weinberg, R. B., Anderson, R. A., Cook, V. R., Emmanuel, F., Deneffe, P., Tall, A. R., Steinmetz, A. (2002). Interfacial exclusion pressure determines the ability of apolipoprotein A-IV truncation mutants to activate cholesterol ester transfer protein. *J Biol Chem*, 277, 21549-21553.
22. Bielicki, J. K., Johnson, W. J., Weinberg, R. B., Glick, J. M., Rothblat, G. H. (1992). Efflux of lipid from fibroblasts to apolipoproteins: dependence on elevated levels of cellular unesterified cholesterol. *J Lipid Res*, 33, 1699-1709.
23. Qin, X., Swertfeger, D. K., Zheng, S., Hui, D. Y., Tso, P. (1998). Apolipoprotein AIV: a potent endogenous inhibitor of lipid oxidation. *Am J Physiol*, 274, H1836-H1840.
24. Recalde, D. M., Ostos, M. A., Badell, E., Garcia-Otin, A. L., Pidoux, J., Castro, G., Zakin, M. M., Scott-Algara, D. (2004). Human apolipoprotein A-IV reduces secretion of proinflammatory cytokines and atherosclerotic effects of a chronic infection mimicked by lipopolysaccharide. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 24, 756-761.
25. Lu, S., Yao, Y., Cheng, X., Mitchell, S., Leng, S., Meng, S., Gallagher, J. W., Shelness, G. S., Morris, G. S., Mahan, J., Frase, S., Mansbach, C. M., Weinberg, R. B., Black, D., D. (2006). Overexpression of apolipoprotein A-IV enhances lipid secretion in IPEC-1 cells by increasing chylomicron size. *J Biol Chem*, 281, 3473-3483.
26. Yao, Y., Lu, S., Huang, Y., Beeman-Black, C. C., Lu, R., Pan, X., Hussain, M. M., Black, D. D. (2011). Regulation of microsomal triglyceride transfer protein by apolipoprotein A-IV in newborn swine intestinal epithelial cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 300(2), G357-G363.



27. Shelness, G. S., Sellers, J. A. (2001). Very-low-density lipoprotein assembly and secretion. *Curr Opin Lipidol*, 12, 151-157.
28. Bennett, A. J., Billett, M. A., Salter, A. M., White, D. A. (1995). Regulation of hamster hepatic microsomal triglyceride transfer protein mRNA levels by dietary fats. *Biochem Biophys Res Commun*, 212, 473-478.
29. Sheena, V., Hertz, R., Nousbeck, J., Berman, I., Magenheim, J., Bar-Tana, J. (2005). Transcriptional regulation of human microsomal triglyceride transfer protein by hepatocyte nuclear factor-4 $\alpha$ . *J Lipid Res*, 46, 328-341.
30. Marcil, V., Seidman, E., Sinnett, D., Boudreau, F., Gendron, F., Beaulieu, J., Menard, D., Precourt, L., Amre, D., Levy, E. (2010). Modification of oxidative stress, inflammation and lipoprotein assembly in response to hepatocyte nuclear factor 4 $\alpha$  knockdown in intestinal epithelial cells. *J Biol Chem*, 285(52), 40448-40460.
31. Beaslas, O., Torreilles, F., Casellas, P., Simon, D., Fabre, G., Lacasa, M., Delers, F., Chambaz, J., Rousset, M., Carriere, V. (2008). Transcriptome response of enterocytes to dietary lipids: impact on cell architecture, signaling, and metabolism genes. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 295, G942-G952.
32. Pan, X., Zhang, Y., Wang, L., Hussain, M. M. (2010). Diurnal regulation of MTP and plasma triglyceride by CLOCK is mediated by SHP. *Cell Metab*, 12, 174-186.
33. Pan, X., Hussain, M. M. (2009). Clock is important for food and circadian regulation of macronutrient absorption in mice. *J Lipid Res*, 50, 1800-1813.
34. Pan, X., Hussain, M. M. (2007). Diurnal regulation of microsomal triglyceride transfer protein and plasma lipid levels. *J Biol Chem*, 282(34), 24707-24719.
35. Hussain, M. M., Pan, X. (2009). Clock genes, intestinal transport and plasma lipid homeostasis. *Trends Endocrin Met*, 20(4), 177-185.
36. Albertini, R., Moratti, R., DeLuca, G. (2002). Oxidation of low-density lipoprotein in atherosclerosis from basic biochemistry to clinical studies. *Curr Mol Med*, 2, 579-592.

37. Libby, P., Ridker, P. M., Hansson, G. K. (2011). Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature*, 473, 317-325.
38. Mora, S., Rifai, N., Buring, J. E., Ridker, P. M. (2008). Fasting compared with nonfasting lipids and apolipoproteins for predicting incident cardiovascular events. *Circulation*, 118, 993-1001.
39. De Pascale, C., Avella, M., Perona, J. S., Ruiz-Gutierrez, V., Wheeler-Jones, C. P. D., Botham, K. M. (2006). Fatty acid composition of chylomicron remnant-like particles influences their uptake and induction of lipid accumulation in macrophages. *Febs J*, 273, 5632-5640.
40. Dubois, C., Beaumier, G., Juhel, C., Armand, M., Portugal, H., Pauli, A. M., Borel, P., Latge, C., Lairon, D. (1998). Effects of graded amounts (0-50 g) of dietary fat on postprandial lipemia and lipoproteins in normolipidemic adults. *Am J Clin Nutr*, 67, 31-38.
41. Botham, K. M., Wheeler-Jones, C. P. D. (2013). Postprandial lipoproteins and the molecular regulations of vascular homeostasis. *Prog Lipid Res*, 52, 446-464.
42. Murphy, M. C., Isherwood, S. G., Sethi, S., Gould, B. J., Wright, J. W., Knapper, J. A., Williams, C. M. (1995). Postprandial lipid and hormone responses to meals of varying fat contents: modulatory role of lipoprotein lipase? *Eur J Clin Nutr*, 49, 578-588.
43. Cohen, J. C., Noakes, T. D., Benade, A. J. (1988). Serum triglyceride responses to fatty meals: effect of meal content. *Am J Clin Nutr*, 47, 825-827.
44. Roche, H. M., Zampelas, A., Jackson, K. G., Williams, C. M., Gibney, M. J. (1998). The effect of test meal monounsaturated fatty acid: saturated fatty acid ratio on postprandial lipid metabolism. *Br J Nutr*, 79, 419-424.
45. Thomsen, C., Rasmussen, O., Lousen, T., Holst, J. J., Fenselau, S., Schrezenmeir, J., Hermansen, K. (1999). Differential effects of saturated and monounsaturated fatty acids on postprandial lipemia and incretin responses in healthy subjects. *Am J Clin Nutr*, 69, 1135-1143.
46. Mekki, N., Charbonnier, M., Borel, P., Leonardi, J., Juhel, C., Portugal, H., Lairon, D. (2002). Butter differs from olive oil and sunflower oil in its effect

on postprandial lipemia and triacylglycerol-rich lipoproteins after single mixed meals in healthy young men. *J Nutr*, 132, 3642-3649.

47. U.S. Department of Agriculture and U.S. Department Health and Human Services. (2011). *Dietary Guidelines for Americans*. Gardiner, Maine: Northern House Media.
48. Wang, T. Y., Liu, M., Portincasa, P., Wang, D. Q. H. (2013). New insights into the molecular mechanism of intestinal fatty acid absorption. *Eur J Clin Invest*, 43(11), 1203-1223.
49. Tvrzicka, E., Kremmyda, L. S., Stankova, B., Zak, A. (2011). Fatty acids as biocompounds: their role in human metabolism, health and disease - a review. Part 1: classification, dietary sources and biological functions. *Biomed Pap Med Pac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 155(2), 117-130.
50. U.S. Department of Agriculture Agricultural Research Service. (2010). USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 23. Nutrient Data Laboratory Home Page. Erişim: 6 Ekim 2014, <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl>
51. The Medical Biochemistry Page. Erişim: 7 Mayıs 2014, <http://www.themedicalbiochemistrypage.org/lipids.php>
52. Silva, K. D. R. R., Kelly, C. N. M., Jones, A. E., Smith, R. D., Wootton, S. A., Miller, G. J., Williams, C. M. (2003). Chylomicron particle size and number, factor VII activation and dietary monounsaturated fatty acids. *Atherosclerosis*, 166, 73-84.
53. Van Greevenbroek, M. M., van Meer, G., Erkelens, D. W., de Bruin, T. W. (1996). Effects of saturated, mono- and polyunsaturated fatty acids on the secretion of apo B containing lipoproteins by Caco-2 cells. *Atherosclerosis*, 121, 139-150.
54. Tholstrup, T., Sandstrom, B., Bysted, A., Holmer, G. (2001). Effect of 6 dietary fatty acids on postprandial lipid profile, plasma fatty acids, lipoprotein lipase, and cholesterol ester transfer activities in healthy young men. *Am J Clin Nutr*, 73, 198-208.

55. Burdge, G. C., Powell, J., Dadd, T., Talbot, D., Civil, J., Calder, P. C. (2009). Acute consumption of fish oil improves postprandial VLDL profiles in healthy men aged 50-65 years. *Br J Nutr*, 102, 160-165.
56. Calder, P. C., Yaquob, P. (2009). Omega-3 polyunsaturated fatty acids and human health outcomes. *Biofactors*, 35, 266-272.
57. Calder, P. C., Yaquob, P. (2010). Omega-3 (n-3) fatty acids, cardiovascular disease and stability of atherosclerotic plaques. *Cell Mol Biol*, 56, 28-37.
58. Zampelas, A., Peel, A. S., Gould, B. J., Wright, J., Williams, C. M. (1994). Polyunsaturated fatty acids of the n-6 and n-3 series: effects on postprandial lipid and apolipoprotein levels in healthy men. *Eur J Clin Nutr*, 48, 842-848.
59. Williams, C. M., Moore, F., Morgan, L., Wright, J. (1992). Effects of n-3 fatty acids on postprandial triacylglycerol and hormone concentrations in normal subjects. *Br J Nutr*, 68, 655-666.
60. Westphal, S., Orth, M., Ambrosch, A., Osmundsen, K., Luley, C. (2000). Postprandial chylomicrons and VLDLs in severe hypertriacylglycerolemia are lowered more effectively than are chylomicron remnants after treatment with n-3 fatty acids. *Am J Clin Nutr*, 71, 914-920.
61. Park, Y., Harris, W. S. (2003). Omega-3 fatty acid supplementation accelerates chylomicron triglyceride clearance. *J Lipid Res*, 44, 455-463.
62. Dubois, C., Armand, M., Mekki, N., Portugal, H., Pauli, A. M., Bernard, P. M., Lafont, H., Lairon, D. (1994). Effects of increasing amounts of cholesterol on postprandial lipemia and lipoproteins in human subjects. *J Lipid Res*, 35, 1993-2007.
63. Beaumier-Gallon, G., Dubois, C., Senft, M., Vergnes, M. F., Pauli, A. M., Portugal, H., Lairon, D. (2001). Dietary cholesterol is secreted in intestinally derived chylomicrons during several subsequent postprandial phases in healthy humans. *Am J Clin Nutr*, 73, 870-877.
64. Lairon, D., Play, B., Jourdeuil-Rahmani, D. (2007). Digestible and indigestible carbohydrates: interactions with postprandial lipid metabolism. *J Nutr Biochem*, 18, 217-227.

65. Cohen, C. J., Berger, G. M. (1990). Effects of glucose ingestion on postprandial lipemia and triglyceride clearance in humans. *J Lipid Res*, 31, 597-602.
66. Grant, K. I., Marais, M. P., Dhansay, M. A. (1994). Sucrose in a lipid-rich meal amplifies the postprandial excursion of serum and lipoprotein triglyceride and cholesterol concentrations by decreasing triglyceride clearance. *Am J Clin Nutr*, 59, 853-860.
67. Harbis, A., Defoort, C., Narbonne, H., Juhel, C., Senft, M., Latge, C., Delenne, B., Portugal, H., Atlan-Gepner, C., Vialettes, B., Lairon, D. (2001). Acute hyperinsulinism modulates plasma apolipoprotein B-48 triglyceride-rich lipoproteins in healthy subjects during the postprandial period. *Diabetes*, 50, 462-469.
68. Harbis, A., Perdreau, S., Vincent-Baudry, S., Charbonnier, M., Bernard, M. C., Raccach, D., Senft, M., Lorec, A. M., Defoort, C., Portugal, H., Vinoy, S., Lang, V., Lairon, D. (2004). Glycemic and insulinemic meal responses modulate postprandial hepatic and intestinal lipoprotein accumulation in obese, insulin-resistant subjects. *Am J Clin Nutr*, 80, 896-902.
69. Mamo, J. C. L., James, A. P., Soares, M. J., Griffiths, D. G., Purcell, K., Schwenke, J. L. (2005). A low-protein diet exacerbates postprandial chylomicron concentration in moderately dyslipidaemic subjects in comparison to a lean red meat protein-enriched diet. *Eur J Clin Nutr*, 59, 1142-1148.
70. Mortensen, L. S., Hartvigsen, M. L., Brader, L. J., Astrup, A., Schrezenmeir, J., Holst, J. J., Thomsen, C., Hermansen, K. (2009). Differential effects of protein quality on postprandial lipemia in response to a fat-rich meal in type 2 diabetes: comparison of whey, casein, gluten, and cod protein. *Am J Clin Nutr*, 90, 41-48.
71. Cara, L., Dubois, C., Borel, P., Armand, M., Senft, M., Portugal, H., Pauli, A. M., Bernard, P. M., Lairon, D. (1992). Effects of oat bran, rice bran, wheat fiber and wheat germ on postprandial lipemia in healthy adults. *Am J Clin Nutr*, 55, 81-88.

72. Lia, A., Andersson, H., Mekki, N., Juhel, C., Senft, M., Lairon, D. (1997). Postprandial lipemia in relation to sterol and fat excretion in ileostomy subjects given oat bran and wheat test meals. *Am J Clin Nutr*, 66, 357-365.
73. Pirillo, A., Norata, G. D., Catapano, A. L. (2014). Postprandial lipemia as a cardiometabolic risk factor. *Curr Med Res Opin*, 1-15.
74. Tsetsonis, N. V., Hardman, A. E. (1996). Reduction in postprandial lipemia after walking: influence of exercise intensity. *Med Sci Sports Exerc*, 28, 1235-1242.
75. Gill, J. M., Mees, G. P., Frayn, K. N., Hardman, A. E. (2001). Moderate exercise, postprandial lipemia and triacylglycerol clearance. *Eur J Clin Invest*, 31, 201-207.
76. Axelsen, M., Eliasson, B., Joheim, E., Lenner, R. A., Taskinen, M. R., Smith, U. (1995). Lipid intolerance in smokers. *J Intern Med*, 237, 449-455.
77. Mero, N., Syvanne, M., Eliasson, B., Smith, U., Taskinen, M. R. (1997). Postprandial elevation of ApoB-48-containing triglyceride-rich particles and retinyl esters in normolipidemic males who smoke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 17, 2096-2102.
78. Sharrett, A. R., Heiss, G., Chambless, L. E., Boerwinkle, E., Coady, S. A., Folsom, A. R., Patsch, W. (2001). Metabolic and lifestyle determinants of postprandial lipemia differ from those of fasting triglycerides: The Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 21, 275-281.
79. Fielding, B. A., Reid, G., Grady, M., Humphreys, S. M., Evans, K., Frayn, K. N. (2000). Ethanol with a mixed meal increases postprandial triacylglycerol but decreases postprandial non-esterified fatty acid concentration. *Br J Nutr*, 83, 597-604.
80. Cohn, J. S., McNamara, J. R., Cohn, S. D., Ordovas, J. M., Schaefer, E. J. (1988). Postprandial plasma lipoprotein changes in human subjects of different ages. *J Lipid Res*, 29, 469-479.
81. Jackson, K. G., Knapper-Francis, J. M., Morgan, L. M., Webb, D. H., Zampelas, A., Williams, C. M. (2003). Exaggerated postprandial lipaemia

and lower post-heparin lipoprotein lipase activity in middle-aged men. *Clin Sci (Lond)*, 105, 457-466.

82. van Beek, A. P., de Ruijter-Heijstek, F. C., Erkelens, D. W., de Bruin, T. W. (1999). Menopause is associated with reduced protection from postprandial lipemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 19, 2737-2741.
83. Lewis, G. F., O'Meara, N. M., Soltys, P. A., Blackman, J. D., Iverius, P. H., Druetzler, A. F., Getz, G. S., Polonsky, K. S. (1990). Postprandial lipoprotein metabolism in normal and obese subjects: comparison after the vitamin A fat-loading test. *J Clin Endocrinol Metab*, 71, 1041-1050.
84. Couillard, C., Bergeron, N., Prud'homme, D., Bergeron, J., Tremblay, A., Bouchard, C., Mauriege, P., Despres, J. P. (1998). Postprandial triglyceride response in visceral obesity in men. *Diabetes*, 47, 953-960.
85. Tushuizen, M. E., Pouwels, P. J., Bontemps, S., Rustemeijer, C., Matikainen, N., Heine, R. J., Taskinen, M. R., Diamant, M. (2010). Postprandial lipid and apolipoprotein responses following three consecutive meals associate with liver fat content in type 2 diabetes and the metabolic syndrome. *Atherosclerosis*, 211(1), 308-314.
86. Ginsberg, H. N., Illingworth D. R. (2001). Postprandial dyslipidemia: an atherogenic disorder common in patients with diabetes mellitus. *Am J Cardiol*, 88(suppl), 9H-15H.
87. Rivellese, A. A., De Natale, C., Di Marino, L., Patti, L., Iovine, C., Coppola, S., Del Prato, S., Riccardi, G., Annuzzi, G. (2004). Exogenous and endogenous postprandial lipid abnormalities in type 2 diabetic patients with optimal blood glucose control and optimal fasting triglyceride levels. *J Clin Endocrinol Metab*, 89(5), 2153-2159.
88. Annuzzi, G., De Natale, C., Iovine, C., Patti, L., Di Marino, L., Coppola, S., Del Prato, S., Riccardi, G., Rivellese, A. A. (2004). Insulin resistance is independently associated with postprandial alterations of triglyceride-rich lipoproteins in type 2 diabetes mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 24, 2397-2402.

89. Lewis, G. F., Steiner, G. (1996). Acute effects of insulin in the control of VLDL production in humans: implications for the insulin-resistant state. *Diabetes Care*, 19(4), 390-393.
90. Sader, M. A., Celermajer, D. S. (2002). Endothelial function, vascular reactivity and gender differences in the cardiovascular system. *Cardiovasc Res*, 53, 597-604.
91. Schachinger, V., Britten, M. B., Zeiher, A. M. (2000). Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation*, 101, 1899-1906.
92. Jackson, K. G., Armah, C. K., Minihane, A. M. (2007). Meal fatty acids and postprandial vascular reactivity. *Biochem Soc Trans*, 35, 451-453.
93. Alipour, A., Valdivielso, P., Elte, J. W. F., Janssen, J. W., Rioja, J., Njo, T. L., Gonzalez-Santos, P., Rietveld, A. P., Castro Cabezas, M. (2010). ApoB48 as a marker of atherosclerosis in patients with familial lipid disorders, type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease. *Atheroscler Suppl*, 11, 68-69.
94. Proctor, S. D., Mamo, J. C. L. (2003). Intimal retention of cholesterol derived from apolipoprotein B100 and apolipoprotein B48-containing lipoproteins in carotid arteries of Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 23, 1595-1600.
95. Dalla-Riva, J., Garonna, E., Elliott, J., Botham, K. M., Wheeler-Jones, C. P. (2010). Endothelial cells as targets for chylomicron remnants. *Atheroscler Suppl*, 11, 31-37.
96. Libby, P., Okamoto, Y., Rocha, V., Folco, E. (2010). Inflammation in atherosclerosis. *Circ J*, 74, 213-220.
97. Margioris, A. N. (2009). Fatty acids and postprandial inflammation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 12, 129-137.
98. Alipour, A., van Oostrom, A. J., Izraeljan, A., Verseyden, C., Collins, J. M., Frayn, K. N., Plokker, T. W. M., Elte, J. W. F., Castro Cabezas, M. (2008). Leukocyte activation by triglyceride-rich lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 28, 792-797.
99. Calder, P. C. (2005). Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Biochem Soc Trans*, 33, 423-427.



100. Chapman, M. J., Le Goff, W., Guerin, M., Kontush, A. (2010). Cholesteryl ester transfer protein: at the heart of the action of lipid-modulating therapy with statins, fibrates, niacin, and cholesteryl ester transfer protein inhibitors. *Eur Heart J*, 31, 149-164.
101. Wang, D. Q. (2007). Regulation of intestinal cholesterol absorption. *Annu Rev Physiol*, 69, 221-248.
102. Glatz, J. F. C., Luiken, J. J. F. P., Bonen, A. (2010). Membrane fatty acid transporters as regulators of lipid metabolism: implications for metabolic disease. *Physiol Rev*, 90, 367-417.
103. Su, X., Abumrad, N. A. (2009). Cellular fatty acid uptake: a pathway under construction. *Trends Endocrinol Metab*, 20(2), 72-77.
104. Stremmel, W., Strohmeyer, G., Borchard, F., Kochwa, S., Berk, P. D. (1985). Isolation and partial characterization of a fatty acid binding protein in rat liver plasma membranes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 82, 4-8.
105. Stremmel, W., Lotz, G., Strohmeyer, G., Berk, P. D. (1985). Identification, isolation, and partial characterization of a fatty acid binding proteins from rat jejunal microvillous membranes. *J Clin Invest*, 75, 1068-1076.
106. Schwieterman, W., Sorrentino, D., Potter, B. J., Rand, J., Kiang, C. L., Stump, D., Berk, P. D. (1988). Uptake of oleate by isolated rat adipocytes is mediated by a 40-kDa plasma membrane fatty acid binding protein closely related to that in liver and gut. *Proc Natl Acad Sci USA*, 85, 359-363.
107. Sorrentino, D., Stump, D., Potter, B. J., Robinson, R. B., White, R., Kiang, C. L., Berk, P. D. (1988). Oleate uptake by cardiac myocytes is carrier mediated and involves a 40-kDa plasma membrane fatty acid binding protein closely related to that in liver, adipose tissue, and gut. *J Clin Invest*, 82, 928-935.
108. Doege, H., Stahl, A. (2006). Protein-mediated fatty acid uptake: novel insights from in vivo models. *Physiology*, 21, 259-268.
109. Stahl, A., Hirsch, D. J., Gimeno, R. E., Punreddy, S., Ge, P., Watson, N., Patel, S., Kotler, M., Raimondi, A., Tartaglia, L. A., Lodish, H. F. (1999). Identification of major intestinal fatty acid transport protein. *Mol Cell*, 4(3), 299-308.

110. Buttet, M., Traynard, V., Tran, T. T. T., Besnard, P., Poirier, H., Niot, I. (2014). From fatty-acid sensing to chylomicron synthesis: role of intestinal lipid-binding proteins. *Biochimie*, 96, 37-47.
111. Hall, A. M., Wiczler, B. M., Herrmann, T., Stremmel, W., Bernlohr, D. A. (2005). Enzymatic properties of purified murine fatty acid transport protein 4 and analysis of acyl-CoA synthetase activities in tissues from FATP4 null mice. *J Biol Chem*, 280, 11948-11954.
112. Ibrahimi, A., Sfeir, Z., Magharaie, H., Amri, E. Z., Grimaldi, P., Abumrad, N. A. (1996). Expression of the CD36 homolog (FAT) in fibroblast cells: effects of fatty acid transport. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93, 2646-2651.
113. Poirier, H., Degrace, P., Niot, I., Bernard, A., Besnard, P. (1996). Localization and regulation of the putative membrane fatty-acid transporter (FAT) in the small intestine – comparison with fatty acid-binding proteins (FABP). *Eur J Biochem*, 238, 368-373.
114. Sukhotnik, I., Gork, A. S., Chen, M., Drongowski, R. A., Coran, A. G., Harmon, C. M. (2001). Effect of low fat diet on lipid absorption and fatty-acid transport following bowel resection. *Pediatr Surg Int*, 17, 259-264.
115. Siddiqi, S., Saleem, U., Abumrad, N. A., Davidson, N. O., Storch, J., Siddiqi, S. A., Mansbach II, C. M. (2010). A novel multiprotein complex is required to generate the prechylomicron transport vesicle from intestinal ER. *J Lipid Res*, 51, 1918-1928.
116. Abumrad, N. A., Davidson, N. O. (2012). Role of the gut in lipid homeostasis. *Physiol Rev*, 92, 1061-1085.
117. Niot, I., Poirier, H., Tran, T. T., Besnard, P. (2009). Intestinal absorption of long-chain fatty acids: evidence and uncertainties. *Prog Lipid Res*, 48, 101-115.
118. Ellis, J. M., Frahm, J. L., Li, L. O., Coleman, R. A. (2010). Acyl-coenzyme A synthetases in metabolic control. *Curr Opin Lipidol*, 21, 212-217.
119. Akesson, B., Gronowitz, S., Herslof, B., Ohlson, R. (1978). Absorption of synthetic, stereochemically defined acylglycerols in the rat. *Lipids*, 13, 338-343.

120. Liu, Q., Siloto, R. M., Lehner, R., Stone, S. J., Weselake, R. J. (2012). Acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferase: molecular biology, biochemistry and biotechnology. *Prog Lipid Res*, 51, 350-377.
121. Smith, S. J., Cases, S., Jensen, D. R., Chen, H. C., Sande, E., Tow, B., Sanan, D. A., Raber, J., Eckel, R. H., Farese, R. V. (2000). Obesity resistance and multiple mechanisms of triglyceride synthesis in mice lacking Dgat. *Nat Genet*, 25, 87-90.
122. Buhman, K. K., Smith, S. J., Stone, S. J., Repa, J. J., Wong, J. S., Knapp Jr, F. F., Burri, B. J., Hamilton, R. L., Abumrad, N. A., Farese Jr, R. V. (2002). DGAT1 is not essential for intestinal triacylglycerol absorption or chylomicron synthesis. *J Biol Chem*, 277, 25474-25479.
123. Uchida, A., Whitsitt, M. C., Eustaquio, T., Slipchenko, M. N., Leary, J. F., Cheng, J. X., Buhman, K. K. (2012). Reduced triglyceride secretion in response to an acute dietary fat challenge in obese compared to lean mice. *Front Physiol*, 3, 26.
124. Cartwright, I. J., Higgins, J. A. (2001). Direct evidence for a two-step assemble of apoB48-containing lipoproteins in the lumen of the smooth endoplasmic reticulum of rabbit enterocytes. *J Biol Chem*, 276, 48048-48057.
125. Mansbach II, C. M., Dowell, R. (2000). Effect of increasing lipid loads on the ability of the endoplasmic reticulum to transport lipid to golgi. *J Lipid Res*, 41, 605-612.
126. Neeli, I., Siddiqi, S. A., Siddiqi, S., Mahan, J., Lagakos, W. S., Binas, B., Gheyi, T., Storch, J., Mansbach II, C. M. (2007). Liver fatty acid binding protein initiates budding of pre-chylomicron transport vesicles from intestinal endoplasmic reticulum. *J Biol Chem*, 282, 17974-17984.
127. Siddiqi, S. A., Siddiqi, S., Mahan, J., Peggs, K., Gorelick, F. S., Mansbach II, C. M. (2006). The identification of a novel endoplasmic reticulum to golgi SNARE complex used by the prechylomicron transport vesicle. *J Biol Chem*, 281, 20974-20982.
128. Berriot-Varoqueaux, N., Dannoura, A., Moreau, A., Verthier, N., Sassolas, A., Cadiot, G., Lachaux, A., Munck, J., Schmitz, L. P., Aggerbeck, M. E., Samson-Bouma, M. E. (2001). Apolipoprotein B48 glycosylation in

- abetalipoproteinemia and Anderson' s disease. *Gastroenterology*, 121(5), 1101-1108.
129. Liao, W., Yeung, S. C., Chan, L. (1998). Proteasome-mediated degradation of apolipoprotein B targets both nascent peptides cotranslationally before translocation and full-length apolipoprotein B after translocation into the endoplasmic reticulum. *J Biol Chem*, 273, 27225-27230.
  130. Pariyarath, R., Wang, H., Aitchison, J. D., Ginsberg, H. N., Welch, W. J., Johnson, A. E., Fisher, E. A. (2001). Co-translational interactions of apoprotein B with the ribosome and translocon during lipoprotein assembly or targeting to the proteasome. *J Biol Chem*, 276, 541-550.
  131. Simon, T., Cook, V. R., Rao, A., Weinberg, R. B. (2011). Impact of murine intestinal apolipoprotein A-IV expression on regional lipid absorption, gene expression, and growth. *J Lipid Res*, 52, 1984-1994.
  132. Fujimoto, K., Cardelli, J. A., Tso, P. (1992). Increased apolipoprotein A-IV in rat mesenteric lymph after lipid meal acts as a physiological signal for satiation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 262, G1002-G1006.
  133. Kumar, N. S., Mansbach II, C. M. (1999). Prechylomicron transport vesicle: isolation and partial characterization. *Am J Physiol*, 276, G378-G386.
  134. Kalogeris, T. J., Rodriquez, M. D., Tso, P. (1997). Control of synthesis and secretion of intestinal apolipoprotein A-IV by lipid. *J Nutr*, 127, 537S-543S.
  135. Kalogeris, T. J., Fukagawa, K., Tso, P. (1994). Synthesis and lymphatic transport of intestinal apolipoprotein A-IV in response to graded dose of triglyceride. *J Lipid Res*, 35, 1141-1151.
  136. Kalogeris, T. J., Monroe, F., Demichele, S. J., Tso, P. (1996). Intestinal synthesis and lymphatic secretion of apolipoprotein A-IV vary with chain length of intestinally infused fatty acids in rats. *J Nutr*, 126, 2720-2729.
  137. Weinberg, R. B., Cook, V. R., DeLozier, J. A., Shelness, G. S. (2000). Dynamic interfacial properties of human apolipoproteins A-IV and B-17 at the air/water and oil/water interface. *J Lipid Res*, 41, 1419-1427.
  138. Gallagher, J. W., Weinberg, R. B., Shelness, G. S. (2004). ApoA-IV tagged with the ER retention signal KDEL perturbs the intracellular trafficking and secretion of ApoB. *J Lipid Res*, 45, 1826-1834.

139. Hussain, M. M., Shi, J., Dreizen, P. (2003). Microsomal triglyceride transfer protein and its role in apoB-lipoprotein assembly. *J Lipid Res*, 44, 22-32.
140. Hussain, M. M., Nijstad, N., Franceschini, L. (2011). Regulation of microsomal triglyceride transfer protein. *Clin Lipidol*, 6(3), 293-303.
141. Hussain, M. M., Rava, P., Walsh, M., Rana, M., Iqbal, J. (2012). Multiple functions of microsomal triglyceride transfer protein. *Nutr Metabolism*, 9:14.
142. Wetterau, J. R., Aggerbeck, L. P., Bouma, M. E., Eisenberg, C., Munck, A., Hermier, M., Schmitz, J., Gay, G., Rader, D. J., Gregg, R. E. (1992). Absence of microsomal triglyceride transfer protein in individuals with abetalipoproteinemia. *Science*, 258, 999-1001.
143. Hussain, M. M., Iqbal, J., Anwar, K., Rava, P., Dai, K. (2003). Microsomal triglyceride transfer protein: a multifunctional protein. *Front Biosci*, 8, S500-S506.
144. Hayhurst, G. P., Lee, Y. H., Lambert, G., Ward, J. M., Gonzalez, F. J. (2001). Hepatocyte nuclear factor 4 $\alpha$  (nuclear receptor 2A1) is essential for maintenance of hepatic gene expression and lipid homeostasis. *Mol Cell Biol*, 21, 1393-1403.
145. Gonzalez, F. J. (2008). Regulation of hepatocyte nuclear factor 4  $\alpha$ -mediated transcription. *Drug Metab Pharmacokinet*, 23, 2-7.
146. Sladek, F. M. (1993). Orphan receptor HNF-4 and liver-specific gene expression. *Receptor*, 3, 223-232.
147. Lian, G., Wang, C., Teng, C., Zhang, C., Du, L., Zhong, Q., Miao, C., Ding, M., Deng, H. (2006). Failure of hepatocyte marker-expressing hematopoietic progenitor cells to efficiently convert into hepatocytes in vitro. *Exp Hematol*, 34, 348-358.
148. Li, J. Ning, G., Duncan, S. A. (2000). Mammalian hepatocyte differentiation requires the transcription factor HNF-4 $\alpha$ . *Genes Dev*, 14, 464-474.
149. Parviz, F., Matullo, C., Garrison, W. D., Savatski, L., Adamson, J. W., Ning, G., Kaestner, K. H., Rossi, J. M., Zaret, K. S., Duncan, S. A. (2003). Hepatocyte nuclear factor 4 $\alpha$  controls the development of a hepatic epithelium and liver morphogenesis. *Nat Genet*, 34(3), 292-296.

150. Ribeiro, A., Archer, A., Le Beyec, J., Cattin, A. L., Saint-Just, S., Pinçon Raymond, M., Chambaz, J., Lacasa, M., Cardot, P. (2007). Hepatic nuclear factor-4, a key transcription factor at the crossroads between architecture and function of epithelia. *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov*, 1, 166-175.
151. Stegmann, A., Hansen, M., Wang, Y., Larsen, J. B., Lund, L. R., Ritie, L., Nicholson, J. K., Quistorff, B., Simon-Assmann, P., Troelsen, J. T., Olsen, J. (2006). Metabolome, transcriptome, and bioinformatic cis-element analyses point to HNF-4 as a central regulator of gene expression during enterocyte differentiation. *Physiol Genomics*, 27, 141-155.
152. Dhe-Paganon, S., Duda, K., Iwamoto, M., Chi, Y. I., Shoelson, S. E. (2002). Crystal structure of the HNF4 alpha ligand binding domain in complex with endogenous fatty acid ligand. *J Biol Chem*, 277, 37973-37976.
153. Hertz, R., Magenheimer, J., Berman, I., Bar-Tana, J. (1998). Fatty acyl-CoA thioesters are ligands of hepatic nuclear factor-4alpha. *Nature*, 392, 512-516.
154. Hertz, R., Sheena, V., Kalderon, B., Berman, I., Bar-Tana, J. (2001). Suppression of hepatocyte nuclear factor-4alpha by acyl-CoA thioesters of hypolipidemic peroxisome proliferators. *Biochem Pharmacol*, 61, 1057-1062.
155. Lowrey, P. L., Takahashi, J. S. (2004). Mammalian circadian biology: elucidating genome-wide levels of temporal organization. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 5, 407-441.
156. Maywood, E. S., O'Brien, J. A., Hastings, M. H. (2003). Expression of mCLOCK and other circadian clock-relevant proteins in the mouse suprachiasmatic nuclei. *J Neuroendocrinol*, 15, 329-334.
157. Gekakis, N., Staknis, D., Nguyen, H. B., Davis, F. C., Wilsbacher, L. D., King, D. P., Takahashi, J. S., Weitz, C. J. (1998). Role of the CLOCK protein in the mammalian circadian mechanism. *Science*, 280, 1564-1569.
158. Hogenesch, J. B., Gu, Y. Z., Jain, S., Bradfield, C. A. (1998). The basic-helix-loop-helix-PAS orphan MOP3 forms transcriptionally active complexes with circadian and hypoxia factors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95, 5474-5479.
159. Darlington, T. K., Wager-Smith, K., Ceriani, M. F., Staknis, D., Gekakis, N., Steeves, T. D., Weitz, C. J., Takahashi, J. S., Kay, S. A. (1998). Closing the

circadian loop: CLOCK-induced transcription of its own inhibitors per and tim. *Science*, 280, 1599-1603.

160. Peek, C. B., Ramsey, K. M., Marcheva, B., Bass, J. (2012). Nutrient sensing and the circadian clock. *Trends Endocrine Met*, 23(7), 312-318.
161. Guillaumond, F., Dardente, H., Giguere, V., Cermakian, N. (2005). Differential control of Bmal1 circadian transcription by REV-ERB and ROR nuclear receptors. *J Biol Rhythms*, 20, 391-403.
162. Ko, C. H., Takahashi, J. S. (2006). Molecular components of the mammalian circadian clock. *Hum Mol Genet*, 15(2), R271-R277.
163. Jetten, A. M. (2009). Retinoid related orphan receptors (RORs): critical roles in development, immunity, circadian rhythm and cellular metabolism. *Nucl Recept Signal*, 7, e003.
164. Kallen, J., Schlaepfli, J. M., Bitsch, F., Delhon, I., Fournier, B. (2004). Crystal structure of the human ROR $\alpha$  ligand binding domain in complex with cholesterol sulphate at 2.2 Å. *J Biol Chem*, 279, 14033-14038.
165. Lau, P., Fitzsimmons, R. L., Raichur, S., Wang, S. C. M., Lechtken, A., Muscat, G. E. O. (2008). The orphan nuclear receptor, ROR $\alpha$ , regulates gene expression that controls lipid metabolism. Staggerer (sg/sg) mice are resistant to diet-induced obesity. *J Biol Chem*, 283, 18411-18421.
166. Le Martelot, G., Claudel, T., Gatfield, D., Schaad, O., Kornmann, B., Lo Sasso, G., Moschetta, A., Schibler, U. (2009). Rev-erba participates in circadian SREBP signaling and bile acid homeostasis. *PLoS Biol*, 7(9), e1000181.
167. Froy, O. (2010). Metabolism and circadian rhythms-implications for obesity. *Endocr Rev*, 31, 1-24.
168. Li, S., Lin, J. D. (2009). Molecular control of circadian metabolic rhythms. *J Appl Physiol*, 107, 1959-1964.
169. Storch, K. F., Lipan, O., Leykin, I., Viswanathan, N., Davis, F. C., Wong, W. H., Weitz, C. J. (2002). Extensive and divergent circadian gene expression in liver and heart. *Nature*, 417, 78-83.
170. Hoogerwerf, W. A., Hellmich, H. L., Cornelissen, G., Halberg, F., Shahinian, V. B., Bostwick, J., Savidge, T. C., Cassone, V. M. (2007). Clock gene

expression in the murine gastrointestinal tract: endogenous rhythmicity and effects of a feeding regimen. *Gastroenterology*, 133(4), 1250-1260.

171. Damiola, F., Le Minh, N., Preitner, N., Kornmann, B., Fleury-Olela, F., Schibler, U. (2000). Restricted feeding uncouples circadian oscillators in peripheral tissues from the central pacemaker in the suprachiasmatic nucleus. *Genes Dev*, 14, 2950-2961.
172. Hussain, M. M., Pan, X. (2012). Clock regulation of dietary lipid absorption. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 15, 336-341.
173. Sladek, M., Rybova, M., Jindrakova, Z., Zemanova, Z., Polidarova, L., Mrnka, L., O'Neill, J., Pacha, J., Sumova, A. (2007). Insight into the circadian clock within rat colonic epithelial cells. *Gastroenterology*, 133(4), 1240-1249.
174. Maillot, F., Garrigue, M. A., Pinault, M., Objois, M., Theret, V., Lamisse, F., Hoinard, C., Antoine, J. M., Lairon, D., Couet, C. (2005). Changes in plasma triacylglycerol concentrations after sequential lunch and dinner in healthy subjects. *Diabetes Metab*, 31(1), 69-77.
175. Escobar, C., Diaz-Munoz, M., Encinas, F., Aguilar-Roblero, R. (1998). Persistence of metabolic rhythmicity during fasting and its entrainment by restricted feeding schedules in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 274(5), R1309-R1316.
176. Vallejo, S. J. H., Alqub, M., Luquet, S., Cruciani-Guglielmacci, C., Delerive, P., Lobaccaro, J. M., Kalopissis, A. D., Chambaz, J., Rousset, M., Lacorte, J. M. (2009). Short-term adaptation of postprandial lipoprotein secretion and intestinal gene expression to a high-fat diet. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 296, G782-G792.
177. Blaner, W. S., Obunike, J. C., Kurlandsky, S. B., Al-Haideri, M., Piantedosi, R., Deckelbaum, R. J., Goldberg, I. J. (1994). Lipoprotein lipase hydrolysis of retinyl esters. Possible implications for retinoid uptake by cells. *J Biol Chem*, 269(24), 16559-16565.
178. Shen, L., Ma, L., Qin, X., Jandacek, R., Sakai, R., Liu, M. (2005). Diurnal changes in intestinal apolipoprotein A-IV and its relation to food intake and



- corticosterone in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 288, G48-G53.
179. Hussain, M. M., Pan, X. (2014). Circadian regulators of intestinal lipid absorption. *J Lipid Res*, doi: 10.1194/jlr.R051573.
  180. Frochot, V., Alqub, M., Cattin, A. L., Carriere, V., Houllier, A., Baraille, F., Barbot, L., Saint-Just, S., Ribeiro, A., Lacasa, M., Cardot, P., Chambaz, J., Rousset, M., Lacorte, J. M. (2012). The transcription factor HNF-4 $\alpha$ : a key factor of the intestinal uptake of fatty acids in mouse. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 302, G1253-G1263.
  181. Bass, J. (2012). Circadian topology of metabolism. *Nature*, 491, 348-356.
  182. Froy, O. (2007). The relationship between nutrition and circadian rhythms in mammals. *Front Neuroendocrinol*, 28(2-3), 61-71.
  183. Froy, O., Miskin, R. (2007). The interrelations among feeding, circadian rhythm and ageing. *Prog Neurobiol*, 82(3), 142-150.
  184. Güldür, T. (2009). Çoklu doymamış yağ asitlerinin lipid metabolizmasına etkileri ve etki mekanizmaları: hangi yağ? *Ankara Ecz Fak Derg*, 38(3), 191-210.
  185. Mori, T., Kondo, H., Hase, T., Tokimitsu, I., Murase, T. (2007). Dietary fish oil upregulates intestinal lipid metabolism and reduces body weight gain in C57BL/6J mice. *J Nutr*, 137, 2629-2634.
  186. Mistlberger, R. E. (1994). Circadian food-anticipatory activity: formal models and physiological mechanisms. *Neurosci Biobehav Rev*, 18, 171-195.
  187. Silver, R., Balsam, P. D., Butler, M. P., LeSauter, J. (2011). Food anticipation depends on oscillators and memories in both body and brain. *Physiol Behav*, 104, 562-571.
  188. Eckel-Mahan, K. L., Patel, V. R., de Mateo, S., Orozco-Solis, R., Ceglia, N. J., Sahar, S., Dilag-Penilla, S. A., Dyar, K. A., Baldi, P., Sassone-Corsi, P. (2013). Reprogramming of the circadian clock by nutritional challenge. *Cell*, 155(7), 1464-1478.
  189. Drager, L. F., Li, J., Shin, M. K., Reinke, C., Aggarwal, N. R., Jun, J. C., Bevans-Fonti, S., Sztalryd, C., O'Byrne, S. M., Kroupa, O., Olivecrona, G., Blaner, W. S., Polotsky, V. Y. (2012). Intermittent hypoxia inhibits clearance

of triglyceride-rich lipoproteins and inactivates adipose lipoprotein lipase in a mouse model of sleep apnoea. *Eur Heart J*, 33, 783-790.

- 190.** van Bennekum, A. M., Kako, Y., Weinstock, P. H., Harrison, E. H., Deckelbaum, R. J., Goldberg, I. J., Blaner, W. S. (1999). Lipoprotein lipase expression level influences tissue clearance of chylomicron retinyl ester. *J Lipid Res*, 40, 565-574.
- 191.** Mattes, R. D. (2002). Oral fat exposure increases the first phase triacylglycerol concentration due to release of stored lipid in humans. *J Nutr*, 132(12), 3656-3662.
- 192.** Fielding, B. A., Callow, J., Owen, R. M., Samra, J. S., Matthews, D. R., Frayn, K. N. (1996). Postprandial lipemia: the origin of an early peak studied by specific dietary fatty acid intake during sequential meals. *Am J Clin Nutr*, 63(1), 36-41.
- 193.** Zheng, C., Khoo, C., Furtado, J., Ikewaki, K., Sacks, F. M. (2008). Dietary monounsaturated fat activates metabolic pathways for triglyceride-rich lipoproteins that involve apolipoproteins E and C-III. *Am J Clin Nutr*, 88, 272-281.

EK-1

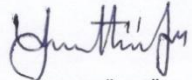
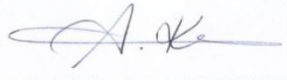
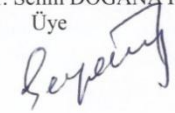
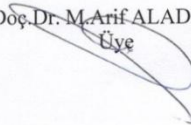
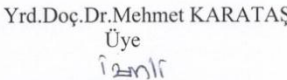
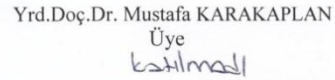
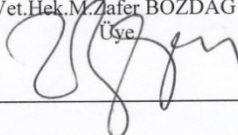
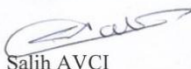


**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI**

Toplantı Tarihi : 27-12-2011  
 Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malaty  
 Araştırma Protokol no.su : 2011/A-101  
 Deneide Kullanılacak Hayvanın Türü : Rat  
 Deneide Kullanılacak Hayvanın Soyü : Wistar-Albino  
 Deneide Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D Farketmez  
 Deneide Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 216 adet  
 Deneide Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı:

Tıp Fakültesi Öğretim Üyelerinden Prof. Dr. Tayfun GÜLDÜR'ün yürütücüsü olduğu "Farklı besinsel yağların şilomikron sentezi ve postprandial hiperlipidemiye etkilerinin sirkadyen ritme göre karşılaştırılması" isimli 2011/A-101 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneide Hayvanları Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve sorumluluk araştırmacılarü ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakınca bulunmadığına oy birliği ile karar verildi.

 Prof.Dr.Yusuf TÜRKÖZ Başkan	 Doç.Dr. Abdurrahman KARAMAN Başkan Yard.	 Prof.Dr. Selim DOĞANAY Üye
 Doç.Dr. M. Arif ALADAĞ Üye	 Yrd.Doç.Dr.Mehmet KARATAŞ Üye İznil	 Yrd.Doç.Dr. Mustafa KARAKAPLAN Üye Katılmadı
 Vet.Hek.M.Zafer BOZDAĞ Üye	 Salih AVCI Sivil Üye	

## **ÖZGEÇMİŞ**

2005 yılında Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nden mezun olduktan sonra, 2006 yılında İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım. 2008 yılında İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'na araştırma görevlisi olarak atandım. 2009 yılında yüksek lisans eğitimimi tamamladıktan sonra, aynı anabilim dalında doktora eğitimime başladım.