

Ratlarda Diyete Ceviz Katılmasının Serum Lipid Profili ve Nitrik Oksit Düzeylerine Etkisi

The Effects of Dietary Walnut on Serum Lipid Profile and Nitric Oxide Levels in Rats

Hicran Hiçyılmaz*

Nigar Yılmaz**

Recep Sütçü***

Hüseyin Vural***

Namık Delibaş***

* Yozgat Devlet Hastanesi, Biyokimya Bölümü, Yozgat

** Güllent Devlet Hastanesi, Biyokimya Bölümü, Isparta

*** Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Isparta

ÖZET

Amaç: Çalışmanın amacı, ratlarda diyete ceviz eklenmesinin serum total, LDL ve HDL kolesterol, trigliserid ve nitrik oksit (NO) düzeyleri üzerine olan etkisini değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem: Ratlar kontrol grubu (n=12) ve ceviz diyeti grubu (n=12) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Ratların 8 hafta süreyle beslenmeleri sağlandı. Deney süresinin sonunda ceviz diyetinin etkilerini değerlendirmek için serumda total, LDL ve HDL kolesterol, trigliserid ve NO düzeyleri ölçüldü.

Bulgular: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında total ve LDL kolesterol konsantrasyonları cevizle beslenen grupta anlamlı olarak düşüktü.

Sonuç: Sonuç olarak cevizin faydalı etkileri göz önüne alındığında, diyetin vazgeçilmez bir bileşeni olarak önerilebileceğini söyleyebiliriz.

Anahtar Sözcükler: Ceviz, diyet, total kolesterol, LDL kolesterol, HDL kolesterol, NO

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to evaluate serum total, HDL and LDL cholesterol and triglyceride levels and nitric oxide (NO) levels in rats with dietary walnut consumption.

Materials and Methods: The rats were divided into 2 groups as a control group (n=12) and walnut diet (n=12). Rats were fed for 8 weeks. At the end of study, effects of walnut diet were evaluated by measuring serum total, LDL and HDL cholesterol, triglyceride and NO.

Results: Compared with control group, total and LDL cholesterol concentrations were significantly reduced in the walnut diet group.

Conclusion: As a result, considering the protective effects of walnut, it can be suggested as essential component for diet.

Key Words: Walnut, diet, total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol, NO

GİRİŞ

Ceviz sert kabuklu meyvelerdendir. Besleyici, lezzetli ve sağlıklı bir besin olarak bilinmektedir. Doğal olarak içerdiği besin bileşenleri ile besleyici olduğu kadar, yapısında bulunan spesifik fizyolojik aktif bileşenleri ile hastalıklardan korunmada etkili olabilen, yaşam kalitesini yükselten bir besin olarak tanımlanır (1,2). Ceviz doymamış yağ asitlerinden zengin bir yiyecektir (3). Diğer sert kabuklu meyveler içinde (fındık gibi) en yüksek oranda alfa linolenik asit (n-3) içeren bir bitkisel yiyecektir (4). Yağ asidi profili yanında ceviz koroner arter hastalığını riskini azaltan güçlü ve yararlı dieter lif, folik asit, antioksidanlar gibi değişik bioaktif bileşenlerin kaynağıdır (1). Ceviz ayrıca endojen vazodilatör nitrik oksidin (NO) prekürsör amino asidi olan L-arjinini de büyük miktarda içerir. Endotelial disfonksiyon ateroskleroza kritik bir olaydır. NO'nun biyoyararlanımının azalması ve proinflamatuar sitokinler ve adhezyon moleküllerinin artmış ekspresyonuyla karakterize bir olaydır (5,6). Ek olarak ceviz vitamin E'nin aktif formu olan tokoferoller yönünden de zengindir. Bunlar güçlü antiaterojenik ve antilipidemik etki sağlar (7).

Yüksek total kolesterol ve LDL kolesterol seviyeleri koroner kalp hastalığı için majör bir risk faktörüdür ve yüksek riskli kişilerde bunların düşürülmesi fatal ve nonfatal kardiyak vaka insidansını azaltır (8). Epidemiyolojik çalışmalar günlük 3-4 adet ceviz alımı ile koroner kalp hastalığı riskinin %50 azaldığını göstermiştir (9). Cevizdeki polifenollerin antioksidan ve kardiovasküler koruyucu etkileri konusunda çok az şey bilinmektedir. Ceviz ellagik asit gibi polifenollerden zengindir. Bunlar plazma LDL oksidasyonunu inhibe etme yeteneğine sahiptir. Son çalışmalar bu fenolik bileşenlerden zengin ceviz gibi diyetlerin satüre yağ asitlerinin yüksek miktarlarını bile tükettiğini böylece kardiyovasküler riski azalttığını göstermiştir (10,11).

Bu çalışmadaki amacımız ratlarda diyetle alınan cevizin serum total, LDL ve HDL ko-

lesterol, trigliserid ve NO düzeylerine olan etkilerini araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deney Hayvanları

Bu çalışmada ortalama ağırlıkları 230 ± 10 gr olan Sprague Dawley cinsi toplam 24 adet erkek rat (24-28 haftalık) kullanıldı. Ratlar ışığın özel olarak ayarlanmadığı normal gün ışığı normal karanlık ve ısı (25°C)'da yem ile suyun kısıtlanmadığı koşullarda 8 hafta süre ile beslendiler. Deney sürecinin başlangıcında ve sonunda olmak üzere toplam iki kez tüm ratların ağırlıkları ölçüldü. Ratlar kontrol grubu (n=12) ve ceviz ile beslenen grup (n=12) olmak üzere toplam iki gruba ayrıldı. Her kafeste tek rat bulunacak şekilde kafeslere alındı.

Metod

Ratlara cevizin verilmesi: Rat kilosunun %10 kadarını yiyebilmektedir. Kilosuna göre alması gereken günlük yeme, cevizden zengin beslenme grubuna, yağ konsantrasyonu diyetin %20'si olacak şekilde ceviz eklenmiştir.

Tablo 1. Kontrol rat grubuna verilen yemin içeriğini (2600 Kcal/kg, Korkutelim Yem Sanayi) göstermektedir.

Tablo 2. Ratlara verilen ceviz yağ asit içeriğini göstermektedir.

Ceviz yağ asit içeriği tayini: Süleyman Demirel Üniversitesi (SDÜ) Deneysel ve

Tablo 1. Kontrol rat grubuna verilen yemin içeriği.

Kuru madde	En az	%	88
Ham protein	En az	%	23
Ham selüloz	En çok	%	7
Ham kül	En çok	%	8
HCL de çözünmeyen kül	En çok	%	2
Kalsiyum	En az-en çok	%	1-1.80
Fosfor	En az	%	0.90
Sodyum	En az en çok	%	0.5-0.80
NaCl	En çok	%	1
Methionin	En az	%	0.3
Lizin	En az	%	1

Tablo 2. Ratlara verilen cevizin yağ asit içeriği.

	Palmitik asit	Stearik asit	Oleik asit	n-6	n-3
Ceviz %	7.50	3.11	22.26	55.30	11.83

Gözlemsel Araştırma ve Uygulama Merkezi Müdürlüğünde GC/MS (QP5050 GC/MS) ile yapılmıştır.

Anestezi ve Gerekli Materyallerin Alınması: Xylol anestezisi altında ratlar dekapite edildikten sonra venöz kan örnekleri alındı. 3000 g'de, 5 dakika santrifüj edilecek serumları ayrıldı. Serumların bir kısmından lipid ölçümleri hemen gerçekleştirildi. Geriye kalan serum örnekleri NO ölçümü yapılana kadar -40°C de saklandı.

Biyokimyasal Çalışmalar

Serum total, HDL kolesterol düzeyleri ile serum trigliserid düzeyleri Abbott Aeroset (Abbott Laboratories, Diagnostics Division Abbott Park, IL 60064, USA) otomatik analizöründe çalışıldı. Total kolesterol ve trigliserid düzeyi ölçümleri için yine bu firmanın orijinal reaktifleri HDL kolesterol ölçümü için de Sentinel marka kit (Sentinel Diagnostics Sentinel CH Via Principe Eugenio, 5-20155 Milan-Italy) kullanıldı. Serum LDL kolesterol düzeyi ise Friedewald formülü kullanılarak hesaplandı. Serum NO düzeyleri Cayman marka kolorimetrik kit kullanılarak çalışıldı (Cayman Chemical Company, Michigan, USA).

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmeler "SPSS 15.0 for Windows" paket programı kullanılarak yapıldı. Total, LDL ve HDL kolesterol, Trigliserid ve NO düzeyleri için grupların birbiriyle karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama \pm SEM olarak verildi ve $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Tablo 3'de serum total, LDL ve HDL kolesterol, trigliserid ve NO düzeylerine ait ortalama değerler (\pm SEM) gösterilmiştir.

Tablo 3. Serum Total, LDL ve HDL kolesterol, Trigliserid ve NO düzeyleri.

	Kontrol grubu (n=12)	Ceviz grubu (n=12)
Total kolesterol (mg/dl)	49.0 \pm 1.8	42.5 \pm 2.4 ^a
LDL kolesterol (mg/dl)	15.1 \pm 1.7	10.0 \pm 1.3 ^a
HDL kolesterol (mg/dl)	21.1 \pm 0.5	21.5 \pm 1.0
Trigliserid (mg/dl)	63.3 \pm 4.8	57.4 \pm 11.5
NO (μ mol/L)	5.4 \pm 0.8	8.6 \pm 1.6

Veriler ortalama \pm SEM formatında verilmiştir.

a: kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı grup ($p < 0.05$)

Ceviz diyeti alan grupta serum total ve LDL kolesterol düzeylerinde, kontrol grubu serum total ve LDL kolesterol düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edildi (sırasıyla $p=0.020$ ve $p=0.045$). HDL kolesterol, trigliserid ve NO düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

TARTIŞMA

Cevizden zengin beslenme grubunda 8 hafta sonunda ratların serum total ve LDL kolesterol düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı düşüş saptadık. Çeşitli çalışmalarda cevizden zenginleştirilmiş diyetin kolesterol ve LDL kolesterolü düşürdüğü rapor edilmiştir (12-14). Cevizin lipit düşürücü etkisine yol açan olası mekanizmalardan biri içerdiği yağın türüdür. Klinik çalışmalarda serum total ve LDL kolesterol düşüklüğünün sebebi ceviz içindeki n-3 yüksekliği ile ilişkilendirilmiştir. Çalışmada ratlara verdiğimiz cevizin n-3 içeriği bakımından zengin olması bu hipotezi doğrulamaktadır. Klinik denemelerde düzenli ceviz alımının neden olduğu kolesterol düşürücü etkisinin, Akdeniz tipi diyetlerde bulunan yaygın yağ asitlerinden daha büyük olduğunu göstermiştir (15). Yağ asitleri kompozisyonu, LDL reseptörleri üzerin-

den LDL kolesterolün düşürülmesini sağlayabilir. Hücre kültürü çalışmalarında cevizden zengin diyet sonucu yükselen n-3 artışının ardından LDL reseptör aracılı fonksiyonlarda artış olduğu gösterilmiştir (15).

Çalışmamızda HDL kolesterol düzeylerinde gruplar arasında bir değişim görülmezken, trigliserid düzeylerinde ceviz diyeti alan grupta istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir azalma görüldü. Yapılan pek çok çalışmada ceviz diyetinin kontrol diyetine kıyasla HDL kolesterol konsantrasyonlarını etkilemediği gösterilmiştir (6,13-15). Bizim bulgularımız da literatürle uyum sağlamaktadır. Cevizin yağ içeriğiyle bağlantılı olarak HDL konsantrasyonu değişmektedir. PUFA miktarının yüksek olması HDL düzeylerinde artışla sonuçlanırken, monoansatüre yağ asitlerinin artması da HDL düzeylerinde azalmaya neden olmaktadır (16).

Araştırmalar, omega-3 yağ asitlerinin insan sağlığı bakımından yaşamsal önem taşıdığını ortaya koymaktadır. Çeşitli çalışmalarda yetişkin bireyler için önerilen n-3 miktarı günde 3.7-6.0 gramdır (17-19). n-3'ün başka bir etkisi de aterosklerozun gelişiminde ilk basamak olan endotelial disfonksiyonunu düzeltmesidir. NO nun sentezinin ve/veya salınışının uyarılmasındaki olası mekanizmanın, endotelial hücrelerin membran akışkanlığındaki artışla gerçekleşebileceği ileri sürülmüştür (6). Diğer taraftan ceviz içeriğinde bulunan L-Arginin ve antioksidanlar da vazoaktiviteyi olumlu yönde etkileyebilmektedir. Rose ve arkadaşları da ceviz diyetinin Akdeniz tipi diyetle karşılaştırıldığında endotelial bağımlı vazodilatasyonları düzelttiğini ve vasküler adhezyon moleküllerini azalttığını göstermişlerdir (6). Bizim çalışmamızda ise NO düzeyleri kontrol grubuna göre artış göstermesine rağmen anlamlı bir fark bulunmadı. Rat sayısının azlığı ve cevizin verilme süresinin yetersiz olması buna neden olabilir.

Koroner kalp hastalıklarının oluşumunda LDL-kolesterolün oksidasyonu önemli rol

oynamaktadır. Çoklu doymamış yağ asitlerini (PUFA) içeren bitkisel yağların alımının artması, serbest radikallerin oluşumunu artırır. Bunlar da LDL-kolesterolün oksidasyonunu hızlandırır. Cevizden zengin diyetin PUFA yüksekliğine sebep olması aynı zamanda sağlığa zararlı oksidatif stres belirteçlerinin artışına da yol açmaktadır (20). Bununla birlikte, cevizdeki yüksek - ve -tocopherol endojen antioksidan görevi görmektedir. Cevizdeki fenolik bileşenler, ellagic ve gallic asitlerin, LDL'de PUFA'nın oluşturacağı prooksidan etkiye karşı bir savunma sağladığı gösterilmiştir (21).

Cevizin faydalı etkileri bakır, magnezyum, potasyum, folik asit, çözünebilir posa ve vitamin E içermesinden de kaynaklanabilir (22, 23). Son bir çalışmada cevizin sert kabuklu bitkiler içinde en yüksek oranda total antioksidan içerdiği bulunmuştur (24).

Ceviz görüldüğü gibi benzersiz bir kompozisyon içermektedir. Düzenli ceviz alımı kolesterolü düşürmekte ve kardiyovasküler hastalıklar üzerine olan koruyucu etkisini artırmaktadır. Sonuç olarak cevizin düzenli olarak diyetle alımının neden olduğu faydalı etkiler cevizin vazgeçilmez bir besin olduğunu düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

1. Farquhar JW. Plant sterols: their biological effects in human. In: Spiller GA, ed. Handbook of Lipids in Human Nutrition. Boca Raton, FL: CRC Press, 1996: 101-105.
2. Sabate J, Fraser GE. The probable role of nuts in preventing coronary heart disease. *Pri Card* 1993; 19: 65-72.
3. USDA Nutrient Database. 1987, Handbook 8.
4. Exler J, Weihrauch JL. Provisional table on the content of omega-3 fatty acids and other fat components in selected foods. Washington, DC: US Department of Agriculture; 1986. Publication HNIS/PT-103.
5. Cortés B, Núñez I, Cofán M, Gilabert R, Pérez-Heras A, Casals E, et al. Acute effects of high-fat meals enriched with walnuts or olive oil on postprandial endothelial function. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48(8): 1666-71.

6. Ros E, Núñez I, Pérez-Heras A, Serra M, Gilabert R, Casals E et al. A walnut diet improves endothelial function in hypercholesterolemic subjects: A randomized crossover trial. *Circulation* 2004; 109: 1609-14.
7. Spiller GA, Jenkins DA, Bosello O, Gates JE, Cragen LN, Bruce B. Nuts and plasma lipids: an almond-based diet lowers LDL-C while preserving HDL-C. *J Am Coll Nutr* 1998; 17: 285-90.
8. Grundy SM. Primary prevention of coronary heart disease: integrating risks assessment with intervention. *Circulation* 1999; 100: 988-98.
9. Hu FB, Stampfer MJ. Nut consumption and risk of coronary heart disease: a review of the epidemiologic evidence. *Curr Atheroscler Rep* 1999; 1: 204-9.
10. Renaud S, de Lorgeril, M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* 1992; 339 (8808): 1523-6.
11. Hertog MG, Feskens EJ, Hollman PC, Katan MB, Kromhout D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet* 1993; 342 (8878): 1007-11.
12. Sabaté J, Fraser GE, Burke K, Knutsen SF, Bennett H, Linsted KD. Effects of walnuts on serum lipids levels and blood pressure in normal men. *N Engl J Med* 1993; 328 (9): 603-7.
13. Zambón D, Sabaté J, Muñoz S, Campero B, Casals E, Merlos M, et al. Substituting walnuts for mono-unsaturated fat improves the serum lipid profile of hypercholesterolemic men and women: a randomized crossover trial. *Ann Intern Med* 2000; 132 (7): 538-46.
14. Iwamoto M, Imaizumi K, Sato M, Hirooka Y, Sakai K, Takeshita A, et al. Serum lipid profiles in Japanese women and men during consumption of walnuts. *Eur J Clin Nutr* 2002; 56 (7): 629-37.
15. Muñoz S, Merlos M, Zambón D, Rodríguez C, Sabaté J, Ros E, et al. A walnut-enriched diet increases the association of LDL from hyper-cholesterolemic men to human hepatoma HEPG2 cells. *J Lipid Res* 2001; 42 (12): 2069-76.
16. Mukuddem-Petersen J, Oosthuizen W, Jerling JC. A systematic review of the effects of nuts on blood lipid profiles in humans. *J Nutr* 2005; 135 (9): 2082-9.
17. Singh RB, Niaz MA, Sharma JP, Kumar R, Rastogi V, Moshiri M. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of fish oil and mustard oil in patients with suspected acute myocardial infarction: the Indian experiment of infarct survival. *Cardiovasc Drug Ther* 1997; 11 (3): 485-91.
18. De Lorgeril M, Salen P, Martin JL, Monjaud JL, Delaye J, Manuelle N. Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction. *Circulation* 1999; 99 (6): 779-85.
19. Singh RB, Dubnov G, Niaz MA, Ghosh S, Singh R, Rastogi SS, et al. Effect of an Indo-Mediterranean diet on progression of coronary artery disease in high risk patients (Indo-Mediterranean Diet Heart Study): a randomized single-blind trial. *Lancet* 2002; 360 (9344): 1455-61.
20. Canales A, Benedí J, Nus M, Librelotto J, Sánchez-Montero JM, Sánchez-Muniz FJ. Effect of walnut-enriched restructured meat in the antioxidant status of overweight/obese senior subjects with at least one extra CHD-risk factor. *J Am Coll Nutr* 2007; 26(3): 225-32.
21. Lisa Davis L, Stonehouse W, Loots DT, Mukuddem-Petersen J, van der Westhuizen FH, Hanekom SM et al. The effects of high walnut and cashew nut diets on the antioxidant status of subjects with metabolic syndrome. *Eur J Nutr* 2007; 46(3): 155-64.
22. Anderson KJ, Teuber SS, Gobeille A, Cremin P, Waterhouse AL, Steinberg FM. Walnut polyphenolics inhibit in vitro human plasma LDL oxidation. *J Nutr* 2001; 131(11): 2837-42.
23. LSRO Report: The scientific evidence for a beneficial health relationship between walnuts and coronary heart disease. *J Nutr* 2002; 132: 1062-101.
24. Halvorsen BL, Holte K, Myhrstad MC, Barikmo I, Hvattum E, Remberg SF, et al. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *J Nutr* 2002; 132(3): 461-71.

Yazışma adresi:

Dr. Recep Sütçü
 Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi,
 Biyokimya Anabilim Dalı, Isparta
 Tel : 0.246 218 04 40
 GSM : 0.532 480 18 47
 E-posta: rsutcu@hotmail.com
