

TC
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Hypericum lysimachioides BİTKİSİNİN ETANOL
EKSTRAKTININ YÜKSEK KOLESTEROLLÜ
TAVŞANLARDA SERUM LİPİD DÜZEYİ VE LİPİD
PEROKSİDASYONUNA ETKİSİ

Fidan HAKİMOĞLU




YÜKSEK LİSANS TEZİ
(KİMYA ANABİLİM DALI)

DİYARBAKIR
Temmuz-2005

T.C
DİCLE UNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
DİYARBAKIR

Fidan HAKİMOĞLU tarafından yapılan bu çalışma, jürimiz tarafından KİMYA
Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyesinin

<u>Ünvanı</u>	<u>Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Başkan :	Yrd. Doç. Dr. Göksel KIZIL	
Üye :	Yrd. Doç. Dr. Zeki KANAY	
Üye :	Yrd. Doç. Dr. Murat KIZIL	

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

/ /

Doç. Dr. Necmettin PİRİNÇÇİOĞLU
ENSTİTÜ MÜDÜR

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın başından sonuna kadar yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Göksel KIZIL'a teşekkürü borç bilirim.

Bu çalışmanın her aşamasında bilgi ve desteğini esirgemeyen ve çalışma olanakları hazırlayan Sayın Prof. Dr. Çetin AYTEKİN'e teşekkür ederim.

Çalışmada büyük emeği geçen Veteriner Fakültesinden Yrd. Doç. Dr. Zeki KANAY'a teşekkür ederim.

Çalışmış olduğumuz bitkileri toplayan Yrd. Doç. Dr. Zuhâl TOKER'e, bitkinin teşhisini yapan Doç.Dr. A. Selçuk ERTEKİN'e, histopatolojik analize yardımcı olan Doç.Dr. M.Aydın KETANİ'ye teşekkür ederim.

Çalışma esnasında bilgilerinden yararlandığım hocam Yrd. Doç. Dr. Murat KIZIL'a teşekkür ederim.

Her daim desteklerini gördüğüm, Yrd. Doç. Dr Zübeyde BAYSAL'a, Dr. Mehmet DOĞRU'ya, Araş.Gör. Murat YAVUZ'a, Bircan ÇEKEN ve diğer arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Ayrıca, ilgi ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

Bu çalışma, DÜAFK 04-FS-55 No'lu projeye desteklenmiştir. Bu vesileyle D.Ü. Araştırma Fonu Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

1.GİRİŞ	1
1 .1. Kolesterolün Yapısı, Metabolizması ve Biyosentezi	2
1. 2. Trigliseritler ve Biyosentezi	4
1. 3. Plazma Lipoproteinleri	5
1. 3. 1. Tanımı ve Tipleri	5
1. 3. 2. Şilomikronlar ve Metabolizması	5
1. 3. 3. VLDL ve Metabolizması	6
1. 3. 4. IDL ve Metabolizması	6
1. 3. 5. LDL ve Metabolizması	6
1. 3. 6. HDL ve Metabolizması	6
1. 4. Kolesterol Tedavisinde Kullanılan İlaçlar	7
1. 4. 1. Statinler	7
1. 4. 2. Bitkiler	10
1. 5. Fitosteroller ve Hiperkolesterolemi	10
1. 6. Serbest Radikaller	11
1.7. Lipid Peroksidasyonu	12
1. 8. Antioksidantlar	14
1. 9. Bitkilerin Lipid Peroksidasyonunu Önlemesi	14
1. 10. Koroner Arter Hastalıkları ve Lipid Metabolizması Bozuklukları ile İlişkisi	16
1. 10. 1. Normal Arter Yapısı	16
1. 10. 2. Aterogenez ile İlgili Arter Hücreleri	17
1. 10. 3. Ateroskleroz Oluşumu	17
1. 11. LDL Oksidasyonu	18
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	20
3. MATERYAL VE METOD	24
3. 1. MATERYAL	24
3. 1. 1. Kullanılan Bitkinin Özellikleri, Yayılımı	24
3. 1. 2. Çalışmada Kullanılan Hayvanlar	25
3. 1. 3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	25
3. 1. 4. Kullanılan Aletler	25

3. 2. METOD	26
3. 2. 1. Kullanılan Bitki Ekstraktının Hazırlanması	26
3. 2. 2. Tavşanlara Yedirilen Bitki Ekstraktlarının ve Kolesterolün Hazırlanması	26
3. 2. 3. Deney Tavşanlarının Gruplandırılması ve Diyet Uygulamaları	26
3. 2. 4. Kan Örneklerinin Toplanması ve Saklanması	27
3. 2. 5. Kan Serumunda Total Kolesterol Seviyesinin Tayini	27
3. 2. 6. Kan Serumunda Trigliserid Seviyesinin Tayini	28
3. 2. 7. Kan Serumunda HDL Seviyesinin Tayini	29
3. 2. 8. Kan Serumunda LDL Seviyesinin Tayini	30
3. 2. 9. TBARS Metodu ile Plazmada Malondialdehit Düzeyinin Belirlenmesi	30
3. 2. 9. 1. TMP Standardının Hazırlanması	30
3. 2. 9. 2. Kan Serumunda MDA Düzeyinin Belirlenmesi	31
3. 2. 10. Tavşan Kiloları	31
3. 2. 11. Histolojik Metod	31
3. 2. 12. İstatistiksel Analiz	32
4. BULGULAR	33
4. 1. Serum Lipid Düzeyler	33
4. 1. 1. Kontrol Grubu	33
4. 1. 2. Bitki Grubu	34
4. 1. 3. Kolesterol+Bitki Grubu	34
4. 1. 4. Kolesterol Grubu	35
4. 2. Plazmada Malondialdehit Düzeyi	35
4. 3. Tavşan Vücut Ağırlıkları	36
4. 4. Histolojik Bulgular	36
4. 4. 1. Karaciğere Ait Histolojik Bulgular	36
4. 4. 1. 1. Kontrol Grubu	36
4. 4. 1. 2. Kolesterol Grubu	37
4. 4. 1. 3. Kolesterol+Bitki Grubu	37
4. 4. 2. Aorta Ait Histolojik Bulgular	37
4. 4. 2. 1. Kontrol Grubu	37
4. 4. 2. 2. Kolesterol Grubu	37
4. 4. 2. 3. Kolesterol+Bitki Grubu	37
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	38
6. EKLER	44

7. KAYNAKLAR	45
8. TABLOLAR, ŐEKİLLER, RESİMLER	50
9. TABLOLARIN LİSTESİ	74
10. ŐEKİLLERİN LİSTESİ	75
11. RESİMLERİN LİSTESİ	77
12. ÖZGEÇMİŞ	78

AMAÇ

Bitkilerin mikroorganizmaları öldürücü ve insan sağlığı için önemli özellikleri, 1926 yılından bu yana laboratuvarlarda araştırılmaktadır. Buna bağlı olarak günümüzde çeşitli hastalıkların tedavisinde bitkilerden elde edilen doğal kaynaklı drogların (işlenmemiş hammadde) kullanımını da ciddi ölçüde artırmıştır.

Hiperkolesterolemik bireylerin damarlarında oksidatif stresin arttığı, bunun yanısıra LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein) oksidasyonunun ateroskleroz gelişiminde önemli bir basamak olduğu bilinmektedir. Son yıllarda kolesterol düzeyini düşürdüğü belirlenmiş olan bitki sterollerinin kardiyovasküler hastalıklarda anlamlı bir terapötik etkiye sahip olduğu saptanmıştır.

Hypericum bitkisinin antidepresant, antioksidant, antibakteriyal ve antifungal etkiye sahip olduğu bilinmesine rağmen hipokolesterolemik özelliği olup olmadığı ile ilgili bilimsel bir veri elde edilememiştir. Bu amaçla çalışmada, bölgemizde yaygın olarak bulunan *Hypericum lysimachioides* bitkisinin etanol ekstraktının hiperkolesterolemik tavşanlarda serum lipid düzeyleri üzerindeki etkisi, lipid peroksidasyonu önleyebilme ve histopatolojik etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir.

ÖZET

Kolesterol, insan vücudunda önemli fonksiyonlara sahiptir. Buna karşın, kanda yüksek düzeyde kolesterol bulunmasının (hiperkolesterolemi) zararlı etkileri bulunmaktadır. Kanda total kolesterol, LDL ve HDL kolesterol seviyeleri ile koroner arter hastalığı arasında bir ilişki olduğu bilinmektedir. Birçok bitkisel ürünün vücutta lipid ve kolesterol seviyelerini düşürdüğü ve aynı zamanda güvenilirliği rapor edilmiştir.

Bu çalışmanın amacı *Hypericum lysimachioides* bitkisinin etanol ekstraktının yüksek kolesterolü tavşanlarda serum lipid düzeyi ve serum lipid peroksidasyonuna olan etkisini araştırmaktır. Materyal olarak canlı ağırlıkları ortalama 3000 g olan 20 adet yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Tavşanlar dört gruba ayrıldı ve standart yem ile beslenen (I. Grup), standart yem ve *H. lysimachioides* bitkisinin etanol ekstraktı (50mg/kg vücut ağırlığı) (Grup II), standart yem, *H. lysimachioides* bitkisinin etanol ekstraktı (50mg/kg vücut ağırlığı) ve kolesterol (100mg/kg vücut ağırlığı) (Grup III) ve son olarak standart yem ve kolesterol (100mg/kg vücut ağırlığı) (Grup IV) içeren yemler 5 hafta süreyle verildi.

Kan örnekleri çalışmanın başlangıcında ve 5 haftanın sonunda grupları oluşturan tavşanların marjinal kulak venasından toplandı. Serum kolesterol ve trigliserid Linear Chemicals'dan, HDL kolesterol BioSystems'den temin edilen kit ile, LDL kolesterol Friedewald Formülü kullanılarak ölçüldü. Verilerin istatistiksel analizi tek yönlü varyans analizi ile yapıldı.(ANOVA)

IV grupta kolesterol alımı, serum kolesterol ve LDL kolesterol seviyesini I. grup, II. grup ve III. gruba göre belirgin oranda arttırdı. Trigliserid seviyesi, karşılaştırılan tüm gruplarda benzer bulundu. Serum total kolesterol seviyeleri Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında otoanalizör ile de ölçüldü. IV. grup diğer gruplara göre istatistiksel anlamda farklı bulundu.

Kolesterolce zengin diyet tüketimi aterosklerozun başlangıç aşaması olan lipid peroksidasyonunu artırır. Bu çalışmada, 5. haftanın sonunda serum lipid peroksidasyonu TBARS metoduyla ölçüldü. Bu metodun temeli bir molekül malondialdehitin iki molekül TBA ile kırmızı malondialdehit-TBA kompleksi oluşturmasıdır. IV. grupta yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanlardaki TBARS seviyesi karşılaştırılan diğer gruplara göre anlamlı bir şekilde yükseldi. Kolesterol ile *H. lysimachioides* bitkisinin etanol ekstraktını alan III.

Grup tavşan serumları örneklerinde, IV. Grup tavşan serum örnekleri ile karşılaştırıldığında, TBARS seviyesinin belirgin oranda azaldığı görüldü.

Histopatolojik olarak, bitkinin aorta torakaliste arteriosklerotik ve karaciğerde hidropik dejenerasyon ve yağlı değişim lezyonlarının gelişim derecelerini azalttığı görüldü.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, *H. lysimachioides* bitkisinin etanol ekstraktının yüksek kolesterolü tavşanlarda total kolesterol ve LDL kolesterol seviyelerini kontrol edebileceğini, ayrıca antioksidant ve hipolipidemik bir etkiye sahip olabileceğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: *Hypericum*, hiperkolesterol, lipid peroksidasyonu, tavşan

SUMMARY

Cholesterol plays important roles in the human body. Abnormally high levels of cholesterol (hypercholesterolemia), however can be harmful. It is known that total cholesterol, LDL cholesterol and HDL cholesterol levels are correlated with risk of coronary artery disease. Many herbal medicinal products reported to have potential to reduce lipid and cholesterol in body and encourages safety profile.

The aim of this study was to investigate the effect of ethanol extract of *Hypericum lysimachioides* on serum lipid levels and serum lipid peroxidation in hypercholesterolemic rabbits. The material of the research consisted of 20 New Zealand rabbit with average body weight of 3000 g. The rabbits were divided into four groups and these groups were fed with diets containing standart pellets (Group I), standart pellets and ethanol extracts of *H. lysimachioides* (50mg/kg body weight) (Group II), standart pellets, ethanol extracts of *H. lysimachioides* (50mg/kg body weight) and cholesterol (100 mg/kg body weight) (Group III), and finally standart pellets and cholesterol (100 mg/kg body weight) (Group IV), for five weeks.

Blood samples were collected from marginal ear vein overnight fasted rabbits before and after five weeks treatment. Serum cholesterol and triacylglycerol were estimated using kits from Linear chemicals. HDL cholesterol was estimated using kit from BioSystems. LDL cholesterol was calculated by Friedewald's formula. Statistical significance of the data was analyzed using one way analysis of variance (ANOVA).

Rabbits fed with cholesterol increased serum cholesterol and LDL cholesterol level significantly in Group IV as compared to Group I, Group II and Group III. The level of serum triacylgcerol was found to be similar in all comparison groups. Serum total cholesterol levels were also analyzed in Central Laboratory, Medicine School, Dicle University, by using auto analyzer instrument. Statistically significant difference was found in Group IV as compared to all other groups.

The consumption of a cholesterol-enriched diets increases the degree of lipid peroxidation, which is one of the early processes of atherosclerosis.

In this study, lipid peroxides were measured in serum as TBARS method after 5 weeks of treatment. The basic principle of the method is the reaction of one molecule of malondialdehyde and two molecules of TBA to form a red malondialdehyde-TBA complex.

High cholesterol diet significantly increased the serum TBARS levels in the rabbits of Group IV compared to all other groups. The ethanol extract of *H. lysimachioides* with high cholesterol diet significantly lowered the serum TBARS levels in the rabbits of Group III compared to Group IV.

On account of histopathological findings, it was confirmed that ethanol extract of *H. lysimachioides* restrained the progression of the atherosclerotic lesions in the thoracic artery and of hydropic degeneration and fatty changes in the liver.

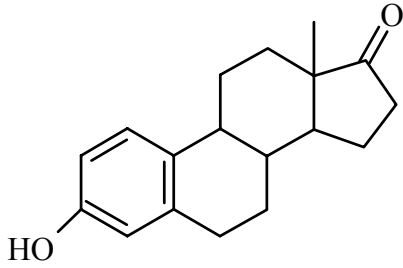
The results of this study show that ethanol extract of *H. lysimachioides* can control the rise in total cholesterol and LDL cholesterol in animals fed a high cholesterol diet and may also have antioxidant and hypolipidemic effect in hypercholesterolemic rabbits.

Key words: *Hypericum*, hypercholesterol, lipid peroxidation, rabbit

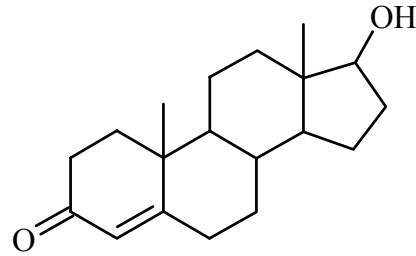
1. GİRİŞ

Kolesterol başta karaciğer olmak üzere tüm vücutta yaygın olarak bulunan bir çeşit lipid türüdür. İnsan vücudunda bulunan kolesterol iki kaynaktan ileri gelir: birincisi karaciğerde vücut tarafından üretilir, ikincisi tüketilen gıdalardan alınır. Vücut tarafından günde 750-1500 mg kolesterol sentezlenir. Yiyeceklerle alınan kolesterol, vücutta sentezlenenin %20'si kadardır. Kandaki kolesterol seviyesi ile diyetle alınan kolesterol seviyesi arasında sıkı bir ilişki olduğu gösterilmiştir.² Diyetle alınan kolesterol miktarı arttıkça vücutta sentezlenen miktarda azalma olmaktadır. Ancak dışardan alınan kolesterol miktarı belli bir düzeyin üzerinde olursa kandaki kolesterol miktarı da artmaktadır. Gıdalarla alınacak kolesterol miktarı günlük 300 mg olarak belirlenmiştir.³

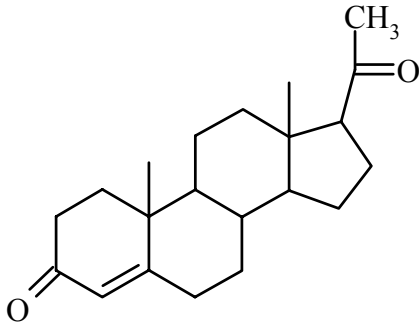
Vücutta sentezlenen ve dışardan alınan kolesterolün bir kısmı kortizol gibi kortikal hormonların, estrogen (dişilik hormonu), androjen (erkeklik hormonu), progesteron (gebelik hormonu) gibi seks hormonlarının, D vitamini ve safra asitlerinin sentezlenmesinde çıkış maddesi olarak kullanılır.



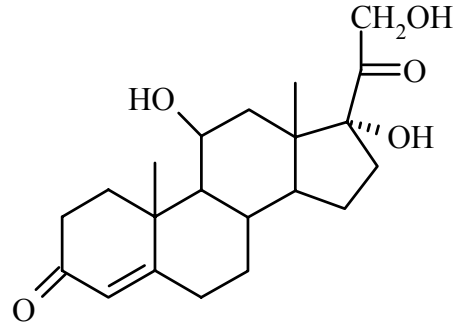
Estrojen



Testesteron



Progesteron

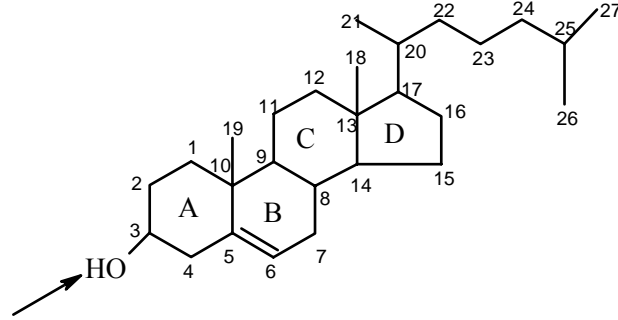


Kortizol

1 .1. Kolesterolün Yapısı, Metabolizması ve Biyosentezi

Yapısı

27 karbonlu bir steroid olan kolesterolün 3. karbonunda –OH, 5. ve 6. karbonlar arasında çift bağ ve 17. karbonunda sekiz karbonlu bir yan zincir bulunmaktadır.



Yağ asitlerinin bağlanma bölgesi

Üçüncü karbonundaki hidroksil genelde 16 veya daha fazla karbonlu yağ asitleri ile esterleşmektedir. Kolesteroldeki –OH grubu ile 17. karbondaki sekiz karbonlu yan zincir β konfigürasyonundadır.

İlk defa 1784 yılında safra taşlarından izole edildiği için safra sterolü (kole: safra) anlamına gelen kolesterol adı verilmiştir. Et, süt, tereyağı ve yumurta sarısı gibi hayvansal kaynaklı besinlerin kolesterol içeriği zengindir. Hayvansal kaynaklı besinlerde daha çok 16 ve 18 karbonlu (doymuş ve doymamış yağ asitleri ile) oluşan kolesterol esterleri bulunmaktadır.

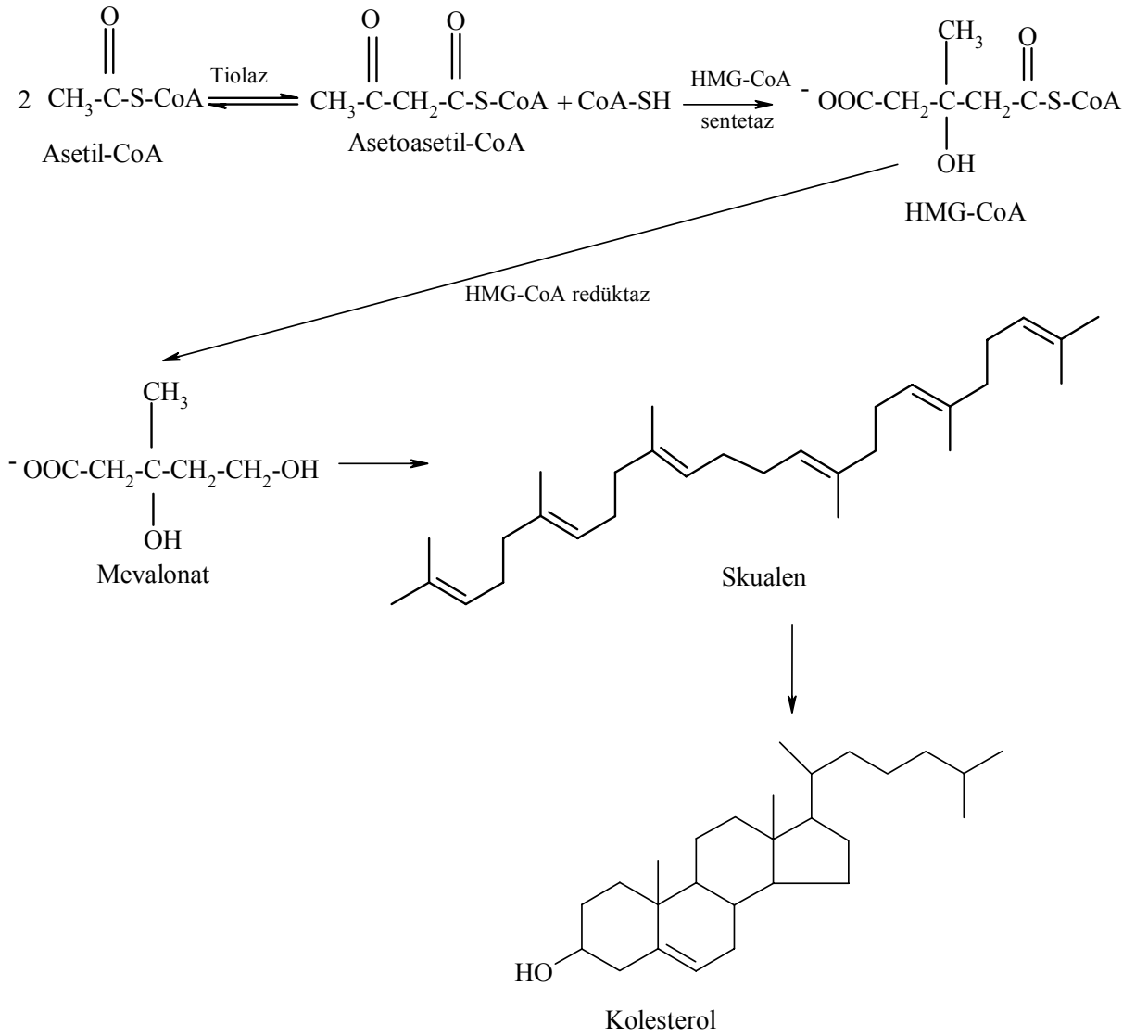
Metabolizması

Besin yolu ile hayvansal kaynaklı besinlerden alınan ve genellikle ester kolesterol şeklinde bulunan kolesterolün emilebilmesi için serbest hale geçmesi gerekmektedir. İnce bağırsak lümeninde besinler ve safra salgısı ile gelen ester kolesterolün hidrolizi pankreastan salgılanan kolesterol esteraz ile olmaktadır. İnaktif olan pankreas kolesterol esteraz, safra asitlerinin etkisiyle en az beş molekülün biraraya gelmesi ile polimerleşerek aktif hale geçmektedir. Ayrıca intestinal mikrovillular içerisinde başka bir kolesterol esteraz daha bulunmaktadır. Bu iki enzim yardımıyla ester kolesterolün 3. karbonundaki ester bağı yıkılmakta, serbest kolesterol ve yağ asidi elde edilmektedir. Bu şekilde serbestleşen kolesterol pasif difüzyon ile emilmektedir. Emilim sonrası ince bağırsak mukoza

hücrelerinde uzun zincirli yağ asitleri ile tekrar esterleşmekte ve lenf sıvısı ile boşaltıma katılmaktadır. Lenf sıvısına giren kolesterolün % 80-90 kadarı ester kolesterol şeklindedir. Emilmeyen kolesterol de bağırsak bakterilerinin etkisiyle dışkıyla atılmaktadır.

Biyosentezi

Başta karaciğer olmak üzere deri, adrenal korteks, beyin, ince bağırsak ve testis gibi organlarda asetil-CoA moleküllerinden kolesterol sentezlenmektedir. Kolesterol sentezinde kullanılan asetil CoA molekülleri yağ asitlerinin oksidasyonundan, piruvattan ve amino asitlerden sağlanmaktadır. Kolesterol sentezinde ara ürün olarak oluşan izopentil pirofosfattan A vitamini, E vitamini, K vitamini, karotenler, dolikoller ve elektron taşıyan kinonlar sentezlenmektedir.



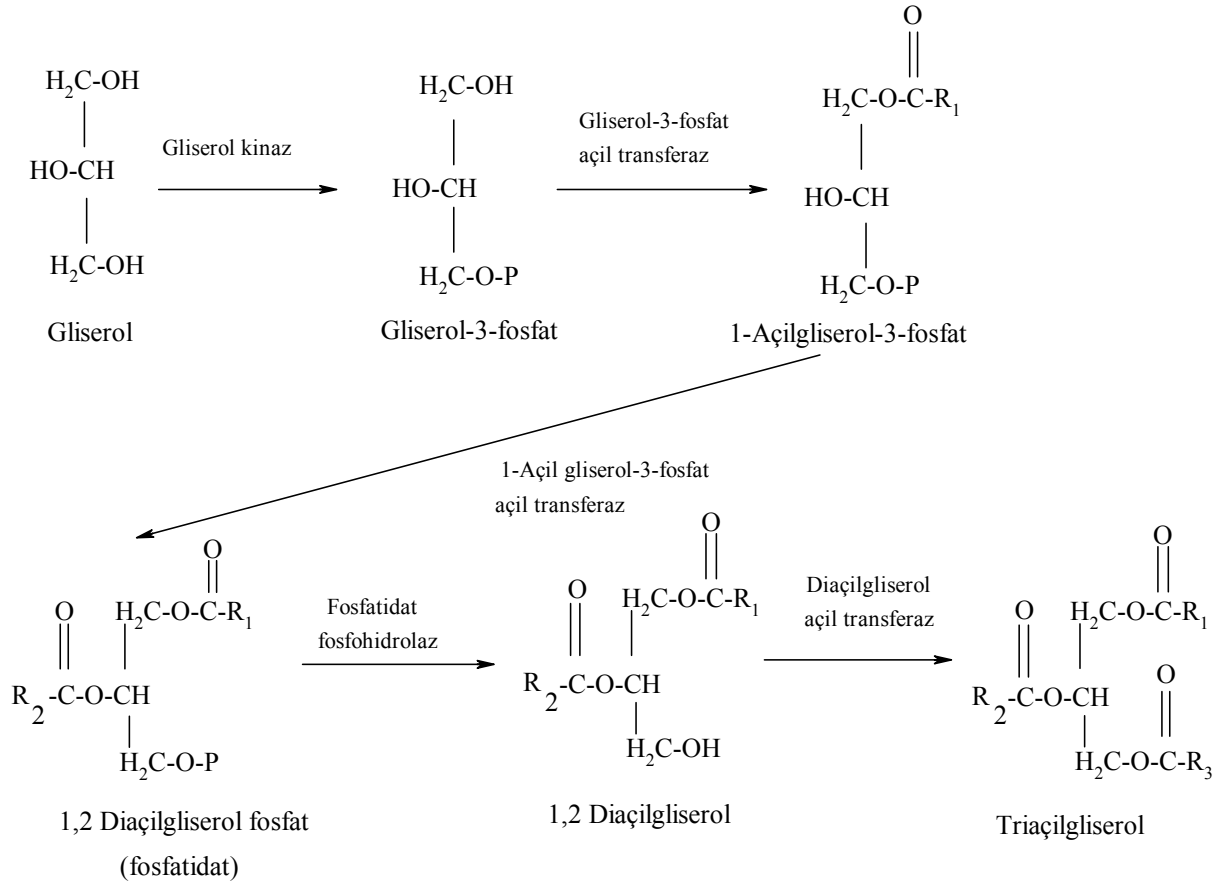
Şekil-1: Kolesterol biyosentezinin başlıca basamakları

1. 2. Trigliseritler ve Biyosentezi

Gliserolün üç alkol grubunun yağ asitleri ile esterleşmesi sonucu oluşan triaçilgliseroller, trigliserid olarak da adlandırılmaktadırlar. Gliserolün hidroksil gruplarından birinin yağ asidi ile esterleşmesi ile monoaçilgliserol, iki yağ asidi ile esterleşmesi sonucu diaçilgliserol, üç yağ asidi ile esterleşmesi sonucu triaçilgliserol meydana gelmektedir.

Aynı cinsten üç yağ asidi içeren triaçilgliseroller, basit triaçilgliserol olarak adlandırılmaktadırlar. Karışık triaçilgliseroller, iki veya daha fazla sayıda farklı yağ asidi içermektedirler. Plazmada 200 mg/dL altındaki trigliserid değeri normal, 200-400 mg/dL arası sınır değerde, 400-1000 mg/dL arası yüksek kabul edilmektedir.

Vücuttaki lipidlerin büyük bir kısmını trigliseridler oluşturmaktadır. Yağ asitlerinin depo şekli olan trigliseridler omurgalıların karaciğer, bağırsak ve yağ dokusu hücrelerinde aktif olarak sentezlenmektedir.



Şekil-2: Trigliseridlerin biyosentezi

1. 3. Plazma Lipoproteinleri

1. 3. 1. Tanımı ve Tipleri

Plazma lipoproteinleri apolipoproteinler olarak adlandırılan bir grup özgün proteinler ve lipidlerin moleküler kompleksleridir. Lipoproteinler suda çözünmeyen lipidlerin çözünür lipid ve protein kompleksleri şeklinde kandaki taşınma şekilleridir. Lipoproteinlerin yapısındaki lipidler trigliserid, kolesterol esterleri, serbest kolesterol ve fosfolipidlerden meydana gelir. Genel olarak yapılarında lipoproteinlere özgü proteinler olarak bilinen on değişik apolipoprotein bulunmaktadır.⁴

Apoproteinler ("apo" proteinin lipidsiz formunu belirtir) lipidlerin suda çözünürlüklerini etkileyen özgül taşıyıcı proteinlerdir. Bunlar aynı zamanda reseptörler için bir çeşit tanıma bölgeleri sağlarlar. İnsan plazmasındaki lipoproteinlerde en az dokuz farklı apoprotein bulunur.

Kolesterol taşınmasında rol oynayan lipoproteinler şilomikronlar, çok düşük yoğunluklu lipoproteinler (VLDL=very low density lipoproteins), düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL=low density lipoproteins), orta yoğunluklu lipoproteinler (IDL=intermediate density lipoproteins) ve yüksek yoğunluklu lipoproteinler (HDL=high density lipoproteins) olmak üzere beş gruba ayrılır.

1. 3. 2. Şilomikronlar ve Metabolizması

Diyetle alınan triaçilgliserollerini ince bağırsak mukozasında gliserol ve yağ asitlerine hidrolizlenerek emilir ve kan akımına verilirken yeniden oluşan triaçilgliseroller, bir apoprotein ile kompleksleşerek şilomikronları oluşturur. Şilomikronlar yoğunluk olarak en az (< 0.95 g/mL), boyut olarak en büyük (>1000 Å) olan lipoproteinlerdir. Şilomikronlar dolaşıma dahil olduktan sonra, trigliseritlerden yağ asitlerinin hidrolizini katalizleyen ve şilomikronları trigliseritten fakir, kolesterolden zengin şilomikron kalıntılarına dönüştüren lipoprotein lipazın (LPL) etkisine maruz kalır. LPL'nin etkisinden sonra meydana gelen şilomikron kalıntıları, karaciğer tarafından dolaşımdan temizlenir. Apoprotein E (Apo E), bu kalıntıların karaciğer hücreleri tarafından temizlenmesinde önemli role sahiptir.

1. 3. 3. VLDL ve Metabolizması

VLDL, 300-700 Å çapında partiküllerdir. VLDL, karaciğerde sentezlenen lipidlerin periferik dokulara taşınmasında görevlidir. Dolaşıma dahil olan VLDL'ler tıpkı şilomikronlar gibi periferik dokularda LPL'nin etkisine maruz kalır ve büyük oranda trigliseridlerden arınır. Bu arada VLDL'den HDL'ye trigliserid, HDL'den VLDL'ye kolesterol transferi olur. Böylece VLDL trigliserid yönünden iyice fakirleşirken kolesterol esteri içeriğinde bir artma meydana gelir. Çapı küçülen ve yoğunluğu artan VLDL dolaşımdaki LDL'nin bir öncüsüdür.

1. 3. 4. IDL ve Metabolizması

IDL yaklaşık 1.006 g/mL yoğunluğa sahip ve plazmada düşük konsantrasyonlarda bulunan partiküllerdir. IDL, LDL'nin öncüsüdür ve lipazların etkisiyle plazmada oluşturulan VLDL'nin katabolizması sonucu oluşur.

1. 3. 5. LDL ve Metabolizması

LDL yaklaşık olarak 200 Å çapa sahip ve boyut olarak öncülerine (VLDL ve IDL) oranla daha küçüktür. Yoğunlukları yaklaşık 1.019-1.063 g/mL'dir. LDL, yaklaşık %75 oranında lipid içerir. Kolesterol miktarı en fazla olan lipid grubudur ve LDL'nin yaklaşık %50'sini oluşturur. Görevi kolesterolü karaciğerden periferik dokulara taşımaktır. Apo B-100 LDL'deki tek apoproteindir. Plazma LDL'nin LDL reseptörü aracılığıyla karaciğer tarafından uzaklaştırılmasında yapısındaki Apo B-100 ve hücre yüzeyindeki reseptör sayısı etkilidir. LDL, bilinen en aterojenik faktördür. Kandaki LDL konsantrasyon düzeyinin yükselmesi aterosklerozun (damar tıkanıklığı) habercisi olarak kabul edilmektedir.^{4,5}

1. 3. 6. HDL ve Metabolizması

HDL'ler, lipoproteinler içerisinde yoğunluk olarak en fazla (d=1.063-1.210 g/mL), çap olarak en küçük olan (70-120 Å) partiküllerdir. Apo A-I ve Apo A-II HDL'deki ana apoproteinler olup bir HDL partikülünün %50'sini oluştururlar. HDL'nin başlıca görevi kolesterolü periferik dokulardan alarak karaciğere taşınmasını sağlamaktır. Bir anlamda da kolesterolün ters naklini yapmaktadır.

HDL, yoğunlukları dikkate alınarak HDL₁, HDL₂ ve HDL₃ olmak üzere 3 sınıfa ayrılır. HDL sınıfları içerisinde Apo-E'yi yapısında bulunduran tek fraksiyon HDL₁ olup yaklaşık total plazma Apo-E'nin % 50'sine sahiptir.⁵

Halk arasında HDL 'iyi kolesterol', LDL 'kötü kolesterol' olarak bilinmektedir. HDL'nin çok, LDL'nin az olması istenen durumdur. HDL kolesterol kan içinde kolay hareket eder ve stabildir. Hücre duvarına yapışmaz ve kalp hastalıklarını önlemeye yardımcı olur. LDL kolesterol seviyesinin yüksek olması koroner damar hastalıklarına ve damar sertliğine yol açmaktadır. LDL kolesterol proteine oranla daha çok yağ içerir ve stabil değildir. Damar çeperlerine yapışarak plak oluşturur.

Ulusal Kolesterol Eğitim Programı, vücutta bulunan kolesterolü şu şekilde sınıflandırmıştır: 160-200 mg/dL total kolesterol istenen miktar, 200-239 mg/dL şüpheli, 240 mg/dL veya yukarısı riskli kabul edilmektedir. HDL için belirlenen değer 40 mg/dL veya yukarısı, LDL için belirlenen değer 100 mg/dL veya aşağısı olmalıdır.⁶

LDL miktarının yüksekliği ile kalp hastalıkları riskinin artması özdeşleşmiştir. Kandaki toplam plazma kolesterolünün azalması kalp hastalıkları riskini azalttığı A.B.D. Lipid Research Clinic programının raporunda belirtilmiştir.⁷ Amerika'da her yıl 65 milyon kişide kalp ve damar hastalıkları tespit edilmekte ve bir milyon kişi bu hastalıklar nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Bu ülkede bu hastalıklar nedeniyle işgücü kaybı ve tıbbi harcamalar 83 milyar dolara mal olmaktadır.⁸

1. 4. Kolesterol Tedavisinde Kullanılan İlaçlar

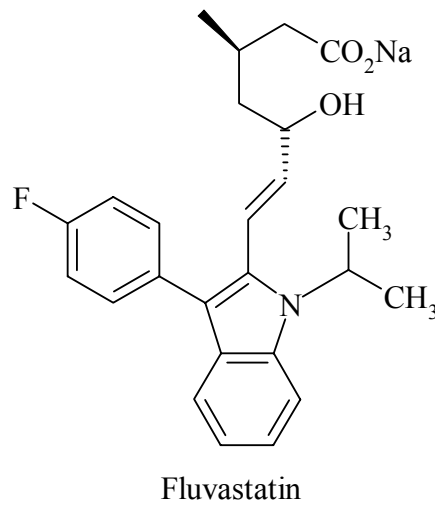
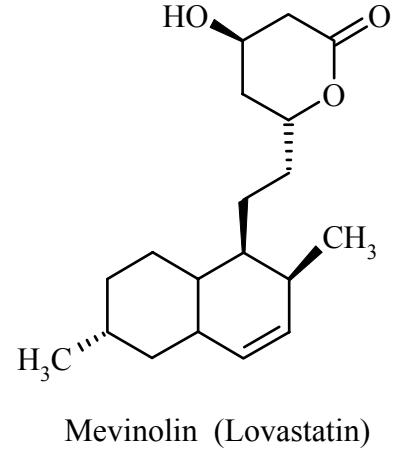
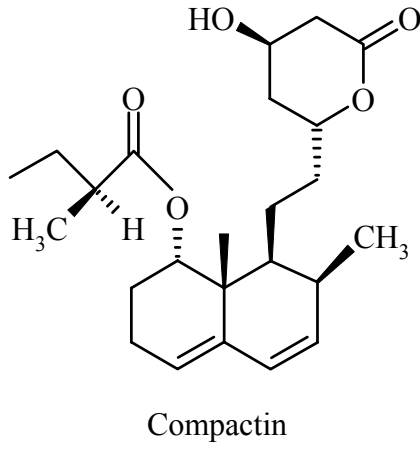
1. 4. 1. Statinler

Statinler olarak bilinen β -hidroksi- β -metilglutaril Koenzim-A (HMG-CoA) redüktaz inhibitörleri yüksek kan kolesterol seviyesi bulunan hastalarda ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde kullanılan en etkili ajandır. Statinler kan trigliserid seviyesini %10-30, kolesterol seviyesini %15-40, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterol seviyesini %20-60 oranında düşürürler. Koroner arter hastalığı bulunan veya bulunmayan kişilerde kardiyovasküler ölüm oranını azalttığına dair birçok çalışma vardır. Oral olarak alınan statinler, kolesterol sentezinde hız belirleyici basamak olan β -hidroksi- β -metilglutaril-Koenzim A redüktaz (HMG-CoA) enzimini yarışmalı olarak inhibe edici etki gösteriler. Bu enzim HMG-CoA'nın L- mevalonata dönüşmesini katalizler ve bu inhibisyonla

statinler L-mevalonata oluşturulacak kolesterolü önlemiş olur.⁹ Halen bir kısmı kullanımda olan farklı moleküler yapıda statinler bulunmaktadır.

Mevastatin ilk çalışılmaya başlanan statin olup prototip olarak kabul edilmektedir. Tokyo'da Sankyo Company'de Endo ve arkadaşları tarafından sterol biyosentezini in vitro inhibe edebilecek 8000'e yakın mikroorganizma metabolitleri incelendi.¹⁰ *Penicillium citrinum* mantarında bulunan 3 aktif bileşikten en aktif olanı "mevastatin" olarak adlandırıldı.

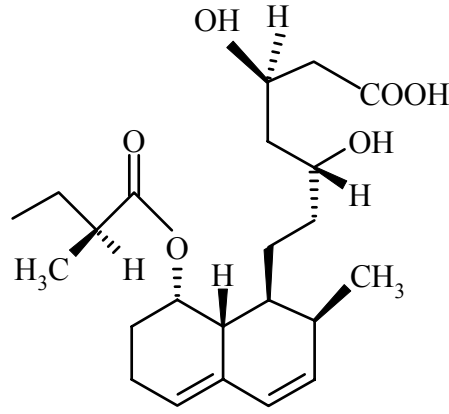
İngiltere'de Beecham Pharmaceuticals'da Brown ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, *Penicillium brevicompactum* mantarından aktif bir bileşik elde edilerek bu bileşiğe "compactin"adı verildi.¹¹ Benzer yapıda bir bileşik Merck firmasındaki bir grup tarafından *Aspergillus terreus*'dan izole edildi ve "mevinolin" olarak adlandırıldı.¹²



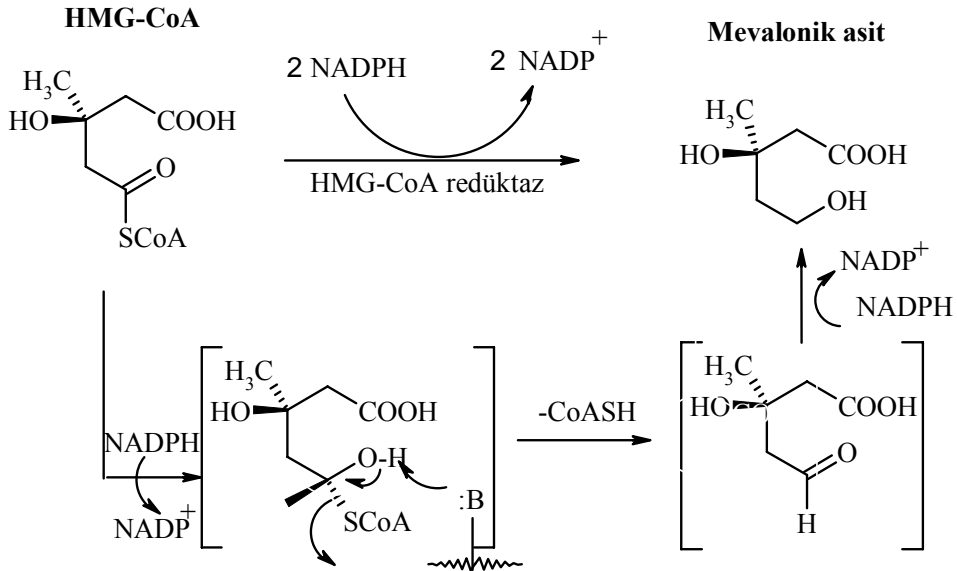
HMG-KoA redüktaz inhibitörleri, total kolesterol ve LDL düzeylerinde diğer hipolipidemik ilaçlara oranla daha etkin azalma sağlamaları nedeniyle hiperkolesteroleminin

tedavisinde tercih edilirler. Güçlü bir HMG-KoA redüktaz inhibitörü olan fluvastatinin hipokolesterolemik etkisinin yanısıra son zamanlarda *in vitro* oksidasyonu azalttığı, ¹³ sıçan karaciğer mikrozomlarına serbest radikalleri tutucu ve lipid peroksidasyonunu inhibe edici¹⁴ özellikler gösterdiği de bilinmektedir.

Lovastatin vücuda girmeden önce aktivite göstermez. Vücutta hidrolizi sonucu oluşan metaboliti 3,5-dihidroksivalerik asit (şekil-3), HMG-CoA'nın, HMG-CoA redüktaz enzimi ile indirgenerek mevalonik aside dönüşmesi sırasında meydana gelen bir ara ürün ile benzer yapı göstermektedir (Şekil-4).



Şekil-3: 3,5-dihidroksivalerik asit



Şekil-4: HMG-CoA'dan mevalonik asit sentezi

1. 4. 2. Bitkiler

Hastalıkların önlenmesi ve tedavisindeki etkinlikleri açısından bugüne kadar çok sayıda bitkisel kaynaklı besin veya besin ögesi incelenmiştir. Bitkilerde bulunan karotenoidler, antioksidant vitaminler, fenolik bileşikler, steroidler birçok hastalığın önlenmesinde rol oynamaktadır.

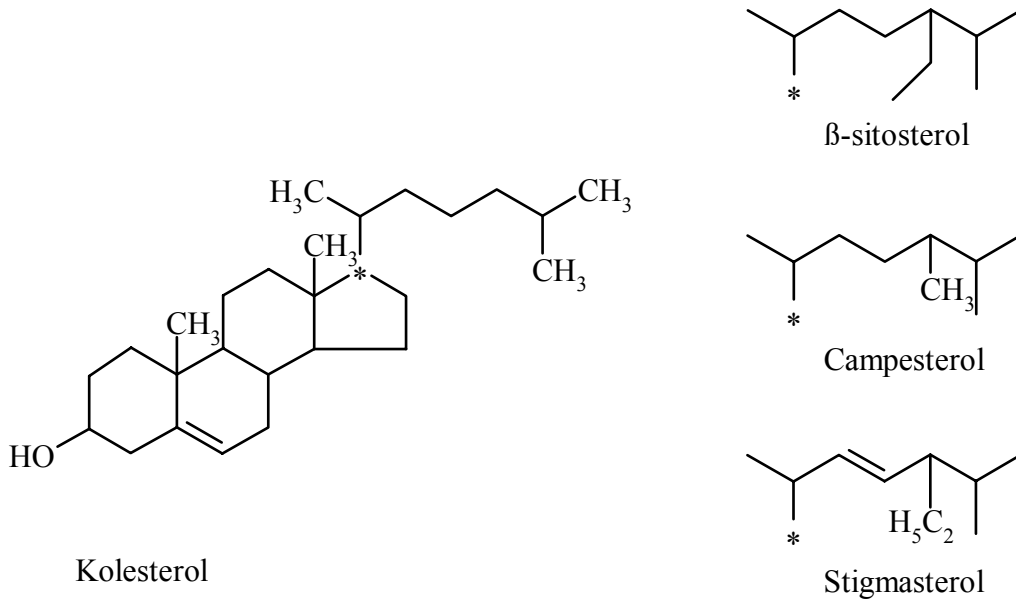
Sağlık üzerinde olumlu etkileri olan bitkisel kaynaklı biyolojik olarak aktif bileşiklere fitokimyasallar denmektedir. ‘Fito’ Yunanca’da bitki anlamına gelmektedir, ‘kimyasal’ ise bitkilerde doğal olarak oluşan kimyasal bileşikleri belirtmektedir. Fitokimyasalların kanser¹⁵, koroner kalp hastalığı¹⁶, enflamatuvar¹⁷, ülser¹⁸, viral ve parazitik hastalıkların¹⁹ tedavisine yönelik yapılan bilimsel araştırmaların sayısı hızla artmaktadır.

Fitokimyasallar sağlık üzerindeki olumlu etkilerini şu yollarla sağlarlar:

- Biyokimyasal reaksiyonlarda substrat olarak
- Enzimatik reaksiyonlarda kofaktör olarak
- Bazı enzimatik reaksiyonların inhibitörü olarak
- Bağırsaklarda zararlı ve istenmeyen maddeleri bağlayıp uzaklaştıran absorban olarak
- Hücre membranı ve hücre içinde reseptörleri agonize ve antagonize eden ligandlar olarak
- Esansiyel besin öğelerinin absorpsiyon ve stabiliteğini artırarak
- Zararlı mikroorganizmaları özgül olarak inhibe ederek.

1. 5. Fitosteroller ve Hiperkolesterolemi

Fitosterollerin hiperkolesterolemik hastalarda plazma kolesterol düzeyini azaltabileceğinin anlaşılması 1983 yılında yapısal benzerliklerinin ortaya konulmasından sonradır. Fitosterollerin yan zincirleri değişik olsa da kolesterolünkine benzemektedir. Bitki sterollerini ekstra olarak metil grubu, etil grubu ya da çift bağ içerirler. En çok bilinen bitki stanol ve sterollerini: sitosterol, campesterol, stigmasteroldür (Şekil-5).



Şekil-5: Bitki stanol ve sterollerinin yapısı

Fitosteroller serum kolesterol düzeyini azaltmaktadır. Temel kolesterol düşürücü etkilerini bağırsaklardan kolesterol emilimini inhibe ederek yapmaktadır. Miseller içinde çözünürlükte kolesterol ile yarışır. Yapılarında bulunan metil ya da etil grupları nedeniyle hidrofobik özelliklerinin fazla olması onlara misele tutunmada avantaj kazandırır. Böylelikle misele tutunan kolesterol düzeyi azalır. Misel aracılığıyla incebağırsağa geçen steroller incebağırsakta bulunan ve sadece sterolleri tanıyan özgün proteinler (ABCG5-ABCG8) yardımıyla incebağırsak dışına itilir. Bitki sterolleri, kolesterol fazlası ile birlikte dışkı yoluyla dışarı atılır.²⁰

1. 6. Serbest Radikaller

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanır. Bunlara örnek olarak hidroksil, süperoksit, nitrik oksit ve lipid peroksit gibi radikaller verilebilir.²¹

Serbest radikallerin oluşum hızı, bunları etkisiz hale getiren veya azaltan katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi bazı endojen antioksidan enzimlerden oluşan savunma sistemlerinin hızı dengede olduğu sürece organizma etkilenmez. Ancak bu denge bozulursa serbest radikaller zararlı olmaya başlar ve oksidatif stres olarak etkilerini göstermeye başlarlar. Oksidatif stres basit bir şekilde, vücudun antioksidant savunma mekanizması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir.²²

1.7. Lipid Peroksidasyonu

Lipidler serbest radikal hasarına karşı en hassas yapılardır. Serbest radikaller çoklu doymamış yağ asitlerindeki çift bağlarla kolayca reaksiyona girerek lipidlerin peroksidasyonuna neden olurlar.²³ Radikal aracılı bir zincir reaksiyon mekanizması şeklinde gelişen lipid peroksidasyonu sırasında, doymamış yağ asitlerinin yan zincirlerinde yeniden düzenlenme söz konusudur. Lipid peroksidasyonu Şekil-5'te de görüldüğü gibi üç aşamada gerçekleşmektedir:

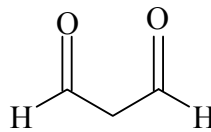
- 1-Başlangıç basamağı
- 2-İlerleme basamağı
- 3-Sonlanma basamağı

Başlangıç basamağı: Yeterli reaktivitedeki oksijen kaynaklı bir radikalın bir metilen grubundaki alilik hidrojen atomunu koparması ile gerçekleşmektedir. Yağ asidindeki çift bağ varlığı C-H bağını zayıflatarak hidrojen atomunun kopartılmasını kolaylaştırmaktadır. Hidrojen atomu tek bir elektron içerdiği için başlangıç reaksiyonu sonunda geride karbon üzerinde eşleşmemiş bir elektron kalmaktadır.

İlerleme basamağı: Karbon merkezli radikal, moleküler bir düzenleme ile izole çift bağ formundan konjuge dien formuna geçer. Oluşan lipid alkil radikali oksijen ile reaksiyona girerek lipid peroksil radikalini oluşturur. Lipid peroksil radikali ise bir başka yağ asidinden hidrojen atomunu kopararak lipid hidroperoksidi ve yeni bir lipid alkil radikalini oluşturarak yeni bir zincir reaksiyonu başlatabilmektedir.

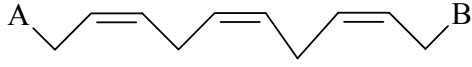
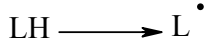
Sonlanma basamağı: Lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonları iki lipid peroksid radikali etkileşinceye kadar sürmekte ve siklik peroksid oluşumu ile sonlanmaktadır

Lipid peroksidasyonuna uğramış yağ asitlerinin katabolizması sonucu aldehit yapısında yıkılım ürünleri ortaya çıkmaktadır. Bu aşama metal iyonları tarafından hızlandırılmaktadır. Lipid peroksidasyonu sonucu meydana gelen ürünlerden biri malondialdehittir.



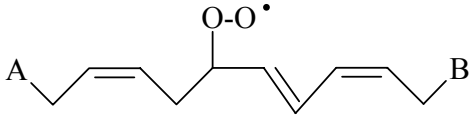
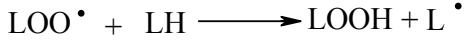
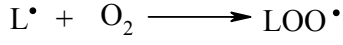
Malondialdehit

Başlama

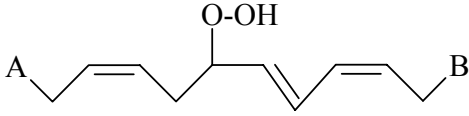


Çoklu doymamış yağ asidi radikali (L•)

Zincir tepkimesinin ilerlemesi

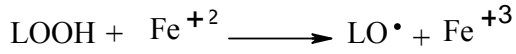


Lipid peroksit radikali (LOO•)

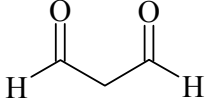


Lipid peroksit (LOOH)

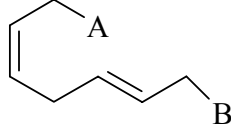
Zincir dallanması



Parçalanma

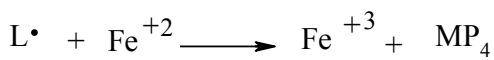
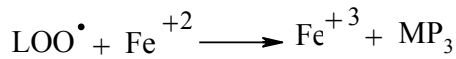
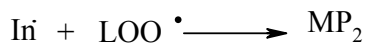
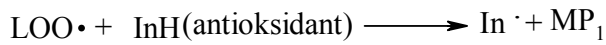
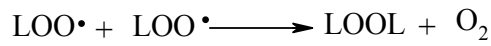
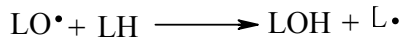


Malondialdehit



Parçalanmış lipid peroksit

Zincir tepkimelerinin sonlanması

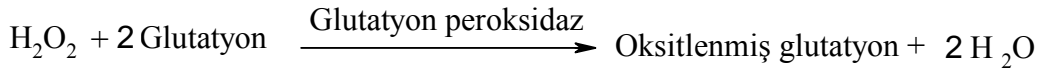
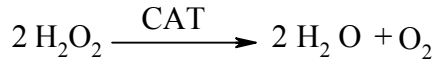


MP₁₋₄ =Daha sonraki tepkimelere katılmayan tanımlanamamış moleküller

Şekil-6: Lipid peroksidasyonu

1. 8. Antioksidantlar

Hücrelerde oksidatif hasarı önleyen, yok eden veya kısmen azaltan bazı mekanizmalar bulunmaktadır. Direkt etki ile oksidantları inaktif hale getiren maddelere antioksidantlar adı verilmektedir. Antioksidant savunma mekanizmaları; A, E, ve C vitaminleri, beta karoten, indirgenmiş glutatyon (GSH) gibi bazı kimyasal maddeler ile çeşitli antioksidant enzimlerden oluşur. E vitamini, yapısındaki fenolik hidroksil grubundan dolayı güçlü bir antioksidant özellik gösterir. Zincir kırıcı antioksidatif etkinliği ile membran fosfolipidlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal hasarından koruyan ilk savunma hattını oluşturur. En önemli antioksidant enzimler; süperoksit anyonunu H₂O₂'ye dönüştüren süperoksit dismutaz (SOD), organik peroksitleri detoksifiye eden glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve H₂O₂'yi suya indirgeyen katalaz (CAT)'dır (Şekil-6).



Şekil-6: Antioksidant enzimlerin mekanizmaları

1. 9. Bitkilerin Lipid Peroksidasyonunu Önlemesi

Bitkilerin tedavi amaçlı kullanımı modern tıbbın kurulmasından çok önceki zamanlara uzanmaktadır. Günümüzde de, özellikle son 20 yılda bu alanda çok sayıda epidemiyolojik ve deneysel çalışmalar yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir. Özellikle ABD ve Avrupa'da bitkisel ve doğal ürünlere artan bir ilgi gözlenmektedir. Yapılan epidemiyolojik ve deneysel çalışmaların ışığında, bitkisel besinlerce zengin beslenmenin kanser ve ateroskleroz gibi kronik bir takım hastalıkların gelişimini azaltabileceği söylenmektedir.^{24,25} Oksidatif stres bu kronik hastalıkların etiolojisinde önemli bir yer almaktadır. Bitkisel ürünler de antioksidant özellikleri nedeniyle bu hastalıklarda koruyucu rol oynuyor olabilirler.

Birçok hastalığın gelişmesinde serbest radikallerin rolü olduğundan fitokimyasallar giderek daha çok önem kazanmaktadır. Serbest radikallerin yarattığı oksidatif stresin

önlenmesi veya etkisinin en aza indirilmesi için yeterli miktarda antioksidant tüketilmelidir. Tükettiğimiz sebze, meyve ve tahıllarda yaklaşık 8.000 farklı fitokimyasal vardır. Bitkilerde bulunan bu fitokimyasalların yapay olarak taklit edilmesi zordur.

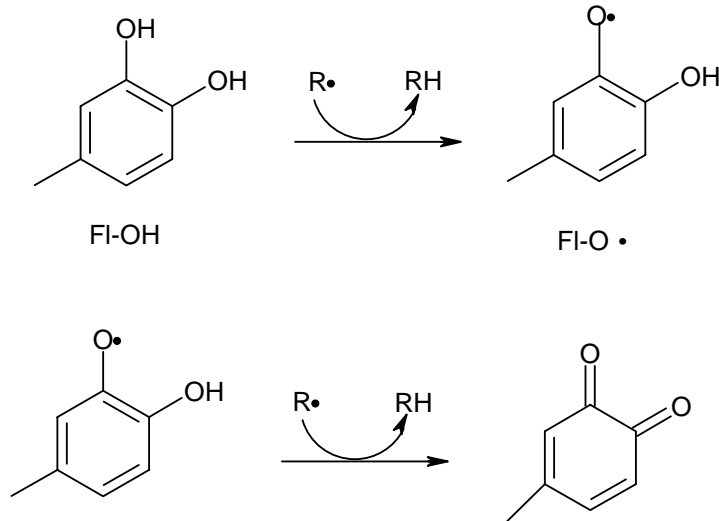
Bitkilerde bulunan ve antioksidant özellik gösteren en önemli yapılardan biri flavonoidlerdir. Flavonoidler bir asrı aşkın bir süredir bitkisel pigmentler olarak bilinmektedir. Polifenolik bileşikler grubundan olup bütün bitkilere dağılmış durumdadır. *In vitro* çalışmalarda antioksidant ve serbest radikal yakalama özellikleri dikkatlerin flavonoidler üzerine toplanmasına sebep olmuştur.²⁶ Flavonoidler serbest radikal yakalayıcısı olmaları, enzim aktivitelerini düzenlemeleri, antibiyotik, antiallerjen, antidiyaretik, antiülser ve antiinflamatuvar özellik göstermeleri nedeniyle araştırmacıların ilgisini çekmiştir.^{27,28}

Finlandiya'da 9959 kadın ve erkek üzerinde yapılan bir çalışmada flavonoid alımı ile kanser arasında ters orantı olduğu saptanmıştır. Flavonoid alımı yüksek olanlarda 24 yıllık izlem sonunda akciğer kanseri oranının % 50 azaldığı gözlenmiştir.²⁹

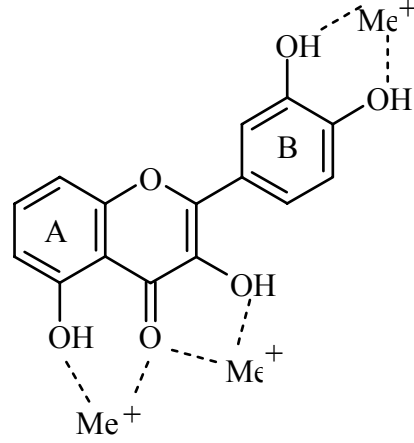
Hawai'de yapılan bir çalışmada ise elma ve soğan tüketimi ile akciğer kanseri arasında ters orantı belirlenmiştir. Soğan tüketimi ile lenfosit DNA'sının kırılma direncinin arttığı ve idrarda oksidatif metabolitlerin azaldığı gösterilmiştir.³⁰

Flavonoidler lipid peroksidasyonu iki şekilde önleyebilir:

1. Radikal tutucu olarak (Şekil-8).
2. Geçiş metalleriyle şelat oluşturup Fenton Reaksiyonu'nun gerçekleşmesini önleyerek (Şekil-9).



Şekil-8: Flavonoidlerin radikal tutucu olarak etki göstermesi



Şekil-9: Flavonoidlerin metallerle şelat oluşturması

1. 10. Koroner Arter Hastalıkları ve Lipid Metabolizması Bozuklukları ile İlişkisi

Kalp kasını besleyen arterlerde (koroner arterler) oluşan lezyonlar veya plaklar arterlerdeki kan akışının bozulmasına yol açan hastalık sürecini, ateroskleroza başlatmaktadır. Lipid birikimi ve hücrenin buna reaksiyonu, arter lümeninin daralmasına, hücrelere oksijen ve hücre yaşamı için gerekli diğer maddelerin yetersiz oranda gitmesine neden olmaktadır.

1. 10.1. Normal Arter Yapısı

Arter duvarlarında intima, media ve adventisya olmak üzere üç morfolojik bölge bulunmaktadır.

İntima: İntima bütün arterlerin lümeninde bulunan, endotel hücrelerden oluşan tek tabakalı, kesintisiz ve matriks açısından zengin bir yapı göstermektedir. Aterosklerotik lezyonların geliştiği bölgedir.

Media: Arter duvarının en geniş bölgesi olan media, düz kas hücrelerinden oluşmaktadır. Bu bölge iç ve dış elastik bant ile çevrelenmiştir. İntima ve media iç elastik bant ile birbirinden ayrılmaktadır.

Adventisya: Damarın dış yüzeyini çevreleyen gevşek bir bağ dokusundan oluşmaktadır. Adventisya, arter duvarlarını besleyen küçük kan damarları ve lenfatik kanallar içermektedir.

1. 10. 2. Aterogenez ile İlgili Arter Hücreleri

Endotel: Arterlerin iç yüzeyini kaplayan endotel hücreleri devamlı, kesintisiz, sık bir tabaka oluşturmaktadır. Dolaşımdaki ürünlerin aktif transport ile girişlerini kontrol etmektedir. Kan elementleri ve lipoproteinler için iyi bir bariyer gibi davranmaktadır.

Düz Kas Hücreleri: Arter duvarının asıl kitlesini oluşturan hücreler olan düz kas hücreleri, bağ dokusu molekülleri ve büyüme faktörlerini düzenleyen molekülleri üretmektedir. Bu hücreler kolesterol birikmesine bağlı olarak ateroskleroza özgül lipid dolu hücreler (köpük hücreleri) haline gelebilmektedir.

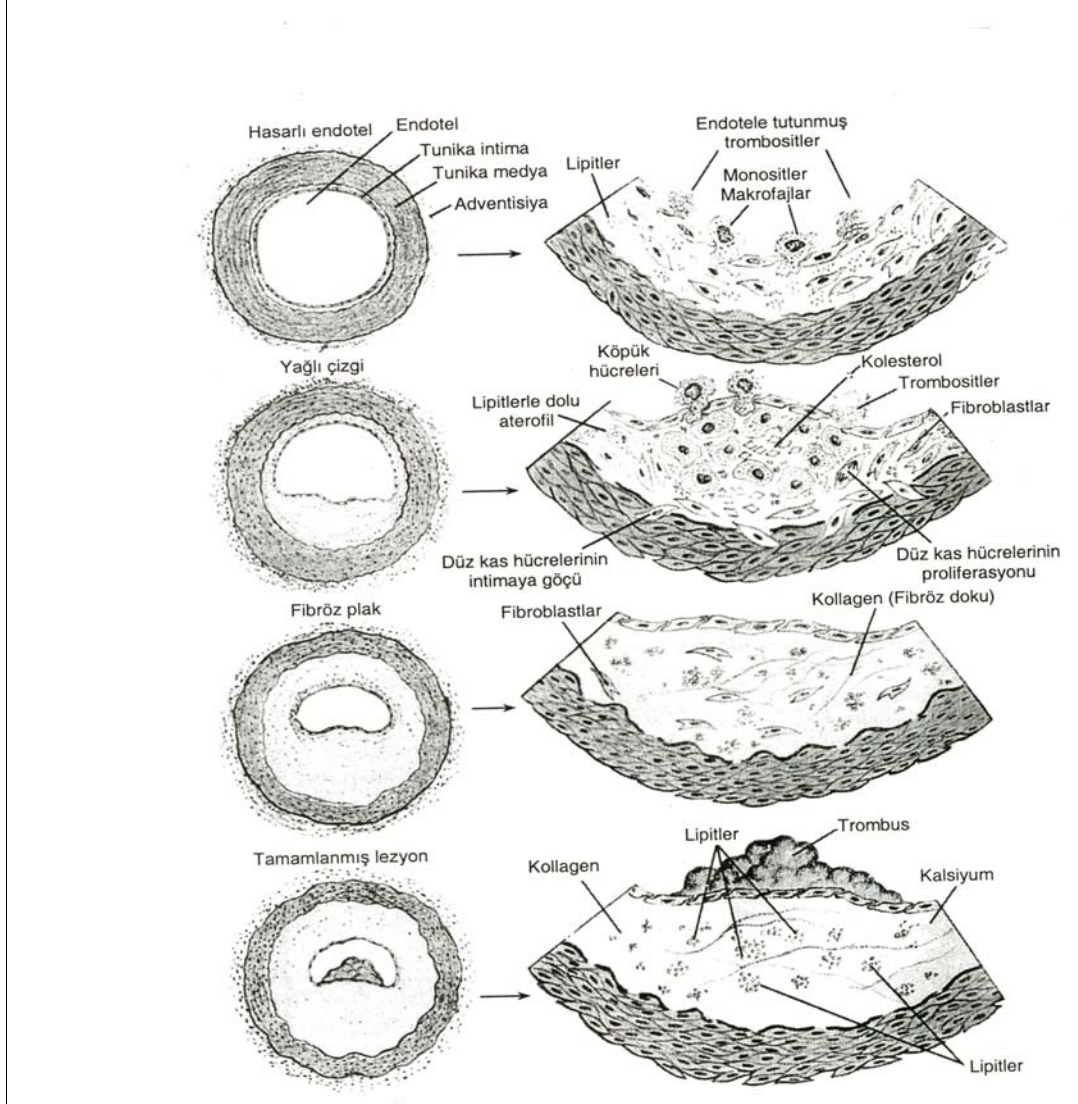
Makrofajlar: Monositler arter duvarına girdikten sonra makrofajlara dönüşmektedir. İnflamasyon bölgelerindeki makrofajlar, hücrenin koruyucusu gibi davranarak fagositoz ve intrasellüler hidroliz ile yabancı maddelere karşı gelmektedirler. Bir yandan ateroskleroza neden olan okside LDL moleküllerini uzaklaştıran makrofajlar, diğer yandan lipooksijenazlar yardımıyla LDL oksidasyonuna neden olabilmektedirler. Oluşan okside LDL, aynı veya komşu makrofajlar tarafından alınmaktadır. Bu şekilde makrofajlar, düz kas hücrelerinde olduğu gibi köpük hücresi kaynağını oluşturabilmektedir.

1. 10. 3. Ateroskleroz Oluşumu

Toplam ölümlerin yaklaşık %40 kadarını oluşturan koroner arter hastalıkları bütün dünyada ölüm nedenlerinin başında gelmektedir. Ateroskleroz gelişmesinde ilk adımda yağ birikintileri oluşmaktadır. Bunlar birçok insanın ana arterlerinde genç yaşlarda bile bulunmakta ve yaşam boyunca geriye dönüşümü olabilmektedir. İleri dönemlerde bunu monositlerin endotel hücrelerine yapışması, intimaya göç etmesi, makrofajlar haline dönüşmeleri ve daha fazla kolesterol biriktirerek köpük hücreleri şekline dönüşümleri izlemektedir. Daha fazla sayıda lipid dolu makrofajın birikimi sonucu düz kas hücreleri mediadan intimaya göç etmekte ve proliferasyon başlamaktadır. Zaman içinde kolesterol makrofajlarda, düz kas hücrelerinde ve ekstrasellüler matrikste birikmeye devam etmektedir. Makrofajların fazla miktarda kolesterol ile yükselmesi nedeni ile parçalanma başlamaktadır. Bu arada kalsiyum birikimi başlamakta ve hücre hasarı, sert aterom plağına dönüşmektedir. Oluşan kalsifiye kitle, inflamasyonu uyarmakta, daha fazla makrofajın gelmesine neden olmakta ve sonuçta plak giderek büyümektedir.

Endotel hücrelerin kaybı ve hücre yıkılmaları sonucu ülserleşme gelişen bölgeye trombositler yapışmakta, fibrin birikme ve trombus oluşmaktadır. Trombus, arterin

tıkanmasına neden olmakta veya oluşan pıhtının bir parçası yerinden koparak lezyondan uzakta olan bir damarı tıkayabilmektedir. Sonuçta, kan akışının ani olarak engellenmesine bağlı olarak koroner ateroskleroz, kalp krizi gibi klinik tablolar gelişmektedir.



Şekil-10: Ateroskleroz oluşumu

1. 11. LDL Oksidasyonu

Brown ve Goldstein LDL reseptör yolunu bulmuşlar ve bu yolun makrofajlar tarafından LDL alınmasından sorumlu olduğunu göstermişlerdir.³¹ Bu reseptörler yoluyla hücre içine alınan kolesterol miktarı sınırlıdır ve makrofaj hücre kültürü ortamına LDL

eklendiğinde makrofajların kolesterol esteri birikimi yaratacak kadar çok miktardaki LDL'yi almadıkları saptanmıştır. Bu gelişmelerden sonra Goldstein, makrofajların aşırı miktarda LDL alması ve kolesterol birikimi olması için LDL'nin modifiye olması gerektiğini öne sürmüştür. Daha sonra LDL'nin kimyasal bir türevi olan asetillenmiş LDL'nin makrofajlar tarafından aşırı şekilde alındığı ve bu olayda çöpçü (scavenger) reseptör olarak adlandırılan başka bir reseptörün rol oynadığı ortaya çıkmıştır.³²

Steinberg ve arkadaşları LDL'nin endotel veya düz kas hücre kültürüyle inkübe edildiğinde modifiye olduğunu ve bu halde çok daha hızlı şekilde makrofajlar tarafından alındığını gösterdiler.³³ Steinbrecher³⁴1984'te buna açıklama getirmiş; bu hücrelerin LDL'de lipid peroksidasyonunu başlatma yetenekleri olduğunu, bunun sonucunda da LDL'nin modifiye olarak makrofajlar tarafından alındığını belirtmiştir. Bu çalışmalara paralel olarak LDL'nin endotel ve düz kas hücrelerine karşı sitotoksik etki gösterdiği ve bu sitotoksositeye inkübasyon sırasında meydana gelen oksidasyon ürünlerinin yol açtığı bulunmuştur. Hücre kültürü ortamında LDL'de lipid peroksidasyonunun nasıl başladığı tam bilinmemekte ancak bazı mekanizmalar ileri sürülmektedir.³⁵ Bunlar:

- Hücrelerden süperoksit anyonunu salınımı,
- Hücre membranında oluşan lipid peroksitlerin LDL'ye transferi,
- Metal iyonlarının katalizlediği lipid peroksidasyonu,
- Membrana bağlı enzimlerin LDL'ye direkt etkisidir.

Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan ve son derece reaktif olan aldehitler, ketonlar ve diğer oksitlenmiş ürünler (oksisiterol türevleri) Apo-B veya fosfolipidlerle kompleks oluşturabilirler. Apo-B ile oluşan kompleks sonucu LDL'nin reseptörüne bağlanma yeteneği inhibe olur ve LDL partikülü çöpçü reseptör tarafından alınmaya başlar.

Okside LDL basit, homojen bir partikül değil heterojen bir üründür. Okside yağ asitleri ve yıkım ürünleri, okside steroller, okside fosfolipidler ve bunların Apo-B ve fosfolipidlerle konjuge olmuş hallerini içerir.

Organizmada prooksidan-antioksidan dengedeki bozukluklar ve buna bağlı olarak gelişen LDL oksidasyonundaki artışlar aterom plaklarının oluşumunda çok önemli rol oynamaktadır. Oksitlenmiş LDL'nin arterlerin intima tabakasında makrofajlar ve düz kas hücrelerindeki çöpçü reseptörler tarafından, hücre içi kolesterol düzeyinden etkilenmeksizin kontrolsüz bir biçimde alınması ile köpük hücreleri (yağlı çizgiler) oluşmaktadır. Oksitlenmiş LDL'nin sadece yağlı çizgilerin oluşumunu değil, ileri aterosklerotik lezyonların oluşumunu da yönlendirdiği saptanmıştır.³⁶

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Bhandri ve ark. (1998) zencefilin etanol ekstraktının yüksek kolesterolü tavşanlardaki etkisini, hipolipidemik ilaç olan gemfibrozil ile kıyaslamışlardır. Çalışmada kullanılan tavşanları dört gruba ayırıp 10 hafta boyunca birinci gruba normal diyet, ikinci gruba kolesterolce zengin diyet, üçüncü gruba kolesterolce zengin diyet ve zencefilin etanol ekstraktı, dördüncü gruba da kolesterolce zengin diyet ve gemfibrozil verip kan serumlarındaki trigliserid, total kolesterol, fosfolipid, HDL, LDL+VLDL düzeylerini kit ile ölçmüşlerdir. Elde ettikleri verileri Student's *t*-testi ile değerlendirdikten sonra kolesterolle birlikte zencefil alan gruptaki tavşanların serumdaki kolesterol seviyesinin, kolesterol alan gruptakine göre daha düşük olduğu ve gemfibrozilin gösterdiği etkiye yakın bir etki gösterdiği sonucuna varmışlardır.³⁷

Ramirez-Tortosa ve ark. (1999) *Curcuma longa* bitkisinden elde edilen Turmeric'in önemli bileşenlerinden biri olan ve antitümör, antiinflamatuvar, antioksidan ve antiinfektüs özelliği olduğu bilinen curcuminin, yüksek miktarda doymuş yağ ve kolesterol alan tavşanlarda LDL oksidasyonunu önleyici ve yüksek kolesterol düzeyini düşürücü etkisini araştırmışlardır. Çalışmada LDL, TBARS, LDL lipid hidroperoksit ve plazma LDL lipid kompozisyonu ve aortik ateroskleroz lezyonlarını incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, bitkinin ateroskleroz oluşumunu önlediğini ve hipokolesterolemik etki gösterdiğini saptamışlardır.³⁸

Piyachaturawat ve ark. (1999) *Curcuma comasa* bitkisinin etil asetat ekstraktının yüksek kolesterolü hamsterlarda lipid metabolizması üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Çeşitli gruplara ayrılan hayvanların plazma, karaciğer ve safradaki kolesterol ve trigliserid seviyelerini ölçmüşler ve bu bitkinin hipolipidemik etki gösterdiğini saptamışlardır.³⁹

Jayasooriya ve ark. (2000) *Momordica charantia* (acı kavun) bitkisinin kuru toz halinin yüksek kolesterolü sıçanlarda lipid parametrelerini ve glikoz seviyesi üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Değişik derişimlerde verilen bitkinin kolesterol alan ve kolesterol almayan gruplardaki plazma ve karaciğer kolesterol, trigliserid, HDL ve fosfolipid miktarlarını kit ile ölçmüşlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda, bitkinin serum glikoz seviyesini düşürdüğünü ancak yüksek kolesterolü sıçanlarda kolesterol seviyesini azaltmadığını, bununla birlikte HDL düzeyinde artma olduğunu gözlemlemişlerdir.⁴⁰

Jeon ve ark. (2001) naringinin antioksidatif etkisini, anti-hiperkolesterol ilacı olan lovastatin ile kıyaslayarak plazma ve karaciğerdeki lipid peroksit, plazmada vitamin A ve E seviyesi, karaciğerde hidrojen peroksit ve antioksidant enzim aktivitesini ölçmüşler. Plazma

ve karaciğerdeki lipid peroksit düzeyleri TBARS metoduyla ölçülmüş ve naringinin lipid peroksit düzeyini etkilemediğini, ama plazmada E vitamini düzeyini yükselttiğini ve antioksidant enzim aktivitesini arttırdığını bulmuşlardır.⁴¹

Freyschuss ve ark. (2001) antioksidant özellik gösteren bütillenmiş hidroksitoluenin (BHT) yüksek kolesterolü tavşanlarda anti-aterojenik etkisi ile trigliserid düzeyi üzerine etkisini araştırmışlardır. Yüksek miktardaki kolesterole bağlı olarak trigliserid düzeyinde gerçekleşen artışın, antioksidant BHT varlığında düştüğü ve BHT'nin aortik lezyonları azalttığı sonucuna varmışlardır.⁴²

Vanstone ve ark. (2001) campesterol ve sitosterol gibi fitosterolleri yüksek kolesterolü hamsterlere enjekte ederek plazma lipid düzeylerine bakmışlar. Sonuç olarak trigliserid düzeyinin değişmediğini, plazma kolesterol düzeyinin yaklaşık %21 oranında düştüğünü bulmuşlardır.⁴³

Zhang ve ark.(2002) hawthorn fruit (alıç meyvesi) ile yaptıkları bir çalışmada, bitkinin yüksek kolesterolü tavşanlarda kolesterol ve trigliserid seviyesini azalttığını, HMG-CoA redüktaz enzimine etki etmediğini ancak bağırsakta açıl CoA ve kolesterol açıl transferaz enziminin etkisini bastırdığını gözlemişlerdir.⁴⁴

Bakırel ve ark. (2003) antibakteriyel ve antiparaziter etkiye sahip olan *Pistacia terebinthus*'un (menengiç) kurutulmuş meyvelerinin hiperkolesterolemik tavşanlarda, hiperkolesterol ve ateroskleroz üzerine etkilerini incelemişlerdir. Kontrol grubu, kolesterol grubu, kolesterol+bitki grubu, bitki grubu şeklinde dört gruba ayrılan tavşanlarda plazma lipid düzeylerine kit ile bakmışlar ve çalışma sonunda kurutulmuş meyvelerinin karaciğer ve aort doku analizini yapmışlardır. Çalışma sonunda, kurutulmuş meyvesinin plazma total kolesterol, trigliserid ve LDL düzeylerini düşürdüğünü, HDL düzeyini arttırdığını bulmuşlardır. Histolojik analiz sonucunda kolesterol ile bitki alan gruptaki aort ve karaciğer dokularının kolesterol alan gruptakine göre oldukça farklı olduğunu gözlemlemişlerdir. *P. terebinthus*'un hiperkolesterolemi ve ateroskleroz olgusunda klinik yönden anlamlı bir terapötik etki oluşturabileceğini rapor etmişlerdir.⁴⁵

Berrougui ve ark. (2003) Fas'da yetişen ve endemik bir bitki olan *Argana spinosa L.* bitkisinden elde edilen argan yağının yüksek kolesterolü sıçanlarda serum lipid profilini inceleyip bu yağın hipolipidemik ve hipokolesterolemik etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonunda, argan yağının plazma trigliserid, total kolesterol ve LDL seviyelerini düşürdüğü, HDL seviyesini deyiştirmediği saptanmıştır. Çalışma sonunda elde edilen verilere dayanarak, argan yağının yapısındaki çoklu doymamış yağ asitleri ve diğere bileşenler nedeniyle faydalı olduğunu rapor etmişlerdir.⁴⁶

Kim ve ark. (2003) Kore'de geleneksel tıp tedavisinde kullanılan *Geiji-Bokryung-Hwan* (GBH) su ekstraktının yüksek kolesterolü tavşanlarda ateroskleroza önleyici etkisini ile antioksidant özelliklerini incelemiş, çalışma sonunda bitkinin yüksek kolesterolü düşürücü etkisiyle birlikte antioksidant özellik gösterdiği de bulunmuştur.⁴⁷

Nimenibo (2003) hiperkolesterolemi, hiperketonemi ve hiperlipideminin kontrolünde *Dioscorea dumetorum* bitki yumrusunun su ekstraktının etkisini araştırmış ve bitkinin bu hastalıkları iyileştirmede kullanılabileceğini bildirmiştir.⁴⁸

Shukla ve ark. (2004) *Ficus bengalensis* bitkisinin su ekstraktının yüksek kolesterolü tavşanlarda serum lipid düzeyi üzerine etkilerini inceleyip eritrositlerde antioksidant parametreleri araştırmışlardır. Çalışmada HDL, trigliserid ve total kolesterol kit ile, LDL düzeyi Friedewald formülü ile ölçülmüştür. Çalışma sonunda bitkinin plazma total kolesterol, LDL ve TG düzeylerini düşürdüğünü bulmuşlardır. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan malondialdehit miktarı TBARS metodu ile ölçülmüş ve bitkinin lipid peroksidasyonunu önlediği bulunmuştur. Kırmızı kan hücrelerinde çeşitli metodlarla ölçülen indirgenmiş glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidant enzim aktivitelerinin arttığı gösterilmiştir.⁴⁹

Kurt ve ark. (2004) sıçanlarda oksidatif stress oluşturan karbontetraklorüre (CCl₄) karşı, antioksidant etkisi olduğu bilinen kateşinin ne derecede koruyucu etkisi olduğunu araştırmışlardır. Bunun için karaciğer dokusunda MDA, CAT, GPx enzim aktiviteleri tayin edilmiş ve çalışma sonunda kateşinin oksidatif hasarı önleyici etkisi olduğunu rapor etmişlerdir.⁵⁰

Balkan ve ark. (2004) organizmada kolesterol atılımı, safra asitlerinin konjugasyonu gibi biyolojik ve fizyolojik fonksiyonları bulunan ve organizmada sisteinden sentezlenen bir aminoasit olan taurinin, aterosklerotik tavşanlarda antiaterojen ve antioksidant etkisini çalışmışlardır. Kolesterol yedirilerek ateroskleroz oluşturulan tavşanlarda aortta histopatolojik incelemeler yapılmış, plazmada Apo-B içeren lipoprotein düzeyleri ile karaciğer ve aortta lipid ve lipid peroksit düzeyleri ölçülmüş, antioksidant enzim aktiviteleri değerlendirilmiştir. Çalışma sonunda taurin uygulamasının hiperkolesterolemik tavşanlarda aterom plakların oluşumunu engellediğini, plazma LDL+VLDL, karaciğer ve aortta artmış lipid ve lipid peroksidasyon ürünlerinin azalttığını, karaciğer antioksidant sisteminde belirgin bir değişiklik olmadığını tayin etmişlerdir.⁵¹

Sevin ve ark. (2004) hiperkolesterol tedavisinde kullanılan bir ilaç olan fluvastatinin antioksidant özelliğinin, yüksek kolesterolü tavşanlarda ateroskleroza önlemedeki katkısını araştırmışlardır. Çalışmada hiperkolesterolemik tavşanlarda antioksidant enzim aktivitesi,

kan basıncı, plazmada lipid peroksit düzeyi ve total nitrit/nitrat düzeyleri ölçülmüş ve karaciğer ile aortta histolojik doku analizi yapılmıştır. Çalışmada fluvastatinin hiperkolesterolemide antioksidant enzim aktivitelerini arttırmaksızın direkt antioksidant etkisiyle vasküler oksidatif stres oluşumunu azaltarak ateroskleroza geciktirebileceğini rapor etmişlerdir.⁵²

Devi ve Sharma (2004) *Clerodendron colebrookianum* (Walp) bitkisinin ham ekstratını ve çeşitli organik çözücülerde hazırlanan bitki ekstraktlarının yüksek kolesterolü sıçanlarda hipolipidemik etkisini çalışmışlardır. Çalışma sonunda bu bitki ekstraktlarından bazılarının hipolipidemik etki gösterdiğini bulmuşlardır.⁵³

Balkan ve ark. (2004) yüksek kolesterolu tavşan ve sıçanlarda plazma, karaciğer ve aorttaki lipid parametreleri ve lipid peroksit seviyeleri ile karaciğerdeki antioksidant enzim aktivitelerini karşılaştıran bir çalışma yapmışlardır. Çalışma sonunda yüksek kolesterolü tavşanlar ile yüksek kolesterolü sıçanların plazma, karaciğer ve aorttaki lipid parametreleri, lipid peroksit parametreleri ve antioksidant enzim aktivitelerinin farklılık gösterdiğini saptamışlardır.⁵⁴

Biavatti ve ark. (2004) *Campomanesia xanthocarpa* (Berg.) ve *Cuphea carthagenensis* (Jack.) bitki türlerinin su ekstraktlarının yüksek kolesterolü sıçanlarda biyokimyasal parametreler üzerindeki etkilerini çalışmışlar ve çalışma sonunda *C. carthagenensis* bitki ekstraktının, plazma kolesterol seviyesini daha çok düşürdüğü sonucuna varmışlardır.⁵⁵

Seok ve ark. (2004) tuzlanmış ve mayalanmış karides ekstraktı, *Acetes japonicus*'un etkisini yüksek kolesterolü sıçanlar üzerinde araştırmışlardır. Kan serum örneklerinde total kolesterol, HDL ve trigliserit seviyeleri enzimatik kit kullanılarak ölçülmüştür. Çalışma sonunda, sıçanlarda kolesterol düzeyinin düştüğünü ve HDL seviyesinin arttığını gözlemlemişlerdir.⁵⁶

Yousef (2004) subtropikal koşullar altında yetişen *Acacia saligna* bitkisinin değişik konsantrasyonlarının tavşanlarda plazma testosteron, seminal plazma biyokimyasalarını çalışmış ve % 40'lık derişimin daha etkili olduğunu rapor etmiştir.⁵⁷

Silva ve ark. (2005) *Hypericum perforatum* bitkisinin etanol ekstraktının fitokimyasal ve antioksidant karakterini incelemişlerdir. Çeşitli teknikler kullanılarak bitkinin yapısında yeni bileşenler bulunmuş ve bitkinin lipid peroksidasyonunu önlediğini rapor etmişlerdir.⁵⁸

3. MATERYAL VE METOD

3. 1. MATERYAL

Çalışmada kullanılan *Hypericum lysimachioides* Boiss var. bitkisi, Dicle Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümünden Yrd. Doç. Dr. Zuhale TOKER tarafından (Kasımiye Medresesi civarı, Mardin, Türkiye) toplandı. Bitkinin teşhisi Doç. Dr. A. Selçuk ERTEKİN tarafından yapıldı. Teşhis edilen bitki örneği Dicle Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Herbariumunda (DUF) saklanmaktadır. (DUF No: 2514)

3. 1. 1. Kullanılan Bitkinin Özellikleri, Yayılımı

Gövde 35-75 cm, dik, tüysüz, salgısız veya nadiren siyah noktacıklı. Yapraklar ana gövde üzerinde 30-60 mm, oval veya eliptik dikdörtgensiden şeritsiyeye, keskin veya tepecikli, nadiren alta doğru kıvrık, tüysüz veya az kısa sert tüylü, donuk mavimsi yeşil renkli. Çiçek durumu genişten dara doğru piramidimsi, çok çiçekli. Sepaller mızraksıdan dikdörtgenimsiyeye dişli veya kısa saçaklı. Petaller 8-16 mm, bazen hafif kırmızımsı. Kapsül 8-10 mm, yumurtamsı. Çiçeklenme dönemleri 6. ve 8. aylar. Genel coğrafi yayılımı: Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri



Hypericum lysimachioides

3. 1. 2. Çalışmada Kullanılan Hayvanlar

Çalışmada, Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden (DÜSAM) temin edilen, yaklaşık 3000 g ağırlığında 20 adet beyaz Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Çalışma, Deney Hayvanları Etik Kurulu (DEHEK) tarafından da onaylandı.

Tavşanlar deney süresi olan beş hafta boyunca DÜSAM'da özel tel kafeslerde, 12 saat aydınlıkta ve oda sıcaklığında (25 °C) barındırılarak, içeriği Tablo-1'de verilen ticari tavşan yemiyle (Elazığ Yem Fabrikası) *ad libitum* beslendi.

3. 1. 3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kolesterol, tiobarbütirik asit (TBA), 1,1,3,3-tetrametoksipropan (TMP) trikloroasetik asit (TCA) Sigma, GmbH, Sternheim, Germany'den, kolesterol ve trigliserid kitleri Linear Chemicals, S.L., Barcelona, Spain'den, HDL kolesterol kiti Biosystems S.A., Barcelona, Spain'den ticari olarak temin edildi.

3. 1. 4. Kullanılan Aletler

Spektrofotometre (Shimadzu, UV/Visible Recording spektrofotometre), vakumlu evaporatör (RE 100 B, Bibby Strilin Ltd.), santrifüj (Centurion 8000 Series,E.S. 6), terazi (GEC AVERY), derin dondurucu (Sanyo Medical Freezer), vortex (FISONS, Whirli Mixer), blender, (Nikon–Eclipse 400) dijital fotoğraf makinesi ataçmanlı araştırma mikroskobu.

3. 2. METOD

3. 2. 1 Kullanılan Bitki Ekstraktının Hazırlanması

Önceden kurutulmuş olan *H. lysimachioides* bitkisinden 240 g tartıldı. Blender yardımıyla toz haline gelene kadar öğütüldü. Üzerine 2000 mL %70'lik etil alkol eklendi. Oda sıcaklığında 3 gün boyunca manyetik karıştırıcıyla karıştırıldı. Vakum altında tromptan süzme yapıldı. Süzütünün vakum altında çözücüsü uçuruldu. Bitkiden yaklaşık 52 gram bordo renkli ekstrakt elde edildi.

3. 2. 2 Tavşanlara Yedirilen Bitki Ekstraktlarının ve Kolesterolün Hazırlanması

Tavşan kilogramı başına 100 mg kolesterol 1 ml mısır yağında çözüldü. Karışım 1 mL'lik steril enjektörlere çekilerek tavşanlara oral yolla verildi.

Tavşan kilogramı başına 50 mg bitki ekstraktı suda çözüldü. Karışım 1mL'lik steril enjektörlere çekilerek tavşanlara oral yolla verildi.

3. 2. 3. Deneysel Tavşanlarının Gruplandırılması ve Diyet Uygulamaları

Deneysel hayvanları her bir gruptaki tavşan kiloları yaklaşık olarak aynı olacak şekilde 4 gruba ayrıldı ve çalışma süresi olan beş hafta boyunca aşağıdaki şekilde beslendiler:

1) kontrol grubu (n=5): Normal tavşan yemi ile beslendiler.

2) bitki grubu (n=5): Bu gruptaki tavşanlar günlük diyetleri ile birlikte bitki ekstraktı ile beslendiler. Bitki ekstraktı suda çözülerek (50 mg/kg tavşan) enjektör yardımıyla oral yolla verildi.

3) Kolesterol grubu (n=5): Bu gruptaki tavşanlara normal yemleriyle birlikte mısırözü yağında çözülmüş kolesterol (100mg/kg tavşan) oral yolla verildi.

4) Kolesterol + Bitki grubu (n=5): Bu gruptaki tavşanlara normal yemleri ve kolesterol diyetine (100 mg/kg tavşan) ek olarak suda çözülmüş bitki ekstraktı (50mg/kg tavşan) oral yolla verildi.

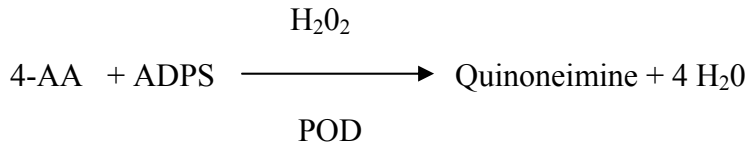
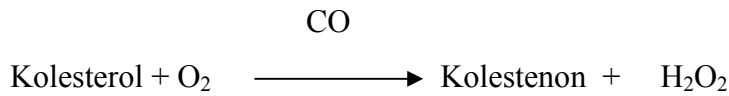
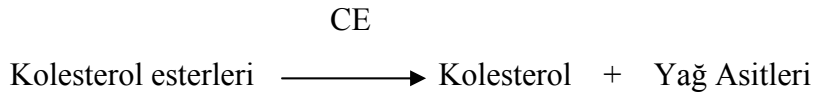
n: tavşan sayısı

3. 2. 4. Kan Örneklerinin Toplanması ve Saklanması

Deney tavşanlarından ilki çalışmaya başlarken, ikincisi ikinci haftanın sonunda ve sonuncusu çalışma bitiminde olmak üzere toplam 3 kez kan örneği alındı. Kan örnekleri alınmadan 1 gece önce tavşanlar aç bırakıldı. Normal serum tüplerine marjinal kulak venasından kan alındı. Alınan kan örnekleri 5000 rpm'de 10 dk santrifüjlenerek kan serumunun ayrılması sağlandı. Elde edilen serum örnekleri eppendorf tüplerine konularak -20°C'de saklandı. Geri kalan kısım ise daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere -80°C'de muhafaza edildi.

3. 2. 5. Kan Serumunda Total Kolesterol Seviyesinin Tayini

Serumdaki total kolesterol düzeyleri enzimatik etkiye dayalı kolorimetrik olarak kolesterol kiti ile ölçüldü. Bu yöntemle göre kolesterol esterleri, kolesterol esteraz enzimi yardımıyla kolesterole ve serbest yağ asitlerine ayrıştır. Serbest hale gelen kolesterol, kolesterol oksidaz enzimiyle kolesterolün keton formu olan kolestenona dönüşür ve hidrojen peroksit açığa çıkar. 4-AA ve ADPS varlığında hidrojen peroksit, peroksidaz enzimiyle ayrıştırarak quinoneimine boyar maddesini oluşturur bu madde de UV 'de 550 nm'de absorbans verir.



CE: koloesterol esteraz

ADPS: N- etil-N-propil-m-anisid

POD: peroksidaz

AA: aminoantipirin

CO: kolesterol oksidaz

Hemoliz olmamış serum örnekleri oda sıcaklığına getirildi. Her bir tüpe 10'ar µL serum örneği bırakılarak üzerlerine 1 mL monoreagent eklendi. Örnekler karıştırılıp oda sıcaklığında 10 dakika bekletildikten sonra UV spektrofotometresinde 550 nm'de absorbans değerleri ölçüldü. Standart olarak derişimi 200 mg/dL olan kolesterol çözeltisi kullanıldı. 10 µL standart kolesterol çözeltisine 1 mL monoreagent eklenerek absorbans değeri ölçüldü. Kör olarak 1 mL monoreagent kullanıldı. Serum örneklerindeki total kolesterol miktarları:

$$C_{\text{numune}} = (A_{\text{numune}} / A_{\text{standart}}) \times C_{\text{standart}} \quad \text{bağıntısıyla hesaplandı.}$$

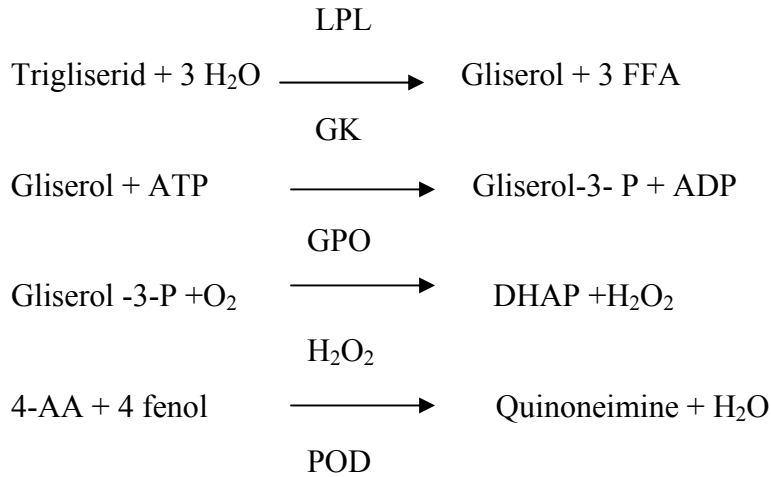
C: konsantrasyon (mg/dL)

A: absorbans

C_{standart}: 200 mg/dL

3. 2. 6. Kan Serumunda Triglicerid Seviyesinin Tayini

Triglicerid miktarı enzimatik etkiye dayalı kolorimetrik yöntemle belirlendi. Bu yöntemde göre plazma trigliceridi lipoprotein lipaz enzimiyle gliserole ve serbest yağ asitlerine ayrıştırılır. Gliserol, gliserolkinaz varlığında ATP ile fosfatlanarak Gliserol 3-fosfata dönüşür. Gliserol-3-fosfat gliserolfosfat oksidaz enzimi tarafından oksitlenerek dihidroksiasetonfosfat (DHAP) ve hidrojen peroksit oluşur. 4-AA ve fenol varlığında hidrojen peroksit, peroksidaz enzimiyle ayrışarak quinoneimine boyar maddesini oluşturur ve UV'de 500 nm'de absorbans verir.



LPL: lipoprotein lipaz

POD: peroksidaz

GPO: gliserolfosfat

AA: aminoantipirin

GK: gliserol kinaz

Hemoliz olmamış serum örnekleri oda sıcaklığına getirildi. Her bir tüpe 10'ar µL serum örneği bırakılarak üzerlerine 1 mL monoreagent eklendi. Örnekler vorteksle karıştırılıp oda sıcaklığında 15 dakika bekletildikten sonra UV spektrofotometresinde 500 nm'de absorbansları ölçüldü. Standart olarak kitle birlikte bulunan ve derişimi 200 mg/dL olan triačilgliserol çözeltisi kullanıldı. 10 µL standart çözeltiye 1 mL monoreagent eklenerek absorbans değerleri ölçüldü. Kör olarak 1 mL monoreagent kullanıldı. Serum örneklerindeki trigliserid miktarları:

$C_{\text{numune}} = (A_{\text{numune}} / A_{\text{standart}}) \times C_{\text{standart}}$ bağıntısıyla hesaplandı.

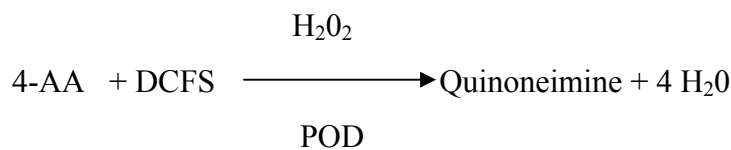
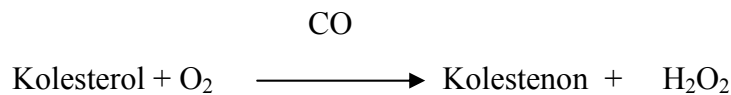
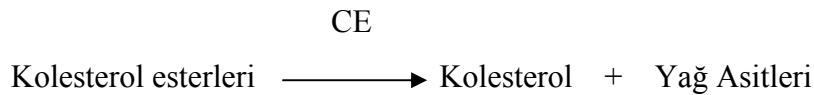
C: konsantrasyon (mg/dL)

A: absorbans

C_{standart} : 200 mg/dL

3. 2. 7. Kan Serumunda HDL Seviyesinin Tayini

Serumdaki HDL düzeyi HDL kiti ile ölçüldü. HDL, fosfotungustat ve magnezyum iyonları ile VLDL ve LDL'den santrifüjlenerek ayrılır. Süzüntüde bulunan HDL kolesterol esterleri, kolesterol esteraz enzimi yardımıyla kolesterole ve serbest yağ asitlerine ayrıştır. Serbest hale gelen kolesterol, kolesterol oksidaz enzimiyle kolesterolün keton formu olan kolestenona dönüşür ve hidrojen peroksit açığa çıkar. 4-AA ve DCFS varlığında hidrojen peroksit, peroksidaz enzimiyle ayrışarak quinoneimine boyar maddesini oluşturur bu madde de UV 'de 500 nm'de absorbans verir.



CE: koloesterol esteraz

DCFS: Diklorofenolsülfonat

POD: peroksidaz

AA: aminoantipirin

CO: kolesterol oksidaz

Tüplere 0.2 mL serum örneği ve 0.5 mL monoreagent A eklendi. Karışım vortekslenip oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra 4000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. Süzüntüden 50 µL alınarak her bir örneğe 1 mL Reagent B eklendi. Standart olarak kit ile birlikte bulunan ve derişimi 52.5 mg/dL olan HDL kolesterol çözeltisi kullanıldı. 10 µL standart çözeltiye 1 mL monoreagent B eklendi. Kör olarak 1 mL Reagent B kullanıldı. UV spektrofotometresinde 500 nm'de absorbans değerleri ölçüldü. Serum örneklerindeki HDL kolesterol miktarı;

$$C_{\text{numune}} = (A_{\text{numune}} / A_{\text{standart}}) \times C_{\text{standart}} \quad \text{bağıntısıyla hesaplandı}$$

C: konsantrasyon (mg/dL)

A: absorbans

C_{standart}: 52.5 mg/dL

3. 2. 8. Kan Serumunda LDL Seviyesinin Tayini

Serum örneklerindeki LDL kolesterol seviyesi daha önce hesaplanan kolesterol, trigliserid ve HDL kolesterol seviyelerinden yararlanılarak Friedewald Formülü'ne⁵³ göre hesaplandı.

Friedewald Formülü:

$$\text{LDL kolesterol} = \text{total kolesterol} - (\text{HDL kolesterol} - 1/5 \text{ trigliserid})$$

3. 2. 9. TBARS Metodu ile Plazmada Malondialdehit Düzeyinin Belirlenmesi

3. 2. 9. 1. TMP Standardının Hazırlanması

1,1,3,3-tetrametoksipropanın (TMP) 0.05 M H₂SO₄ içinde, derişimi 10 nmol/ml olan stok çözeltisi hazırlandı. Stok TMP çözeltisinden seyreltmeler yapılarak 1 nmol/mL - 5 nmol/mL arasında 5 ayrı çözelti hazırlandı. 5 ayrı tüpe hazırlanan bu çözeltilerin her birinden 500 µL alındı. Üzerlerine 2.5 mL %20'lik trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi eklendi ve 3000

rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. Süpernatant dökülerek çökelek 2.5 mL 0.05 M H₂SO₄ ile 2 kere yıkandı ve 3 mL %0.2'lik tiobarbitirik asit (TBA) eklendi. İyice vortekslelendikten sonra 95 °C'deki sıcak su banyosunda 45 dk bekletildi. Sıcak su banyosundan alınan tüpler buz banyosunda 10 dakika bekletilip iyice soğutulduktan sonra 4 mL *n*-bütanol eklenip 3000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. Organik fazın absorbans değeri 530 nm'de UV cihazında ölçüldü. Kör olarak su kullanıldı. Elde edilen veriler TMP'nin artan derişimlerine karşılık absorbans değerleri grafiğe geçirildi (Şekil-10). Bu grafikten aşağıdaki eşitlik elde edildi:

$$\text{Absorbans (A)}=0.0531 \times \text{TMP (nmol)/mL}$$

3. 2. 9. 2. Kan Serumunda MDA Düzeyinin Belirlenmesi

Serum örneklerinden tüplere 500 µL alındı. Üzerlerine %20'lik TCA çözeltisi eklendi ve 3000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. Süzüntü dökülerek çökelek 2.5 mL 0.05 M sülfirik asit ile 2 kere yıkandı ve 3 mL %0.2 'lik TBA eklendi. İyice vortekslelendikten sonra 95 °C'deki sıcak su banyosunda 45 dk bekletildi. Sıcak su banyosundan alınan tüpler buz banyosunda 10 dakika bekletilip iyice soğuması sağlandıktan sonra 4 mL *n*-bütanol eklenip 3000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. Organik fazın absorbans değeri 530 nm'de UV cihazında ölçüldü. Kör olarak *n*-bütanol kullanıldı. Ölçülen absorbans değeri daha önce türetmiş olduğumuz ;

$$\text{Absorbans (A)}=0.0531 \times \text{TMP (nmol/ml)}$$

eşitlikte kullanılarak, serumların içerdiği MDA miktarı, TMP miktarına ekivalent olarak hesaplandı.

3. 2. 10. Tavşan Kiloları

Çalışmanın başında ve çalışma sonunda tavşan kiloları ölçüldü. Tavşan kiloları yaklaşık 2800- -3000 gdeğerleri arasındadır.

3. 2. 11. Histolojik Metod

Çalışmanın sonunda tüm gruplardaki deneklere 50 mg/kg dozda sodyum pentobarbital verilerek ötenazi yapıldı. Sakrifikasyonu takiben karaciğer ve aort doku örnekleri alınarak %10'luk nötral formaldehit çözeltisinde fikse edildi. Dokudan formalin uzaklaştırıldıktan

sonra (akar suda) artan yoğunluktaki etil alkol serilerinden geçirilerek dehidratasyon işlemi yapıldı. Xylol banyolarını takiben parafin banyosuna alındı ve parafin bloklar elde edildi.

Rotary Mikrotom'da parafin bloklardan 4-5 µm kalınlığındaki doku örneklere alınarak Hematoksilen Eozin ve Hematoksilen Vangiesson ile boyandılar.

Preparatların fotoğrafları, fotoğraf makinesi ataçmanlı araştırma mikroskobunda çekildi.

3. 2. 12. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS for Windows 12.0 paket programı ile bilgisayarda yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar için parametrik varsayımların gerçekleştiği verilerde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulandıktan sonra gruplar arası farklılıklar Tukey testi ile belirlendi

Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak gösterildi. Anlamlılık derecesi, $p < 0.05$ kabul edildi.

4. BULGULAR

Bu çalışmada, Dicle Üniversitesi Fen - Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden temin edilen *H. lysimachioides* bitkisinin etanol ekstraktının yüksek kolesterolü tavşanlarda serum lipid düzeyleri ve lipid peroksidasyonu üzerine etkisi incelendi.

Tavşanlar beslenme şekillerine göre kontrol grubu, bitki grubu, kolesterol diyetine ilaveten bitki alan grup ve kolesterol alan grup olmak üzere dört gruba ayrıldılar. Beş hafta boyunca bu şekilde beslendi. Tavşanlardan 0. hafta kan örnekleri alındıktan sonra çalışmanın doğru yürüyüp yürümediğini kontrol etmek amacıyla 2 hafta sonra tekrar kan örnekleri toplandı.

Total kolesterol, trigliserid, ve HDL kolesterol miktarları kit ile ölçüldü. LDL kolesterol miktarı Friedewald Formülü ($LDL = total\ kolesterol - (HDL\ kolesterol + \frac{1}{5} trigliserid)$) kullanılarak hesaplandı. Kan serumundaki MDA miktarı TBARS metoduyla belirlendi. 0. hafta, 2. hafta ve 5. hafta alınan kan serumlarındaki total kolesterol miktarı, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında otoanalizör cihazıyla da ölçüldü. Otoanalizör ile elde edilen sonuçlar ile laboratuvarında kit kullanılarak elde edilen sonuçlar arasında tutarlılık olduğu gözlemlendi (şekil-32).

4. 1. Serum Lipid Düzeyleri

4. 1. 1. Kontrol Grubu

Çalışmaya başlarken, normal yem ile beslenen kontrol grubundaki 5 tavşanın kan serum örnekleri toplandı. 0. hafta olarak belirtilen bu kan örneklerinde total kolesterol, trigliserid, LDL ve HDL miktarları ölçüldü. Yapılan istatistiksel analiz sonucu elde edilen ortalama değerler sırasıyla: 58.6 ± 13.6 mg/dL, 125.2 ± 4.9 mg/dL, 26.6 ± 4.7 mg/dL, 34.4 ± 6.4 mg/dL olarak bulundu.

5 hafta boyunca tavşanlar aynı şekilde normal yemleriyle beslendiler. 5. hafta sonunda tekrar kan serum örnekleri toplandı. Bu kan serum örneklerinde total kolesterol, trigliserid, LDL kolesterol ve HDL kolesterol miktarları tekrar ölçüldü. Yapılan istatistiksel analiz sonucu elde edilen ortalama total kolesterol, trigliserid, LDL ve HDL miktarları sırasıyla: 52.0 ± 9.0 mg/dL, 124.8 ± 4.7 mg/dL, 20.6 ± 6.2 mg/dL, 35.8 ± 8.40 mg/dL olarak bulundu.

İstatistiksel analiz sonucu elde edilen değerler grafiğe geçirilip 0. hafta ile 5. haftadaki serum lipid düzeyleri kıyaslandığında total kolesterol (şekil-11), trigliserid (şekil-15), LDL (şekil-19) ve HDL (şekil-23) düzeylerinin anlamlı ölçüde değişmediği gözlemlendi.

4. 1. 2. Bitki Grubu

Normal yem ile birlikte bitki ekstraktı alan (50 mg/kg tavşan) ve bitki grubu diye adlandırılan bu gruptaki 5 tavşanın kan serum örnekleri çalışmaya başlarken toplandı. 0. hafta olarak belirtilen bu gruptaki tavşanların kan örneklerinde total kolesterol, trigliserid, LDL kolesterol ve HDL kolesterol miktarları ölçüldü. Yapılan istatistiksel analiz sonucu elde edilen değerler sırasıyla: 51.0 ± 6.2 mg/dL, 128.6 ± 9.7 mg/dL, 20.4 ± 6.7 mg/dL, 26.4 ± 7.3 mg/dL olarak bulundu.

5 hafta boyunca tavşanlar, normal yemlerine ilaveten oral yolla verilen bitki ekstraktları ile beslendiler. 5. hafta sonunda tekrar kan serum örnekleri toplandı. Kan serumlarında total kolesterol, trigliserid, LDL kolesterol ve HDL kolesterol miktarları tekrar ölçüldü. Yapılan istatistiksel analiz sonucu elde edilen ortalama total kolesterol, trigliserid, LDL ve HDL miktarları sırasıyla: 49.8 ± 4.1 mg/dL, 131.6 ± 6.1 mg/dL, 13.4 ± 1.6 mg/dL, 39.4 ± 3.6 mg/dL olarak bulundu.

İstatistiksel analiz sonucu elde edilen verilerden yararlanılarak bu gruptaki tavşanların 0. ve 5. haftaki total kolesterol, trigliserid, LDL kolesterol ve HDL kolesterol miktarları grafiğe geçirildi. 0.hafta ile kıyaslandığında 5.haftada plazmada total kolesterol (şekil-12), ve trigliserid miktarının(şekil-16) anlamlı ölçüde değişmediği, LDL kolesterol miktarının azaldığı (şekil-20) ve HDL kolesterol miktarının arttığı (şekil-24) gözlemlendi.

4. 1. 3. Kolesterol+Bitki Grubu

Bu gruptaki 5 tavşandan çalışmaya başlarken kan serum örnekleri alındı. 0. hafta olarak belirtilen bu gruptaki tavşanların kan serumlarında 0. haftadaki total kolesterol, trigliserid, LDL kolesterol ve HDL kolesterol seviyeleri ölçüldü. Yapılan istatistiksel analiz sonucu elde edilen ortalama değerler sırasıyla: 56.4 ± 4.7 mg/dL, 125.6 ± 20.0 mg/dL, 25.6 ± 4.7 mg/dL, 24.8 ± 2.0 mg/dL olarak bulundu.

5 hafta boyunca tavşanlara normal yemlerine ek olarak, kolesterol (100mg/kg tavşan) ve bitki ekstraktı (50 mg/tavşan) oral yolla verildi. Bitki+ kolesterol grubu diye adlandırılan bu gruptaki 5 tavşanın bu süre sonunda kan örnekleri toplandı. Serumda total kolesterol,

trigliserid, LDL kolesterol ve HDL kolesterol miktarları ölçüldü. Yapılan istatistiksel analiz sonucu elde edilen değerler sırasıyla: 231.2 ± 61.9 mg/dL, 130.4 ± 11.7 mg/dL, 140.2 ± 41.6 mg/dL, 54.2 ± 6.0 mg/dL olarak bulundu.

İstatistiksel analiz sonucu elde edilen verilerden yararlanılarak bu gruptaki tavşanların 0. ve 5. haftalardaki total kolesterol, trigliserid, LDL kolesterol ve HDL kolesterol miktarları grafiğe geçirildi. 0. hafta ile kıyaslandığında 5.haftada plazmada total kolesterol miktarının arttığı (şekil-13), trigliserid miktarının değişmediği (şekil-17), kolesterol alımından kaynaklanan LDL kolesterol miktarında artma (şekil-21) ve bitki ekstraktı alımından kaynaklanan HDL kolesterol miktarında artma (şekil-25) gözlemlendi.

4. 1. 4. Kolesterol Grubu

Çalışmaya başlamadan önce bu gruptaki tavşanların kan örnekleri toplandı. 0. hafta olarak belirtilen bu gruptaki tavşanların kan serumlarında total kolesterol, trigliserid, LDL kolesterol ve HDL kolesterol seviyeleri ölçüldü. Yapılan istatistiksel analiz sonucu elde edilen ortalama değerler sırasıyla: 62.2 ± 15.3 mg/dL, 129.0 ± 12.6 mg/dL, 30.2 ± 13.2 mg/dL, 31.8 ± 12.4 mg/dL olarak bulundu.

5 hafta boyunca hiperkolesterolemi oluşturmak amacıyla tavşanlara normal yemlerine ek olarak kolesterol (100 mg/kg tavşan) oral yolla verildi. 5. haftanın sonunda kan serum örnekleri tekrar toplandı. Kan serumunda total kolesterol, trigliserid, LDL kolesterol ve HDL kolesterol miktarları ölçüldü.

Yapılan istatistiksel analiz sonucu elde edilen değerler sırasıyla: 516.4 ± 171.8 mg/dL, 128.4 ± 11.9 mg/dL, 486.0 ± 168.8 mg/dL, 33.0 ± 10.2 mg/dL olarak bulundu.

İstatistiksel analiz sonucu elde edilen verilerden yararlanılarak bu gruptaki tavşanların 0. ve 5. haftaki total kolesterol, trigliserid, LDL ve HDL miktarları grafiğe geçirildi. 0.hafta ile kıyaslandığında 5. haftada plazmada total kolesterol miktarının arttığı (şekil-14), trigliserid miktarının anlamlı ölçüde değişmediği (şekil-18), LDL miktarının arttığı (şekil-22), HDL miktarının anlamlı ölçüde değişmediği (şekil-26) gözlemlendi.

4. 2. Plazmada Malondialdehit Düzeyi

Deney tavşanları 4 gruba ayrıldı ve tavşanlar çalışma prosedürüne göre beslendi. 1. grup; normal yem ile, 2. grup; normal yem + bitki ekstaktı (50 mg/kg tavşan), 3. grup; normal tavşan yemi+ kolesterol (100 mg/kg tavşan)+bitki ekstraktı (50 mg/kg tavşan), 4. grup;

normal tavşan yemi+ kolesterol (100 mg/kg tavşan) ile 5 hafta boyunca beslendikten sonra kan serum örnekleri alındı. 5. haftadaki bu kan serum örneklerinde TBARS (tiobarbituric acid reactive substances) metodu uygulanarak plazmadaki MDA (malondialdehit) miktarları ölçüldü.

Plazmadaki MDA miktarını belirleyebilmek için TMP (1,1,3,3-tetrametoksipropan) standardı hazırlandı. Değişik konsantrasyonlarda hazırlan TMP çözeltilerinin 530 nm'deki absorbans değerlerinin grafiğe geçirilmesiyle standart eğri hazırlandı. (Şekil-10)

$y=0.0531x$ denkleminde yararlanarak tavşan serumlarındaki MDA miktarları hesaplandı. Yapılan istatistiksel analiz sonucu elde edilen veriler kontrol grubunda: 1.5 ± 16.1 nmol/mL, bitki grubunda: 1.7 ± 30.8 nmol/mL, kolesterol+bitki grubunda: 1.8 ± 23.0 nmol/mL, kolesterol grubunda: 2.9 ± 53.1 nmol/mL olarak bulundu.

İstatistiksel analiz sonucu elde edilen veriler grafiğe geçirildi. 5. haftanın sonunda plazma MDA seviyelerinin kontrol, bitki ve kolesterol+bitki grubunda yaklaşık olarak aynı, kolesterol grubunda ise anlamlı ölçüde yüksek olduğu gözlemlendi (şekil-27).

4. 3. Tavşan Vücut Ağırlıkları

Tavşan vücut ağırlıkları çalışmanın başında ve çalışmanın sonunda ölçüldü. Bu süre içinde tavşanların kilolarında anlamlı bir artış bulunmadı. Çalışmamızdan elde ettiğimiz, kolesterol ile beslenen grupta kilo artışının olmayışı diğer araştırmacıların sonuçları ile uyumludur. Yapılan araştırmalarda hayvanların kilo alma ya da kilo verme eğiliminde oldukları, ancak bu eğilimlerin istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmadığı bildirilmektedir.

4. 4. Histolojik Bulgular

4. 4. 1. Karaciğere Ait Histolojik Bulgular

4. 4. 1. 1. Kontrol Grubu

Kontrol grubu karaciğer dokularının histolojik analizinde herhangi bir değişiklik izlenmedi. Hepatositlerin, sinuzoidal yapılar normal görünümde idi (Resim-1).

Kontrol grubuna ait karaciğer kesitlerinin Hematoksilen Vangiesson ile boyamalarında histolojik bir değişim gözlenmedi (Resim-2).

4. 4. 1. 2. Kolesterol Grubu

Karaciğer dokusunda, hepatositlerde yaygın hidropik dejenerasyon ve karaciğer yağlanması belirgin olarak izlendi (Resim-3).

Kolesterol grubuna ait karaciğer kesitlerinin Hematoksilen Vangiesson ile boyamalarında histolojik bir değişim gözlenmedi (Resim-4).

4. 4. 1. 3. Kolesterol+Bitki Grubu

Bu gruba ait karaciğer dokusunun histolojik incelemesinde kolesterol grubundaki histolojik değişimlerin azaldığı incelendi. Yaygın hidropik dejenerasyonun yerini lokal odaklara bıraktığı, yağlanmanın azaldığı incelendi (Resim-5).

Kolesterol+Bitki grubuna ait karaciğer kesitlerinin Hematoksilen Vangiesson ile boyamalarında doku fibrosisi açısından histolojik bir değişim gözlenmedi (Resim-6).

4. 4. 2. Aorta Ait Histolojik Bulgular

4. 4. 2. 1. Kontrol Grubu

Kontrol grubuna ait aortun longitudinal kesitlerinin incelenmesinde normal yapı izlendi (Resim-7).

4. 4. 2. 2. Kolesterol Grubu

Bu gruba ait aort kesitlerinin incelenmesinde damar duvarında yer alan kemik ve kıkırdak dokularında metaplazik görünüm izlendi. Aterosklerotik değişimler yaygın olarak izlendi (Resim-8).

4. 4. 2. 3. Kolesterol+Bitki Grubu

Bu gruba ait aort kesitlerinin incelemesinde kolesterol grubunda izlenen histolojik değişimler izlenmesine karşın aterosklerotik değişimlerin azaldığı, kıkırdaktaki metaplazinin duraksadığını ancak lümeneye doğru çıkıntı yapan aterosklerotik değişimlerin devam ettiği izlendi (Resim-9).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Gelişmiş ülkelerdeki en sık rastlanan ölüm nedenlerinden biri aterosklerozdur. Aterosklerozun meydana gelmesindeki en büyük risk faktörlerinden biri de lipid bozukluklarıdır. Yüksek serum total kolesterol düzeyi (>200 mg/dL), yüksek LDL (Düşük yoğunluklu lipoprotein) kolesterol düzeyi (>100 mg/dL), ve düşük HDL (Yüksek yoğunluklu lipoprotein) kolesterol düzeyi (<40 mg/dL) lipid metabolizması bozukluklarının göstergesi olarak kabul edilir.

Aterosklerozun, yüksek düzeyde kolesterol alımı ve kolesterolün fizyolojik fonksiyonlarının gerçekleşmesinde önemli rol oynayan ve taşıyıcı nitelikte olan düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonu sonucu gelişen hiperkolesterolemi ile yakından ilgili olduğu kanıtlanmıştır.⁴²

Son yıllarda kolesterol düzeyini düşürdüğü belirlenmiş olan bitki sterolleri, flavanoidler gibi besinsel öğeleri içeren bitkisel ilaçların, kardiyovasküler hastalıklarda anlamlı bir terapötik etkiye sahip olduğu saptanmıştır.³⁶ Flavonoidlerin LDL oksidasyonunu engelleyici etkilerinin lipid peroksil veya alkoksil radikallerini, lipid hidroperoksit ve hidroksil radikaline dönüştürme, LDL oksidasyonu süresince α -tokoferol tüketimini azaltma ve oksidasyonu katalizleyen bakır ve demirin, LDL partiküllerine bağlanmasını engelleme gibi mekanizmaları gerçekleştirdiği saptanmıştır.⁴⁵

Kimi bitkilerin de bu alanda geleneksel olarak kullanıldığı bilinmekte ve bunların etkin unsurları sentezlenerek hiperkolesterolemik ilaçlar için model olarak kullanılmaktadır.

Bu çalışmada Güneydoğu Anadolu Bölgesinde yetişen ve Dicle Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden temin edilen *Hypericum lysimachioides* bitkisinin etanol ekstraktının hiperkolesterolemik tavşanlar üzerindeki etkileri incelemeyi amaçladık. Çalışma, Dicle Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edilen 20 adet beyaz Yeni Zelanda tavşanı üzerinde yürütüldü

Tavşanlar her biri beş taneden oluşan 4 gruba ayrıldı. Çalışma süresi olan beş hafta boyunca birinci gruba normal tavşan yemi, ikinci gruba normal tavşan yemi ve bitki ekstraktı, üçüncü gruba normal tavşan yemi, bitki ekstraktı ve kolesterol, dördüncü gruba ise günlük tavşan yemi ve kolesterol oral yolla verildi.

Deney hayvanlarından çalışmaya başlarken (0.hafta) ve çalışma süresi olan 5. haftanın sonunda kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinden kan serumlarının ayrılması sağlandı. Kan serumlarında total kolesterol, trigliserid, HDL, LDL ve MDA düzeylerine bakıldı.

İstatistiksel analiz sonucu elde edilen verilerden yararlanarak dört grup için toplam kolesterol miktarları (tablo-2) şekil-28 de verilmiştir. Şekil-28'den de görüleceği gibi kontrol grubu ve bitki grubunda 0. hafta ve 5. hafta total kolesterol değerleri arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). Kontrol grubu ile bitki grubunun total kolesterol değerleri ise birbirine yakın bulundu ($p>0.05$).

Hem kolesterol ile bitki ekstraktı alan grupta, hem de sadece kolesterol alan grupta 5. hafta sonunda total kolesterol seviyesinde 0. haftaya göre anlamlı ölçüde yüksek bir artış gözlemlendi ($p<0.05$). 5. hafta sonunda kolesterol + bitki alan gruptaki kolesterol seviyesinin, kolesterol grubuna göre daha düşük değerde olduğu gözlemlendi ($p<0.05$). Bu da çalışmamızda kullandığımız bitkinin plazmada yükselen kolesterol seviyesini düşürdüğünü göstermektedir.

Tablo-2'de bütün gruplardaki tavşan kan serum örneklerinin trigliserid miktarları gösterilmiştir. Tablo-2'den yararlanarak şekil-29'daki grafik elde edildi. Grafikten de görüleceği gibi tüm tavşan gruplarındaki serum trigliserid miktarları 0. hafta ve 5. hafta sonunda anlamlı ölçüde değişmedi ($p>0.05$). Kolesterol alan gruptaki serum trigliserid miktarının diğer gruplarla kıyaslandığında anlamlı ölçüde değişmemesi tartışılabilir. Ancak bitkilerin yüksek kolesterolü düşürücü etkisini gösteren bazı çalışmalarda, fazla miktarda kolesterol alımına bağlı olarak kolesterol düzeyinin arttığı ancak trigliserid düzeyinin anlamlı ölçüde değişmediği gözlemlenmiştir.

Biavatti ve ark. *Campomaneisa xanthocarpa* (Berg.) ve *Cuphea carthagenensis* bitkilerinin su ekstraktlarının yüksek kolesterol diyetiyle beslenen sıçanlarda serum lipid parametrelerini incelemiş ve *Cuphea carthagenensis* bitkisinin plazma yüksek kolesterollü sıçanlarda trigliserid düzeyine bir etkisi olmadığı sonucuna varmışlardır.⁵²

Trigliserid yüksekliliği ile koroner arter hastalıkları arasında bağımsız bir epidemiyolojik korelasyon tutarlılık gösterilememiştir. Ancak hipertrigliseriemi ve buna sıklıkla eşlik eden düşük HDL, insülin rezistansı ve obezite koroner arter hastalığı için risk oluşturur. Tek başına trigliseridi düşürmenin koroner olaylara etkisi ile ilgili veri çok azdır.⁵⁶

Tavşan serumlarındaki HDL düzeyleri, istatistiksel olarak elde edilen veriler tablo-2'de gösterilmiştir. Tablo-2'den yararlanılarak şekil-31'deki grafik elde edildi. Kontrol grubunda plazma HDL seviyesinin 5. hafta sonunda anlamlı ölçüde değişmediği gözlemlendi ($p>0.05$). Bitki alan grupta 5. hafta sonunda HDL seviyesinin arttığı gözlemlendi ($p<0.05$). Kolesterol ile bitki alan grupta HDL düzeyi, kolesterol grubundakine göre anlamlı ölçüde farklı bulundu ($p<0.05$). Kolesterol alan grupta 0. ve 5. haftalardaki HDL düzeyi anlamlı ölçüde değişmezken ($p>0.05$), kolesterol ile birlikte bitki alan grupta 0. ve 5. haftalar arası ciddi miktarda artma gözlemlendi ($p<0.05$). Çalışmada bitki yedirilen gruba kolesterol

verilmesine rağmen plazma HDL düzeyindeki artış yönünde elde edilen bulguların varlığı benzer çalışmalarda olduğu gibi bitkilerin yapılarında bulunan flavonoidlerin etkileri ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir.⁵¹

HDL kolesterolün ateroskleroz gelişiminde koruyucu bir rolü vardır. Plazmada 35 mg/dL'nin altındaki HDL değerinin önemli bir koroner risk faktörü olduğu bilinmektedir. Gerek Türk Kalp Çalışması gerekse TEKHARF Çalışmasına göre ülkemizdeki erkeklerin %50'sinde HDL bu değerinin altında olduğundan, konu ülkemiz için önem taşımaktadır. Ancak tek başına HDL düzeyini yükselten bir yöntem olmaması ve yaşam tarzının düzeltilmesiyle birden fazla lipid parametresinin düzelmesi nedeniyle, HDL yükseltmenin koroner riski azaltıcı etkisini ölçmek güçleşmektedir. Yaşam tarzı değişmesi, egzersiz, niyasin, fibrat ve statinler HDL'yi yükseltirken diğer lipid parametrelerini de etkilerler.

Çalışmada plazma total kolesterol, trigliserid ve HDL ölçümler sonucu elde edilen verilerden yararlanılarak plazma LDL miktarı Friedewald Formülü ile hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirilen veriler tablo-2'de verilmiştir. Tablo-2 den yararlanılarak şekil-30'daki grafik elde edildi. Buna göre kontrol ve bitki grubunda 0. hafta ile 5. hafta plazma LDL düzeyinin istatistiksel açıdan anlamlı ölçüde değişmediği gözlemlendi ($p>0.05$). 5. hafta sonunda kolesterol+bitki ve kolesterol grubunda LDL düzeyinin 0. haftaya oranla arttığı gözlemlendi. Ancak kolesterol+bitki grubu ile kolesterol grubu plazma LDL düzeylerindeki değişimin istatistiksel açıdan anlamlı olduğu gözlemlendi ($p<0.05$). Çalışmada kullanılan bitkinin, hiperkolesterolemi oluşturulan tavşanlarda plazma LDL düzeyini düşürdüğü gözlemlendi. Bu sonuç kullandığımız bitkinin antihiperlipidemik bir etkiye sahip olduğunu ve bitkide bazı sterol yapılarının varlığını işaret edebilir.

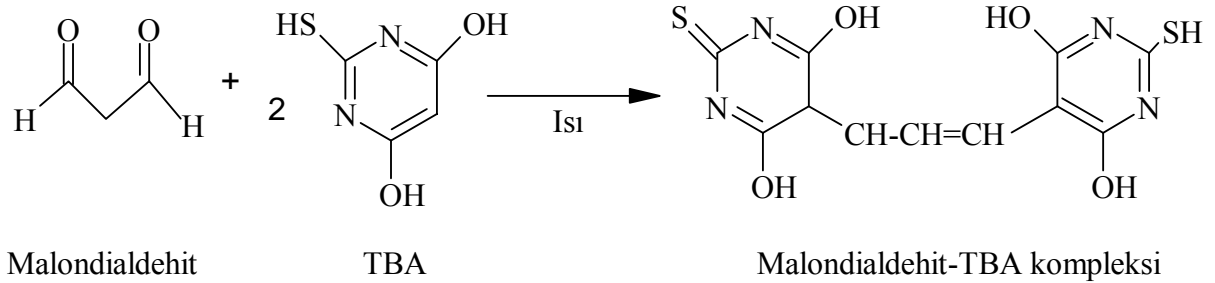
Plazmadaki kolesterolün çoğu LDL şeklinde taşınır. En aterojen lipoprotein olan LDL düzeyi, doymuş yağların fazla tüketilmesi, aşırı kilo alınması ve fiziksel aktivitenin azalması ile artar. Ayrıca plazmadan LDL temizlenmesini sağlayan LDL reseptörlerine genetik nedenlerle düşük affinite olması da plazma LDL düzeyinin yükselmesine neden olur. Bunun yanısıra kronik böbrek yetmezliği, diabetes mellitus, alkol kullanımı ve bazı ilaçların kullanımı gibi durumlarda da LDL düzeyi yükselir. Neden ne olursa olsun artan LDL damar duvarlarında depolanarak aterosklerotik lezyonun gelişmesine katkıda bulunur.⁵⁹

İnsanlar, maymunlar ve tavşanlarda kolesterol, VLDL ve LDL yoluyla plazmayı terkeder ve daha az HDL₁, bunun yerine daha fazla LDL sentezlenmesinden dolayı bu türler ateroskleroza daha duyarlıdır. Bunun yanında fare, sıçan, köpek başta olmak üzere genel olarak hayvanlar HDL₁ oluştururlar ve kolesterolü Apo-E'nin aracılık ettiği yol ile doğrudan

karaciğere götürebilirler. Bu hayvanlarda LDL düzeyi daha düşüktür ve dolayısıyla ateroskleroz gelişimine karşı dirençlidirler.⁵

Plazmada artan LDL düzeyi gerek iç gerekse dış etkenler dolayısıyla LDL oksidasyonuna neden olur. LDL peroksidasyonu, lipid peroksidasyonuna benzer bir mekanizma üzerinden gerçekleşmektedir. Lipid peroksidasyonu sonucu aldehit, keton ve hidrokarbon gibi ürünler oluşur. Bu ürünlerden biri de malondialdehit (MDA)'dir.

Çalışmada plazma MDA miktarları, TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances) metoduyla⁶³ ölçüldü. Kolay uygulanması ve güvenilir sonuç vermesi nedeniyle bu metod tercih edildi. Bu metod MDA'nın TBA (tiobarbitürik asit) ile kırmızı renkli kompleks oluşturarak 530 nm'de absorbanı vermesi esasına dayanır.



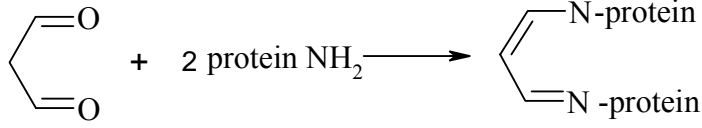
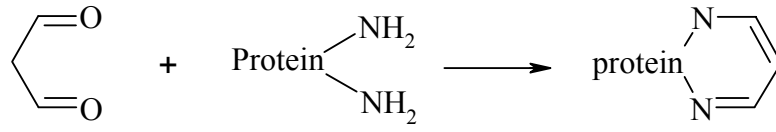
MDA oldukça kararsız bir yapıdadır. TMP asidik ortamda MDA'ya dönüşür. Bu nedenle standart olarak TMP (1,1,3,3-tetrametoksipropan) kullanıldı.

Deney hayvanlarından 5. haftada alınan serum örneklerinde MDA düzeyleri ölçüldü. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi ve elde edilen verilerden yararlanarak şekil-27'deki grafik elde edildi. Grafikten de görüleceği gibi kontrol, bitki ve kolesterol+bitki grubunda plazma MDA miktarında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). Kolesterol grubunda ise MDA miktarının anlamlı ölçüde yükseldiği gözlemlendi ($p<0.05$). Kolesterol ile bitki alan grupta MDA miktarının, kolesterol grubuna oranla oldukça düşük çıkması bitkinin lipid peroksidasyonunu önlediğini göstermiştir.

Lipid radikalleri veya MDA gibi peroksidasyon ürünleri aracılığı ile lipid peroksidasyonu, biyolojik membranlarda yaygın hale geldiği zaman hücresel yapı ve membran hasarları ortaya çıkmaktadır. MDA:

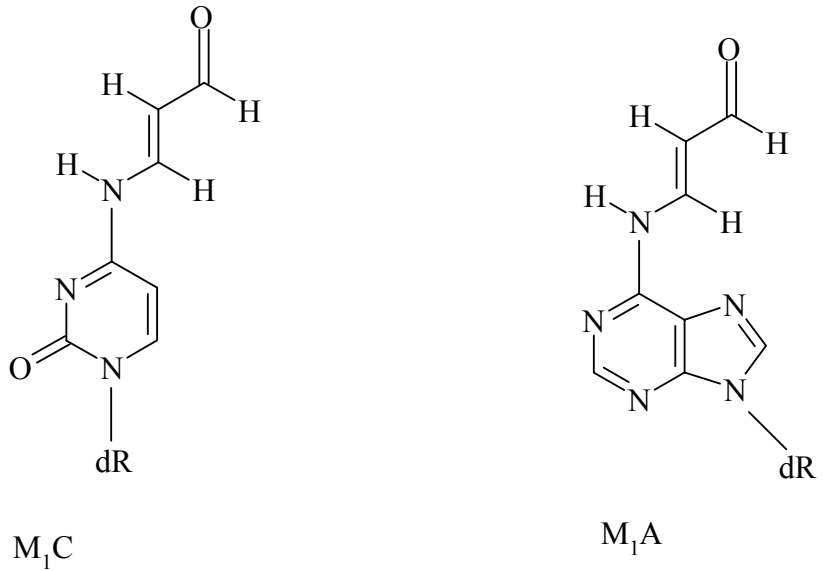
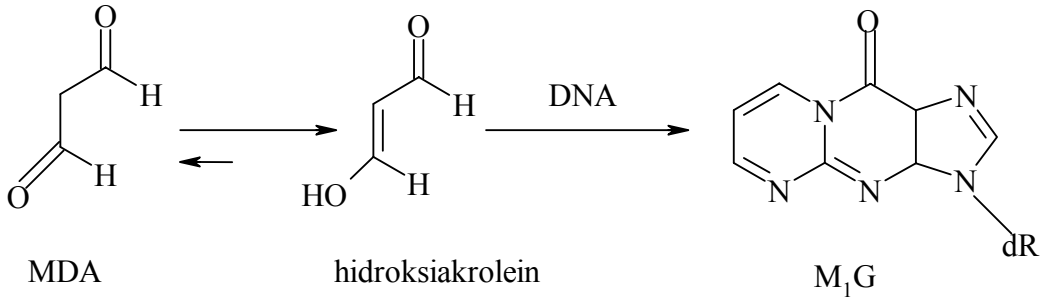
-Membrandaki iyon alış-verişi sırasında görev yapan Na^+K^+ -ATPaz enzimini inaktive edebilir.

-Proteinlerin amin grupları ile Schiff bazı oluşturarak ya da tiyol grupları ile etkileşerek proteinlerin çapraz bağlanmasına sebep olabilir.



MDA'nın proteinlerle etkileşmesi

-DNA bazları ile etkileşerek çapraz bağlanmaya yol açabilir.



MDA'nın DNA bazlarıyla etkileşmesi

M₁G: primido[1,2α] pürin-10(3H)

M₁A: N⁶-(3-oxopropenil)deoksiadenozin

M₁C: N⁴-(3-oxopropenil)deoksisitidin

Antioksidant etkili ilaçlar LDL oksidasyonu önleyerek, oksidatif stres süresince hasarlı endotelyumu koruyarak güçlü anti-aterosklerotik özellik gösterebilirler.⁵¹ Daha önce bazı *Hypericum* türleriyle yapılan çalışmalarda bu bitkinin bazı türlerinin *in vitro*, anti-bakteriyal,⁶⁰ anti-depresant⁶¹, antioksidant^{60,62} etkilerinin yanısıra *in vivo* antioksidant⁵⁸ etki gösterdiği de bulunmuştur. *H. lysimachioides* bitkisinin etanol ekstraktının *in vitro* olarak antioksidant özellik gösterdiği yapılan çalışmalar arasındadır.⁶⁰

Çalışma sonunda sakrifiye edilen tavşanlarda karaciğer ve aort histolojik doku analizi yapıldı. Patolojik incelemelere dayalı değerlendirmelerde standart yem verilen kontrol grubunda aorta torakalis ve karaciğerlerinde mikroskobik bir lezyon belirlenmedi. Kolesterol alan grupta aortta aterosklerotik lezyonların olduğu ancak bu lezyonların kolesterol ile bitki alan grupta, kolesterol alan gruba oranla daha az olduğu izlendi. Kolesterol alan gruptaki tavşanların karaciğer dokularında hidropik dejenerasyonun ve yağlanmanın yaygın olduğu gözlemlendi. Kolesterol ile bitki alan gruptaki hayvanların karaciğer dokularında yağlanma ve hidropik dejenerasyonun daha az olduğu izlendi. Tüm gruplardaki tavşanların karaciğer kesitlerinin Hematoksilen Vangiesson ile boyamalarında histolojik bir değişim izlenmedi.

Çalışmada bitki ekstraktı yedirilen gruba kolesterol verilmesine rağmen aterosklerotik lezyonların kolesterol grubuna göre daha az oranda gelişmesi, bitkinin yapısında var olduğu sanılan flavonoidlerle ilgili olduğu düşünülmektedir.

Kolesterolü düşürmekle klinik olaylarda azalma sağlanmasının olası olup olmadığı 1970'lerde araştırılmaya başlanmıştır. Bu amaçla kolesterolü düşürücü diyetle ilaveten safra bağlayıcı reçineler, fibratlar, statinler ve niyasin kullanılarak kolesterolün düşürülmesiyle ilgili koroner olayların azaldığı gösterilmiştir. Özellikle Lipid Research Clinics ve Helsinki çalışmalarından çıkan sonuç kolesterol düzeyinde sağlanacak %1'lik düşüşün, koroner kalp olaylarını %2 oranında azaltacağı şeklindedir.⁵⁹ Son yıllarda bitkilerin yüksek kolesterolü düşürücü etkisi ile yapılan çalışmaların sayısı her geçen gün artmaktadır.

Sonuç olarak bölgemizde yetişen *H. lysimachioides* bitkisinin etanol ekstraktının yüksek kolesterolü tavşanlarda total kolesterol ve LDL kolesterol seviyesini düşürdüğünü, HDL kolesterol seviyesini yükselttiğini ve lipid peroksidasyonuna karşı etkili olduğunu söyleyebiliriz. İleriki çalışmalarda, kullanılan bitkinin canlı sistemlerde varolan bazı antioksidant enzimleri üzerine etkilerini araştırmak ve bitkinin yapısında bulunan etkin maddelerin yapılarının aydınlatılması amaçlanmaktadır.

6. EKLER

6. 1. Kolesterol Monoreagent İçeriği

pH 7.0, sodyum kolat 1mmol/L, kolesterol esteraz>250 U/L, peroksidaz > 1 KU/L, 4-aminoantipirin 0.33 mmol/L, N-etil-N-propil-m-anisid 0.4mmol/L, non-iyonik tensioaktifler 2 g/L (w/v)

6. 2. Triglicerid Monoreagent İçeriği

LPL \geq 12 KU/L, GK \geq 1 KU/L, GPO \geq . 10KU/L, ATP 2.0 mmol/L, Mg 40 mmol/L, POD \geq 2.5 KU/L, 4-AA 0.5 mmol/L, fenol 3 mmol/L, non-iyoniktensioaktifler 2 g/L (w/v)

6 3. HDL Monoreagent A İçeriği

Fosfotungustat 0.4 mmol/L, magnezyum klorür 20 mmol/L

6. 4. HDL Monoreagent B İçeriği

Fosfat 35 mmol/L, kolesterol esteraz >0.2 U/mL, kolesterol oksidaz >0.1 U/mL, peroksidaz >1 U/mL, 4-aminoantipirin 0.5 mmol/L, sodyum kolat 0.5 mmol/L, diklorofenolsülfonat 4 mmol/L, pH 7.

7. KAYNAKLAR

1. Öner, Z., 2004. Süt ve Süt Ürünleri İle Alınan Kolesterol ve Kolesterol Sentezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8-1, 38-40
2. Pyorola, K., 1987. Dietary Cholesterol in Relation to Plasma Cholesterol and Coronary Heart Disease, *American Journal of Clinical Nutrition*, 45: 1160-1184
3. Nourooz, Z.S., 1998. Cholesterol Oxides in Swedish Food Ingredients; Butter and Cheese, *Journal of American Oil Chemist Society*, 65 (10) 1635-1641
4. Zubay, G., 1993. Biochemistry, Third Edition, Wm. C. Brown Publishers, Oxford, Melbourne, 641-651
5. Mahley, W.R., Weisgraber, K.H., Farese, R.V., 1998. Williams Textbook of Endocrinology, Lipid Metabolizması Bozuklukları, Bölüm 23 Çeviri: Tekkurt, C., Dokuzuncu Baskı, W.B. Saunders
6. Kramer, J.R., 2002. www.heartcenteronline.com.
7. Gilliland, S.E., Nelson, C.R., Maxwell, C., 1985. Assimilation of Cholesterol by *Lactobacillus Acidophilus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 49: 377-381
8. McNamara, D.J., 1991. Relationship Between Fat, Cholesterol and Coronary Heart Disease, American Meat Science Association, 44th Reciprocal Meat Conference, 147-152
9. Silverman, R.B., The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action. Department of Chemistry, Northwestern University, Evanston, Illinois. Chapter 5:159-161
10. Notari, R.E., 1973. Pharmacokinetics and Molecular Modification: Implications in Drug Design and Evaluation. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 62(6): 865-881
11. de Nuve, C., de Barsey, T., Poole, B., Trouet, A., Tulkens, P., Van Hoof, F., 1974. Commentary Lysomotropic Agents. *Biochemical Pharmacology*, 23(18):2495-2531
12. Shen, W.C., Ryser, H.J.P., 1979. *Molecular Pharmacology*, 16, 614
13. Suzumura, K., Yasuhura, M., Tanaka, K., 1999. Protective Effect of Fluvastatin (XU-62-320), a HMG-Co-A Reductase inhibitor, on Oxidative Modification of Human Low Density Lipoprotein *In Vitro*, *Biochemical Pharmacology*, 57, 697
14. Yamamoto, A., Hoshi, K., Ichihara, K., 1998. Fluvastatin an inhibitor HMG-Co-A Reductase, Scavenges Free Radicals and Inhibits Lipid Peroxidation in Rat Liver Microsomes, *European Journal of Pharmacology*, 361:143
15. Ju, M.E., Lee, E.S., Hwang, J.H., Kim, H.J., 2004. Antioxidant and Anticancer Activity of Extract from *Betula Platyphylla* var. *japonica*, *Life Sciences*, 74: 1013-1026

16. Ntanios, F.Y., van de Kooij, A.J., de Deckere, E.A., Duchateau, G.S., Trautwein, E.A., 2003. Effects of Various Amounts of Dietary Plant Sterol Esters on Plasma and Hepatic Sterol Concentration and Aortic Foam Cell Formation of Cholesterol-Fed Hamsters, *Atherosclerosis*, 169: 41–50.
18. Paul Jayaraj, A., Tovey, F.I., Hobsley, M., 2003. Duodenal Ulcer Prevalence: Research Into the Nature of Possible Protective Dietary Lipids. *Phytotherapy Research* , 17: 391–398
19. Smania, E.F., Delle Monache, F., Smania A, Jr, Yunes RA, Cuneo RS. 2003. Antifungal Activity of Sterols and Triterpenes Isolated From *Ganoderma annulare*. *Fitoterapia*; 74: 375–377
20. Trautwein, E.A., Duchateau, G.S., Lin, Y., Mel'nikov, S.M., Molhuizen, H.O., Ntanios, F.Y., 2003. Proposed Mechanisms of Cholesterol-Lowering Action of Plant Sterols. *European Journal Lipid Science and Technology*. 105: 171-185
24. . Hasler, C.M., 2002. The Cardiovascular Effects of Soy Products. *The Journal of Cardiovascular Nursing*. 16: 50-63.
25. Hasler, C.M., 2002 .Functional Foods: Benefits, Concerns and Challenges, Position paper from the American Council on Science and Health, *Journal of Nutrition*., 132: 3772- 3781.
26. Ross, J.A., Kasum, C.M., 2002 Dietary Flavonoids: Bioavailability, Metabolic Effects, and Safety. *Annual Review of Nutrition*, 22: 19-34
27. Dillard C.J, German J.B., 2000. Phytochemicals: Nutraceuticals and Human Health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 1744- 175
28. Prior R.L., 2003. Fruits and Vegetables in the Prevention of Cellular Oxidative Damage, *American Journal of Clinical Nutrition*, 78: 570S-578S.
- 29.. Knekt P., ve ark., 1997. Dietary Flavonoids and the Risk of Lung Cancer and Other Malignant Neoplasms, *American Journal of Epidemiology*; 146: 223-230
30. Le Marchand L, Murphy S.P., Hankin J.H., Wilkens L.R., Kolonel L.N., 2000. Intake of Flavonoids and Lung Cancer, *Journal of the National Cancer Institute*; 92: 154-160
31. Brown, M.S., Goldstein, J.L., 1986. Receptor- Mediated Pathway for Cholesterol Homeostatis., *Science*, 232: 34-47.
32. Goldstein, J.L., Ho, Y.K., Basu, S.K., Brown, M.S., 1979. Binding Site on Macrophages That Mediates Uptake and Degredation of Acetylated Low Density Lipoprotein. Phospholipids, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 76: 333-337
33. Steinberg, D., Parthasarathy, S., Carew, T.E., Khoo, J.C., Witztum, J.L., 1989. Beyond Cholesterol. Modifications of Low Density Lipoprotein That Increase Its Atherogenisity, *The New England Journal of Medicine*, 320: 915-924

34. Steinbrecher, U.P., Parthasarathy, S., Leake, D. Witztum, J.L., Steinberg, D., 1984. Modification of Low Density Lipoprotein by Endothelial Cells Involves Lipid Peroxidation and Degredation of Low Density Lipoprotein Phospholipids, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 81:3 883-3887
35. Yla Herttuala, S., 1991. Macrophages and Oxidized Low Density Lipoproteins in the Pathogenesis of Atherosclerosis, *Annals of Internal Medicine*, 23: 561-567
36. Jialal I., Devaraj S., 1996. Low density lipoprotein Oxidation, Antioxidants and Atherosclerosis: a Clinical Biochemistry Perspective, *Clinical Chemistry*, 42: 498-506
37. Bhandri, U., Sharma, J.N., Zafar, R., 1998. The Protective Effect of Ethanol Extract of Ginger in Cholesterol Fed Rabbits, *Journal of Ethnopharmacology*, 61: 167-191
38. Ramirez-Tortosa, M.C., Mesa, M.D., et al. 1999. Oral Administration of a Turmeric Extract Inhibits LDL Oxidation and Has a Hypocholesterolemic Effect in Rabbits With Experimental Atherosclerosis, *Atherosclerosis*, 147: 371-378
39. Piyachaturawat, P., Charoenpiboonsin, J., Toskulkao, C., Suksamrarn, A., 1999. Reduction of Plasma Cholesterol by *Curcuma Comasa* Extract in Hypercholesterolaemic Hamsters, *Journal of Ethnopharmacology*, 66: 199-204
40. Jayasooriya, P.A., Sakano, M., et al. 2000. Effects of *Momordica Charantia* Powder on Serum and Various Lipid Parameters in Rats Fed with Cholesterol-Free and Cholesterol-Enriched Diets, *Journal of Ethnopharmacology*, 72: 331-336
41. Jeon, M.S., Bok, S.H., 2001. Antioxidative Activity of Naringin and Lovastatin in High-Cholesterol-Fed Rabbits, *Life Sciences*, 69: 2855-2866
42. Freyschuss, A., Al-Schurbaji, A., 2001. On the Anti-Atherogenic Effect of the Antioxidant BHT in Cholesterol-Fed Rabbits: Inverse Relation Between Serum Triglycerids and Atheromatous Lesions, *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1534: 129-138
43. Vanstone, A. C., Sarjaz, R. M., Jonez, P., 2001. Injected Phytosterols/Stanoles Suppress Plasma Cholesterol Levels in Hamsters, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 12: 565-574
44. Zhang Z., et al., 2002. Hawthorn Fruit is Hypolipidemic in Rabbits Fed a High Cholesterol Diet, *American Society for Nutritional Sciences J. Nutr.*, 132: 5-10
45. Bakirel, T., Şener, S., Bakirel, U., Keleş, O., Şennazlı, G., Gürel, A., 2003. Tavşanlarda Deneysel Hiperkolesterolemi ve Ateroskleroz Üzerine *Pistacia Terebinthus* L. Etkisi, *Turkish Journal Vet. Animal. Science*, 27: 1283-1292
46. Berrougui, H., et al., 2003. Hypolipidemic and Hypocholesterolemic Effect of Argan Oil (*Argania Spinosa* L.) in Meriones Shawi Rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 89: 15-18

47. Kim, J.B., ve ark., 2003. A water Extract of the Korean Traditional Formulation Geiji-Bokryung-Hwan Reduces Atherosclerosis and Hypercholesteremia in Cholesterol-Fed Rabbits, *International Immunopharmacology*, 3: 723-734
48. Nimenibo, R., 2003. Control of Hyperlipidemia, Hypercholesterolemia and Hyperketonaemia by Aqueous Extract of *Dioscorea Domestorum* Tuber, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2 (1): 183-189
49. Shukla, R., Gupta, S., Gambhir, J.K., Prabhu, K.M., Murthy, P.S., 2004. Antioxidant Effect of Aqueous Extract of the Bark of *Ficus Bengalensis* in Hypercholesterolaemic Rabbits, *Journal of Ethnopharmacology*, 92: 47-51
50. Kurt, H., Başaran, A., Musmul, A., 2004. Sıçanlarda Karbon Tetraklorit (CCl₄)'in Oluşturduğu Oksidatif Stresin Kateşin ile nlenmesi, *Kocatepe Tıp Dergisi*, 5: 29-34
51. Balkan, J., ve ark., 2004. Taurinin Aterosklerotik Tavşanlarda Antiaterojen ve Antioksidan Etkisi, *Kocatepe Tıp Dergisi*, 5 Ek sayı 37-42
52. Sevin, G., Yasa, M., D.Akçay, Y., zer, A., 2004. Hiperkolesterolemik Tavşanlarda Fluvastatinin Antioksidan zelliğinin Aterosklerozun nlenmesindeki Katkısı, *Kocatepe Tıp Dergisi* 5, Ek Sayı: 43-49
53. Devi, R., Sharma, D.K., 2004. Hypolipidemic Effect of Different Extracts of *Clerodendron Colebrookianum* Walp in Normal and High-Fat Diet Rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 90: 63-68
54. Balkan, J., Doğru-Abbasoğlu, S., Aykaç-Toker, G., Uysal, M., 2004. The Effect of a High Cholesterol Diet on Lipids and Oxidative Stres in Plasma, Liver, and Aorta of Rabbits and Rats, *Nutrition Research*, 24: 229-234
55. Biavatti, M.W., ve ark., 2004. Preliminary Studies on *Campomanesia Xanthocarpa* (Berg.) and *Cuphea Carthagenensis* (Jacq.) J.F.Macbr. Aqueous Extract: Weight Control and Biochemical Parameters, *Journal of Ethnopharmacology*, 93: 385-389
56. Seok, S.H., Park, J.H., Cho, A.S., Choio, S.A., Park, J.H., 2004. Cholesterol Lowering Effect of SG-GN3, the Extract of Salted and Fermented Small Shrimps, *Acetes Japonicus*, in TritonWR-1339 or High Cholesterol-Diet Induced Hypercholesterolemic Rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 91: 231-235
57. Yousef, M.I., 2005. Reproductive Performance, Blood Testosterone, Lipid Peroxidation and Seminal Plasma Biochemistry of Rabbits as Affected by Feeding *Acacia Saligna* Under Subtropical Conditions, *Food and Chemical Toxicology*, 43: 333-339
58. Silva, A.B., Ferreres, F., Malva, O.J., C.P.Dias, A., 2005. Phytochemical and Antioxidant Characterization of *Hypericum Perforatum* Alcoholic Extracts, *Food Chemistry*, 90: 157-167

- 59.** Türk Kardiyoloji Derneği Koroner Arter Hastalığına Yaklaşım ve Tedavi Kılavuzu
- 60.** Barış D., 2004. Bazı *Hypericum* ve *Achillea* Türlerinin Antimikrobiyal ve Antioksidant Etkilerinin Araştırılması, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi
- 61.** Daudt R., Von Poser, G.L., Neves,G., Rates,S.M.K., 2000. Screening for Antidepressant Activity of Some Species of *Hypericum* from South Brazil, *Phytotherapy Research*, 14: 344-346
- 62.** Conforti, F., Statti, G., Tundis, R., Menichini, F., Houghton, P., 2002. Antioxidant Activity of Methanolic Extract of *Hypericum Triquetrifolium* Turra Aerial Part, *Fitoterapia*, 73:479-483
- 63.** Vishal, T., Gupha, R.K., 2005. Effects of Vitex Negunda on Oxidative Stress, *Indian Journal of Pharmacology*, 37 (1):38:40

8. TABLOLAR, ŐEKİLLER, RESİMLER

Tablo-1: Tavşan Yemi Bileşimi

Yem Maddesi	%
Arpa	20
Mısır	48.8
B.Kepek	10
Soya	10.5
Balık Unu	2
Et Kemik Unu	4
Tuz	0.9
Fosfat	0.6
Kireç Taşı	2.8
Methionin	0.2
Vit-Min Karması*	0.2

*Ca;% 1.5, P; %0.8, Na; % 0.35, Mn ; 8 mg/kg,

Zn; 50 mg/kg, A Vit; 8000 IU/kg, E Vit; 10 mg/kg

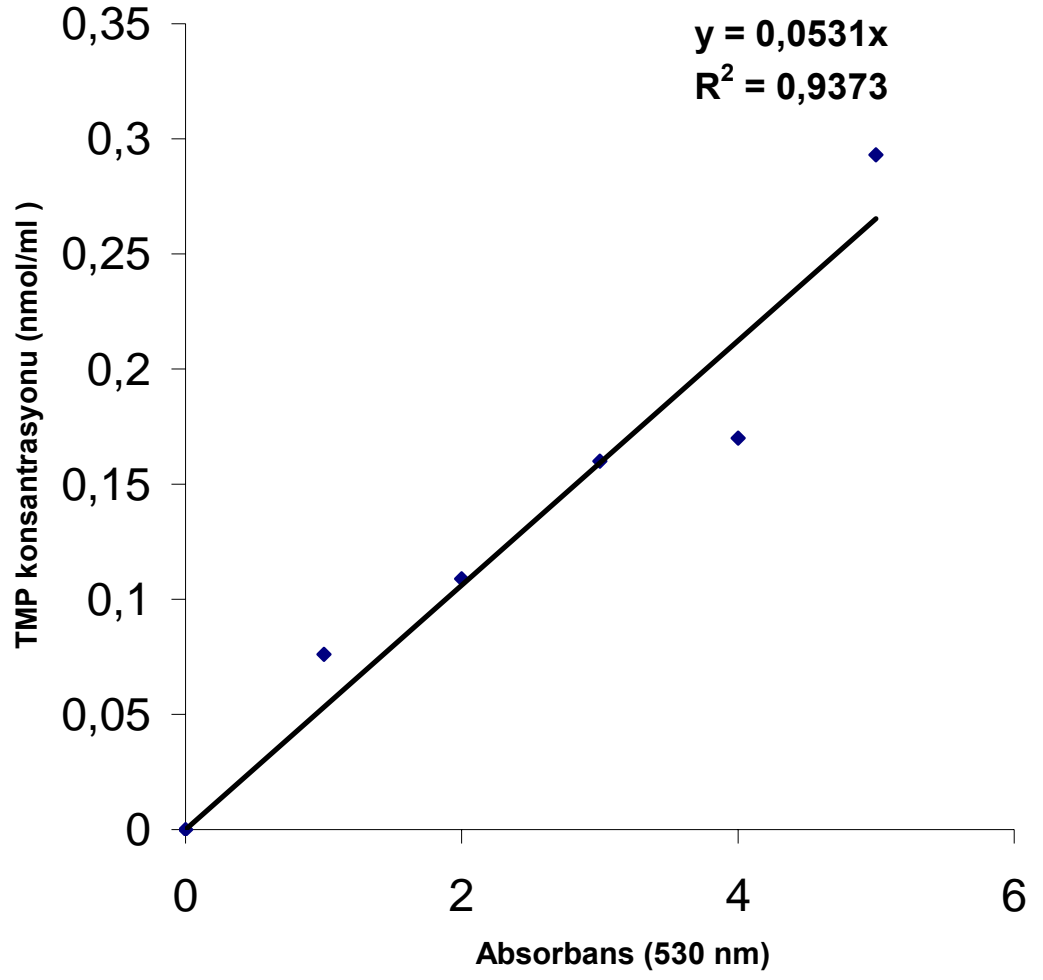
K Vit; 1 mg/kg, D Vit; 800 IU/kg, B-2 Vit; 3 mg/kg

B-12 Vit; 5 mg/kg

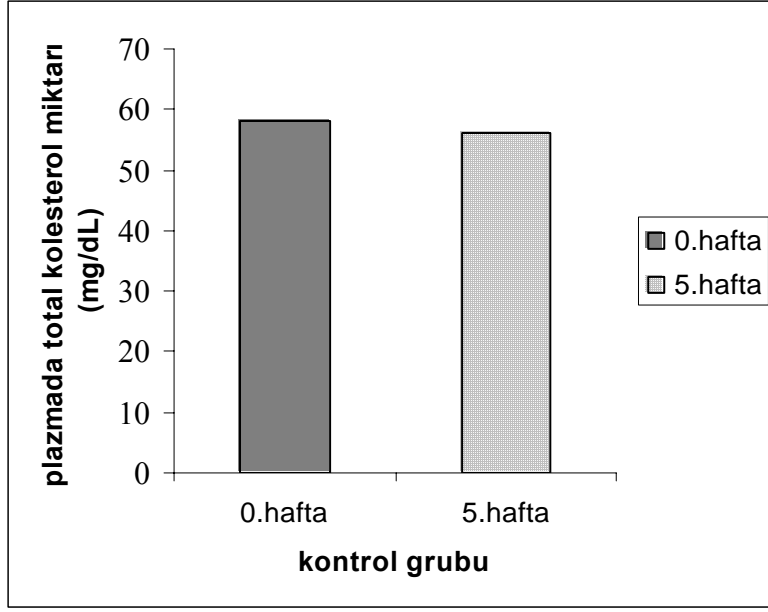
Tablo-2: *Hypericum lysimachioides* bitkisinin etanol ekstraktının tavşanlarda serum lipid düzeyleri üzerine etkisi

Grup	Süre (hafta)	Kolesterol (mg/dL)	TG (mg/dL)	LDL (mg/dL)	HDL
1.grup(n=5)	0	58.6 ± 13.6 ^a	125.2 ± 4.9 ^a	26.6 ± 4.7 ^a	34.4 ± 6.4 ^a
	5	52.0 ± 9.0 ^a	124.8 ± 4.7 ^a	20.6 ± 6.2 ^a	35.8 ± 8.4 ^a
2.grup(n=5)	0	51.0 ± 6.2 ^a	128.6 ± 9.7 ^a	20.4 ± 6.7 ^a	26.4 ± 7.3 ^a
	5	49.8 ± 4.1 ^a	131.6 ± 6.1 ^a	13.4 ± 1.6 ^a	39.4 ± 3.6 ^b
3.grup(n=5)	0	56.4 ± 4.7 ^a	125.6 ± 20.0 ^a	25.6 ± 4.7 ^a	24.8 ± 2.0 ^a
	5	231.2 ± 61.9 ^b	130.4 ± 11.7 ^a	140.2 ± 41.6 ^b	54.2 ± 6.0 ^b
4.grup(n=5)	0	62.2 ± 15.3 ^a	129.0 ± 12.6 ^a	30.2 ± 13.2 ^a	31.8 ± 12.4 ^a
	5	516.4 ± 171.8 ^c	128.4 ± 11.9 ^a	486.0 ± 168.8 ^c	33.0 ± 10.2 ^a

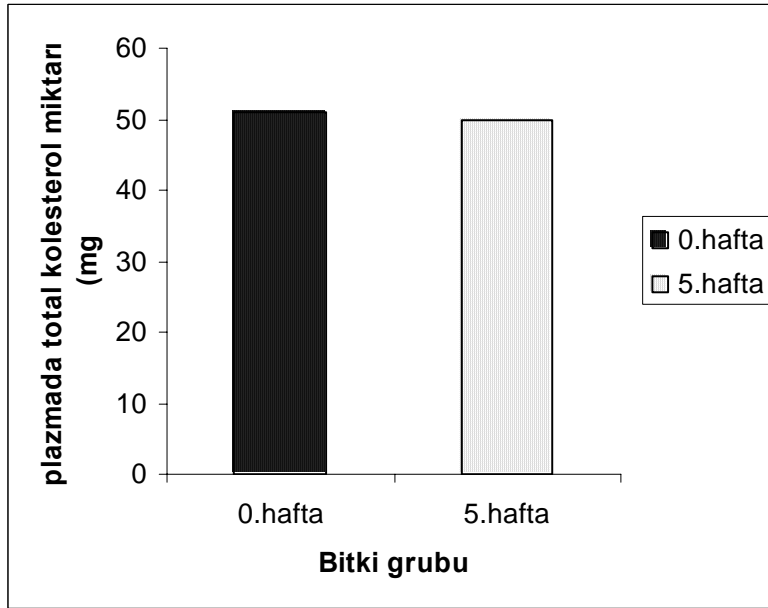
* Farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar anlamlı ($p < 0.05$), aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar anlamsızdır.



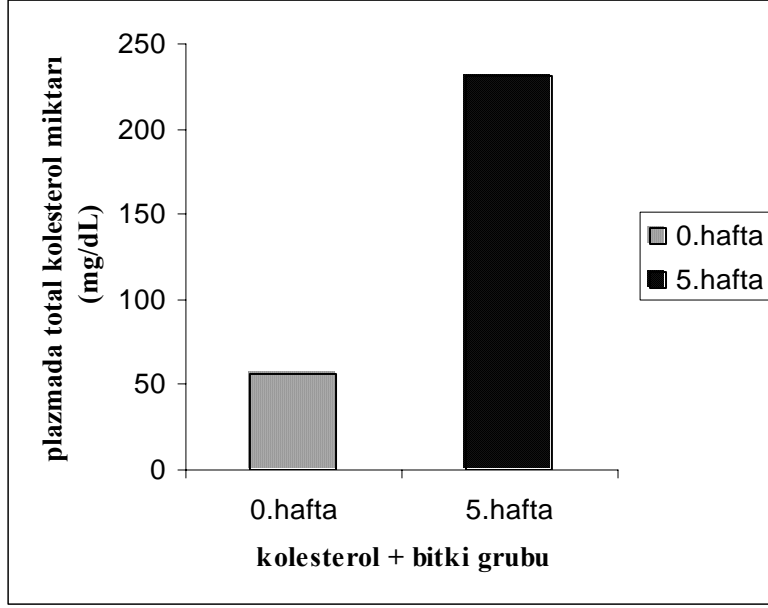
Şekil-11: Plazmadaki MDA miktarına ekivalent TMP konsantrasyonuna karşı absorbans grafiği (TMP standardı).



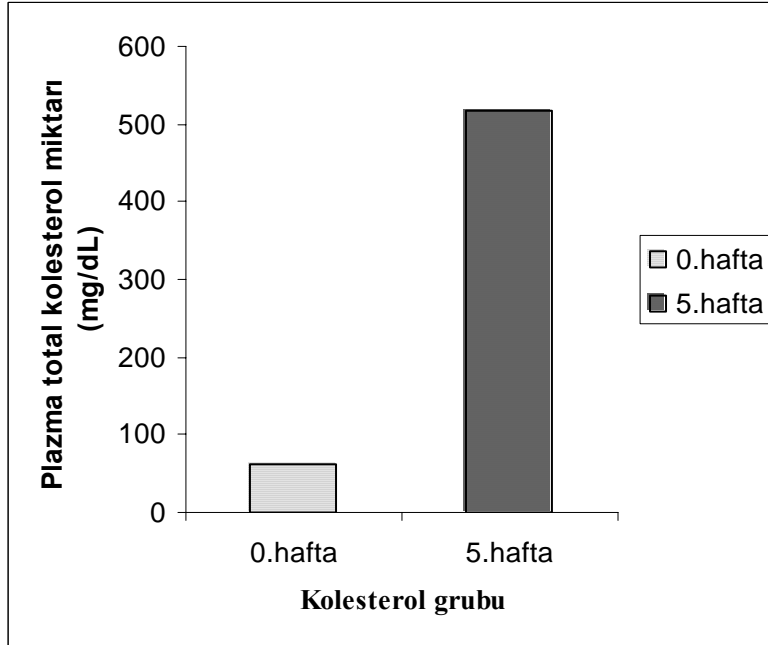
Şekil-12: Kontrol grubu plazmadaki total kolesterol miktarlarının 0. ve 5. haftaya göre kıyaslanması



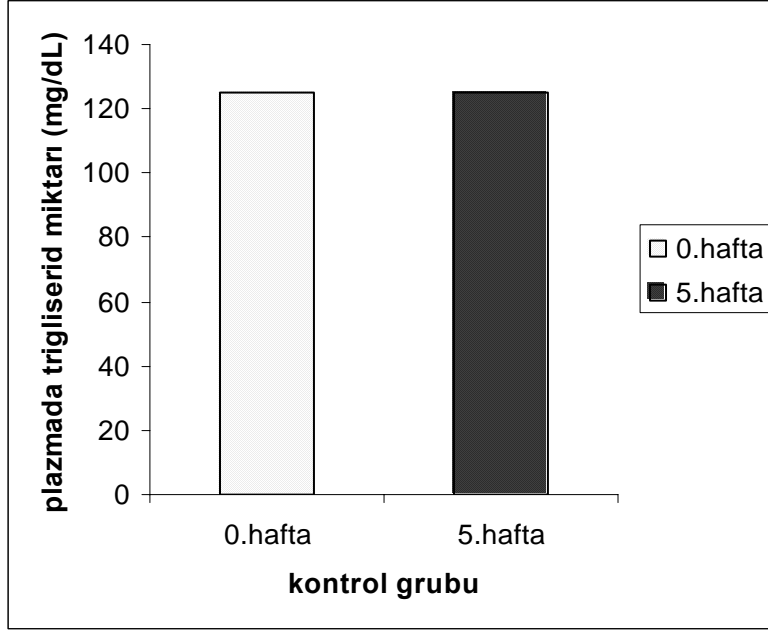
Şekil-13: Bitki grubu plazmadaki total kolesterol miktarlarının 0. ve 5. haftaya göre kıyaslanması



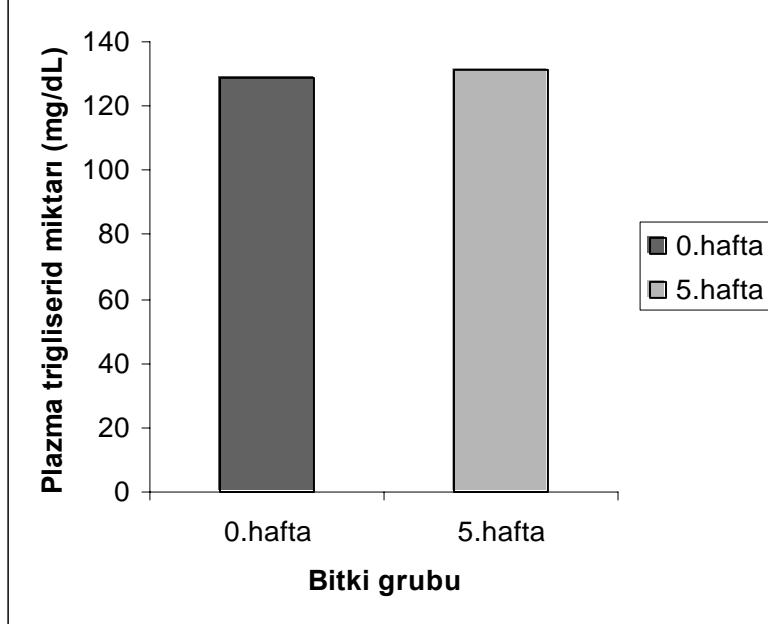
Şekil-14: Kolesterol+Bitki grubu plazmada total kolesterol miktarının 0. ve 5. haftaya göre kıyaslanması



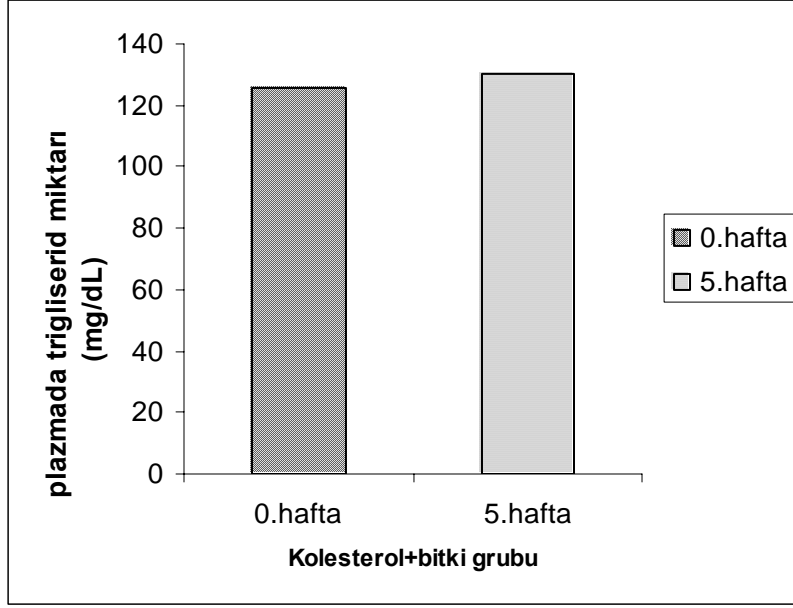
Şekil-15: Kolesterol grubu plazma total miktarlarının 0. ve 5.haftalara göre kıyaslanması



Şekil-16: Kontrol grubu plazma trigliserid miktarlarının 0. ve 5. haftalara göre kıyaslanması



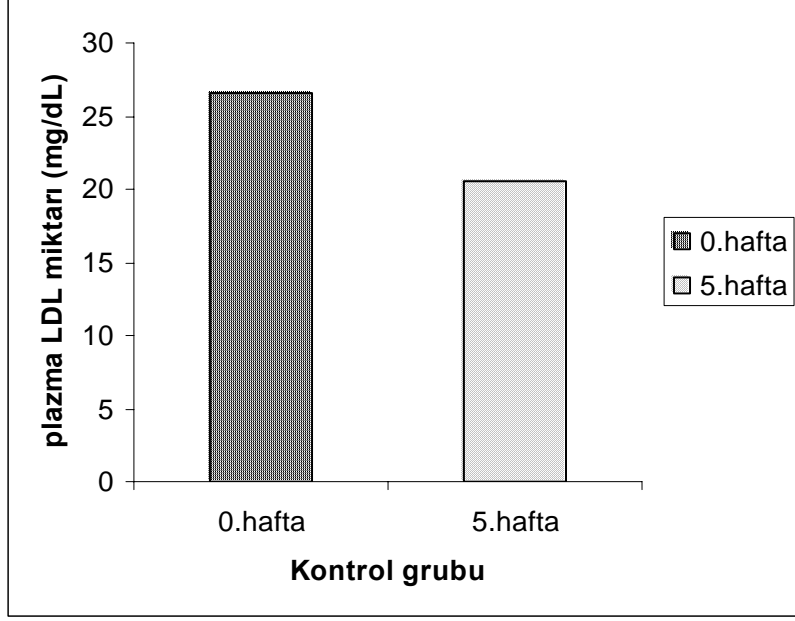
Şekil-17: Bitki grubu plazma trigliserid miktarlarının 0. ve 5. haftaya göre kıyaslanması



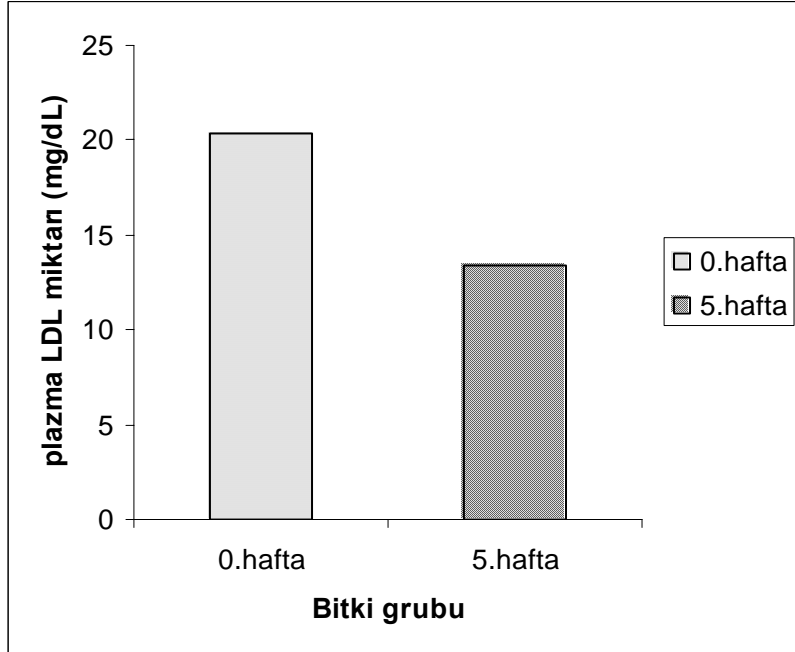
Şekil-18: Kolesterol+ bitki grubu plazma trigliserid miktarlarının 0. ve 5. haftalara göre kıyaslanması



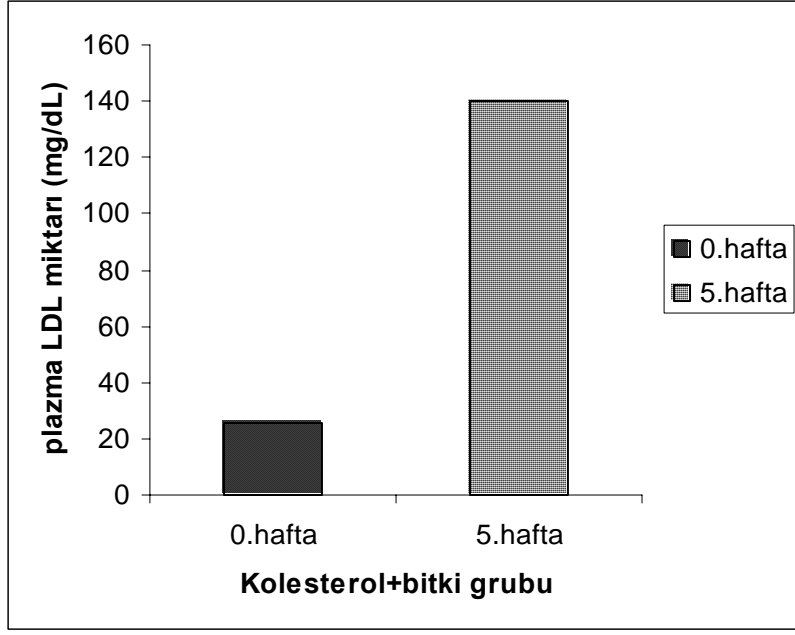
Şekil-19: Kolesterol grubu plazma trigliserid miktarlarının 0. ve 5. haftaya göre kıyaslanması



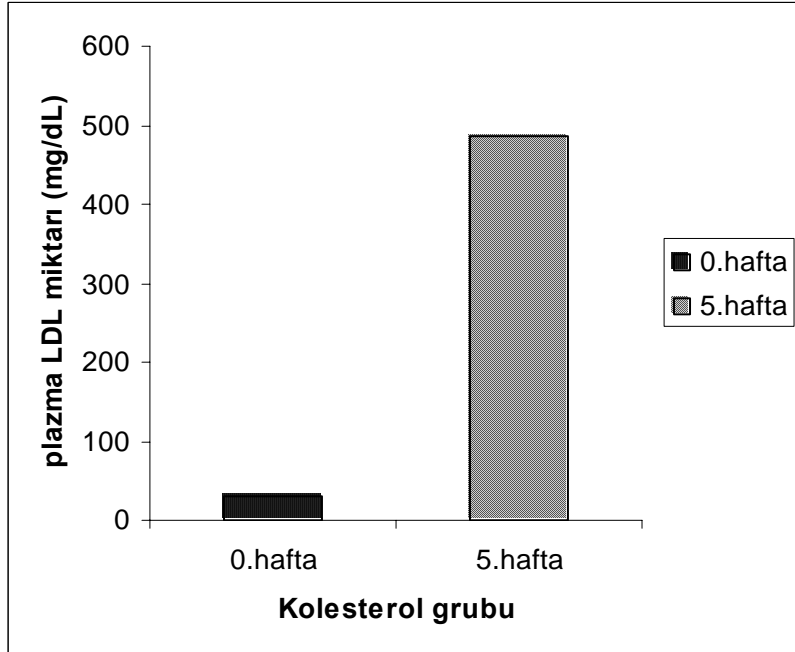
Şekil-20: Kontrol grubu plazma LDL miktarlarının 0. ve 5. haftaya göre kıyaslanması



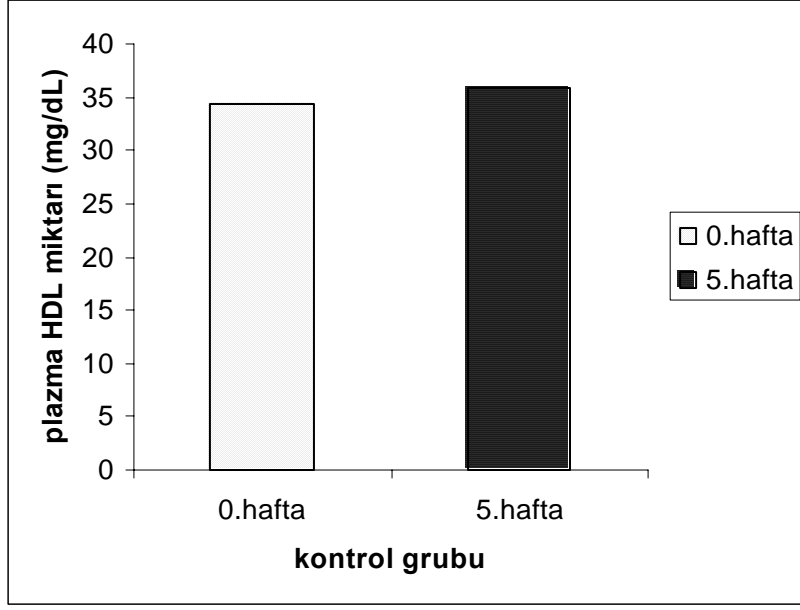
Şekil-21: Bitki grubu plazma LDL miktarlarının 0. ve 5. haftaya göre kıyaslanması



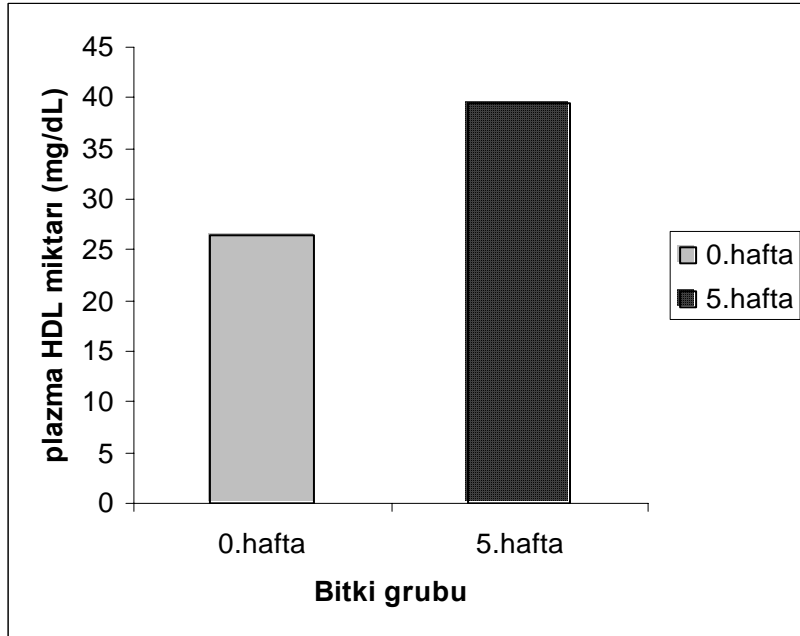
Şekil-22: Kolesterol+bitki grubu plazma LDL miktarlarının 0. ve 5. haftaya göre kıyaslanması



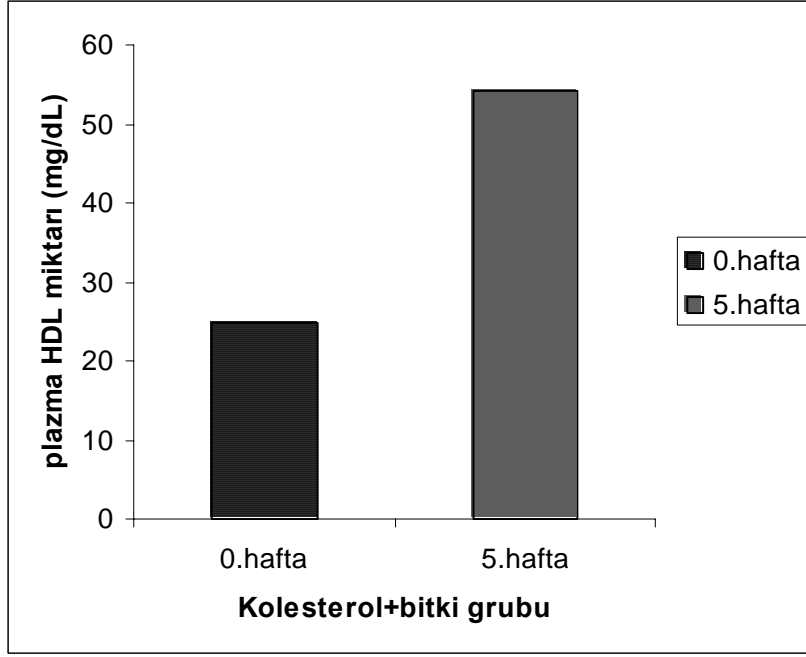
Şekil-23: Kolesterol grubu plazma LDL miktarlarının 0. ve 5.haftaya göre kıyaslanması



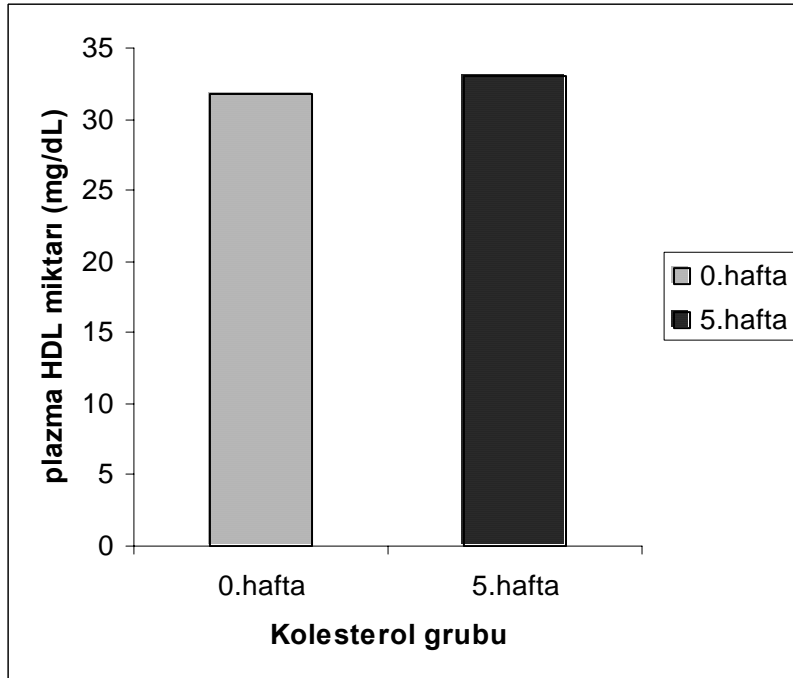
Şekil-24: Kontrol grubu plazma HDL miktarlarının 0. ve 5.haftaya göre kıyaslanması



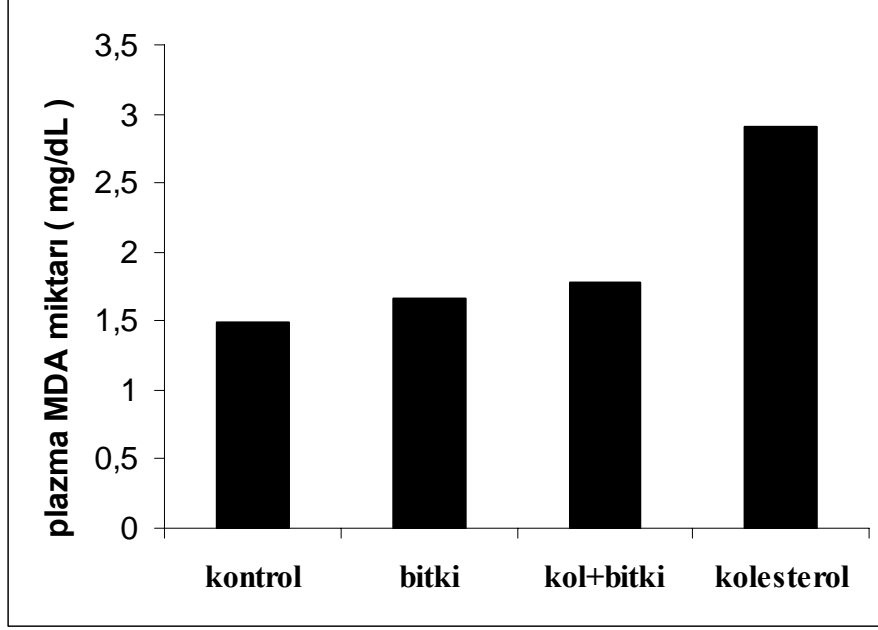
Şekil-25: Bitki grubu plazma HDL miktarlarının haftalara göre kıyaslanması



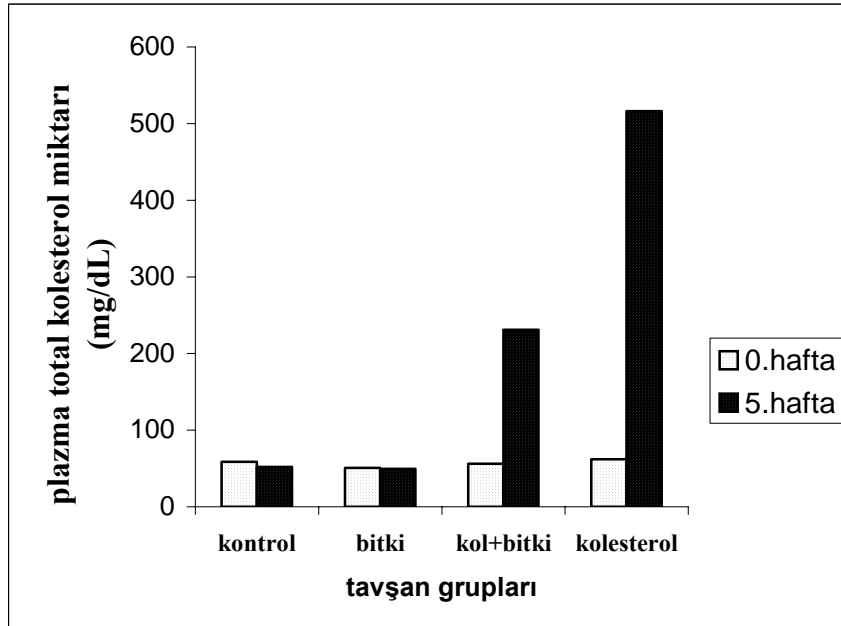
Şekil-26: Kolesterol+bitki grubu plazma HDL miktarlarının 0.ve 5.haftaya göre kıyaslanması



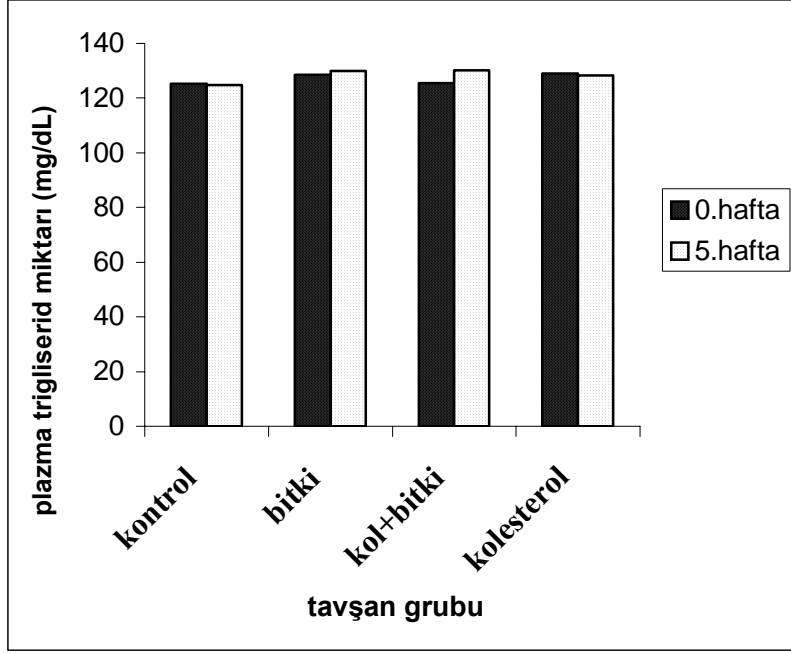
Şekil-27: Kolesterol grubu plazma HDL miktarlarının 0.ve 5. haftaya göre kıyaslanması



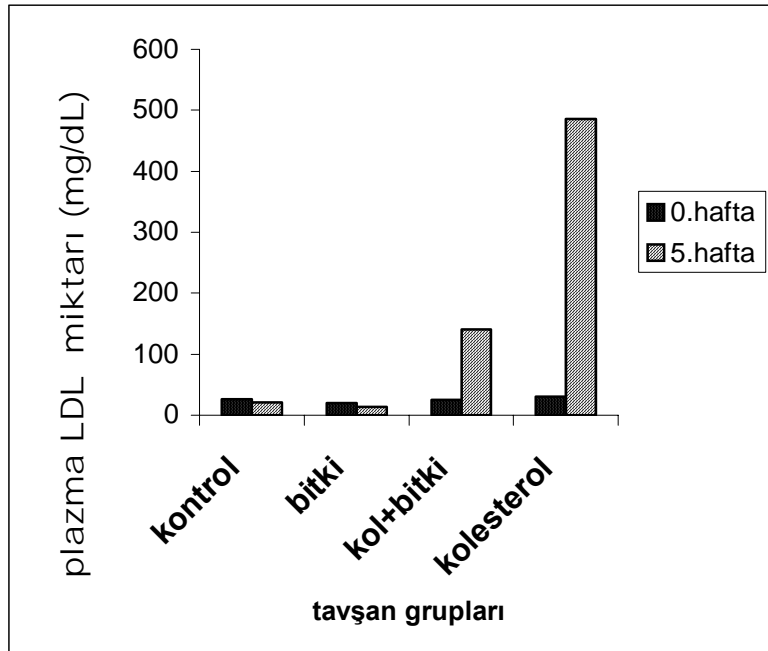
Şekil-28: Tavşanların ayrıldıkları gruplara göre 5. hafta sonunda plazma MDA miktarlarının kıyaslanması



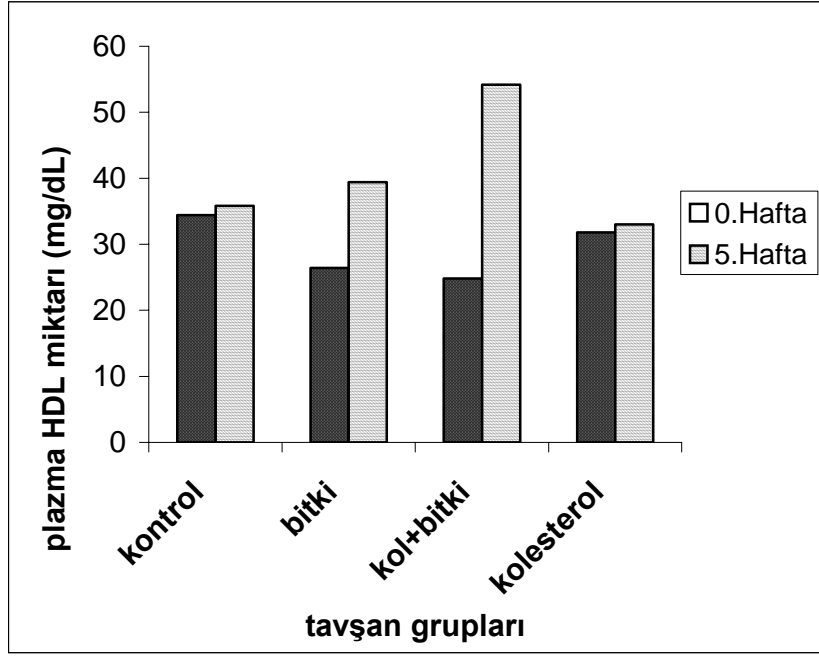
Şekil-29: Tavşanların ayrıldıkları gruplara göre 0. ve 5. haftada plazma total kolesterol miktarlarının kıyaslanması



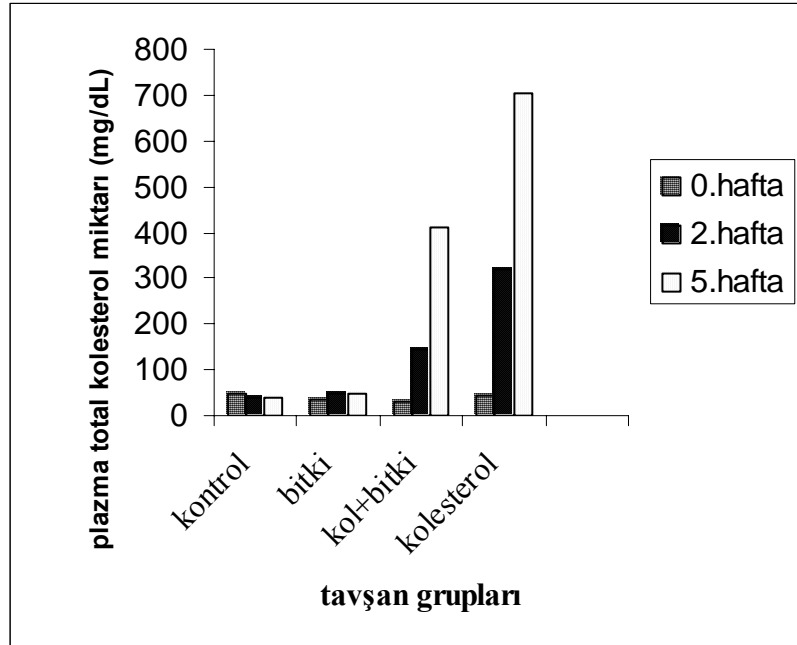
Şekil-30: Tavşanların ayrıldıkları gruplara göre 0. ve 5. haftada plazma trigliserid miktarlarının kıyaslanması



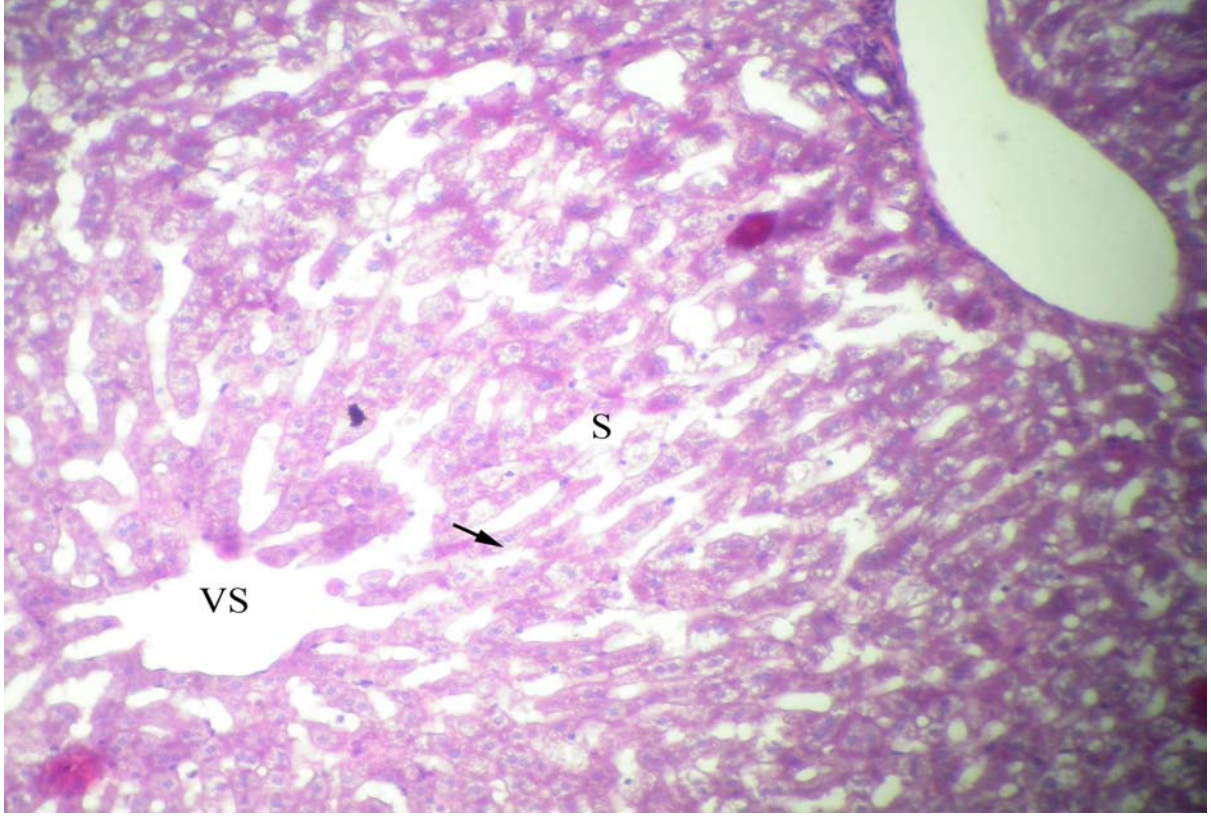
Şekil-31: Tavşanların ayrıldıkları gruplara göre 0. ve 5. haftada plazma LDL miktarlarının kıyaslanması



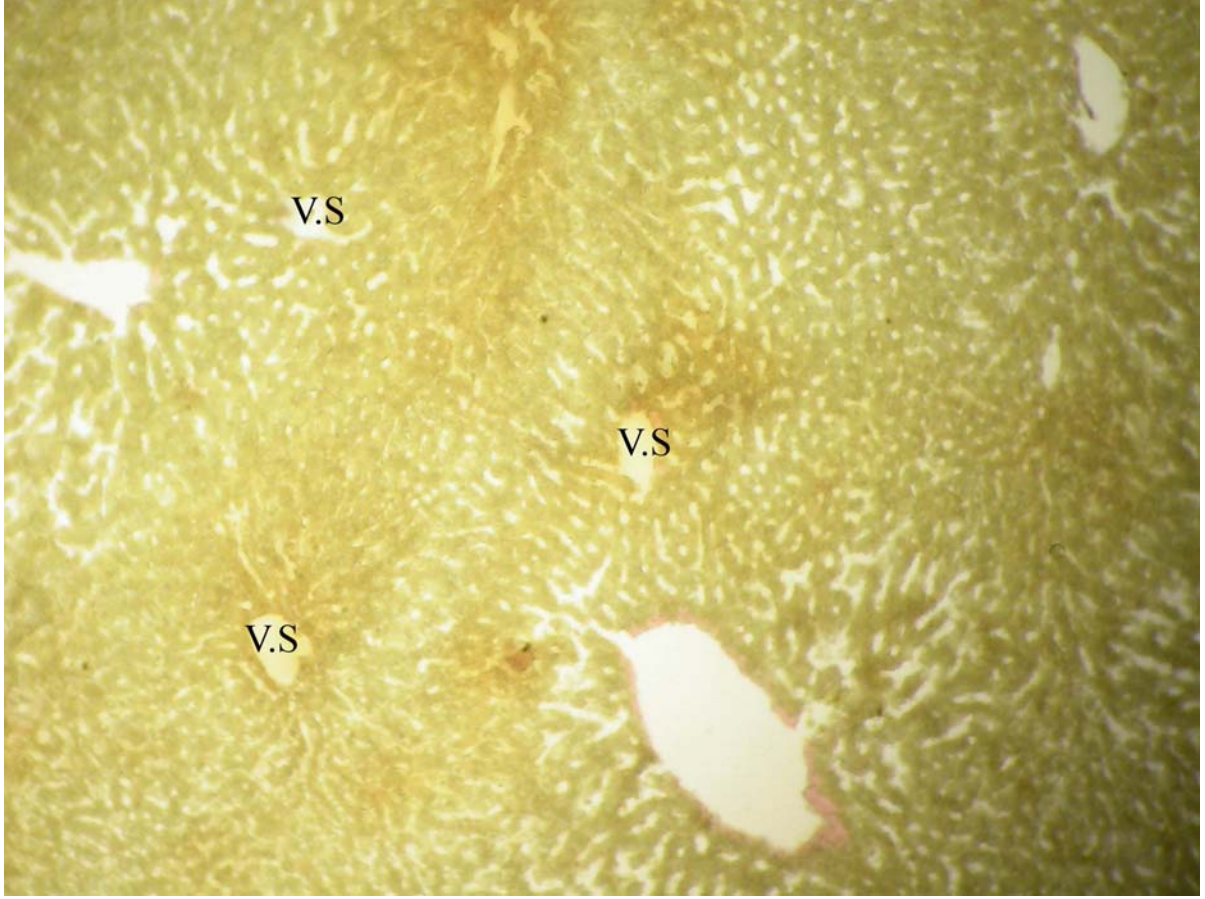
Şekil-32: Tavşanların ayrıldıkları gruplara göre 0. ve 5. haftada plazma HDL miktarlarının kıyaslanması



Şekil-33: Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Bölümünde otoanalizör ile yapılan ölçüm sonuçları



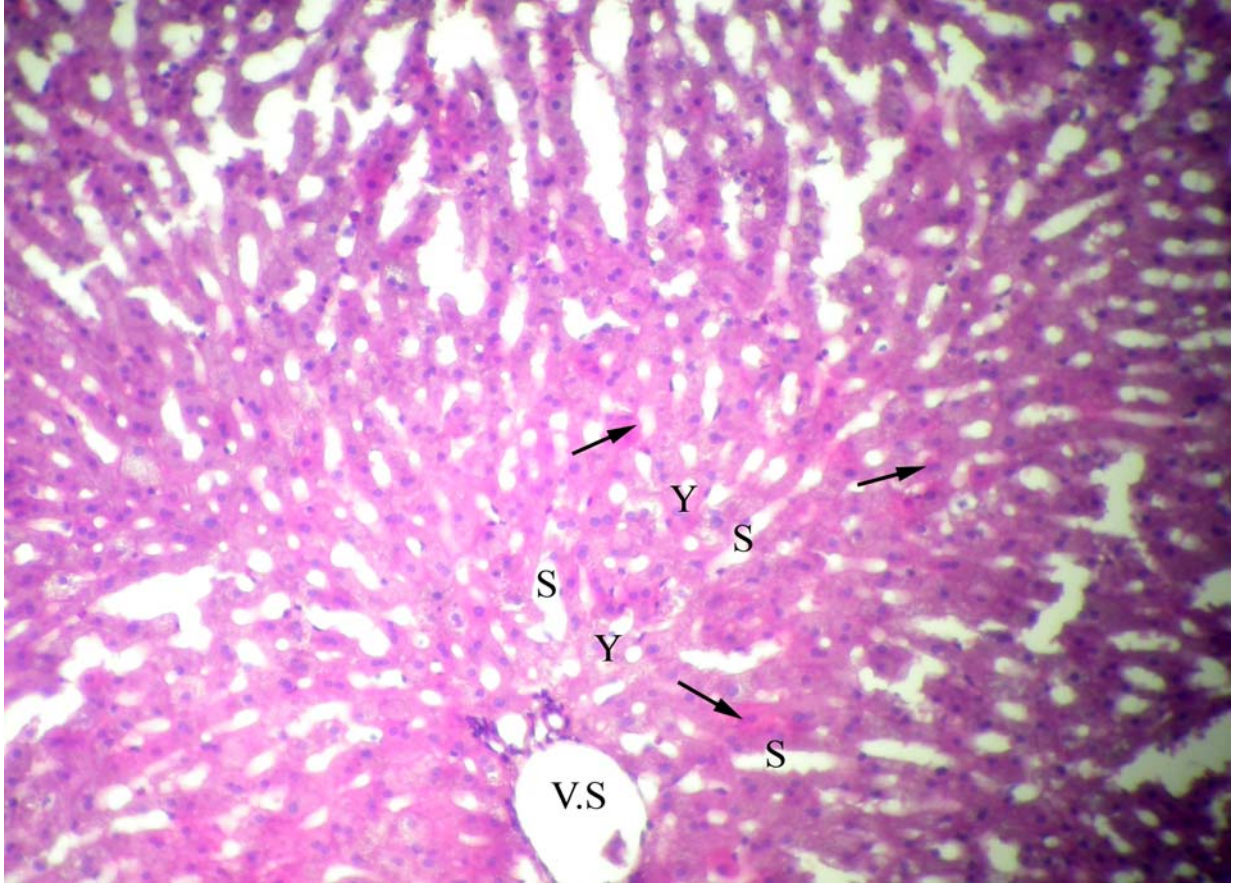
Resim-1: Kontrol grubuna ait karaciğerin görünümü.
Sinuzoid (S), Vena Sentrali (VS) ↓:Hepatosit
(Boyama:Hematoksilen-Eozin, Büyütme ×20)



Resim-2: Kontrol grubuna ait karaciğer görünümü.

Vena Sentralis (VS)

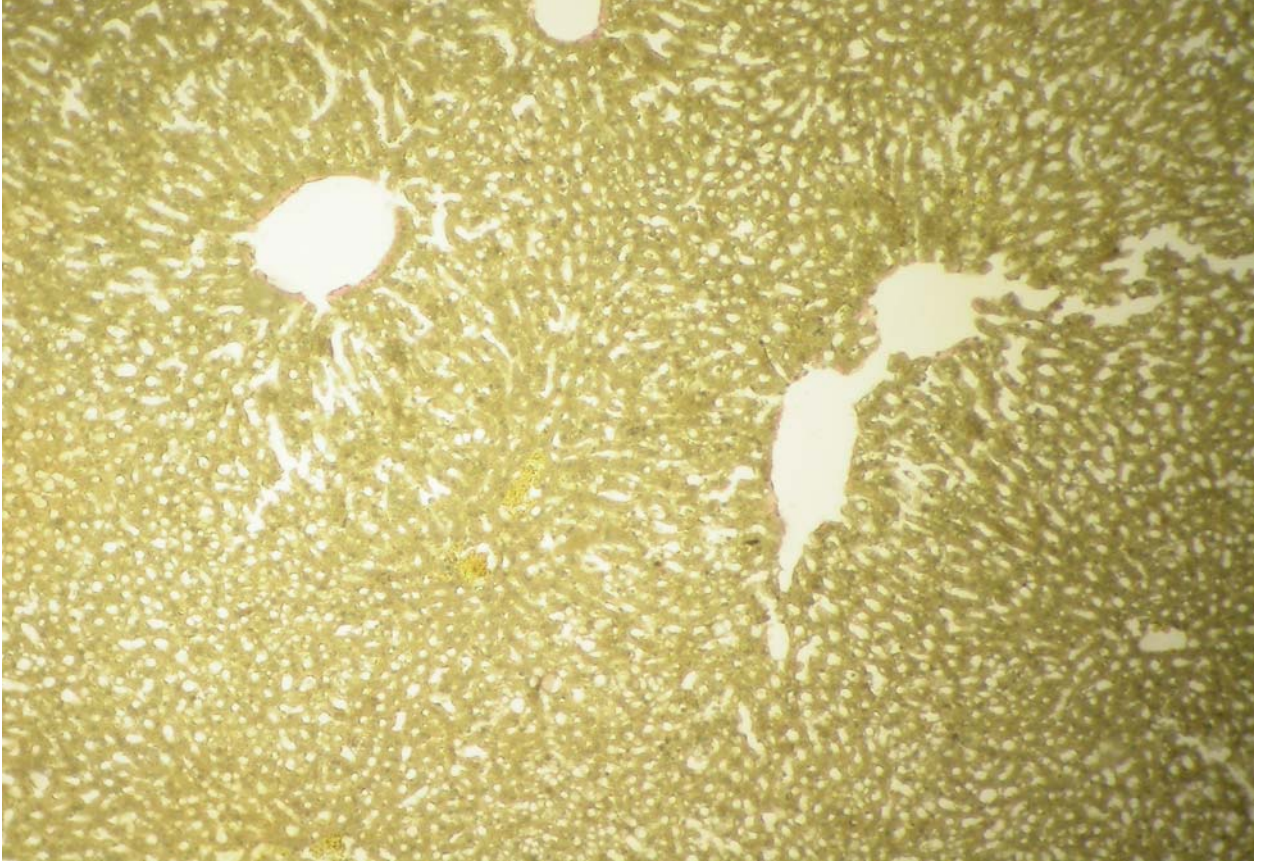
(Boyama:Hematoksilen Vangiesson, Büyütme×10).



Resim-3: Kolesterol grubuna ait karaciğer görünümü

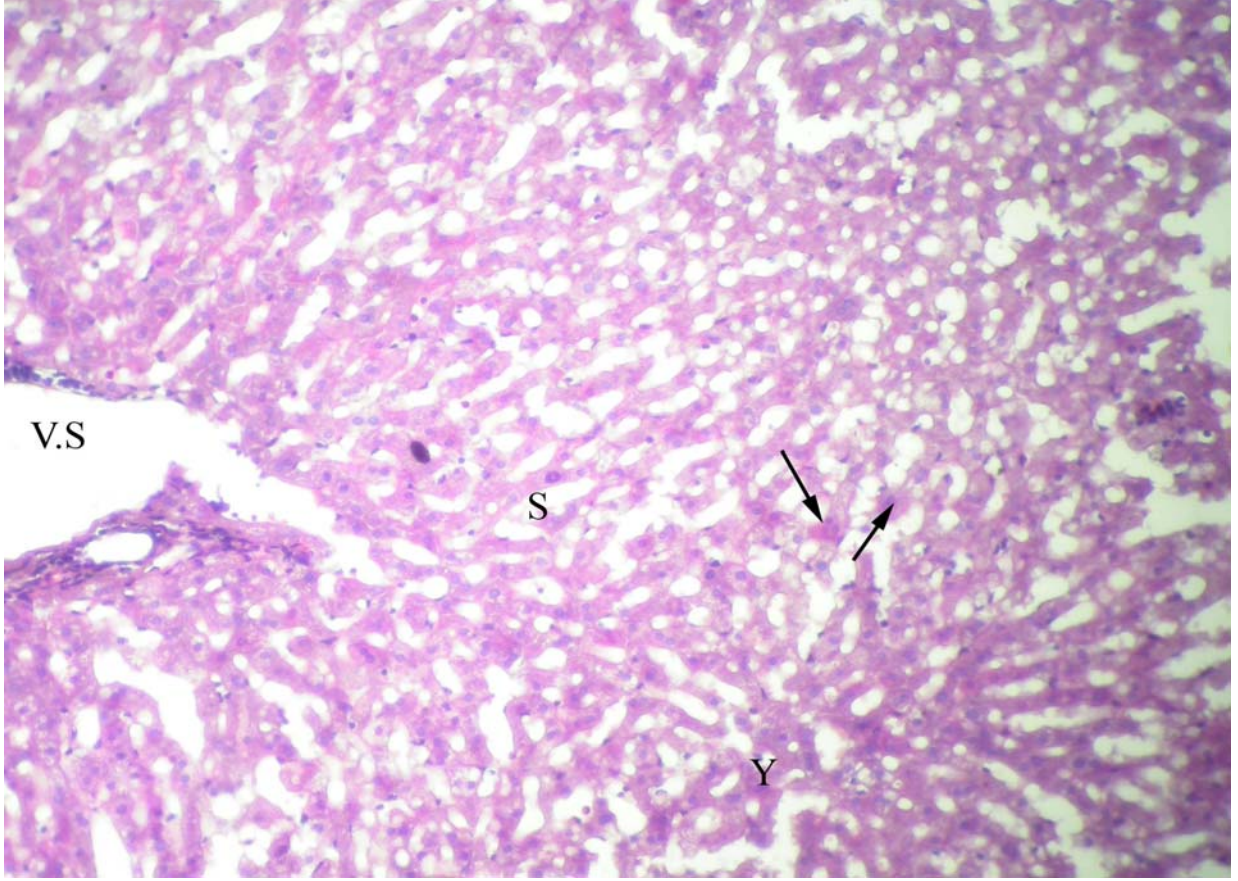
Vena Sentralis(VS), sinuzoid(S), Yağlanma (Y), ↓: hepatositlerde hidropik dejenerasyon

(Boyama:Hematoksilen Eozin, Büyütme×20)



Resim-4: Kolesterol grubuna ait karaciğer görünümü.

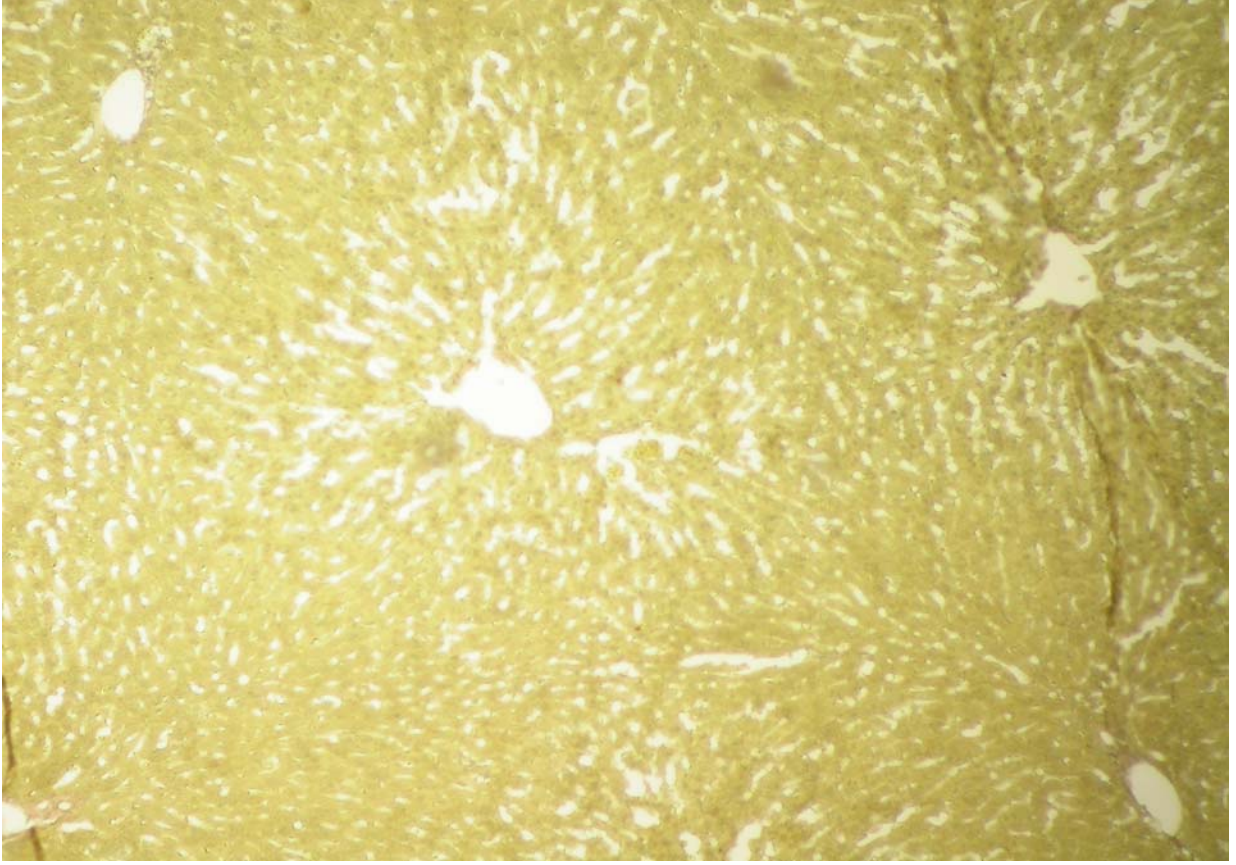
(Boyama:Hematoksilen Vangiesson, Büyütme×10)



Resim-5: Kolesterol+Bitki grubuna ait karaciğer görünümü

Vena Sentralis(VS), sinuzoid(S), Yağlanma (Y), ↓:hepatositlerde hidropik .
dejenerasyon

(Boyama:Hematoksilen Eozin, Büyütme×20)



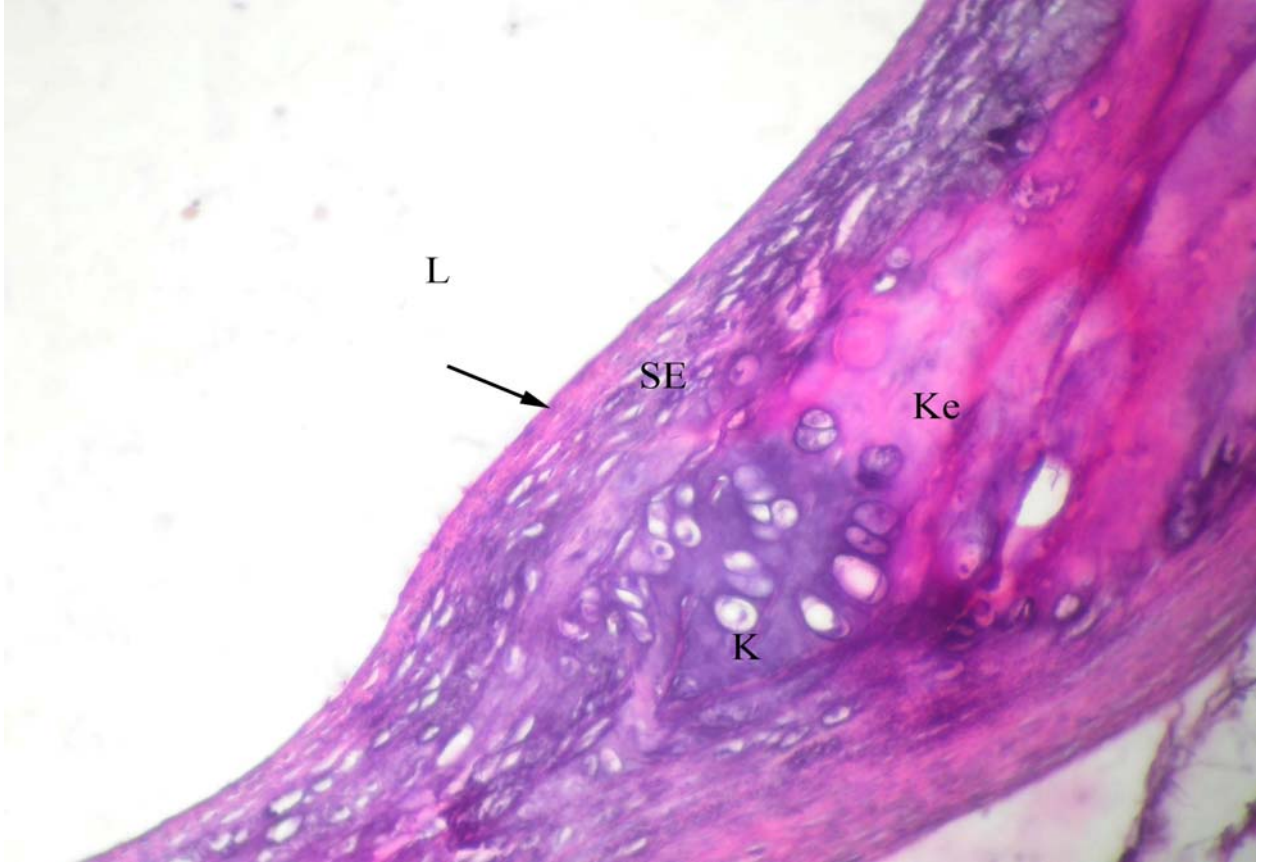
Resim-6: Kolesterol+Bitki grubuna ait karaciğer görünümü.

(Boyama:Hematoksilen Vangiesson, Büyütme×10)



Resim-7: Kontrol grubuna ait aortun longitudinal kesiti

Düzensiz lümen yapısı(L), Endotel hücreler, Media katmanı(M)
(Boyama: Hematoksilen Eozin, Büyütme×20)



Resim-8: Kolesterol grubuna ait aortun longitudinal kesiti

Düzenli lümen yapısı(L), ↓ :Endotel, Subendotel (Se), kıkırdak(K), kemik(Ke)
(Boyama: Hematoksilen Eozin, Büyütme×40)



Resim-9: Kolesterol+Bitki grubuna ait aortun longitudinal kesiti

Düzenli lümen yapısı(L) ↓ : Endotel, Subendotel (Se), kıkırdak(K), kemik(Ke)

Çıkıntı (Ç)

(Boyama: Hematoksilen Eozin, Büyütme×40)

9. TABLOLARIN LİSTESİ

Tablo-1: Tavşan Yemi Bileşimi

Tablo-2: *Hypericum lysimachioides* bitkisinin etanol ekstraktının tavşanlarda serum lipid düzeyleri üzerine etkisi

10. ŐEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil-1: Kolesterol biyosentezinin başlıca basamakları

Şekil-2: Trigliseridlerin biyosentezi

Şekil-3: 3,5-dihidroksivalerik asit

Şekil-4: HMG-CoA'dan mevalonik asit sentezi

Şekil-5: Bitki stanol ve sterollerinin yapısı

Şekil-6: Lipid peroksidasyonu

Şekil-7: Antioksidant enzimlerin mekanizmaları

Şekil-8: Flavonoidlerin radikal tutucu olarak etki göstermesi

Şekil-9: Flavonoidlerin metallerle Şelat oluşturması

Şekil-10: Ateroskleroz oluşumu

Şekil-11: Plazmadaki MDA miktarına ekivalent TMP konsantrasyonuna karşı absorbans grafiği (TMP standardı).

Şekil-12: Kontrol grubu plazmadaki total kolesterol miktarlarının 0. ve 5. haftalara göre kıyaslanması

Şekil-13: Bitki grubu plazmadaki total kolesterol miktarlarının 0. ve 5. haftalara göre kıyaslanması

Şekil-14: Kolesterol+Bitki grubu plazmada total kolesterol miktarının 0. ve 5. haftalara göre kıyaslanması

Şekil-15: Kolesterol grubu plazma total miktarlarının 0. ve 5.haftaya göre kıyaslanması

Şekil-16: Kontrol grubu plazma trigliserid miktarlarının 0. ve 5. haftaya göre kıyaslanması

Şekil-17: Bitki grubu plazma trigliserid miktarlarının 0. ve 5. haftaya göre kıyaslanması

Şekil-18: Kolesterol+ bitki grubu plazma trigliserid miktarlarının 0. ve 5. haftaya göre kıyaslanması

Şekil-19: Kolesterol grubu plazma trigliserid miktarlarının 0. ve 5. haftaya göre kıyaslanması

Şekil-20: Kontrol grubu plazma LDL miktarlarının 0. ve 5. haftaya göre kıyaslanması

Şekil-21: Bitki grubu plazma LDL miktarlarının 0. ve 5. haftaya göre kıyaslanması

Şekil-22: Kolesterol+bitki grubu plazma LDL miktarlarının haftaya göre kıyaslanması

Şekil-23: Kolesterol grubu plazma LDL miktarlarının 0. ve 5.haftaya göre kıyaslanması

Şekil-24: Kontrol grubu plazma HDL miktarlarının 0. ve 5.haftaya göre kıyaslanması

Şekil-25: Bitki grubu plazma HDL miktarlarının 0. ve 5.haftaya göre kıyaslanması

Şekil-26: Kolesterol+bitki grubu plazma HDL miktarlarının haftaya göre kıyaslanması

Şekil-27: Kolesterol grubu plazma HDL miktarlarının 0.ve 5. haftaya göre kıyaslanması

Şekil-28:Tavşanların ayrıldıkları gruplara göre 5. hafta sonunda plazma MDA miktarlarının kıyaslanması

Şekil-29: Tavşanların ayrıldıkları gruplara göre 0. ve 5. haftada plazma total kolesterol miktarlarının kıyaslanması

Şekil-30: Tavşanların ayrıldıkları gruplara göre 0. ve 5. haftada plazma trigliserid miktarlarının kıyaslanması

Şekil-31: Tavşanların ayrıldıkları gruplara göre 0. ve 5. haftada plazma LDL miktarlarının kıyaslanması

Şekil-32: Tavşanların ayrıldıkları gruplara göre 0. ve 5. haftada plazma HDL miktarlarının kıyaslanması

Şekil-33: Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Bölümünde otoanalizör ile yapılan ölçüm sonuçları

11. RESİMLERİN LİSTESİ

Resim-1: Kontrol grubuna ait karaciğerin görünümü

Resim-2: Kontrol grubuna ait karaciğer görünümü

Resim-3: Kolesterol grubuna ait karaciğer görünümü

Resim-4: Kolesterol grubuna ait karaciğer görünümü

Resim-5: Kolesterol+Bitki grubuna ait karaciğer görünümü

Resim-5: Kolesterol+Bitki grubuna ait karaciğer görünümü

Resim-7: Kontrol grubuna ait aortun longitudinal kesiti

Resim-8: Kolesterol grubuna ait aortun longitudinal kesiti

Resim-9: Kolesterol+Bitki grubuna ait aortun longitudinal kesiti

12. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı: Fidan HAKİMOĞLU
Doğum Tarihi: 09.03.1980
Doğum Yeri: Mardin
Medeni Hali: Bekar
Adres: Dicle Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi
Kimya Bölümü 21280 Diyarbakır
Tel: (0-412) 233-87-50
E-mail: hakimogluf@hotmail.com

Eğitim ve Akademik Kariyer

Eylül 1985-Eylül1997

İlkokul öğrenimimi Mardin Gazipaşa İlkokulu'nda, orta ve lise öğrenimimi Mardin Anadolu Lisesi'nde tamamladım.

Eylül 1997-Haziran 2001

Dicle Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü bitirdim.

Eylül 2001- Haziran 2002

Mardin Anadolu Lisesi ve Mardin Milli Piyango Lisesi'nde öğretmenlik yaptım.

Eylül 2002- Haziran 2003

Mardin Anadolu Lisesi'nde öğretmenlik yaptım.

Eylül 2003-Haziran 2004

Diyarbakır'da Özel İlk Güven Dersanesi'nde öğretmenlik yaptım.

Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Programında yüksek lisans eğitimime başladım.

Eylül 2004- Mevcut Tarih

Diyarbakır'da Batıkent Sınav Dergisi Dersanesi'nde öğretmenlik yapıyorum.

