

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**HİPERLİPİDEMİK RATLARDA OLUŞAN KARDİYOVASKÜLER HASAR
ÜZERİNE, ANTİOKSİDAN BİR MADDE OLAN GENİSTEİN'İN ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. CESUR ÖCAL

TEZ YÖNETİCİSİ

DOÇ. DR. ERDAL YILMAZ

ELAZIĞ-2007

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr.

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

.....
.....
.....Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

.....
.....
Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

.....
.....
.....
.....
.....

TEŐEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesi ve hazırlanmasında değerli hocam Doç. Dr. Erdal Yılmaz'a, uzmanlık eğitimim boyunca desteklerini esirgemeyen ocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'ndaki tım hocalarıma, gerekli materyallerin temininde, çalışılmasında ve tezin tım basamaklarında desteğini esirgemeyen Fırat Üniversitesi Tıp Fakóltesi Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Bilal Üstündaę'a, Patoloji Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. İ. Hanifi Özercan'a, tım asistan arkadaşlarıma ve çalışmalarımnda beni sabırla destekleyen aileme teőekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
3.1. Fitokimyasallar ve Kuramsal Yaklaşımlar.....	3
3.2. Plazma Lipoproteinleri ve Apoproteinler	8
3.2.1. Lipoproteinler	8
3.2.1.1. Şilomikronlar	10
3.2.1.2. Çok Düşük Dansiteli Lipoproteinler (VLDL)	10
3.2.1.3. Orta Dansiteli Lipoproteinler (IDL)	11
3.2.1.4. Düşük Dansiteli Lipoproteinler (LDL)	11
3.2.1.5. Yüksek Dansiteli Lipoproteinler (HDL)	11
3.2.1.6. Lipoprotein (a) (Lpa)	12
3.2.2. Apolipoproteinler	12
3.2.2.1. Apolipoprotein A	12
3.2.2.2. Apolipoprotein B	12
3.2.2.3. Apolipoprotein C	13
3.2.2.4. Apolipoprotein E	13
3.2.2.5. Apolipoprotein D	13
3.3. Ateroskleroz	14
3.3.1. Tanım	14
3.3.2. Aterosklerozun Etyolojisi	15
3.3.3. Aterosklerozun Patogenezi	16
3.3.4. Arter Duvarının Yapısı ve Özellikleri	21
3.3.5. Aterosklerozda Arter Duvarında Görülen Değişiklikler	22
3.3.6. Aterosklerozun Histolojik Sınıflandırılması	23
3.3.6.1. Tip I Lezyonlar	24
3.3.6.2. Tip II Lezyonlar	24
3.3.6.3. Tip III Lezyonlar	24

3.3.6.4.	Tip IV Lezyonlar	24
3.3.6.5.	Tip V Lezyonlar	25
3.3.6.6.	Tip VI Lezyonlar	25
3.3.7.	Plak Özellikleri	25
3.3.8.	İnflamatuar Hücrelerle Plağın Zarar Görmesi	26
3.3.9.	Plağın Yırılması	27
3.4.	Deneysel Ateroskleroz Modelleri	28
3.4.1.	Hiperkolesterolemik Hayvan Modeli	29
3.4.2.	Endotelyumda Doğrudan Hasar Oluşturulması Esasına Dayanan Hayvan Modelleri	31
3.5.	Güçlü Antioksidan Etkiye Sahip Olan Fitoöstrojenler ve İzoflavonlar	32
3.5.1.	Genistein	33
3.5.2.	Genisteinin Kardiyovasküler Hastalık Riskini Azaltmasındaki Olası Bazı Mekanizmalar	34
3.5.2.1.	LDL Kolesterolünü Önlemesi ve HDL Kolesterol Seviyesini Artırması	34
3.5.2.2.	Arteriyel Elastikiyet Artışı, Yüksek Kan Basıncı Azalması	34
3.5.2.3.	Östrojen Mekanizmasının Kan Lipoproteinleri Üzerindeki Olumlu Etkileri ..	35
3.5.2.4.	Hücre Proliferasyonunun İnhibisyonu	36
3.5.2.5.	Trombosit Agregasyonunun İnhibisyonu	36
4.	GEREÇ ve YÖNTEM	38
4.1.	GEREÇLER	38
4.1.1.	Deney Hayvanları	38
4.1.2.	Deneyde Kullanılan Diyetler ve Hayvanların Beslenmesi	38
4.1.3.	Grupların Dağılımı ve Deneysel Çalışmanın Dizaynı	39
4.1.4.	Genistein Hazırlanması ve Dozu	39
4.1.5.	Çalışmanın Sonlandırılması ve Örneklerin Toplanması	40
4.1.6.	Kullanılan Kimyasal Maddeler	40
4.2.	YÖNTEMLER	40
4.2.1.	Plazma Malondialdehid (MDA) Düzeylerinin Ölçümü	40
4.2.2.	Doku MDA Düzeylerinin Ölçümü	41
4.2.3.	Dokuda Redükte Glutatyon (GSH) Ölçümü	41

4.2.4.	Biyokimyasal Parametrelerinin Ölçümü	41
4.2.5.	Dokuların Histopatolojik İncelemesi	42
4.2.6.	İstatistiksel Analiz	43
5.	BULGULAR	44
6.	TARTIŞMA	55
7.	KAYNAKLAR	64
8.	ÖZGEÇMİŞ	83

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1. Plazma Lipoproteinlerinin Kompozisyonu	9
Tablo 2. Plazma Lipoproteinlerinin Fiziksel Özellikleri	10
Tablo 3. Plazma Lipoproteinlerinde bulunan bazı Apoproteinler	13
Tablo 4. Yağdan zengin diyetin içeriği	29
Tablo 5. Çalışma gruplarında elde edilen biyokimyasal parametreler	45
Tablo 6. Malondialdehid ve redukte glutatyon değerleri	48

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. Ratların deneysel uygulamalar sürecinde 6 haftalık periyotta vücut ağırlıkları değişiklikleri	44
Şekil 2. Kalp doku MDA düzeyleri	49
Şekil 3. Aort doku MDA düzeyleri	50
Şekil 4. Kalp doku Redukte glutatyon düzeyleri	51
Şekil 5. Aort doku redukte glutatyon düzeyleri.....	52

RESİM LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Resim 1. Kontrol grubu rat aortasının histolojik görünümü.....	54
Resim 2. YZD grubu rat aortasının histolojik görünümü.....	54
Resim 3. YZD+Genistein grubu rat aortasının histolojik görünümü.....	54

KISALTMALAR

Scavenger reseptör	SR
Düşük dansiteli lipoproteinler (Low Density Lipoprotein)	LDL
Yüksek dansiteli lipoproteinler (High Density Lipoprotein)	HDL
Orta dansiteli lipoproteinler (Intermediate Density Lipoprotein)	IDL
Çok düşük dansiteli lipoproteinler (Vrey Low Density Lipoprotein)	VLDL
Lipoprotein (a)	Lpa
Deoksiribonükleikasit	DNA
Apolipoprotein	Apo
Platelet Derived Growth Factor	PDGF
Tümör Nekrosis Factor	TNF
İnterlökin	IL
Monosit Kemoatraktant Protein	MCP
Makrofaj Kolony Stimulating Faktor	M-CSF
Doku plazminojen aktivatörü (tissue Plasminogen Aktivatör)	tPA
Yağdan Zengin Diyet	YZD
Dimetil sülfoksit	DMSO
Polietilen Glikolester	PEG
Etilendiamin tetraasetikasit	EDTA
Malondialdehid	MDA
Tiyobarbitürik asit	TBA
Dokuda redükte glutatyon	GSH
Di-nitrobenzoik asit	DNTB
Aspartat transaminaz	AST
Alanin transaminaz	ALT
Laktat dehidrogenaz	LDH
Kreatin kinaz (Creatine Kinase)	CK
Kreatin kinaz MB (Creatine Kinase isoenzyme MB)	CKMB
Hematoksilen-Eozin.....	HE

1. ÖZET

Tüm dünyada başlıca ölüm nedenleri arasında kardiyovasküler hastalıklar (özellikle ateroskleroz) ve komplikasyonları gelmektedir. Kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde hiperkolesteroleminin önemli yeri vardır. Diyetteki protein türünün de serum kolesterol düzeylerini etkilediği çalışmalarla kanıtlanmıştır. Soya proteini hayvansal protein yerine tamamen veya kısmen kullanıldığında kan lipidlerini düşürdüğü rapor edilmiştir. Bu çalışma hiperkolesterolemik ratlar üzerinde soyada bulunan bir antioksidan olan genisteinin kardiyovasküler sisteme ve kan lipidlerine olan etkisini araştırmak amacıyla planlanmıştır.

Ratlar dört gruba ayrıldı. Birinci grup normal rat diyeti, diğer bir grup sadece yağdan zengin diyet ve bu iki gruba da genistein ilavesi ile oluşan iki farklı grup daha oluşturuldu. Genistein ilavesi sonrası kontrol grubunda kan lipit profilinin ateroskleroz aleyhine değiştiği (LDL kolesterol, total kolesterol ve trigliserit düzeylerinde azalma, HDL kolesterol düzeylerinde artış), yağdan zengin diyet grubunda bu değişikliğin daha da belirgin olduğu görüldü. Lipit peroksidasyon ürünü olan Malondialdehid düzeyi plazma, kalp ve aort dokusunda kontrol grubuna genistein ilavesi ile arttığı, yağdan zengin diyet grubuna genistein ilavesi ile azaldığı görüldü. Özellikle yağdan zengin diyet grubunda genistein ilavesinin ateroskleroz oluşmasına risk oluşturan lipit profilinde ve lipit peroksidasyon ürünlerinde olumlu yönde etki ettiği görüldü.

Sonuçta, aterosklerozun küçük yaşlarda başlaması nedeniyle, yaşamın ileri dönemlerinde kardiyovasküler hastalık risklerinin artmaması için, bebeklikten itibaren genisteinden zengin soyanın beslenme zinciri içerisinde kullanılan yiyecek ve formülalar içerisinde yer almasının faydalı olacağı kanaatine varıldı.

Anahtar kelimeler: Kardiyovasküler risk faktörleri, yağdan zengin diyet, genistein.

2. ABSTRACT

AFFECTS OF GENISTEIN ON CARDIOVASCULAR DAMAGE AT HYPERLIPIDEMIC RATS

Cardiovascular diseases (especially atherosclerosis) and their complications are one of the most common causes of death in the world. Hypercholesterolemia has an important role in the development of cardiovascular diseases. It has been proved that also the kind of dietary protein influence the levels of serum cholesterol. It has been reported that soya protein, when it is used instead of animal protein totally or partly, decreases blood lipid. This study has been planned to investigate the influence of genistein, which is an antioxidant in soya, on the cardiovascular system and blood lipid in rats.

The rats have been separated into four groups. The first group with a normal diet, the second group with high fat diet and also adding genistein to these two groups, third and fourth groups have been formed. Changes at blood lipid profile in the control group has been seen after the addition of genistein, the levels of LDL cholesterol, total cholesterol and triglyceride has been decreased and the level of HDL cholesterol has been increased. This alteration is more prominent in the high fat diet group. It has been seen that the levels of malondialdehyde, which is the product of lipid peroxidation, increases in the plasma, aorta and heart tissue of the control group, decreases in high fat diet group after adding of genistein to their diet. Also the addition of genistein, especially to the diet of high fat diet group has positive influence on the lipid profile and lipid peroxidation products which constitutes risk for atherosclerosis.

In conclusion, since atherosclerosis begins in early age, it have been beneficial to add soya, which is rich in genistein, into formulas and diet beginning from infancy to prevent increasing risks of cardiovascular diseases in later periods of life.

Key words: Cardiovascular risk factors, high fat diet, genistein

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Bilim ve teknolojideki gelişmeler diyet ve hastalıklar arasındaki ilişkiyi anlamamıza olanak sağlamıştır. Son yıllarda fonksiyonel besinlerin sağlığımızın korunması ve geliştirilmesindeki rolleri çok daha ilgi çeker hale gelmiştir. Temel besleyici özelliklerinin dışında sağlığımıza olumlu katkıları olan besinlere fonksiyonel besinler adı verilmektedir. Besinler artık sadece içerdikleri makro ve mikro besleyiciler ile değerlendirilmezler. Son zamanlarda besinlerin biyolojik düzenleyici rolleri üzerinde daha çok durulmaktadır.

Besinlerin temel işlevi organizmanın metabolik gereksinimleri için gerekli maddeleri sağlamaktır. Besinler metabolik aktivitemiz için gerekli makro ve mikro besleyicilerden başka sağlığımız üzerinde olumlu etkileri olan bileşenler de içermektedir (1, 2). Bilimsel çalışmalar diyet ve hastalıklar arasındaki ilişkiyi açık bir şekilde ortaya koymuş olup, epidemiyolojik çalışmalar diyetin kronik hastalıkların önlenmesindeki rolüne işaret etmektedir (3). Kronik hastalıklarda tedaviden çok koruyucu yaklaşımların önemli olduğu ise bilinen bir gerçektir.

3.1. Fitokimyasallar ve Kuramsal Yaklaşımlar

Son yıllarda bazı besinlerin “doğal” yollardan hastalıkların önlenmesi ve tedavisindeki etkinliğinin bilimsel olarak ortaya konulması, sağlığımızın korunmasında beslenme desteğinin önemini artırmıştır. Giderek artan sayıda bilimsel çalışma besin bileşenlerinin sağlıklı yaşam üzerinde olumlu etkilerinin olduğu, kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve osteoporoz gibi hastalıkların önlenmesine katkıda bulunduğu ilişkin sonuçlar vermektedir (4, 5).

Sağlığımız üzerinde olumlu etkileri olan bitkisel kaynaklı biyolojik olarak aktif bileşiklere fitokimyasallar denilmektedir. Fitokimyasalların kanser, koroner kalp hastalığı, diyabet, yüksek kan basıncı, enflamatuar, viral ve parazitik hastalıklar, psikotik bozukluklardaki yararlı etkilerini araştıran bilimsel araştırmaların sayısı hızla artmaktadır (1, 6).

Fitokimyasallar sağlık üzerindeki olumlu etkilerini şu yollarla sağlar:

- (a) Biyokimyasal reaksiyonlarda substrat,
- (b) Enzimatik reaksiyonlarda kofaktör,
- (c) Bazı enzimatik reaksiyonların inhibitörü,
- (d) Bağırsaklarda zararlı ve istenmeyen maddeleri bağlayıp uzaklaştıran absorban/sekestran,
- (e) Hücre membranı ve hücre içinde bulunan reseptörleri agonize veya antagonize eden ligandlar olarak,
- (f) Reaktif toksik ajanları yakalayarak,
- (g) Esansiyel besin öğelerinin absorpsiyon ve stabilitesini arttırarak,
- (h) Yararlı gastro intestinal bakterilerin çoğalmasını arttırarak,
- (i) Yararlı oral, gastrik ve intestinal bakteriler için substratları fermente ederek
- (j) Zararlı mikroorganizmaları özgül olarak inhibe ederek (6).

Birçok kronik hastalığın gelişmesinde serbest oksijen köklerinin rolü olduğundan fitokimyasallar giderek daha çok önem kazanmaktadır (7).

Oksidatif stresin artması büyük biyomoleküllere (proteinler, DNA ve lipidler gibi) zarar verir, kalp hastalığı ve kanser riski artar. Oksidatif zedelenme değişik mekanizmalar ile tümör oluşumunda rol oynar. DNA zedelenmesine, onarılamazsa mutasyonlara, tek veya çift zincir kırıklarına, kromozom kırıkları ve kopan parçaların değişik yerlere yapışmalarına neden olur. Serbest radikallerin yarattığı oksidatif stresin önlenmesi ve etkisinin en aza indirilmesi için yeterli miktarda antioksidan tüketilmelidir (8, 9).

Bir fitokimyasal olan Flavonoidler bir asrı aşkın bir süredir bitkisel pigmentler olarak bilinmektedir. Polifenolik bileşikler grubundan olup bütün bitkilere dağılmış durumdadır. In vitro çalışmalarda antioksidan özellikleri ve serbest radikal yakalama özellikleri dikkatlerin flavonoidler üzerinde toplanmasına neden olmuştur (10). 1990 yılına kadar 5000'den fazla flavonoid alt grubu saptanmıştır. Flavonodiler içerdikleri C halkasındaki değişimlere göre altı ana alt gruba ayrılabilir: flavonlar, flavanoller, flavanonlar, katekinler, antosiyanidinler ve isoflavonlar (9 - 11). Flavonoidler serbest radikal yakalayıcısı olmaları, enzim aktivitelerini düzenlemeleri, hücre çoğalmasını inhibe etmeleri, antibiyotik, antiallerjen, antidiyareik, antiülser ve antiinflamatuvar ilaç gibi hareket etmeleri nedeni ile araştırmacıların ilgisini çekmektedir (6, 9).

Soya genistein ve diadzein gibi, östrojenik steroidlere yapısal benzerliği olan izoflavonlardan zengindir. Zayıf östrojenik etkili izoflavonlar reseptörleri tutarak etkin doğal östrojenler ile yarışır (4). Bu mekanizma soyadan zengin diyet alan Asyalı kadınlarda östrojen bağımlı kanserlerin neden az görüldüğünü açıklamaktadır (12 - 14). İnsan vücudundaki doğal östrojenler gibi davranan bazı kimyasal maddelere fitoöstrojenler denilmektedir (1). Soya fasulyesi önemli bir fitoöstrojen kaynağıdır (15).

Bu bileşiklerin östrojenik etkisi zayıftır. Fitoöstrojenler hem östrojen agonisti hem de antagonisti gibi davranabilirler. Östrojen agonisti olarak östrojenik etki yapar. Antagonist olarak da östrojen reseptörlerini tutarak doğal östrojen etkilerini baskırlar (12). Soyanın kanser, kardiyovasküler hastalık, osteoporoz önleme ve tedavisinde, menopoz semptomlarının azaltılmasında rolü vardır (12, 15, 16).

Kardiyovasküler hastalıklar, gelişmiş ülkelerde erken ölüm nedenleri arasında önemli bir yer tutmaktadır. Kalp hastalıklarının bir çoğunun (damar içi tabakasının lokal kalınlaşması olan) ateroskleroz (damar sertliği ve damar tıkanması) ile doğrudan ilişkili olduğu bilinmektedir. Ateroskleroz ve bunun yol açtığı hastalıklar gelişmiş endüstri ülkelerinde en yaygın ölüm sebebi olarak kabul edilmekte ve ölüm oranlarında ülkelere göre farklar bulunmaktadır. Bu fark, klasik risk faktörleri olan hiperkolesterolemi, düşük dansiteli lipoprotein /yüksek dansiteli lipoprotein (LDL / HDL) oranı, yüksek tansiyon, sigara gibi nedenlerle tam olarak açıklanamamıştır (17, 18).

Antioksidanların aterosklerozun önlenmesinde etkili olabileceği ileri sürülmüştür. Okside düşük dansiteli kolesterol (LDL-kolesterol) aterojenez ve kalp hastalığının ortaya çıkışında rol oynamaktadır. Okside LDL-kolesterol makrofajlar tarafından alınır, kolesterol esteri birikir, makrofaj köpük hücresi halini alır ve ateroskleroz oluşur (4, 19). LDL-kolesterol ile birlikte diyetle alınan antioksidanlar kolesterolun oksidasyonunu önler (19). Soya ürünleri insanlarda LDL oksidasyonunu azaltmada etkin bulunmuştur. Diyetle bir kısım et yerine soya proteini tüketilmesiyle LDL-kolesterol düzeylerinin ve koroner kalp hastalığı gelişme riskinin azaldığına işaret eden kuvvetli bilimsel kanıtlar vardır (3, 16). Soyada bulunan izoflavonoidler bağırsaklarda zayıf etkili östrojenler üreterek kolesterol düzeylerini düşürmektedir (20).

Soya ve türevleri çeşitli tip kanserlerin, osteoporozun, diyabet, böbrek hastalığı, menopoz semptomları ve kardiyovasküler hastalık riskinin azaltılmasında kullanılmaktadır. Soyada ağırlıkça %20 oranında yağ bulunmaktadır ve bu yağ dengelidir (%61 çoklu, %24 tekli doymamış ve %15 doymuş yağ asitleri içerir). Kardiyovasküler risk azaltıcı etkisi en belirgin olanıdır. Soya proteini eklenmesiyle total kolesterolde %9.3, LDL kolesterolde %12.9 ve trigliseridlerde %10.5 azalma, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL)- kolesterolde ise zayıf bir artma (%2.4) olmaktadır. Total kolesterol ve LDL-kolesterol düzeylerinde düşme olabilmesi için günde 25 gr soya proteini tüketilmelidir (4). Antioksidan ve antitrombotik etkilerine bağlı olarak Flavonoid tüketiminin artması ile koroner kalp hastalığı görülmesi arasında ters bir ilişki vardır (21).

Fitokimyasalların trombosit agregasyonunu ve kan basıncını azaltmada da etkili olduğu görülmüştür. Soya ve özellikle soyadan elde edilen östrojen benzeri bileşikler kan basıncı üzerinde etkilidir (22). İzoflavonlar bitkisel kaynaklı östrojenler olduklarından kan basıncı ve/veya arter direncini düşürücü etkilerinin olması beklenir. Walker ve arkadaşları (23) genisteinin 17- beta sterol kadar etkin bir şekilde nitrik oksit aracılıklı olarak brakial arterde vazodilatasyon yaptığını göstermişlerdir.

Günümüzde kardiyovasküler hastalıklar gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin büyük bir bölümünde ölüm nedenlerinin başında gelmektedir (24 - 28). Kardiyovasküler hastalıkların etiolojisinde kalıtım başta olmak üzere çevresel etmenler, şişmanlık, diyabet, hipertansiyon, sigara, diyet ve fiziksel aktivite azlığı (sedanter yaşam) önemli etkenlerdir. Hiperkolesteroleminin de ateroskleroz ile ilişkisi olduğu bugün değişik çalışmalar ile kanıtlanmıştır (29, 30). Yüksek serum lipid düzeyleri aterosklerotik kalp

hastalıklarının oluşmasında ve gelişmesinde özellikle büyük risk faktörünü meydana getirmekte ve bu durum her iki cinstede yaygın olarak görülmektedir (31, 32). Aterosklerotik kalp hastalıklarının oluşumunda beslenmeye bağlı enerji dengesizliği, diyetteki toplam karbonhidrat, kolesterol, yağ miktarı, doymuş ve doymamış yağ oranı, alkol ve tuz tüketimi gibi etkiler önem taşımaktadır (33).

Bugüne kadar yapılan araştırmalar kan lipidlerini ve damarlarda kolesterol birikimini artıran en önemli etkinin diyetteki yağ asitleri arasındaki dengesizlik olduğunu göstermektedir. Diyetle doymuş yağ asitlerinin artması karaciğerde çok düşük dansiteli lipoproteinlerin (VLDL) sentezini artırmaktadır. VLDL esas kolesterol taşıyıcısı olan LDL'ye dönüşerek LDL'nin ve kolesterolün kanda yükselmesine neden olmaktadır. Tekli doymamış yağ asitlerinden zengin bir diyetin ise LDL kolesterolünü düşürürken, HDL kolesterol düzeyini pek etkilemediği bildirilmektedir. Çoklu doymamış yağ asitlerinin diyetle artması sonucu kan kolesterolünde düşme gözlenmektedir (34 - 36).

3.2.Plazma Lipoproteinleri ve Apolipoproteinler

3.2.1. Lipoproteinler

Genel olarak yağlar hidrofobik olduklarından, diyetle alınan yağların barsaklardan emildikten sonra sulu bir ortam olan kanda kendi başlarına taşınmaları olanaksızdır. Bunun için bu hidrofobik yağlı maddeler önce kendilerine göre su ile biraz daha iyi karışabilen polar fosfolipidlerle, daha sonra kolesterol ve proteinlerle birleşerek hidrofilik bir kompleks haline gelirler ve kanda daha kolay taşınırlar (34). Lipidler ve apolipoproteinlerin oluşturdukları bu bileşiklere lipoprotein adı verilir. Lipoprotein molekülünün dış yüzeyinde apolipoproteinler, esterleşmemiş kolesterol ve fosfolipidlerin suda eriyen grupları, molekülün çekirdek bölümünde ise trigliseridler ve kolesterol esterleri bulunur (37).

Lipoproteinler, bileşimlerindeki yağlı maddelerin kolesterol, trigliserid, fosfolipid miktarlarına göre gruplara ayrılırlar (38, 39). Buna göre lipoproteinler altı ana grupta incelenebilir:

1- Şilomikronlar

2- Çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL = pre β -lipoproteinler)

3- Orta dansiteli lipoproteinler (IDL)

4-Düşük dansiteli lipoproteinler (LDL = β -lipoproteinler)

5- Yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL = α -lipoproteinler)

6- Lipoprotein (a) (Lpa)

Normal olarak plazmadaki kolesterolün çoğu düşük dansiteli lipoprotein (LDL), trigliseridlerin çoğu da şilomikron ve çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) olarak bulunur (40, 41). Plazma lipoproteinlerinin kompozisyonu Tablo 1' de verilmiştir (42).

Tablo 1. Plazma Lipoproteinlerinin Kompozisyonu

Lipoprotein	Apoprotein	Protein	Kolesterol	Trigliserid	Fosfolipid
		%	%	%	%
Şilomikron	A,B,C,E	2	7	83	8
VLDL	B,C,E	7	23	52	13
LDL	B	21	47	9	23
HDL	A,C,E	46	19	8	27

Plazma lipoproteinlerinin fiziksel özellikleri Tablo 2’de görülmektedir (33).

Tablo 2. Plazma Lipoproteinlerinin Fiziksel Özellikleri

Lipoprotein	Dansite (g /ml)	Ortalama Çap (nm)	Elektroforetik
Şilomikronlar	<0.95	100-1000	orijinde kalır
VLDL	< 1.006	43	Pre- β
IDL	1.006-1.019	27	β
LDL	1 019-1.063	22	β
HDL2	1.063-1.125	95	α
HDL3	1.125-1.121	65	α
Lp(a)	1 051-1.082	26	Pre- β 1

3.2.1.1- Şilomikronlar:

Yoğunlukları 0.95' ten düşük olan şilomikronlar barsakta sentez edilirler. Ağırlıklarının % 90'ı trigliseridtir. Şilomikronlar, besinlerle alınan trigliseridlerin taşınmasını sağlarlar. Plazmadan temizlenmeleri oldukça hızlıdır ve yarı ömürleri bir saatten azdır (43).

3.2.1.2.- Çok Düşük Dansiteli Lipoproteinler (VLDL):

Dansitesi 0.950-1.006 arasında olan VLDL, karaciğerde ve daha az miktarda da barsaklarda sentezlenir. Yapı olarak şilomikronlara çok benzerler fakat daha az trigliserid içerirler % 60. Başlıca görevleri endojen trigliseridi taşımaktır. İnce barsakta sentezlenen VLDL' ler safra çıkışlı yağ asitleri ile endojen kolesterolün reabsorpsiyonunda rol alırlar. Aşırı karbonhidrat alımına bağlı olarak endojen yağ asitlerinin hepatik sentez hızının ve karaciğere serbest yağ asidi akışımının arttığı durumlarda VLDL sentezinde de artış

görülür. VLDL' nin turnover hızı şilomikronlardan daha yavaştır ve yarı ömrü 2-4 saat kadardır (43).

3.2.1.3.- Orta Dansiteli Lipoproteinler (IDL):

VLDL' nin LDL' ye dönüşümünde IDL ara ürün olarak oluşur. Bunlara VLDL kalıntıları da denilebilir (43).

3.2.1.4.- Düşük Dansiteli Lipoproteinler (LDL):

Dansitesi 1.006-1.063 arasında olan LDL' nin ağırlığının yarısı kolesteroldür, ve plazmada kolesterolü en fazla içeren lipoproteindir. Büyüklük ve kompozisyonlarına göre çeşitlilik gösteren LDL, VLDL' nin katabolizması sonucu ortaya çıkar. En önemli apoliproteini beta'dır. VLDL birkaç saat içerisinde metabolize olurken LDL ise yavaş olarak ve ancak birkaç günde metabolize olur. Dolaşımdaki LDL' nin yaklaşık %75' i reseptör yoluyla, geri kalanı ise spesifik olmayan reseptörsüz yol ile yıkılır. Diğer bir deyişle LDL reseptörlerinin aktivitesi, plazma LDL düzeyini belirleyen en önemli faktördür. LDL kalp hastalıkları ile yakından ilgili bir lipoproteindir. Plazma LDL yüksekliği koroner kalp hastalıkları için en önemli risk faktörü sayılır (35, 38, 43).

3.2.1.5.- Yüksek Dansiteli Lipoproteinler (HDL):

Dansitesi 1.063'ten daha fazla olan HDL, karaciğerde sentez edilir. HDL, fazla kolesterolü karaciğerden safraya taşıyarak safra salgısı olarak kullanılmasını sağlayan bir lipoproteindir. HDL₂ ve HDL₃ olmak üzere iki alt grubu vardır. Plazma HDL' nin yüksek düzeyleri kalp hastalıkları için olumlu etkiye sahiptir (43, 44). Plazma HDL seviyesi üzerine etkisi olan bazı fizyolojik durumlar vardır. Bunların en önemlisi cinsiyettir. Birçok toplumda, kadınların HDL düzeyi erkeklerden yüksektir. Şişman kişilerde plazma HDL kolesterolü normal kişilere göre daha düşük bulunmuştur. Sigaranın HDL düzeyini azalttığı gözlenmiştir (45).

3.2.1.6.- Lipoprotein (a) (Lpa):

Plazma konsantrasyonu 0-100 mg/dl arasındadır. Fizyolojik fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir. Lipid kompozisyonu LDL' ye benzer, Apo (a) varlığına bağlı olarak protein içeriği daha fazladır. Yüksek lipoprotein (a) düzeyi aterosklerotik kalp hastalıkları için LDL' den de önemli risk etmeni olarak değerlendirilmektedir (43, 46).

3.2.2. Apolipoproteinler

Apolipoproteinler; alfabetik olarak A' dan Z' ye kadar isimlendirilirler. Apolipoproteinler lipidlerin suda çözünebilirliklerini etkilerler, lipidler de komşu polipeptid zincirlerinin agregasyonunu önleyerek apolipoproteinlerin çözünürlüklerini arttırmaları. Her apo protein bir ya da birden fazla fonksiyona sahiptir. Bu fonksiyonlar:

- a) Hücreden salınan lipidleri çözünür hale getirmek,
- b) Bağlı olduğu lipidlerin plazmada taşınmasını sağlamak,
- c) Lipidlerin hidrolizinden sorumlu olan enzimleri aktive etmek,
- d) Hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanarak lipoproteinlerin hücreye girişini ve yıkımını sağlamak (33, 47).

3.2.2.1. Apolipoprotein A : HDL' nin başlıca proteini olan apolipoprotein A' nın , Apo A-I ve Apo A-II olmak üzere iki alt sınıfı vardır. Apo A-I' in molekül ağırlığı 28300, Apo A-II' nin ise 17000'dir. Bu iki apoprotein de karboksil terminal amino asidi glutamindir. Bu iki apoprotein yan yana bulunduğu anda Apo A-II, Apo A-I' in lipid bağlama yeteneğini artırır. Apo A - I aynı zamanda lesitin-kolesterol aciltransferaz (LCAT) enzimini de aktive eder (33, 43).

3.2.2.2. Apolipoprotein B : Apo B' nin heterojen bir yapısı vardır. Molekül ağırlığı 512000 olan Apo B-100 başlıca şilomikronlar, VLDL ve LDL' nin yapısında bulunurken molekül ağırlığı 241000 olan Apo B-48 sadece şilomikronların yapısında bulunur (42).

3.2.2.3. Apolipoprotein C : Apolipoprotein C, VLDL' nin başlıca yapı taşı olarak rol alır. Bunun yanında HDL' nin yapısında da az miktarda bulunur. Apo C-I, molekül ağırlığı 6631 olan tek bir polipeptid zinciridir. Apo C-II' nin molekül ağırlığı 8337, Apo C-III' ün ise 8764 'tür. Apo C-II lipoprotein lipaz enziminin aktivatörü olarak görev alır (43).

3.2.2.4. Apolipoprotein E : VLDL, LDL, IDL ve HDL' nin yapısında yer alır. Molekül ağırlığı 34000 kadardır. Dokular ve plazma arasında kolesterolün transferini sağlar (42).

3.2.2.5. Apolipoprotein D : HDL' nin küçük bir yapı taşıdır (33).

Plazma Lipoproteinlerinde bulunan bazı Apolipoproteinler Tablo 3' de verilmiştir (40).

Tablo 3. Plazma Lipoproteinlerinde bulunan bazı Apolipoproteinler

Apolipoproteinler	Lipoproteinler	Kaynağı
A-I	HDL, şilomikron	İncebağırsak, karaciğer
A-II	HDL, şilomikron	İncebağırsak, karaciğer
B	VLDL,LDL, şilomikron	Karaciğer
C-I		Karaciğer
C-II	VLDL, HDL, şilomikron	Karaciğer
C-III	VLDL, HDL, şilomikron	Karaciğer
E	VLDL, HDL, şilomikron	Karaciğer
	VLDL, HDL, şilomikron	
D	HDL	Karaciğer

3.3. Ateroskleroz

3.3.1. Tanım

Ateroskleroz, koroner arter hastalığı, serebrovasküler hastalıklar ve periferik arter hastalıkları gibi önemli vasküler hastalıklara neden olan kompleks inflamatuvar bir süreçtir. Ateroskleroz; elastik ve müsküler arterlerin duvarlarının kalınlaşması, kalınlaşan arter duvarlarına lipit birikimleri ile arter lümenlerinin daralmasına ve arterlerin kanlandırdığı alanlara giden kan miktarının azalması sonucunda iskemiye neden olan bir olaydır.

Aterosklerotik lezyonlar, makrofaj köpük hücre oluşumu ve ölümü, ekstraselüler lipit birikimi, yapısal hücre içi matriks ve düz kas hücrelerinin yer değiştirmesi ve azalması, mineral birikintilerin oluşması, kronik inflamasyon, neovaskülarizasyon, lezyon yüzeyinde yırtılmalar, hematom ve trombus oluşumu ve bunların fibromüsküler dokuya dönüşümünün dahil olduğu çok sayıda patogenetik süreçlerden oluşmaktadır (48).

Aterosklerotik lezyonlar koroner, karotid, baziller ve vertebral arterler gibi müsküler arterler ile aorta, iliyak ve femoral arterler gibi elastik arterlerde fokal olarak bulunurlar. Aterosklerotik süreç endotel hücre disfonksiyonu ile başlar. Kandan monositlerin subendotel tabakaya migrasyonu ve burada makrofajlara dönüşmesi sonucunda bu hücrelerin zerindeki Scavenger Reseptör (SR)ler ile okside LDL'ler alınarak köpük hücrelere dönüşürler. Lipitten zengin nekrotik oluşum ve düz kas hücrelerinin birikimi ile ileri lezyon oluştururlar. Lümen yüzeyinde ülserasyon ve kalsifikasyon ile lezyonlar gittikçe kompleks bir yapı kazanırlar. Komplike lezyonlar erozyon veya yırtılma sonucu ve burada tromboz oluşumu ile kan akımını bloke ederek klinik olarak çok önemli olan miyokard infarktüsü ve inme gibi akut klinik

komplifikasyonlar ile sonuçlanabilir. Ateroskleroz ve komplifikasyonları tüm dünyada ölümlerin yaklaşık % 50'sini oluşturur (49, 50).

İnsanlar ve hayvanlardaki çeşitli patofizyolojik incelemeler, aterosklerozun hasara-cevap hipoteziyle açıklanmasını sağlamıştır. Bu hipoteze göre, endotel hasarı ya da endotel fonksiyon bozukluğu ateroskleroz gelişimi için ilk basamaktır (51). Ateroskleroza yol açan endotel disfonksiyonunun olası nedenleri; artmış ve modifiye olmuş LDL, serbest oksijen radikalleri, hipertansiyon, diyabet, genetik farklılıklar, artmış plazma homosistein konsantrasyonları, herpes virüs ya da Chlamydia pneumoniae gibi enfeksiyon oluşturan mikroorganizmalardır. Endotel disfonksiyonunun nedenine göre ateroskleroz, arterlere özgü oldukça karakteristik bir cevaptır (50).

Günümüzde belirtisiz aterosklerozun başlama ve gelişiminin inhibe edilmesi veya erken dönemdeki aterosklerotik lezyonların ilerlemesinin engellenmesi giderek daha büyük önem kazanmaktadır. Aterosklerozun erken döneminin daha iyi anlaşılması, aterosklerotik sürecin gelişimine karşı bugüne kadar uygulanan mevcut yaklaşımlara göre daha etkili önlemlerin bulunmasını sağlayabilecektir.

3.3.2. Aterosklerozun Etyolojisi

Yapılan epidemiyolojik çalışmalar ile aterosklerozun görülme sıklığı ve klinik seyrini etkileyen çeşitli risk faktörleri bildirilmiştir. Bu faktörleri iki grupta toplayabiliriz. Birinci grubu oluşturan yaş, cinsiyet, genetik faktörler (ailesel yatkınlık) değiştirilemeyen veya önlenemeyen risk faktörleridir (52). Aterosklerotik lezyonlara çok erken dönemlerde rastlansa da ateroskleroz ve komplifikasyonları ile yaş ilerledikçe daha sıklıkla karşılaşılmaktadır. Kardiyovasküler hastalıkların insidansı erkek ve kadınlar arasında önemli derecede farklıdır. Altmış yaşın altındaki erkeklerde kardiyovasküler hastalıklardaki insidans kadınlara oranla iki kat daha fazladır. Bu insidans

premenopozal kadınlarda azalmakta, postmenopozal kadınlarda artmaktadır (53). Miyokard infarktüsü riski 70 yaşından sonra her iki cins arasında eşitlenir. Bazı durumlarda hipertansiyon, diabet gibi farklı risk faktörlerinin ailesel yatkınlığı söz konusu olabilir. Lipit metabolizmasının herhangi bir basamağında bulunan bir bozukluk da ateroskleroza ailesel bir yatkınlık oluşturabilir (54).

İkinci grubu oluşturan değiştirilebilir veya önlenebilir risk faktörleri; hiperlipidemi, sigara, şişmanlık, stres, fiziksel aktivite eksikliğidir. Hiperlipidemi en çok üzerinde durulan faktörler arasındadır.

Epidemiyolojik çalışmalar ile beslenme ve kardiyovasküler hastalıklar arasındaki ilişki daha iyi belirlenmiştir (55). Özellikle omega-3 ve omega-6 gibi doymamış yağ asitleri ateroskleroz riskini azaltan lipitlerdir.

Bağımsız risk faktörü olarak kabul edilmiş olan homosisteinin artan plazma konsantrasyonu ile vasküler hastalıklar arasındaki ilişkisi klinik olarak incelenmiştir. Hiperhomosisteineminin endotel hücrelerine toksik etkisi olduğu, düz kas hücre çoğalmasını arttırdığı, kollajen sentezini arttırdığı ve lipit peroksidasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (56).

3.3.3. Aterosklerozun Patogenezi

Çeşitli klinik ve laboratuvar çalışmaları aterosklerozun patogenezinde Ross'un "hasara cevap" hipotezinin üzerinde durmaktadır (29, 51). Bu hipoteze göre, endotel hasarı ya da endotel fonksiyon bozukluğu ateroskleroz gelişimi için ilk basamaktır. Çünkü endotel hücreleri ile makrofajlar, damar düz kas hücrelerini etkileyen büyüme faktörlerinin kaynağıdır. Bu hipoteze göre ateroskleroz gelişiminin başlaması için iki ayrı yol söz konusudur. İlk yol, artan kolesterol düzeylerinin endotel hücrelerinden büyüme faktörleri salgılanmasını stimüle etmesidir. Bu yol deneysel hiperkolesterolemi

çalışmaları ile kanıtlanmıştır. Bu olayla eş zamanlı olarak, monositler endotelyuma yapışarak büyüme faktörlerini salgırlar. Bunlar daha sonra subendotelyal bölgeye göç ederler. Burada makrofajlara dönüşerek, reseptör aracılı endositoz ile lipitleri bünyelerine alarak köpük hücrelerini oluştururlar. Damar duvarında görülen yağ izleri bu şekilde oluşur. Makrofajların sürekli büyüme faktörleri salmaya devam etmeleri, damar düz kas hücrelerinin medyadan intima tabakasına göç etmelerine ve orada proliferen olmalarına yol açar. Bunu takiben, intimadaki bu düz kas lipitleri bünyelerine alarak miyojenik köpük hücrelerine dönüşürler. Ardı ardına monosit istilas ve endotele yapışması ile düz kas hücre birikimi, lezyonun giderek bir fibröz plak haline gelmesine yol açar. Bu plak, bir bağ dokusu matriksinin çevrelediği değişen miktarlarda intra ve ekstraselüler lipit içeren intimal düz kas hücrelerinden oluşur. Makrofajlardan salınan maddeler endotel hücreleri üzerindeki hasarı daha da arttırabilir ve hatta endotel hücrelerinde kayıplara neden olabilir. Bunun sonucunda da, trombosit adezyonu ve agregasyonu oluşabilir. Büyüme faktörlerinin diğeri bir kaynağını oluşturan trombositler ve trombozun fibröz maddeleri plak içine katıldığı zaman kompleks aterosklerotik lezyonlar ortaya çıkabilir.

Hasara-cevap teorisinin alternatif ikinci yolağına göre, endotelyum kimyasal, immünolojik, viral veya diğeri zararlı etmenlerle hasar görmesine rağmen bütünlüğünü korur. Endotel hücrelerinde ortaya çıkan bu hasar, bu hücrelerin turnoverini arttırarak endotel kaynaklı büyüme faktörlerini üretmelerine yol açar. İşte bu büyüme faktörleri düz kas hücrelerinin mediadan intimaya göç etmelerini uyarır. Bu yolakta başlangıçta bir monosit adezyonu olmaksızın trombositler subendotelyal yapılara yapışmadan doğrudan fibröz plak gelişebilir. Bu yolak diyabet, hipertansiyon, sigara içme alışkanlığı veya ateroskleroz insidansını arttırıcı diğeri olgular için önem taşır. Sonuçta endotel hasarı ve

endotelyumun işlevinin bozulması bu hipoteze göre aterosklerozun başlaması ve ilerlemesinde anahtar rol oynamaktadır.

Aterosklerotik lezyonların bulunduğu yerlerde arter duvarının bileşimi diğer bölgelerden farklılık gösterir. Bu durum lezyonların yapısını açıklamaya yardımcı olmaktadır (57). İnsanda yaşamın ilk yıllarında arterlerin intiması yalnızca endotel hücrelerinden oluşur, bu hücreler internal elastik lamina üzerinde yer almaktadır. İlerleyen yıllarda bazı arterlerde, özellikle damarların dallanma bölgelerinde damar çeperi etrafında ve damar uzunluğu boyunca akımın mekanik gücündeki lokal farklılıklar ve değişkenliklere cevap olarak, intima kalınlığında değişiklikler oluşur. Kalınlıktaki artmalar doğal olarak mevcut olan intimal düz kas hücrelerinin bir alt grubunun aktivasyonu suretiyle oluşmaktadır. Buralarda subendotelyal düz kas hücreleri belirir ve normal mediadaki sirküler yerleşiminin aksine çoğu longitudinal uzanır. Aralarında elastin ve kollajen fibriller bulunur. Damarın bu bölgesi diğer bölümlerine nazaran daha kalınlaşmış olduğundan adaptif intimal kalınlaşma olarak adlandırılır (58). Bifurkasyonlar boyunca adaptif intimal kalınlaşma, akımı bölen güce karşı intimanın kalınlığında eksantrik (yarımay şeklinde, fokal) bir artma oluşturur. Yarımayın en kalın parçası, doğumdan itibaren medianın iki katına kadar kalınlaşabilir. Adaptif kalınlaşmalar lümeni tıkaçıcı özellik taşımaz. Sadece lokal mekanik güce karşı adaptasyonu temsil eder. Akımın mekanik gücündeki farklılıklar adaptif intimal kalınlaşmaya neden olmanın yanı sıra, bu bölgelere plazma lipoprotein, albumin ve fibrinojen akımını artırır.

Aterosklerozun aşamaları özetlenirse:

Endotel hasarı monositlerin bağlanmasını kolaylaştırır. Bu süreç hiperkolesterolemide belirgin şekilde artar. Akımın bozulduğu bölgelerde türbülans

(örneğin aorta gibi ana bir damarda) belirgin bir lezyon eğiliminden sorumlu olabilir. Kronik enfeksiyonlar endotel hasarını başlatabilir ve devam ettirebilir. Hasar başlangıçta morfolojik olarak belirlenemez. Ancak prostasiklin ve nitrik oksit biyosentezindeki değişiklikler ile beraber, endotel hücre disfonksiyonu bu hasarın bir sonucudur.

Endotel hücreleri LDL'yi bağlarlar. Hasar nedeniyle aktive olan endotel hücreleri ve bunlara bağlı monosit/makrofajlar serbest radikalleri oluştururlar. Bu serbest radikaller LDL'yi oksitleyerek lipit peroksidasyonuna neden olurlar ve LDL modifiye olur. Bu durum normal reseptör aracılı LDL klirensi için gerekli olan reseptörün tahrip olmasına yol açar. Modifiye LDL “çöpçü reseptörler” aracılığıyla makrofajlar tarafından alınır. LDL'yi üzerine almış bu makrofajlar (bunlara artık köpük hücreleri denmektedir) subendotelyal tabakaya göç ederler. Köpük hücrelerinin subendotelyal bölgede toplanması ve T lenfositleri, aterosklerozun belirtisi olan yağ izlerini oluşturur.

Trombositler, makrofajlar ve endotel hücreleri, sitokinler ve büyüme faktörleri salarlar. Bu durum düz kas proliferasyonu ve bağ dokusu komponentlerinin birikimine yol açar. Bu aşırı inflamatuvar fibroproliferatif cevap, iç kısmı lipit ve nekrotik döküntülerden oluşan ve dışta bunu saran konnektif dokunun yoğun fibröz bir başlık oluşumuna yol açar. Plak tromboz için substrat gibidir. Eğer bir plak çok sayıda makrofaj içeriyorsa bu plağı stabilize eder (59)

Ateroskleroza neden olan endotel disfonksiyonun nedenleri arasında okside LDL'ler, sigara içimine bağlı olarak oluşan serbest radikaller, hipertansiyon, diabet, hiperkolesterolemi, artan plazma homosistein konsantrasyonu, mikroorganizmalar ve bunların kombinasyonları ve diğer faktörler yer almaktadır. Bu faktörlerin yanında hemodinamik faktörlerin (yırtık stres, türbülant akım) üzerinde de durulmaktadır. Spesifik arteriyel bölgelerin (örneğin dallanma, ayrılma ve bükülme bölgeleri) türbülant akım

içermesi, bu vasküler bölgelerde lezyon oluşumlarında önemli bir rol alırlar. Bu akım değişimleri endotel disfonksiyon oluşumlarına, endotel hücre geçirgenliğinin artışına ve endotele lökosit adezyonuna neden olur. Sonuçta endotelin normal homeostatik dengesini düzenleyen bir cevap oluşur. Oluşan hasar ayrıca vasoaktif moleküller, sitokinler, ve büyüme faktörlerinin sentezini arttırır.

Akımda oluşan değişimler sonucu yırtık strese cevap olarak sitokinler, adezyon molekülleri, koagülasyon proteinleri gibi önemli moleküllerin gen ekspresyonlarında değişimler olur. Örneğin, intercellular adhesion molecule I (60), Platelet -Derived Growth Factor (PDGF) (61, 62), doku faktör gibi moleküllerin ekspresyonları, yırtık stres ile artar (63). Bunun sonucu endotel disfonksiyon bölgelerine T hücreleri ve monositler yapışır ve endotel hücrelerinin arasından migrasyonla subendotel tabakaya yerleşirler. Monositlerin subendotel tabakada makrofajlara dönüşmesi sonucunda bu hücrelerin yüzeyinde bulunan SR ile okside LDL'ler alınarak köpük hücreleri oluşur. Devam eden inflamasyon hem monosit adezyonu hem de lenfosit ve makrofajların migrasyonunun artışı ile sonuçlanır. Bu hücrelerin aktivasyonu hidrolitik enzimlerin, sitokinlerin, kemokinlerin, ve büyüme faktörlerinin salgılanmasına neden olur. Örneğin makrofajlar salgıladıkları Tumor Necrosis Factor (TNF), Interleukin-1 (IL-1), PDGF ve Monocyte Chemoattractant Protein (MCP-I) gibi moleküller ile aterosklerozun gelişiminde önemli rol oynarlar. Makrofajlar ve T hücrelerinden salgılanan bu sitokinler ve büyüme faktörleri düz kas hücre göçü, çoğalması ve ekstrasellüler matriks üretimi için önemlidir. Böylece mononükleer hücrelerin birikimi ile başlayan, düz kas hücrelerinin göçü ve çoğalması fibroz doku oluşumu ile devam eden, sonuç olarak ileri lezyon oluşumuna varan durum ortaya çıkar (49).

Ateroskleroz patogenezinde oksidatif modifikasyon hipotezine göre, başlangıçta LDL'ler subendotel tabakada birikir ve burada vasküler hücreler, endotel hücreleri, düz kas hücreleri ve makrofajlar tarafından okside edilirler. Modifiye LDL'ler monosit adezyonu ve makrofajlara farklılaşmayı düzenleyen MCP-I ve Macrophage Colony Stimulating Factor (M-CSF) gibi adezyon moleküllerinin sentezi için vasküler hücreleri uyarırlar. Böylece monosit ve makrofaj birikimi LDL oksidasyonunu düzenler. Bu reaksiyonun ürünleri LDL'nin protein komponenti olan Apo B-100 çok fazla negatif yük kazandırır. Artan bu negatif yükten dolayı okside LDL'ler makrofajların yüzeyindeki SR'ler tarafından tanınır ve fagosite edilmeleri ile köpük hücreleri oluşur. Köpük hücre oluşumlarına neden olmanın yanısıra okside LDL'ler monositler için kemotaktik bir faktördür ve endotele monosit adezyonunu stimüle ederler. Monositler subendotel bölgede okside LDL'leri tutarak arteriyel duvardan çıkışları inhibe olur. Okside LDL'ler vasküler hücreler için de sitotoksiktir. Ekstrasellüler yüzeye lizozomal enzimlerin ve sitokinlerin, büyüme faktörlerinin salınımını indükleyerek aterosklerotik lezyonların ilerlemesine neden olur. Hayvanlarda yapılan çalışmalar ve klinik çalışmalar ile LDL oksidasyonu ve ateroskleroz arasındaki bağlantı incelenmiştir. İnsan aterosklerotik lezyonlarından izole edilen LDL'lerin in vitro da oksidatif olarak modifiye edilen LDL'ler ile benzerliği belirtilmektedir (64). İmmunoreaktif okside LDL'nin plazma konsantrasyonu akut miyokardiyal infarktüsli hastalarda normal bireylerinkinden çok daha yüksek bulunmuştur (65). Böylece LDL'nin oksidatif modifikasyonunun köpük hücre oluşumunda ve aterosklerozda önemli bir rol oynadığı gösterilmektedir.

3.3.4. Arter Duvarının Yapısı ve Özellikleri

Arter duvarı internal elastik lamina ve eksternal elastik lamina ile ayrılan tunika intima, tunika media ve tunika adventisya tabakalarından oluşur (66, 67).

Tunika intima: Bazal lamina üzerinde arter lümenini çevreleyen tek katlı yassı epitelden oluşan endotel hücre tabakası bulunur. Bu hücreler birbirine ‘sıkı bağlantılar’ ile bağlanmıştır. Bu tabaka tunika intima'yı tunika media'dan ayıran ve endotel hücreleri için stabilite ve esneklik sağlayan internal elastik laminaya kadar uzanır. İntima iki tabakadan meydana gelir, Lümenin altındaki iç tabaka fibröz olmayan bir proteoglikan zemin maddesinden oluşup proteoglikan tabaka adını alır. Bu tabakada az sayıda elastik lif, seyrek düz kas hücreleri bulunur. Düz kas hücreleri hem sentetik hem de kontraktıl fenotipte bulunabilir. Bu tabakanın altında muskuloelastik tabaka bulunur. Bu bölgede düz kas hücreleri, kollajen ve elastik lifler çok daha yoğun bulunurlar. Buradaki düz kas hücreleri kontraktıl fenotiptedir.

Tunika media: Bu tabakada daha çok düz kas hücreleri hakimdir ve elastin lifler bulunur. Düz kas hücreleri birbirlerine "aralıklı kavşak" larla bağlıdır ve etraflarını kollajen lifler çevreler. Düz kas hücreleri arter duvarının bağ dokusunu oluşturan kollajen, elastin ve proteoglikanları da sentezler ve salgılar. Eksternal elastik lamina ile tunika media, tunika adventisyadan ayrılır.

Tunika adventisya: Arter duvarının en dış tabakasını oluşturur. Fibro-elastik bağ dokudan, düz kas hücreleri ve fibroblastlardan oluşur. Damarlara yeterli oksijen ve besin sağlayan 'Vasa Vasorumlar'la birlikte hem lenfatik hem de sinir ağı bu tabakada yer alır.

3.3.5. Aterosklerozda Arter Duvarında Görülen Değişiklikler

Aterosklerotik lezyonlar, bifurkasyon ve orifisler gibi farklı geometride ve hemodinamik basınca ("yırtık stress" türbülant akım) duyarlı arteriyel segmentlerde gelişir (68).

Yırtık stres ve türbülans akım değişimleri ve damar gerilimi sonucu gelişen mekanik stres ile etkilenen arter bölgelerindeki intima tabakasında fizyolojik olarak adaptif intimal kalınlaşma oluşturur. Böylece aterosklerotik lezyonlar adaptif intimal kalınlaşmanın meydana geldiği bölgelerde mekanik stres ve diğer risk faktörlerinin etkisi ve risk faktörlerine maruz kalma süresi ile bağlantılı olarak gelişir. Aterosklerotik lezyonlar, arter yatağının yapısına göre lezyonu oluşturan bağ dokusu, düz kas hücreleri ve diğer hücre tipleri, bunların miktarları ve lezyon içinde bulunan lipit içerikleri açısından farklılıklar gösterir.

Çalışmalar aterosklerotik lezyonların çok erken yaşlarda başladığını göstermiştir. Özellikle 'yağ izi' oluşumlarına insan fetal aortasında bile rastlanılmıştır (69, 70). Amerikan Kalp Birliği Ateroskleroz Komisyonu'na, aterosklerotik lezyonlar erken (başlangıç) lezyonlar (tip I, II), ara lezyonlar (tip III) ve ileri dönem lezyonlar (tip IV, V ve VI) olarak tanımlanmaktadır (71 - 73).

3.3.6. Aterosklerozun Histolojik Sınıflandırılması

Klinik sendromlara uygun şekilde ve klinik görüntüleme yöntemleri sayesinde insan aterosklerotik lezyonlarının histolojik kompozisyonu ve yapısı aydınlatılarak sınıflandırılması, Amerikan Kalp Birliği Ateroskleroz Komisyonu'na oluşturulan vasküler lezyon komitesi tarafından bir rapor ile bildirilmiştir (73). Aterosklerozun her bir karakteristik lezyonu arterdeki kronik inflamasyon sürecinde farklı bir evreyi ifade eder. Eğer bu süreç olmaz, aksine şiddetlenir ise ilerlemiş komplike lezyonlarla sonuçlanır.

Ateroskleroz erken döneminde birbiri ardına gelen olaylar karakteristiktir. Bu lezyonlar sonradan farklı morfogenetik sırada ilerlerler; buda farklı lezyon tiplerine ve klinik sendromların oluşmasına yol açar.

3.3.6.1. Tip I Lezyonlar: Başlangıç lezyonlar olarak tanımlanır. Mikroskobik veya kimyasal olarak intimada lipit birikimlerinin ve bu birikimlerle ilgili hücrel reaksiyonların gözlemlendiği evredir. Tip I lezyonların en sık bebek ve çocuklarda gözlemlendiği fakat yetişkinlerde de bulunabileceği belirtilmektedir. Bu lezyonlar genellikle çıplak gözle görülmez. İntimada lipit damlacıkları içeren küçük izole makrofaj grupları (makrofaj köpük hücresi) oluşur. Koroner arterlerde bu hücreler genellikle eksantrik, adaptif intimal kalınlaşmanın olduğu bölgelerde görülür. Tip I lezyonlarda düz kas hücrelerinde lipit damlaları görülmez, intimadaki düz kas hücrelerinin fenotip dağılımı aterosklerotik olmayan intimadaki gibidir.

3.3.6.2. Tip II Lezyonlar: Arterlerin intimal yüzeylerinde, yama şeklinde çıplak gözle görülebilen sarı-beyaz renkli çizgilerden oluşur. Bazı tip II lezyonlar çıplak gözle görülemeyebilir. Makrofajların yanısıra intimadaki düz kas hücreleri de ayrıca lipit damlacıkları içerirler. Tip II lezyonda dokuda bulunan lipitlerin çoğu hücrede, bunların çoğunluğu da makrofajlarda bulunur. Tip II lezyonlarda lipit damlacıkları içermeyen makrofaj sayısı tip I lezyonlara göre fazladır. T lenfositler tip II lezyonlarda gözlenmekte fakat sayıları makrofajlardan daha az bulunmaktadır. Tip II lezyonlarda bulunan lipitlerin esas olarak kolesterol esterleri (% 77), kolesterol ve fosfolipitlerdir.

3.3.6.3. Tip III Lezyonlar: Ara lezyonlar olarak da adlandırılan bu lezyonlar preaterom olarak bilinmektedir. Tip III ileri lezyonlara geçiş fonksiyonu görür. Bu lezyonlar mikroskobik olarak gözlenebilen, düz kas hücre tabakaları arasında lipit birikintileri içerir. Lipit birikintileri, makrofaj köpük hücre tabakalarının altında yer alır. Bu evrede henüz bir lipid çekirdeği oluşmamıştır. Oluşan lipit havuzları daha ileri lezyonların öncülleridir.

3.3.6.4 Tip IV Lezyonlar: ileri lezyonların ilk grubu olan bu lezyonlar ateroma olarak bilinir. İntimada organizasyon bozukluğu ve deformitelere neden olan hücreler arası

bir lipit çekirdeği ile karakterizedir. Lipit çekirdeği tip III lezyonlardaki izole ekstraselüler lipit birikimlerinin birleşmesi ve artması ile oluşur. Lipit çekirdeğinin ortasında düz kas hücreleri bulunabilir. Bu lezyonlarda lenfosit ve mast hücreleri bulunmaktadır. Tip 4 lezyonlarında, lezyonu örten başlık, etkilenen intimal bölgedeki intimal kalınlığını gösterdiğinden, en önemli olan şey lipit miktarıdır. Çünkü bu evre lümenin tıkanma derecesini belirler. Pek çok insanda bu tip lezyonlar lümeni daraltmaz. Damar duvarının özelliğinden dolayı bu evrede dışarıya doğru bir genişleme mevcuttur. Kan lipit düzeyleri oldukça yükselir. O bölgede büyük miktarlarda lipit birikirse bu lezyon tipi lümeni çok fazla daraltabilir.

3.3.6.5. Tip V Lezyonlar: Tip IV lezyonlardan farklı olarak, lezyonda değişen miktarlarda kollajen içerir. RER'den zengin, düz kas hücrelerinden oluşan bir fibroz şapka bulunduğundan fibroateroma adını alır. Lipit çekirdeğin üzerinde bulunan köpük hücre tabakasının çevresinde oluşan lezyonlar fibroateromalardır ve tipVa lezyonlar olarak adlandırılır. Lipit çekirdek ve lezyonun diğer bölümleri kalsifikasyonlar içeriyorsa tip Vb olarak, lipit çekirdeği bulunmayıp lipit birikimi minimal ise tip Vc olarak adlandırılır. tip V lezyonlarda nekroz, kalsifikasyon, ülserasyon, hematoma ve trombotik komplikasyonlar görülmektedir.

3.3.6.6. Tip VI Lezyonlar: Aterosklerozdaki mortalite ve morbiditeden sorumlu olan komplike lezyonlardır. Tip VI lezyonlar yüzey harabiyeti durumunda Tip VIa, hematoma veya hemoraji durumunda Tip VIb ve trombüs oluşumunda Tip VIc olarak adlandırılırlar. Tip VIabc ise her üç komplikasyonun bulunmasını ifade eder.

3.3.7. Plak Özellikleri

Ateroskleroz boyunca inflamatuvar hücrelerin plağın stabilizasyonunu bozmaya yönelik etkileri ile düz kas hücrelerinin onarıcı etkileri arasında sürekli dinamik bir

denge vardır. Kalın fibröz bir başlık, lipitten zengin pek çok köpük hücrelerini içeren çekirdeğin kan dolaşımı ile olan bağlantısını önleyerek aterosklerotik plağı stabil hale getirir. Kalın fibröz başlık aynı zamanda çevresel gerilim stresini azaltarak plağa yapısal bir stabilite de verir. İnce bir fibröz başlığa sahip plak gerilim stresine direkt maruz kalır ve yırtılma şansı çok artar (74).

Düz kas hücrelerinin sentezleme yeteneği olan tek hücre olması ve koruyucu fibröz başlığın devamlılığını sağlaması nedeniyle, plak stabilitesi açısından bu hücrelerin canlılığının büyük önemi vardır. Ancak olgunlaşmış aterosklerotik hücrelerdeki intimal düz kas hücrelerinin hücre kültür ortamında ayrıldıklarında, mediada çoğalıp gelişen düz kas hücrelerine nazaran daha yavaş çoğaldıkları, daha erken yaşlandıkları ve apoptozise daha yatkın oldukları gözlenmiştir. Bu nedenle zamanla intimal düz kas hücreleri yaşlanarak onarım kapasitelerini kaybederler böylece plağın yırtılma olasılığı artar (75).

3.3.8. İnflamatuar hücrelerle plağın zarar görmesi

Stabil olmayan plaklar, plağın onarım kapasitesini bozan çok yoğun bir inflamasyonla karakterizedirler. Plağın yırtıldığı bölgelerde çok sayıda makrofaj ve T hücreleri ile az sayıda düz kas hücrelerinin varlığı gösterilmiştir (76). Bunun aksine stabil plaklar, az sayıda inflammatuar hücre ve çok sayıda düz kas hücrelerini içerirler. İnflamatuar hücreler çeşitli mekanizmalarla fibröz başlığı aşındırırlar. Aktive olmuş makrofajlar proteolitik enzim ailesinin bir üyesi olan matriks metaloproteinazları salarlar. Bunlar genellikle inaktif propeptid olarak salınıp sonra plazmin gibi diğer proteolitik enzimler ile aktive olurlar. Matriks metaloproteinazların yara ileşmesinde önemli fonksiyonları vardır. Bazal membran ve ekstraselüler matriksin katabolizmasına aracılık eden hücrelerin matrikse doğru göç etmelerini sağlar ve böylelikle onarım görevi görürler. Metaloproteinazların bir alt grubu olan Sitromelinisin proteoglikan

moleküllerini, elastin ve ekstraselüler matriksin diğer yapısal komponentlerini tüketmek üzere diğer metaloproteinazları aktive edebilirler. Bu nedenle, fibröz başlık içindeki ya da buna komşu inflamatuvar hücreler tarafından üretilen matriks proteinazlar başlığın matriks proteinlerini parçalarlar, böylece yırtılma olasılığı artar (74, 76).

İnflamatuvar hücreler düz kas hücreleri aracılığıyla olan matriks sentezini de inhibe edebilirler. Özellikle in vitro şartlarda insan düz kas hücreleri tarafından oluşturulan kollajen sentezinin T hücreleri tarafından üretilen inflamatuvar bir sitokin olan IF-gama ile down regülasyonu gösterilmiştir. Bu olay matriks sentezinin inhibisyonunun plağın yırtılmasına da katkıda bulunacağını göstermektedir (76).

Aktive olan inflamatuvar hücreler hem fibröz başlığın matriks bileşenlerini tüketebilir hem de bunların düz kas hücreleri tarafından üretilmelerini inhibe edebilir. Ayrıca inflamatuvar hücreler düz kas hücreleri içinde sitotoksiktir . Geng ve arkadaşları (77) makrofajlar tarafından üretilen (interferon gama) sitokinlerin düz kas hücrelerinde apoptozise neden olduklarını yaptıkları bir çalışmada göstermişlerdir.

3.3.9. Plağın Yırtılması

İnflamatuvar süreçler fibröz başlığın erozyonunda başarılı olursa aterosklerotik bölgede trombosit agregasyonu ve intravasküler tromboz meydana gelir. Fibröz başlığın yırtılması, onu dolaşımdaki trombositler için trombojezik bir substrat haline getirir. Protrombotik ve anti trombotik etkiler arasındaki dengeye bağlı olarak akut bulgular meydana gelir. Trombosit agregasyonu tüm lümen içine yayılabilen trombosit oluşumuna yol açabilir ve damar içinde ölümcül tıkanma meydana gelebilir. Ancak tüm bu bozulmalar semptomatik lezyonlara neden olmayabilir. Klinik açıdan belirti vermeyen plak yırtılmalarından küçük bir pıhtı herhangi bir lezyona katılabilir ve lezyonun daha da büyümesine de neden de olabilir. Trombüs düz kas mitojenleri için

zengin bir kaynaktır. LDL'leri yüksek olan hastalar normal kişilere göre trombositlerin agregasyonuna neden olan ajanlara karşı daha duyarlıdır. Aktive olmuş trombositlere bağlanan fibrinojen LDL miktarına bağlı olarak artar. Aterosklerotik lezyon çekirdeğindeki lipitten zengin köpük hücreleri, güçlü prokoagülan doku faktörleri oluşturma yeteneğine sahiptirler. Modifiye LDL'ler ileri aşamalarda, fibrinojen ve doku plazminojen aktivatörü (tPA) ekspresyonunu değiştirip plazma ve kan viskozitesini yükselterek tromboz riskini artırır (76).

3.4. Deneysel Ateroskleroz Modelleri

İntimal kalınlaşmanın mekanizmasını aydınlatılmak için uygun hayvan modellerine ihtiyaç vardır. Küçük hayvan türlerinin çoğunun arterlerinde adaptif intimal kalınlaşmalar hiçbir zaman görünmez ya da hayvanın yaşlanmasıyla birlikte çok yavaş bir şekilde oluşurlar. Buna karşın değişik nitelikteki zedelenmelere yanıt olarak tüm arterlerde intimal kalınlaşma görülür. Hayvanlarda restenoz (açılan damarın yeniden tıkanması) ve neointima oluşum modelleri detaylı olarak incelenmiştir (78).

Aterosklerozun gelişiminde sorumlu tutulan en temel çevresel etken diyetdeki lipidlerdir. Anitschkow ve Chalataw (79) adlı araştırmacılar tavşanların yumurta sarısı ve kolesterol diyetiyle beslediğinde insan aterosklerozuna oldukça benzeyen tipik aterosklerotik değişikliklerin olduğu ilk kez 1913 yılında yaptıkları bir çalışmayla gösterilmiştir. Günümüzde ise modern ateroskleroz araştırmaları düz kas hücreleri, makrofajlar ve lenfositler için yeni immüno histokimyasal metodların kurulması üzerinde odaklanmaktadır. Genel olarak deneysel çalışmalarda kullanılan ateroskleroz hayvan modelleri aşağıdaki gibi özetlenebilir (78, 79).

3.4.1 Hiperkolesterolemik Hayvan Modeli

Hayvanlarda deneysel aterosklerotik lezyonlar oluşturmak için en genel yaklaşımlardan biri kolesterol ve/veya doymuş yağ bakımından zengin bir diyet uygulanmasıdır. Yakın zamanda Lieber ve arkadaşları (80) tarafından erkek Sprague-dawley cinsi ratlarda yağdan zengin diyetle (YZD) yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar bu eksikliğin giderilmesi yönünden umut verici olmuştur. Bu modelde tüm esansiyel besinler yeterli miktarda mevcuttur. Standart rat diyetinin içeriğinde enerjinin %18'i proteinden, %47'si karbonhidratlardan, %35'i yağlardan elde edilirken, YZD protein oranı sabit iken karbonhidrattan sağlanan enerji miktarı %11'e düşerken yağdan elde edilen enerji miktarı ise %71 oranına çıkmaktadır. Bu diyetin içeriği Tablo 4'de gösterilmiştir.

Tablo 4: Yağdan zengin diyetin içeriği (80).

İçerik	Yağdan zengin diyet miktarları (gr/litre)
Kazein	41.4
L-sistein	0.5
DL-metiyonin	0.3
Mısır yağı	48.5
Zeytin yağı	28.4
Ay çiçek yağı	2.7
Dekstrin-maltoz	25.6
Kolin bitartrat	0.53
Fiber	10.0
Xantan gum	3.0

Bu amaçla başlıca tavşan, tavuk, hindi, güvercin, domuz ve maymun gibi hayvanlar kullanılmaktadır (81, 82). Hiperkolesterolemik tavşan modelinin insan

aterosklerozuna oldukça benzeyen aterosklerotik değişikliklere neden olduğu 1913 yılında Anitschkow ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (79). Lezyonlar ağırlıklı olarak aorta yayında ve torasik aortanın proksimal bölümünde yerleşim gösterirler. Abdominal aorta ve pulmoner arterde daha az sayıda lezyon oluşur. Bu model immüno histokimyasal ve moleküler biyolojik metodlar ile günümüzde lezyonların patofizyolojik açıdan incelenmesini sağlamakta lipoproteinler, diabet, mitojenler, büyüme faktörleri, adezyon molekülleri endotel fonksiyonu yolakların ya da trombositlerin araştırılmasıyla insan aterosklerozunun aydınlatılmasına katkısı bulunmaktadır. Ayrıca bu model endotel disfonksiyona ve hasara neden olan diğer pekçok yöntemle kombine edilmektedir. Endotel hasarına neden olan bu modelin önemli bir özelliği endotel hücrelerinin ve ondan kaynaklanan çeşitli maddeleri yağ izleri oluşumunun patofizyolojisindeki rolünü aydınlatma ve yağ izleri oluşumu devresinde vasküler reaktivitenin incelenmesi bakımından yararlı ve önemli bir model olmasıdır (83). Herediter hiperkolesterolemik tavşan türleri ya da kolesterol diyetine dirençli yerleştirilen türler ileride geniş deneysel modellere olanak sağlayacaktır. Örneğin, Watanabe herediter hiperlipidemik tavşanlar, insanlardaki ailesel hiperkolesteroleminin patolojisini aydınlatmak açısından iyi bir modeldir. Ayrıca kolesterol diyetine rezistans türler ise çeşitli hayvan türlerinde ve insanlarda gözlenen kolesterol diyetine cevaptaki farklılıkları anlamada faydalı olacaktır. Anitschkow ve arkadaşları (79), ateroskleroz rezistan tavşanlarda, düşük plazma kolesterol düzeyleri için yükselmiş safra asit sekresyonunu, genetik olarak belirlenmiş kontrol edici faktörlerden biri olarak değerlendirilmişlerdir. Bununla birlikte hiperkolesterolemik tavşan modellerinin insan aterosklerozundan bazı farklılıkları olması bu modele sınırlamalar getirmektedir. Herşeyden önce tavşanlar doğal olarak otlarla beslenen canlılardır ve insanlardan farklı bir kolesterol metabolizmasına sahiptirler.

İkincisi, oluşan lezyonlar tam olarak regresyon göstermez ve insan patolojisinin aksine lezyonlar, tavşanda torasik aortada abdominal aortaya göre daha yoğundur. Diyet ile oluşturulan yüksek serum kolesterol düzeyleri insanda nadiren görülmektedir. Kolesterol ve diğer lipitler dokularda, arterlere göre daha erken ve daha fazla biriktiklerinden tüm visseral organlarda lipit depolanmasına bağlı lezyonlar ortaya çıkmaktadır. Tavşanlarda ortaya çıkan bu yüksek hiperkolesterolemi olgusu, kolesterol parçalanma ve atılımında herhangi bir dengeleyici artış olmaksızın diyetteki kolesterol absorpsiyonunun artmasından kaynaklanmaktadır (84).

3.4.2. Endotelyumda doğrudan hasar oluşturulması esasına dayanan hayvan modelleri

Bu modellerde normal, intakt bir artere endotel hücre sıyrılması (denüdasyonu) oluşturacak tekniklerle hasar verilmektedir. Endotel hasarı; balon embolektomi kateterinin hassas bir şekilde geçirilmesi, damarın balon anjioplasti kateteri kullanılarak şişirilmesi, damar içinden döner tel geçirilmesi (rotating wire), damar üzerine basınç uygulanması, arterin içinden hava akımı geçirilmesi, stent yerleştirilmesi, elektriksel stimülasyon ve arter çevresine sert polietilen yaka yerleştirilmesi gibi perivasküler yöntemlerle sağlanabilmektedir. Bu stratejiler lipitten zengin bir diyetle kombine edilebilir. Ayrıca deneysel olarak hipertansiyon veya diabet oluşturulması, hücre kültürü modelleri, infeksiyon modelleride diğer ateroskleroz hayvan modellerini oluşturmaktadır. Kullanılan modele göre zedelenmeye karşı oluşan yanıt neointima ya da intimal kalınlaşma olarak adlandırılmaktadır. Neointima, intravasküler teknikler, elektriksel stimülasyon veya sert polietilen yaka yerleştirilmesi ile oluşturulan hasara yanıt olarak gelişen yeni intimadır. Çünkü bu tür uygulamalarda orijinal intima hasar görmüştür ya da tümünden yok edilmiştir. Oysa yumuşak silikon yaka modelinde olduğu

gibi orijinal intimaya doğrudan bir hasar verilmeyen durumlarda, zedelenmeye karşı oluşan yanıt intimal kalınlaşma olarak adlandırılır.

3.5. Güçlü antioksidan etkiye sahip olan Fitoöstrojenler ve İzoflavonlar

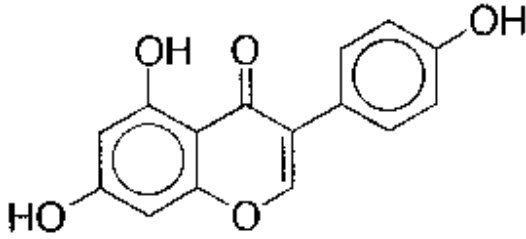
Antioksidanların besin kaynaklı olanları oksidatif hasara karşı korunmada oldukça önemlidir. Fitoöstrojenler, östrojen reseptörlerine bağlanabilen, bitkilerde antioksidan görevleri bulunan, insan ve hayvanlarda östrojenik ve anti-östrojenik etkilere sahip bitkisel kaynaklı difenolik bileşiklerdir (85). Yapı ve fonksiyon olarak 17 β -östradiyole benzerler. Kimyasal yapılarında ise tüm steroid hormonlarda olduğu gibi steran halkası mevcuttur. Zayıf östrojenler olarak davranabilir veya östrojen aktivitesini etkileyen maddeler için prekürsör sağlarlar. Vücutta östrojen reseptörlerine bağlanarak östrojen reseptörü ve dolaşımdaki östrojen konsantrasyonlarıyla ilişkili olarak hedef dokularda hem östrojenik hem de anti-östrojenik etki gösterirler (86).

"Fitoöstrojen" yüzlerce farklı bileşiği kapsayan oldukça kapsamlı bir terimdir. Başlıca beş sınıfı; izoflavonlar, flavanollar, flavonlar, flavanonlar ve lignanlardır. Bunlardan en önemlileri ise soya fasulyesinde bulunan izoflavonlar ve hemen hemen bütün bitki özlü gıdalarda bulunan lignanlardır (87).

İzoflavon grubunda genistein, daidzein, formononetin, biochanin A yer almaktadır (88). İzoflavonlar vücutta çok çeşitli etkilere sahiptir. Over, endometriyum, akciğer, kolon ve mide kanseri gibi çeşitli kanserlere, kardiyovasküler hastalıklara, osteoporoz ve çeşitli kronik hastalıklara karşı koruyucu etkileri olduğu bildirilmiştir (89). Soya izoflavonların etki mekanizmalarından bir tanesi de antioksidan özellikleridir. Soy izoflavonların antioksidan etkileri hem in vitro hem de in vivo olarak gösterilmiştir. İzoflavonların, özellikle de genistein ve daidzeinin serbest radikaller üzerine baskılayıcı etkileri mevcuttur (90). Genistein ve daidzeinin oksidanlara maruz kalan hücrelerde

DNA' da bir oksidatif marker olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin oluşumunu önledikleri gösterilmiştir (91). İzoflavonlar hücrelerdeki oksidatif hasardaki azalmayı, antioksidan savunma mekanizmalarını uyararak indirekt yollarla da yapabilirler (92).

3.5.1. Genistein:



Genistein (4',5,7-trihidroksiizoflavon), izoflavonoid bileşiklerinin biyosentetik olarak en basitidir. Soya fasulyesinde bulunan genisteinin birçok biyolojik aktivitesi mevcuttur. Yapı olarak 17 β -östradiyola benzer ve hem östrojenik hem de antiöstrojenik etkileri mevcuttur. Diğer izoflavonlarda olduğu gibi majör kaynak soya ürünleridir. Genistein meme ve prostat kanseri ve kardiyovasküler hastalıklardan koruyucu etkileri olduğu bilinmektedir (93). Genistein DNA topoizomeraz ve tripsin protein kinazı inhibe etmektedir (94). Bunun yanında antioksidan ve hücre siklusunu inhibe edici aktiveleri de mevcuttur. Kanser önleyici etkilerinin yanında, genisteinin antitümör, antioksidan ve anti inflamatuvar etkileride mevcuttur (95, 96).

3.5.2. Genisteinin Kardiyovasküler Hastalık Riskini Azaltmasındaki Olası Bazı Mekanizmalar

3.5.2.1. LDL kolesterol oluşumunu önlemesi ve HDL kolesterol düzeyini arttırması:

Lipitlerin oksidatif hasarı aterosklerozda, genel anlamda kardiyovasküler hastalıklarda ve kanserin etyolojisinde yer alabilir. Genistein LDL kolesterolü oksidatif hasara karşı korur. İn vivo çalışmalarda izoflovan oranının LDL kolesterolünün oksidasyonuna karşı direncinde önemli olduğunu gösterir. Bu konu ile ilgili yapılan çalışmalarda hem sıvı hem de lipofilik fazda genisteinin en potent antioksidan olduğunu göstermiştir (97).

3.5.2.2. Arteriyel elastikiyet artışı-yüksek kan basıncı azalması

Memelilerdeki östrojen aterosklerotik koroner arterlerde endotelyumla ilişkili olan dilatasyonu artırır. Östradiol gibi soya izoflavonları da kalsiyum antagonisti mekanizmayla koroner arterleri gevşetir (98).

Amerika Birleşik Devletlerinde yapılan bir invivo çalışmada soya izoflavonlarının endotelyum dilatasyonunu artırdığı ve koroner arterlerin kollajen tarafından indüklenen platelet aktivasyonunun oluşturduğu daraltıcı yanıtlar baskıladığı görülmüştür (99).

Avusturalya Melbourne Baker Medical Araştırma Enstitüsünde 21 menapozal kadına 10 haftadan fazla süreyle günlük 80 mg izoflavon (45 mg genistein) verilmiş, yaşla azalan sistemik arteriyel elastikiyette, çalışma grubundaki kadınlarda plasebo ile kıyaslandığında plaseboya göre anlamlı artış olduğu gözlenmiştir. Soya izoflavonlarının premenopozal ve menapozal kadınlarda arteriyel elastikiyet üzerine yararlı etkileri,

hormon replasman tedavisi alanlardan daha iyi olduğu rapor edilmiştir (100). Güncel bir çok çalışmada soya izoflavonlarının vasküler aktiviteye etki ederek kardiyoprotektif rolü konusunda fikir birliğine varılmıştır (101, 102).

San Diego'da (ABD) 2001 yılında yapılan soya sempozyumunda sunulan bir çalışmada orta yaş erkeklerde 60 mg izoflavon içeren soya takviyesinin kan basıncı üzerindeki etkisi araştırılmış, izoflavon içeren soya takviyesinin dinlenmede ve stres durumunda kan basıncını düşürdüğü ve bu etkilerin sempatik sinir sistemi stimülasyonu süresince devam ettiği görülmüştür (103).

Üçlü karşılaştırmalı kontrollü bir çalışmada 60 tane hipertansif ve normotansif postmenapozal kadına günlük 101 mg izoflavon içeren soya yemekleri verilmiş, kontrol diyeti alanlarla soya diyeti alanlar karşılaştırıldığında, diyete soya eklenmesinin hem hipertansif hem de normotansiflerde sistolik ve diyastolik kan basınçlarını düşürdüğü gösterilmiştir (104).

3.5.2.3. Östojenin kan lipoproteinleri üzerindeki olumlu etkileri

Östrojenlerin LDL kolesterol seviyelerini düşürmek ve HDL kolesterol seviyelerini yükseltmek gibi çeşitli yollarla kalp hastalıklarına karşı koruyucu olduğu bilinmektedir. Östojenin fonksiyonları premenopoz kadınlarda kalp hastalığının neden düşük olduğunu göstermektedir. Genistein doğal östrojen gibi östrojen reseptörü beta'ya bağlanmaktadır. Soya izoflavonunun indüklediği maksimum aktivite 17 beta östradiol'ün indüklediğinin yarısı kadardır (105). İzoflavonların kardiyovasküler hastalık riskini azaltmakta yüksek potansiyele sahip olduğu ve lipit seviyelerini düşürmekte hormon replasman tedavisine alternatif olabileceği bildirilmektedir (106).

İzoflavonların yan etkisi bulunmadığından, erkeklerde kardiyovasküler hastalık riskini azaltmakta yararlı olabilir. Hormon replasman tedavisi ve fitoöstrojenlerin, lipit düşürücü ve kardiyovasküler risk azaltıcı etkilerinin göz önünde bulundurulmasını önermişlerdir.

3.5.2.4. Hücre proliferasyonunun inhibisyonu

Genistein Ateroskleroz oluşumunda ilk basamağı oluşturan arter duvarı değişikliklerinde rol alan tirozinkinaz enzimlerini inhibe eder. Genisteinin etkileri hiperlipidemik hücrelerde daha önemlidir (107,108). Genistein aynı zamanda aterosklerotik lezyon oluşumundaki hücre adezyonunu inhibe edebilir, trombosit aktive edici faktörü değiştirebilir ve hücre proliferasyonunu inhibe edebilir. Aterosklerotik plak oluşumunda görülen düz kas hücrelerinin proliferasyonunda PDGF'nin önemli bir rolü olduğuna inanılmaktadır. Son zamanlarda yapılan birçok araştırmada genisteinin düz kas replikasyon aktivitesini inhibe ettiği, böylece arter duvarlarında plak oluşumunu önlemeye yardımcı olduğu gösterilmiştir (109 - 111).

3.5.2.5. Trombosit agregasyonunun inhibisyonu

Genistein ateroskleroza önlemede, pıhtılaşmayı önleyici ajan olarak da yardımcı olur. Aşırı trombosit agregasyonu pıhtı oluşumuna, kalp krizi ve inme riskinin artmasına neden olabilir. Sonuç olarak trombosit agregasyonunu önleyen her faktör potansiyel olarak yararlıdır. Genisteinin in vitro olarak trombosit agregasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (112, 113).

Schone ve Guidy (114) reaktif oksijen parçacıklarının trombositlerde üretildiğini ve bu parçacıkların tirozin fosfatazları inhibe ettiğini, bunun da proteinlerin fosforilasyonu ve trombosit aktivasyonunun bozulması ile sonuçlandığını bildirdiler.

Araştırmacılar genisteinin reseptör aracılı reaktif oksijen parçacıkları üretimini azalttığını ve trombosit agregasyonunu inhibe ettiğini bulmuşlardır. Trombosit agregasyonu için tirozinkinaz fosforilasyonunu gereklidir. Genisteinin trombosit agregasyonunu inhibe etmedeki etkisi, onun iyi çalışılmış tirozinkinaz aktivitesini inhibe etmedeki yeteneğine bağlanmıştır (115).

Bu çalışmada hiperkolesterolemiye bağlı olarak gelişmesi muhtemel kardiyovasküler hasarları belirleyerek, Genistein içeren soya diyeti ile bu hasarlar üzerine diyetdeki antioksidan madde olan Genistein'in etkilerinin araştırılması amaçlandı. Bu yolla bir yandan hiperkolesteroleminin etkileri araştırılırken, diğer yandan oluşabilecek kardiyovasküler hasarın önlenmesinde olumlu katkıları olabileceği düşünölen ve pediatri pratiğinde diyete katılabilecek soyanın içinde yer alan genisteinin etkisinin araştırılması planlandı.

4. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezinde (FÜTDAM) yapıldı. Çalışma uluslararası standart deney hayvanı çalışmaları etik kurallarına uygun olarak yapıldı. Hayvanlara uygulanan yöntemlerin etik kurallara uygunluğu Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Etik Kurulundan onay alındı (06.03.2006 / 285).

4.1. GEREÇLER

4.1.1. Deney hayvanları

Çalışmada FÜTDAM'dan temin edilen, ağırlıkları 237-302 (273.3 ± 15.1) gram arasında değişen, 32 adet sekiz haftalık erkek Sprague-Dawley cinsi rat kullanıldı. Ratlar dörderli olarak, paslanmaz çelik kafeslere konuldu. Ratlar çalışma süresince, 12 saat ışık/karanlık siklusunun sağlandığı, ısı ($23-25^{\circ}\text{C}$) ve nemin kontrol edildiği ortamda muhafaza edildi. Ratların çalışma ortamına bir hafta uyum sağlamasından sonra deneye başlandı.

4.1.2. Deneyde kullanılan diyetler ve hayvanların beslenmesi

Su, standart rat yemi ve YZD ratlara *ad libitum* olarak verildi. Standart rat yemi Özel Elazığ Yem Fabrikasından alındı. Bu yemin yağ içeriği tüm diyetin %20.5 idi. İçeriği tablo 4'de gösterilmiştir. YZD ise Fırat Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Beslenme Anabilim dalındaki Uzman kişi tarafından hazırlandı. Diyete ayrıca 50 gram vitamin-mix eklenmiştir. Bu diyetin yağ içeriği ise %71 dir. Ratlara günlük 10gram/100 gram dozunda yem verildi. Yemler özel çelik kaplarda, su ise çelik paslanmaz bilyeli biberonlarda verildi. Yağdan zengin diyet her hafta taze olarak hazırlandı ve kullanıldığı süre içerisinde buzdolabında ($5-8^{\circ}\text{C}$) saklandı. Ratlar günde üç kez genel olarak kontrol

edildiler. Günlük yem ve su tüketimleri takip edildi. Ayrıca haftalık olarak kiloları tartılıp kaydedildi.

4.1.3. Grupların dağılımı ve deneysel çalışmanın dizaynı

Ratlar dört eşit gruba ayrıldı.

Grup 1 (Kontrol grubu): Tüm deney süresince sadece standart rat yemi aldılar. Herhangi bir madde uygulanmadı.

Grup 2 (Bazal diyet + Genistein grup): Deney süresince sadece standart rat yemi diyeti ile beslenen bu gruptaki ratlara çalışmanın başlamasından bir gün önceden başlayarak deney sonuna kadar 0.2 mg/kg/gün dozunda genistein subkutan olarak enjekte edildi (116).

Grup 3 (Hiperkolesterolemi grubu): Çalışma süresince ratlara özel olarak hazırlanan YZD diyet verildi.

Dördüncü haftanın sonunda YZD ile beslenen ratlardan iki tanesi sakrifiye edilerek, histopatolojik olarak minimum ateroskleroz kriterlerinin gelişip gelişmediği teyit edildi. %10'dan fazla ateroskleroz varlığının görülmesinden sonra çalışmaya devam edildi.

Grup 4 (Hiperkolesterolemi + Genistein; Genistein koruyucu (GK) grup):

Deney süresince YZD diyetle beslenen bu gruptaki ratlara çalışmanın başlamasından bir gün önceden başlayarak deney sonuna kadar 0.2 mg/kg/gün dozunda genistein subkutan olarak enjekte edildi (116).

4.1.4. Genistein hazırlanması ve dozu

Genistein (Sigma/Türkiye, 4',5,7-Trihidroksiizoflavon, 5,7-Dihydroxy-3(4-hydroxyphenyl)-4H-1-benzopyran-4-one), 100 mikrolitre DMSO (%1.25) ve PEG-400 (%98.75) karışımında çözülerek hazırlandı ve +8°C' de muhafaza edildi (116).

4.1.5. Çalışmanın sonlandırılması ve örneklerin toplanması

Çalışma toplam altı hafta sürdü. Altı hafta sonra ratlar bir gecelik açlığı takiben dekapite edilerek öldürüldü. Yapılacak analizler için uygun olacak şekilde heparinli, EDTA'lı ve düz biyokimya tüplerine kan örnekleri alındı. Alınan kanlar 3000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilerek (Heraeus Biofuge Stratos: Kendo Laboratory Prodducts, Osterode-Germany) serum ve plazmaları ayrıldı. Çalışmada birçok parametreye bakılacağı için elde edilen serum ve plazmalar küçük porsiyonlar halinde polipropilen tüplere konuldu. MDA düzeylerinin ölçümü için ayrılan plazmalar analizler yapılana kadar -20 °C'de saklandı.

Hayvanlardan MDA düzeyleri ile ölçümler için kalp ve aorta doku örnekleri alındı. Histopatolojik inceleme için % 10'luk formol içerisinde patoloji laboratuvarına gönderildi.

4.1.6. Kullanılan kimyasal maddeler

Çalışmamızda kullanılan bütün kimyasal maddeler analitik saflıkta olup Merck (Germany), Sigma–Aldrich (ABD) ve MP Biomedicals (Germany) firmalardan temin edilmiştir.

4.2. YÖNTEMLER

4.2.1. Plazma malondialdehid (MDA) düzeylerinin ölçümü

Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehid (MDA) tayini, Satoh (119) ve Yagi (120)'den modifiye edilen bir yöntemle spektrofotometrik olarak Techcomp 8500 II UV-Vis (Techcomp LTD., China) spektrofotometre cihazı kullanılarak yapıldı.

Prensip: Plazmada bulunan ve lipid peroksidasyonunun sekonder ürünü olan MDA aerobik şartlarda pH'nın 3.4 olduğu bir ortamda tiyorbarbütrik asit (TBA) ile

95°C'de inkubasyonu sonucu pembe renkli bir kompleks oluşturur. Oluşan bu rengin 532 nm'de spektrofotometrik ölçümü ile MDA düzeyleri belirlenir.

4.2.2. Doku MDA Düzeylerinin Ölçümü

Doku MDA düzeylerinin tayini Ohkawa ve ark.(121)'dan modifiye edilen bir yöntemle spektrofotometrik olarak yapıldı.

Prensip: Doku MDA tayini; aerobik şartlar altında ve pH: 3.5'te, doku homojenizatının kaynar su banyosunda 1 saat inkubasyonu sonucu, lipid peroksidasyonun sekonder ürünü olan MDA'nın TBA ile oluşturduğu pembe renkli kompleksin 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanır.

Homojenat hazırlanması:

Derin dondurucudan çıkarılan dokuların tartımı yapıldı ve soğuklukları muhafaza edilerek cam tüplere aktarıldı. Dokuların üzerine 1/10 oranında dilüsyon olacak şekilde soğuk Tris-HCl tamponu (0.2 M, pH:7.4) eklendi. Daha sonra dokular yine soğuklukları muhafaza edilerek, Ultra Turrax T25 Basic (IKA Labortechnik, Germany) homojenizatöründe 16.000 devir/dakika hızda 3 dakika süreyle homojenize edildi. Hazırlanan bu homojenatlarda MDA ve protein tayini yapıldı.

4.2.3. Dokuda Redükte Glutatyon (GSH) Ölçümü

Prensip: Bütün nonprotein sülfidril grupları GSH şeklinde bulunur. 5,5'-ditiyo-bis[2-nitrobenzoik asit] (DTNB), sülfidril bileşikleri tarafından redükte edilerek bir disülfid bileşiği olan sarı renkli kompleks oluşturur. Bu sarı renkli bileşiğin optik dansitesi 412 nm dalga boyunda ölçülerek GSH aktivitesi saptanır (120).

4.2.4. Biyokimyasal Parametrelerinin Ölçümü

Serumda Total Kolesterol, HDL-Kolesterol, LDL-Kolesterol, Trigliserid, AST, ALT, LDH, CK ve CKMB düzeyleri Olympus AU 600 (Olympus Optical Co. Ltd,

Tokyo-Japan) otoanalizöründe Olympus marka ticari kitler kullanılarak ölçüldü. VLDL-Kolesterol düzeyleri ise yine aynı otoanalizörde hesaplama ile edildi.

4.2.5. Dokuların Histopatolojik İncelemesi

Ratlardan alınan aort doku örnekleri %10'luk formolde tespit edildi. Dokular rutin takip işlemi sonrası parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan alınan 4 µm kalınlığındaki kesitler Hematoksilen-Eozin, Verhoeff elastik boyası ve Masson Trichrom ile boyanarak preparatlar Olympus BX-51 ışık mikroskobu ile x40, x100, x200 ve x400 büyütmelemlerde bu konuda uzman patolog tarafından kör olarak incelendi ve fotoğraflandı.

HE ile boyanan preparatların tüm alanları x200 büyütme ile ışık mikroskobunda incelendi. Histopatolojik değerlendirmede, Amerikan Kalp Birliği Ateroskleroz Komisyonu'na oluşturulan vasküler lezyon komitesi tarafından bir rapor ile bildirilen kriterlere uygun olarak değerlendirildi (73).

Aterosklerozun Histolojik Sınıflandırılması:

Tip I Lezyonlar: Mikroskobik veya kimyasal olarak intimada lipit birikimlerinin ve bu birikimlerle ilgili hücrel reaksiyonların gözlemlendiği evredir. Genellikle çıplak gözle görülmez. İntimada lipit damlacıkları içeren küçük izole makrofaj grupları (makrofaj köpük hücresi) oluşur.

Tip II Lezyonlar: Arterlerin intimal yüzeylerinde, yama şeklinde çıplak gözle görülebilen sarı-beyaz renkli çizgilerden oluşur. Bazı tip II lezyonlar çıplak gözle görülemeyebilir. Makrofajların yanısıra intimadaki düz kas hücreleri de ayrıca lipit damlacıkları içerir. Tip II lezyonda dokuda bulunan lipitlerin çoğu hücrede, bunların çoğunluğu da makrofajlarda bulunur. Tip II lezyonlarda lipit damlacıkları içermeyen makrofaj sayısı tip I lezyonlara göre fazladır.

Tip III Lezyonlar: Ara lezyonlar olarak da adlandırılan bu lezyonlar preateroma olarak bilinmektedir. Mikroskobik olarak gözlenebilen, düz kas hücre tabakaları arasında lipit birikintileri içerir. Lipit birikintileri, makrofaj köpük hücre tabakalarının altında yer alır. Bu evrede henüz bir lipid çekirdeği oluşmamıştır.

Tip IV Lezyonlar: İleri lezyonların ilk grubu olan bu lezyonlar ateroma olarak bilinir. İntimada organizasyon bozukluğu ve deformitelere neden olan hücreler arası bir lipit çekirdeği ile karakterizedir. Lipit çekirdeği tip III lezyonlardaki izole ekstraselüler lipit birikimlerinin birleşmesi ve artması ile oluşur.

Tip V Lezyonlar: Tip IV lezyonlardan farklı olarak, lezyonda değişen miktarlarda kollajen içerir.

Tip VI Lezyonlar: Aterosklerozdaki mortalite ve morbiditeden sorumlu olan komplike lezyonlardır. Tip VI lezyonlar yüzey harabiyeti durumunda Tip VIa, hematoma veya hemoraji durumunda Tip VIb ve trombüs oluşumunda Tip VIc olarak adlandırılırlar. Tip VIabc ise her üç komplikasyonun bulunmasını ifade eder.

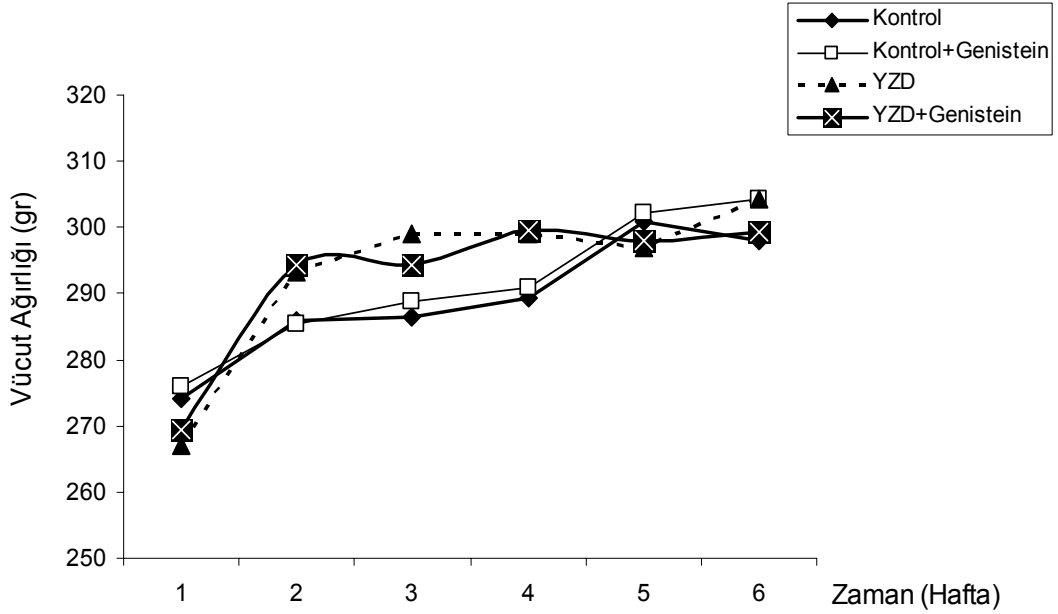
4.2.6. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen veriler ortalama±standart sapma olarak verildi. Gruplar arasında parametrelerin karşılaştırılmasında Kruskal Wallis Tek yönlü varyans analiz testi kullanıldı. Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda ise Mann Whitney-U testi kullanıldı. Parametreler arasındaki korelasyonun saptanmasında Pearson's korelasyon analizinden yararlanıldı. $p<0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5. BULGULAR

Çalışma gruplarında deneysel uygulamalar sürecinde takip edilen ratlarda herhangi bir olağan dışı durum meydana gelmedi ve ölen rat olmadı.

5.1. Bazal ve deney süresindeki ağırlık bulguları: Gruplar arasında ratların bazal ağırlıklarının ortalaması yönünden istatistiki olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$). Çalışma süresince düzenli olarak yapılan ağırlık takiplerinde, ratlarda deney süresince gözlenen ağırlık değişiklikleri şekil 1’de gösterilmiştir. Ratların deney boyunca izlenen vücut ağırlıkları değerlendirildiğinde, her dört grupta da deneysel uygulamalar öncesi ve sonrası değerler karşılaştırıldığında gruplar arasında ve her grubun kendi içerisinde istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılığın olmadığı görülmektedir ($p>0.05$).



Şekil 1: Ratların deneysel uygulamalar sürecinde 6 haftalık periyotta vücut ağırlıkları değişiklikleri.

Çalışma gruplarından elde edilen biyokimyasal parametreler Tablo 5’ de verildi.

Tablo 5- Çalışma gruplarında elde edilen biyokimyasal parametreler

	Grup 1 (n= 10)	Grup 2 (n=10)	Grup 3 (n= 10)	Grup 4 (n=10)	P
Glukoz (mg/dL)	136,70±9,02 ^a	140,3±8,31	148,06±6,01	143,1±10,66	<i>a p<0.05 Grup 1-3</i>
Tkol(mg/dL)	67,6±6,04	65,5±7,09	75,3±9,06 ^a	70,9±7,04	<i>a p<0.05 Grup 3 -2</i>
Trigliserit(mg/dL)	78,15±10,21	76,4±12,01	97,51±15,67 ^b	85,01±16,47 ^a	<i>a p<0.05 Grup 4 - 3 b p<0.01 Grup 3- 1 Grup 3-2</i>
LDL Kol(mg/dL)	11,1±1,91	10,7±1,70	12,9±1,85	11,7±1,15	NS
HDL Kol(mg/dL)	43,5±4,40	42,04±4,37	37,91±4,74 ^a	41,21±3,52	<i>a p<0.05 Grup 3-1 Grup 3-2</i>
AST (U/L)	207,3±23,65	217,8±45,07	237,84±34,44 ^a	221,9±40,32	<i>a p<0.05 Grup 3-1</i>
ALT (U/L)	65,4±8,15 ^a	53,2±7,75 ^b	79,56±7,76	76,6±11,3	<i>a p<0.05 Grup 1-3 Grup 1-2 b p<0.01 Grup 2-3 Grup 2-4</i>
LDH (U/L)	2404,6±663,16	1837,8±534,97 ^a	2237±608,17	2169,1±326,4	<i>a p<0.05 Grup 2-1 Grup 2-3</i>
CK (U/L)	4620,4±1553,6	5277,1±1368,50	5199,4±849,71	5481,7±706,99	NS
CKMB (U/L)	5409,5±559,32	5125,0±379,27	6318±488,93 ^a	5752,0±444,06	<i>a p<0.05 Grup 3 - 1 Grup 3 - 2</i>

Çalışma sürecinde gruplardan elde edilen biyokimyasal parametreler değerlendirildiğinde kan glukoz değerleri açısından, YZD alan grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak artış olduğu belirlendi ($p<0.05$). YZD alan grupta artmış olan kan glukoz düzeylerinin, genistein uygulaması ile azalmakla beraber bu azalmanın anlamlı olmadığı gözlemlendi ($p>0.05$). (Tablo 5).

Tablo 5’de görüldüğü gibi serum total kolesterol değerleri kontrol grubunda 67,60±6,04 mg/dL, kontrol+genistein grubunda 65,50±7,09 mg/dL, YZD grubunda 75,30±9,06 mg/dL ve YZD+genistein grubunda 70,90±7,04 mg/dL olarak belirlendi. Total kolesterol değerlerinde YZD grubunda, kontrol ve YZD+gensitein alan gruba göre anlamlı olmayan hafif bir yükseklik gözlenirken ($p>0.05$), sadece gensitein alan grupta,

ise YZD alan gruba göre anlamlı bir düşüklük olduğu gözlemlendi ($p<0.05$). Genistein alan gruplar (kontrol+genistein ve YZD+genistein) da, total kolesterol değerlerinde anlamlı olmayan düşmeler görüldü.

Kontrol, kontrol+genistein, YZD ve YZD+genistein gruplarındaki serum trigliserit düzeyleri sırasıyla $78,15\pm 10,21$ mg/dL, $76,40\pm 12,01$ mg/dL, $97,51\pm 15,67$ mg/dL, $85,01\pm 16,47$ mg/dL olarak belirlendi. Yağdan zengin diyet alan grupta trigliserit düzeylerinde, kontrol ve kontrol+genistein alan gruba göre belirgin artışın olduğu bu artışta istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ($p<0,01$). Soy izoflavonu olan genistein ilavesinin trigliserit düzeyini kontrol grubunda da, YZD grubunda da azalttığı ancak bu düşüşün YZD grubunda daha fazla olduğu konusunda istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p<0,05$).

LDL kolesterol değerleri ise dört grup karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olmadığı gözlemlendi ($p>0.05$). Kontrol, kontrol+genistein, YZD ve YZD+genistein gruplarındaki serum LDL düzeyleri sırasıyla $11,10\pm 1,91$ mg/dL, $10,70\pm 1,70$ mg/dL, $12,90\pm 1,85$ mg/dL, $11,70\pm 1,15$ mg/dL olarak belirlendi. Genistein ilavesi kontrol grubunda da, YZD grubunda da kolesterol seviyesini azalttığı ancak bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi ($p>0,05$).

Serum HDL kolesterol düzeyleri kontrol, kontrol+genistein, YZD ve YZD+genistein gruplarında sırasıyla $43,50\pm 4,40$ mg/dL, $42,04\pm 4,37$ mg/dL, $37,91\pm 4,74$ mg/dL, $41,21\pm 3,52$ mg/dL olarak belirlendi. YZD alan grupta HDL kolesterol düzeylerinin kontrol, kontrol+genistein gruplarına göre belirgin olarak azaldığı, bu farkın da istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ($p<0,05$). Genistein ilavesi kontrol grubunda HDL kolesterol seviyesini azaltırken, YZD grubuna ilavesi

HDL kolesterol seviyesini arttırmaktadır. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).

Karaciğer fonksiyon testlerinden olan AST düzeylerinin YZD grubunda sadece kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gösterirken ($p<0,05$), diğer gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmedi ($p>0,05$). ALT düzeyleri ise YZD grubunda kontrol ve kontrol+genistein grubuna göre belirgin olarak arttığı, bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ($p<0,05$). Soy izoflavonu olan genistein ilavesi kontrol ve YZD gruplarında ALT düzeyini azalttığı bu farkın kontrol ile kontrol+genistein arasında istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p<0,05$).

Laktat dehidrogenaz enzim düzeylerinde soy izoflavonu olan genistein ilave edilmiş kontrol grubunda belirgin düşüşün olduğu diğer gruplarda benzer sonuçlar bulunduğu görülmekte, kontrol+genistein alan gruptaki LDH düşüşü kontrol ve YZD gruplarına göre anlamlı olduğu gözlemlendi ($p<0,05$).

Kontrol, kontrol+genistein, YZD ve YZD+genistein gruplarındaki serum CK düzeyleri sırasıyla $4620,40\pm1553,60$ U/L, $5277,10\pm1368,50$ U/L, $5199,40\pm849,71$ U/L, $5481,70\pm706,99$ U/L olarak belirlendi. Genistein ilavesi CK düzeyinde kontrol grubunda, YZD grubunda da artışa neden olduğu ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi ($p>0,05$).

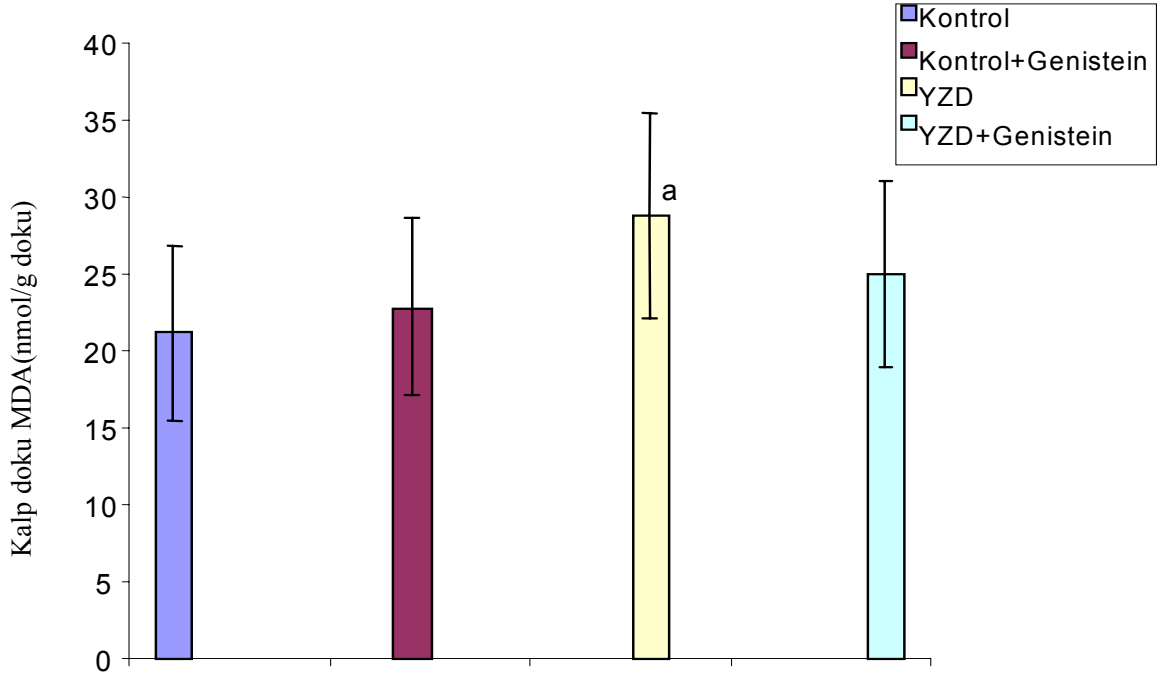
Serum CKMB düzeyleri kontrol, kontrol+genistein, YZD ve YZD+genistein gruplarında sırasıyla $5409,50\pm559,32$ U/L, $5125,00\pm379,27$ U/L, $6318,00\pm488,93$ U/L, $5752,00\pm444,06$ U/L olarak belirlendi. Genistein ilavesi CKMB düzeyinde kontrol grubunda, YZD grubunda da azaldığı, bu düşüşün YZD alan grupta istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ($p<0,05$).

Malondialdehid (Plazma, kalp doku, aort doku), glutatyon (kalp doku ve aort doku) değerleri Tablo 6’da verildi.

Tablo 6. Malondialdehid (plazma, kalp, ve aort) ve redukte glutatyon (kalp ve aort) değerleri

	Grup 1 Kontrol+ Bazal diyet (n= 10)	Grup 2 Kontrol+ Genistein diyet (n=10)	Grup 3 YZD+ Bazal diyet (n= 10)	Grup 4 YZD+ Genistein diyet (n=10)	P
<i>Plazma MDA</i> (nmol/mL)	2,11±0,45	2,65±0,25	4,06±0,43 ^a	2,87±0,13	<i>a p <0.01 Grup 3-1 Grup 3-2 Grup 3-4</i>
<i>Kalp doku MDA</i> (nmol/g doku)	21,17±5,67	22,76±5,73	28,71±6,69 ^a	24,95±6,10	<i>a p<0.05 Grup 3-1 Grup3-2</i>
<i>Aort doku MDA</i> (nmol/g doku)	537,80±83,72	570,01±42,46	712,10±99,74 ^b	597,84±74,65 ^a	<i>a p<0.05 Grup 4-3 b p<0.01 Grup 3-1 Grup 3-2</i>
<i>Kalp doku redukte glutatyon</i> (nmol/g doku)	4,05±0,83	4,11±0,85	3,11±0,72 ^a	3,26±0,46	<i>a p<0.05 Grup 3-1 Grup 3-2</i>
<i>Aort doku redukte glutatyon</i> (nmol/g doku)	5,90±1,55	5,71±1,69	2,63±0,53 ^b	3,57±0,71 ^a	<i>a p<0.05 Grup 4-2 b p<0.01 Grup 3-1 Grup 3-2</i>

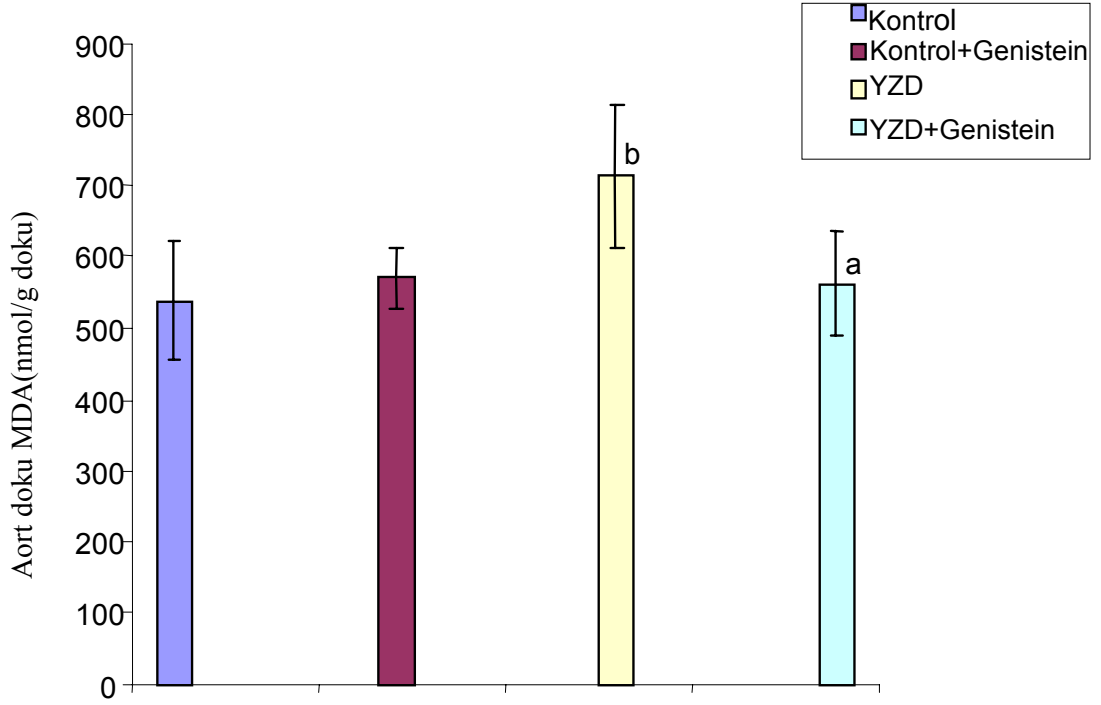
Kontrol, kontrol+genistein, YZD ve YZD+genistein gruplarındaki plazma MDA düzeyleri sırasıyla 2,11±0,45 nmol/mL, 2,65±0,25 nmol/mL, 4,06±0,43 nmol/mL, 2,87±0,13 nmol/mL olarak belirlendi. Plazma MDA düzeyi YZD alan grupta diğer üç gruba göre istatistiksel olarak anlamlı artışın olduğu görüldü (p<0,01). Kontrol grubuna genistein ilavesi Plazma MDA düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artışa neden olurken, YZD grubuna genistein ilavesi Plazma MDA düzeyini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşürdüğü belirlendi (p<0,01). Kalp doku MDA düzeyleri Şekil 2’de verilmiştir.



Şekil2. Kalp doku MDA düzeyleri (*a p<0.05 Grup YZD–Kontrol ve Kontrol+Genistein*)

Yağdan zengin diyet ile beslenmenin kalp dokusu üzerindeki lipid peroksidasyon göstergelerinden MDA (malondialdehit) düzeyleri üzerine diyetle eklenmiş olan antioksidan bir madde olan genisteinin etkileri değerlendirildiğinde, şekilde verilen dört grubun kalp doku MDA düzeyleri kontrol, kontrol+genistein, YZD ve YZD+genistein gruplarında sırasıyla 21,17±5,67 nmol/g doku, 22,76±5,73 nmol/g doku, 28,71±6,69 nmol/g doku, 24,95±6,10 nmol/g doku olarak belirlendi. Deney sonu kalp doku MDA düzeylerinin birbirinden farklı olduğu, bu farklılığın YZD alan grup ile kontrol ve kontrol+genistein grubu ile karşılaştırıldığında YZD alan gruptaki kalp doku MDA düzeyindeki artışın anlamlı olduğu görüldü ($p<0,05$). Genisteinin diyetle ilavesi kontrol grubunda anlamlı bir farklılık oluşturdu ($p>0.05$). YZD alan grupta kalp doku MDA düzeyinin anlamlı olarak arttığı gözlenirken ($p<0.05$), YZD

ile beslenen gruba genistein ilavesinin kalp doku MDA düzeylerini anlamlı olarak azalttığı gözlemlendi ($p<0.05$). Aort doku MDA düzeyleri Şekil 3’de verilmiştir.

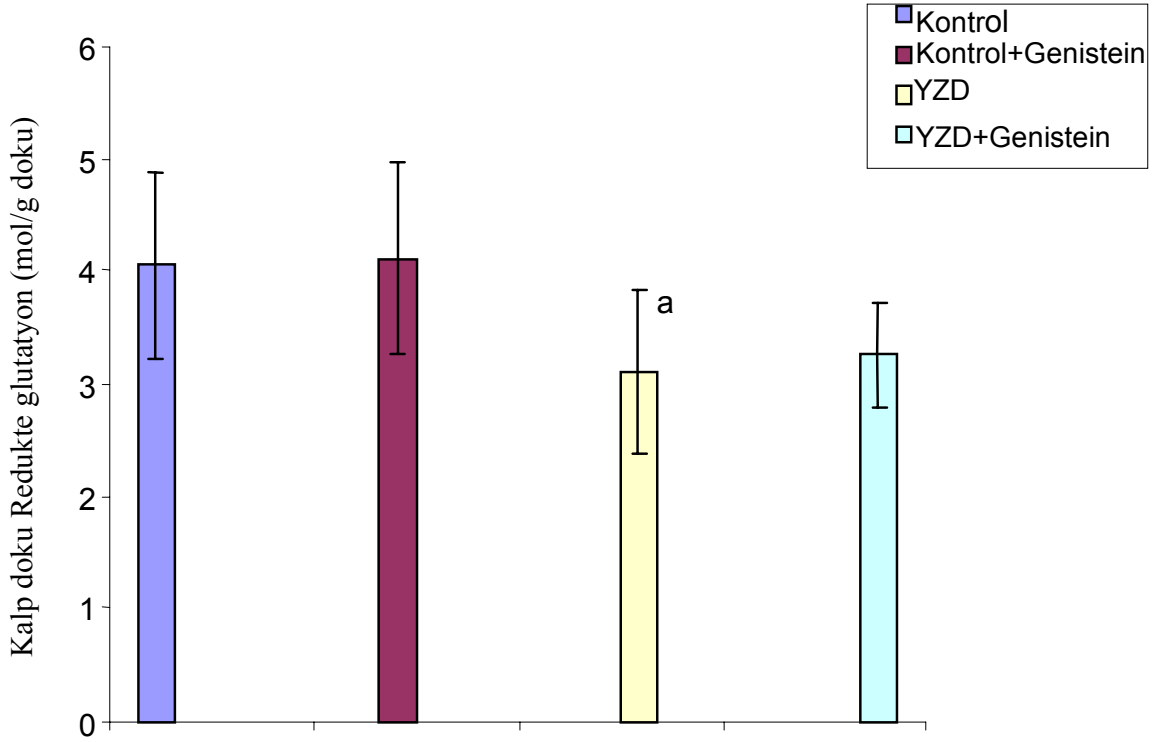


Şekil 3. Aort doku MDA düzeyleri ($a p<0.05$ Grup YZD+Genistein - YZD , $b p<0.01$

Grup YZD –Kontrol ve Kontrol+Genistein)

Kontrol, kontrol+genistein, YZD ve YZD+genistein gruplarındaki Aort doku MDA düzeyleri sırasıyla 537,80±83,72 nmol/g doku, 570,01±42,46 nmol/g doku, 712,10±99,74 nmol/g doku, 597,84±74,65 nmol/g doku olarak belirlendi. Dört grubun deney sonu Aort doku MDA düzeyleri incelendiğinde YZD grubunda, Kontrol ve kontrol+genistein grubuna göre Aort doku MDA düzeylerinin anlamlı olarak arttığı belirlendi ($p<0,01$). YZD+genistein alan gruptaki Aort doku MDA düzeyi YZD grubuna göre anlamlı olarak azaldığı belirlendi ($p<0,05$). Şekil 3’de de soy izoflovani olan genisteinin kontrol grubuna ilave edildiğinde Aort doku MDA

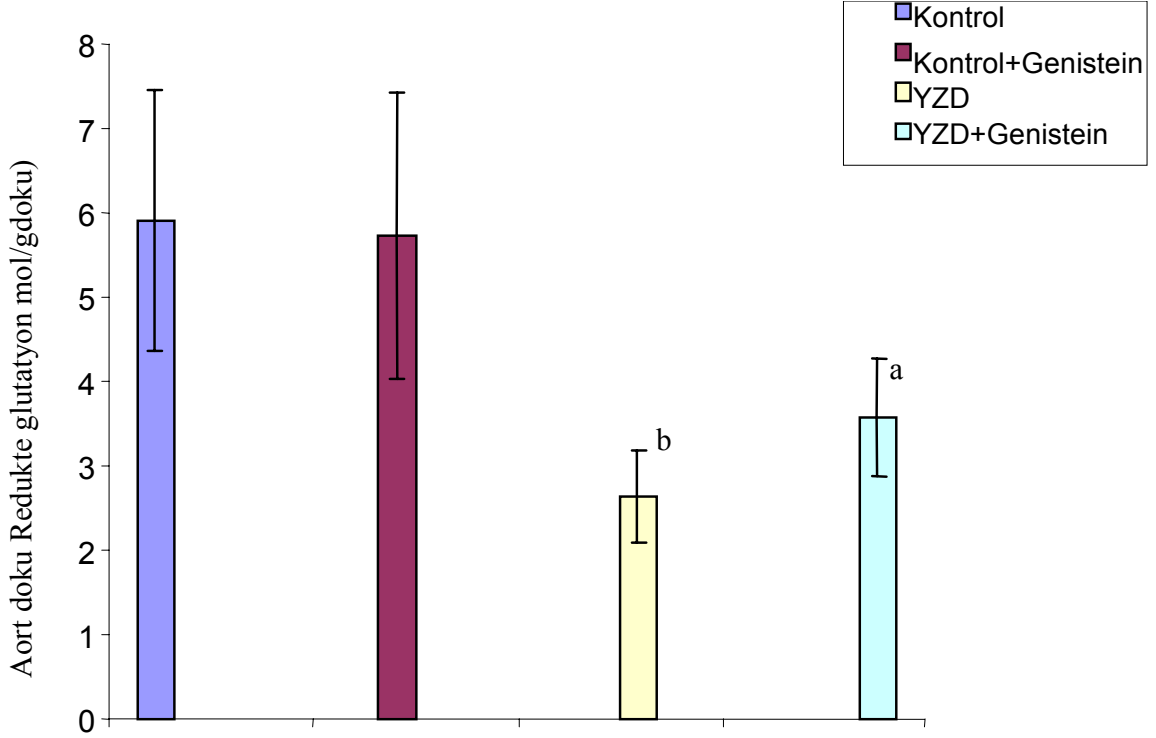
düzeyindeki artışın istatistiksel olarak anlamsız olduğu, YZD alan gruba ilave edildiğinde ise Aort doku MDA düzeyini azalttığı belirlendi. Kalp doku redukte glutasyon düzeyleri Şekil 4’de verildi.



Şekil 4. Kalp doku redukte glutasyon düzeyleri (*a p<0.05 Grup YZD – Kontrol ve Kontrol+Genistein*)

Kalp doku Redukte glutasyon düzeyleri kontrol, kontrol+genistein, YZD ve YZD+genistein gruplarında sırasıyla 4,05±0,83 nmol/g doku, 4,11±0,85 nmol/g doku, 3,11±0,72 nmol/g doku, 3,26±0,46 nmol/g doku olarak belirlendi. YZD alan grupta kalp doku redukte glutasyon düzeylerinin kontrol ve kontrol+genistein grubuna göre anlamlı olarak azaldığı görüldü ($p<0,05$). Genistein verilmiş YZD alan grupta ise genistein ilavesi sonrasında kalp doku redukte glutasyon düzeylerinde bir artış

gözlenirken bu artışın anlamlı düzeyde olmadığı gözlemlendi ($p>0.05$). Aort doku Redukte glutatyon düzeyleri Şekil 5’de verildi.



Şekil 5. Aort doku redukte glutatyon düzeyleri ($a p<0.05$ Grup YZD+Genistein –

Kontrol+Genistein, b $p<0.01$ Grup YZD –Kontrol ve Kontrol+Genistein)

Kontrol, kontrol+genistein, YZD ve YZD+genistein gruplarındaki Aort doku redukte glutatyon düzeyleri sırasıyla 5,90±1,55 nmol/g doku, 5,71±1,69 nmol/g doku, 2,63±0,53 nmol/g doku, 3,57±0,71 nmol/g doku olarak belirlendi. YZD+genistein alan grupta Aort doku redukte glutatyon düzeylerinin kontrol ve kontrol+genistein grubuna göre anlamlı olarak azaldığı görüldü ($p<0,05$). YZD alan grupta da Aort doku redukte glutatyon düzeylerinin kontrol ve kontrol+genistein gruplarına göre anlamlı olarak düşük olduğu ve bu düşüşün YZD+genistein alan gruba göre daha fazla olduğu belirlendi (sırasıyla $p>0.05$, $p<0.01$). (Şekil 5).

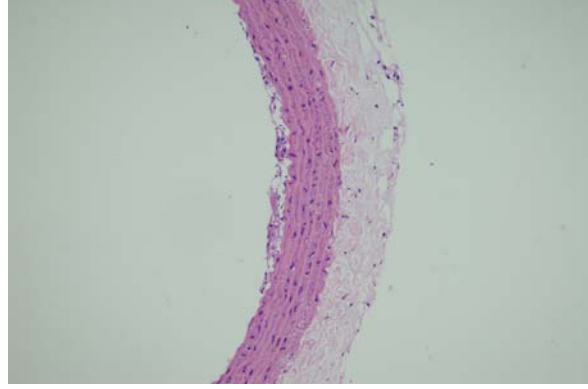
Çalışma gruplarında elde edilen histopatolojik bulgular:

Her dört gruptan hazırlanan doku örnekleri % 10'luk formalinde tesbit edildikten sonra rutin takip işlemine alınarak parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 4 µm kalınlığında alınan kesitler Hematoxilen-Eosin (HE) ve Verhoeff'un elastik boyası ile boyanarak BX-51 Olympus marka ışık mikroskopunda incelendi.

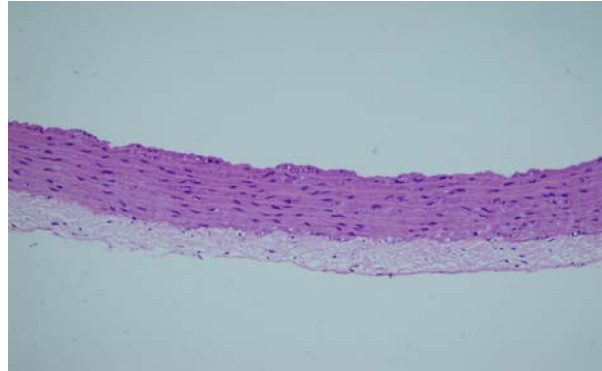
Kontrol ve kontrol+genistein grubundaki ratların aorta örneklerinde bütünlüğü bozulmamış endotel tabakası ve internal elastik lamina ile normal histolojik görünümüne sahip damar duvarı izlendi (Resim 1). YZD ile beslenen grupta endotel hücrelerinde düzensizlik ile intimada yer yer lipid vokuelleri içeren histiositler dikkati çekti. İnternal elastik liflerin ondülasyonlarında bozulma görüldü (Resim 2). YZD+genistein verilen grup, YZD verilen grupla karşılaştırıldığında damar yapısının normale yakın histoloji gösterdiği, intimada endotel hücrelerinde düzensizlik dışında patolojik bulgunun olmadığı izlendi (Resim 3).



Resim 1. Kontrol grubu rat aortasının histolojik görünümü (HE x 200)



Resim 2. YZD grubu rat aortasının histolojik görünümü (HE x 200)



Resim 3. YZD + Genistein grubu rat aortasının histolojik görünümü (HE x 200)

6. TARTIŞMA

Dünyadaki birçok gelişmiş ülkede ölümlerin yarısından çoğundan sorumlu olan kardiyovasküler hastalıklar için yüksek serum kolesterolü risk faktörüdür. Diyetin yağ miktarı ve türü, rafine şeker, posa ve benzeri diyet bileşenlerinin yanı sıra diyetin protein kaynağı ve amino asit örüntüsü de serum lipit düzeylerini etkilemektedir (121).

Kardiyovasküler hastalıkların gelişimi ile protein alımı arasındaki ilişki uzun zamandır bilinmektedir. Özellikle bitkisel kaynaklı diyet proteinlerinin kan lipitlerini düşürdüğü bildirilmektedir. Soya proteinleri bitkisel kaynaklı besinler içerisinde hipokolesterolemik etkisi ile önemli bir yer tutar (121-124).

Ateroskleroz; yüksek kan kolesterol, LDL düzeyi, hipertansiyon, diabet, stres gibi farklı risk faktörlerinin etkisi altında gelişen bir hastalıktır. Ateroskleroz ve oluşumuna neden olduğu bilinen risk faktörleri arasında neden sonuç ilişkisi ateroskleroz olgularının yalnızca % 50-60'ında kurulabilmektedir (125). Yapılan çalışmalar ile tanımlanan çeşitli genetik ve çevresel risk faktörlerinin arasında özellikle artan kolesterol düzeyinin aterosklerozun gelişiminde tek başına bile etkili olabileceği belirtilmektedir (126). Kolesterol ile beslenme, endotel hasarı gibi bazı metabolik değişikliklere neden olmakta, hücreler arası matriks miktarının artması, düz kas hücre çoğalması ve bu hücrelerde bulunan bazı enzim aktivitelerinde de değişikliklere neden olmaktadır. Tavşanlarda deneysel olarak oluşturulan hiperkolesterolemi ile aterosklerotik lezyon oluşumu arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada, tavşanları 60 gün süreyle % 2 kolesterol içeren diyet ile beslemenin histolojik ve biyokimyasal olarak insanlardaki lezyonlara benzeyen ve tekrarlanabilir aterosklerotik lezyonların oluşturabilmesi için yeterli olduğu gösterilmiştir (127).

Urbana’da İllinois Üniversitesi’nde yapılan bir çalışmada, 66 hiperkolesterolemik postmenapozal kadına yüksek düzeyde izoflavon içeren izole soya proteini diyeti verilmiş, sadece soya proteini çıkarılmış diyet alanlar ile izoflavonlu protein diyeti alanlarla karşılaştırıldığında, izoflavon içeren soya protein diyeti alanların LDL kolesterollerinde belirgin azalma, HDL kolesterollerinde belirgin artış olduğu bildirilmiştir (128).

Anthony ve arkadaşları (129) altı ay boyunca çapraz karşılaştırılmalı yaptıkları çalışmada, peripubertal maymunları aterojenik diyetle beslemişler, diyetin içinden izoflavon, genistein, deidzeini çıkarmışlardır. Aterojenik diyet alanlar ile izoflavonlu soya proteini alanlar karşılaştırıldığında LDL kolesterolde (anlamli azalma) ve VLDL kolesterolde (her iki cinste %30-40 civarında) azalma ve dişi maymunlarda HDL kolesterolde belirgin artış görülmüştür. Kinomolgus maymunlarında yapılan bir çalışmada izoflavondan fakir soya proteini ile beslenenler ile, diyetlerinde izoflavonlu soya proteini ile beslenen maymunlar karşılaştırıldığında, izoflavonlu soya proteini ile beslenen maymunlarda HDL seviyelerinde artış, LDL kolesterol seviyelerinde anlamli düşüş bulunmuştur (130). Yapılan başka bir çalışmada altı hafta süreyle ratlara isoflavon içeren ve içermeyen soya bazlı diyetler verilmiştir. Soya isoflavonu alan ratlarda total kolesterolde %12 düşme gözlenmiştir (131).

Çalışmamızda (soya proteinlerinde bulunan antioksidan bir madde olan genisteinin kardiyovasküler hasar üzerine etkileri araştırılmıştır.)YZD le beslenen ratlara soya izoflavonlu olan genistein verilmesinin LDL kolesterolünü ve total kolesterol seviyesini düşürdüğü ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamli olmadığı görüldü. Serum kolesterol, trigliserit, LDL kolesterol düzeylerinde azalma, HDL kolesterol

düzeylelerinde artış bu ve benzer çalışmalarda da gözlenmiştir (124-126,134). Çalışmamızda YZD grubuna soy izoflavon olan genistein ilavesi ile trigliserit seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüşün olduğu görüldü. Yapılan diğer çalışma sonuçları ile bu çalışmamızın sonuçları uyumluydu. Soya izoflavon olan genistein ilavesinin özellikle karaciğer harabiyetini gösteren ALT düzeyinde her iki grupta da (kontrol ve YZD) düşüşe neden olduğu bu düşüşün kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu. Total CK düzeyi genistein ilave edilen hem kontrol hem YZD grubunda artışa neden olurken, kalp için daha spesifik olan CKMB düzeyini her iki grupta da azaltması soya izoflavon olan genisteinin özellikle kardiyovasküler sistem üzerine etkisinin daha fazla olduğu sonucu çıkartılabilir. Soya izoflavon olan genistein ilave edilen kontrol ve YZD gruplarında plazma LDH seviyesinin azaldığı da görüldü.

Çapraz karşılaştırılmalı yapılan bir çalışmada kardiyovasküler risk faktörleri (lipit ve lipoprotein seviyeleri, vücut kitle indeksi ve yağ dağılımı, kan basıncı, glukoz ve insülin düzeyleri) ile diyetle alınan izoflavonun bu kardiyovasküler risk faktörleri üzerine etkileri araştırılmış, genistein, deidzein ve total izoflavon alımlarından her birinin, HDL kolesterolle pozitif ilişkili olduğu gösterilmiştir (p=0,05). Sonuç olarak, diyetle soya izoflavonunun alınmasının, postmenapozal kadınlarda kardiyovasküler hastalıklardan koruyucu bir rolü olduğu üzerinde fikir birliğine varılmıştır (128).

Kolesterolden zengin diyetin karaciğerde, kolesterol ve kolesterol katabolizmasını arttırdığı ve bunun sonucu olarak da kolesterol yıkım ürünlerinin lipit peroksidasyonuna sebep olduğu gösterilmiştir (135-137). Lipit peroksidasyonundaki artışın antioksidan sistemlerdeki değişiklikler ile birlikte olduğu belirlenmiştir. Öte

yandan kolesterolden zengin diyetin serum lipit peroksit düzeylerinde de artış oluşturduğu ve serum lipit peroksit düzeylerinin karaciğerden kaynaklandığı ileri sürülmektedir (138,139). Deney hayvanlarının yanısıra, insanlar üzerinde de bu konuyla ilgili çalışmalar yapılmış, hiperlipidemik kişilerde serum lipit peroksit düzeylerinin arttığı ve serum lipit peroksit düzeyleri ile kolesterol ve trigliserit düzeyleri arasında pozitif bir korelasyonun bulunduğu bildirilmiştir (140). Gerek insanlarda gerekse deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda uzun süre yüksek düzeyde kalan lipit peroksitlerinin, ateroskleroz patojenezinde etkin bir rol oynadığı kabul edilmektedir (141, 142). Damar duvarlarında savunma sistemlerinin yetersiz oluşu, bu bölgelerde hasarın daha kolay gelişmesine neden olmaktadır (138, 141).

Ratlar ateroskleroz oluşumuna dirençli hayvanlardır. Yüksek kolesterollü diyetle beslenen sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalar oldukça sınırlı ve elde edilen bulgularda çelişkilidir. Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen sıçanlarda serum lipitperoksit düzeylerinin arttığı buna karşılık antioksidan sistemlerin baskılandığı gösterilmiştir (136, 143). Öte yandan bazı araştırmacılar ise, yüksek kolesterol ile beslenmenin, lipit peroksidasyonunu azalttığını bildirmişlerdir (144, 145).

Aterosklerozun başlaması, yağ izleri, fibröz plak ve komplike lezyonların oluşumu şeklinde ilerlemesinde temel mekanizma endotel disfonksiyonudur. Hiperkolesteroleminin endotel hasarına neden olduğu birçok çalışma ile gösterilmiş, fakat mekanizma henüz tam olarak anlaşılamamıştır (146-148). Hiperkolesterolemide en çok üzerinde durulan konulardan biri serbest oksijen radikallerinin artmasıdır. Endotel ve düz kas hücreleri, nötrofiller, monositler ve trombositler serbest oksijen radikallerinin kaynağı olabilir ve hiperkolesterolemi değişik yollarla bu radikallerin miktarlarını

artırabilir. Bununla birlikte trombositlerin, polimorfonükleer lökositlerin ve endotel hücrelerinin kolesterol içeriği de eş zamanlı olarak artabilir (149,150). Süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi serbest oksijen radikallerinin çeşitli kalp hastalıkları ve doku hasarında rol oynadıklarını gösteren çok sayıda çalışma vardır (151-153). Bu radikaller, membran fosfolipidlerinin peroksidasyonu sonucu membranın geçirgenliğinde ve akışkanlığında artışa, ayrıca membran bütünlüğünün kaybına neden olabilirler (146). Bu radikallere karşı vücutta birçok antioksidan savunma mekanizması mevcuttur. Hiperkolesterolemik hayvan ve insanların damarlarında süperoksit oluşumunun ve oksidatif stresin arttığı gösterildiği çalışmaların (154-156) yanı sıra antioksidan özelliğe sahip bir çok maddenin antiaterosklerotik olup olmadığı da araştırılmaktadır (158,159). Antioksidanların aterosklerotik hayvan modellerinde aterogenez gelişimini azaltmaları, serbest radikal tutucu yetenekleriyle de ilişkilendirilmektedir (159,160).

Soyadan izoflavon çıkarılmış diyetle beslenenler ile soya izoflavonu ile zenginleştirilmiş diyet alanlar arasındaki lipid peroksidasyonunun in vivo belirteçleri ve LDL kolesterolünün oksidasyonuna direncinin etkisi araştırılmış, soya izoflavonu alanların lipid peroksidasyonu doza bağımlı olarak anlamlı azaldığı bildirilmiştir (161).

Oksidatif stres ile oluşan serbest radikaller hücrenin gereksinimi olan oksijenin %90'ının harcanmasına, çeşitli metabolik bozukluklara ve lipid peroksidasyonu olarak bilinen doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna yol açarlar (162). Kardiyovasküler hasar patogenezinde oksidatif stresin rolünü gösteren delillerin artışı ile birlikte birçok antioksidan ajanın tedavideki rolü de araştırılmaktadır.

Jenkins ve arkadaşları (163) ana besin ögesi soya olan, tahılla takviye edilmiş kahvaltılı alanların lipit profillerini araştırmışlar. Yirmibeş hiperlipidemik erkek ve kadına ana besin ögesi 36gr/gün soya proteini ve 160mg/gün soya izoflavonları içeren tahıllı kahvaltılı verilmiştir. Bu diyetin LDL kolesterolünün mutlak konsantrasyonları üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olmasada, yüksek izoflavonlu tahıl takviyeli soya kahvaltılı alanlarda, kardiyovasküler hastalıkların riski, LDL kolesterol oksidasyonunun azalması ile azalmıştır.

Kolesterol, ateroskleroz oluşumunda prooksidan etki oluşturması nedeniyle temel risk faktörlerinden biridir. Hiperkolesterolemide eritrositlerin, trombositlerin, polimorfonükleer lökositlerin ve endotel hücrelerinin kolesterol içerikleri artar. Kolesteroldeki bu artış söz konusu hücreleri aktive ederek serbest oksijen radikalleri üretmelerine neden olur (150).

Biyolojik örneklerde lipit peroksidasyon son ürün düzeyi, tiyobarbitürik asit reaktif maddeler olarak ölçülür ve MDA düzeyi olarak verilir. Kanda, aortik dokuda MDA düzeylerindeki artış, doku hasarında serbest oksijen radikallerinin katkısının göstergesi olarak değerlendirilir. Hiperkolesterolemide serbest oksijen radikallerinin düzeylerinde meydana gelebilecek bir artış, onların aşırı üretimi ve/veya azalan metabolizmaları sonucu olabilir.

%2 Kolesterol içeren diyet ile 28 gün beslenen tavşanlarda plazmada MDA düzeylerinin kontrol grubundan daha yüksek olduğu bildirilmiştir (164). Erdinçler ve arkadaşları (165) ise, 30 gün süresince 0.4 g kolesterol diyeti ile beslenen ratlarda plazma MDA düzeylerinde herhangi bir artış oluşmadığını bildirilmişlerdir. Hiperkolesterolemik hayvan çalışmalarında, kan MDA sonuçları açısından oluşan

farklılıkların yorumlanması beslenme süreleri kadar ölçüm teknikleri ile de ilişkilendirilebilir. Ayrıca tiyobarbitürik asit reaktif maddelerin ölçüldüğü deneylerin kompleks biyolojik örneklerde dikkatle yorumlanması gerekir. Çünkü bu maddelerin malondialdehite dönüşmeden önce, lipid peroksidlerin DNA ve şekerler ile reaksiyona girme olasılığı da artar (166, 167).

Yağdan zengin diyet ile beslenen ratlarda, lipid peroksidasyonunun önemli yıkım ürünlerinden MDA'nın hem plazmadaki hem de aort dokusundaki düzeylerinin kontrol grubuna göre belirgin bir şekilde arttığını saptadık. Doymamış lipidlerin serbest radikallerin etkisine maruziyeti ile lipid peroksidasyonunda zincirleme reaksiyonlar başlar. Çoklu doymamış yağların diyet eklenmesi ise bu lipid peroksidasyonunu artırır. Yağdan zengin diyet ile oluşturulan kardiyovasküler hasar modelinde yağın diyetin en büyük kısmını oluşturmasının yanında, diyetteki yağ içeriği doymamış yağlardan oldukça zengindir ve gelişen lipid peroksidasyonu ve oksidatif stresin ana nedeni olarak belirmektedir. Oluşan, oldukça toksik olan bu lipid oksidasyon ürünleri kardiyovasküler hasarda meydana gelen birçok patolojiden sorumlu tutulmuştur (168).

Çalışmamızda soya izoflovanı olan genistein ilavesinin plazma kalp ve aort doku MDA düzeylerini kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmayan düzeyde hafif artırırken, YZD grubunda özellikle plazma ve aort doku MDA düzeylerinde anlamlı olacak şekilde her üç parametrede de (plazma, kalp ve aort) düşüşe neden olduğu görüldü.

Antioksidanların besin kaynaklı olanları oksidatif hasara karşı korunmada oldukça önemlidir. Fitoöstrojenler, bitkilerde antioksidan görevleri bulunan, insan ve hayvanlarda östrojenik ve anti-östrojenik etkilere sahip bitkisel kaynaklı difenolik

bileşiklerdir (85). Soya ve izoflovanlar gibi fitoöstrojenlerden zengin olan soya ürünlerinin tüketiminin çok yönlü etkileri nedeniyle çeşitli hastalıkların tedavisinde yararlı etkileri olduğu bildirilmiştir. İzoflovanların bu yararlı etkilerinin antioksidan aktivitelerine bağlı olduğu düşünülmüştür. İzoflovanlar hücrelerdeki oksidatif hasardaki azalmayı antioksidan savunma mekanizmalarını uyarma gibi indirek yollarla da yapabilirler (92).

Birçok farmakolojik özelliklere sahip bir fitoöstrojen olan genisteinin anti-tümör, antioksidan ve anti-inflamatuvar etkileri olduğu bildirilmektedir (95, 96). Genisteinin, oksidanlara maruz kalan hücrelerde ve DNA'da bir oksidatif belirteç olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin oluşumunu önlediği gösterilmiştir (91). Birçok hücresel sistemde büyümeyi önleyici etkisi de olduğu gösterilen genisteinin, hücre büyümesini TGF- β 1'in uyarı yollarını modüle ederek inhibe edebileceği öne sürülmüştür (93).

Genisteinin sadece antioksidan etkisi yoktur. Bunun yanında birçok farmakolojik etkiye sahiptir. Bunlardan bir tanesi de TNF- α ile indüklenen nükleer faktör kapp β inhibisyonudur (169). Davis ve arkadaşlarının (170) insan lenfosit kültürlerinde yaptıkları çalışmada genistein TNF- α ile indüklenen nükleer faktör kapp β 'yi inhibe ettiği gösterilmiştir. Böylelikle hücreleri oksidatif strese genistein NF-kapp β 'yi inhibe ederek korumuşlar ve DNA türlerinin seviyelerini azaltmışlardır.

Yağdan zengin diyetle yapılan önceki çalışmalar ve bu çalışmadan elde edilen bilgiler açık bir şekilde göstermektedir ki YZD ile oluşturulan deneysel kardiyovasküler hasar modelinde oluşması beklenen histopatolojik lezyonların şiddeti diyetin içeriğindeki yağ miktarı ve deneyin süresi ile yakın bir şekilde ilişkilidir.

Sonuç olarak, genistein hem antioksidan etki ile plazma, kalp ve aort doku MDA düzeyleri ile kalp ve aort doku redükte glutatyon düzeylerini azaltmıştır. Genisteinin bu çok yönlü olumlu farmakolojik etkileri ile hem kardiyovasküler hasar gelişimini önlemiştir hem de biyokimyasal ve histopatolojik düzelme ile ateroskleroz oluşumunda gerilemeye yol açmıştır ve umut verici sonuçlar göstermiştir. Sonuçta özellikle yağdan zengin diyet ile beslenen ratlarda genistein ilavesi ile ateroskleroz risklerinin azaldığı görüldü.

Aterosklerozun küçük yaşlarda başlaması nedeniyle, yaşamın ileri dönemlerinde kardiyovasküler hastalık risklerinin artmaması için, bebeklikten itibaren genisteinden zengin soyanın beslenme zinciri içerisinde kullanılan yiyecek ve formulalar içerisinde yer almasının faydalı olacağı kanısına varıldı.

7. KAYNAKLAR

1. Bloch A. and Thomson CA. Position of the American Dietetic Association: phytochemicals and functional foods. *J Am Diet Assoc* 1995; 95: 493-496.
2. Haschke F, Firmansyah A, Meng M, Steenhout P, Carrie A-L. Functional food for infants and children. Springer 2001; 149 (Suppl): 66-70.
3. Cameron GT, Geana MV. Functional foods: Delivering information to the oncology nurse. *J Nutr* 2005; 135: 1253-1255
4. Hasler CM. Functional foods benefits, concerns and challenges – a position paper from the American Council on Science and Health. *J Nutr* 2002; 132: 3772-3781.
5. Hasler CM. The cardiovascular effects of soy products. *J Cardiovasc Nurs* 2002; 16: 50-63.
6. Dillard CJ, German JB. Phytochemicals nutraceuticals and human health. *J Sci Food Agric* 2000; 80: 1744-1756.
7. Biesalski HK. Nutraceuticals the link between nutrition and medicine. *J Toxicol – Cut & Ocular Toxicol* 2002; 21: 9-30.
8. Liu RH. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *Am J Clin Nutr* 2003; 78(Suppl): 517-520.
9. Prior RL. Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. *Am J Clin Nutr* 2003; 78(Suppl): 570-578.
10. Ross JA, Kasum CM. Dietary flavonoids bioavailability, metabolic effects, and safety. *Ann Rev Nutr* 2002; 22: 19-34.
11. Beecher GR. Overview of dietary flavonoids nomenclature, occurrence and intake. *J Nutr* 2003; 133: 3248-3254.

12. Ososki AL, Kennelly EJ. Phytoestrogens a review of the present state of research. *Phytother Res* 2003; 17: 845-869.
13. Lee HP, Gourley L, Duffy SW, Esteve J, Lee J, Day NE. Dietary effects on breast-cancer risk in Singapore. *Lancet* 1991; 337: 1197-1200.
14. Wu AH, Ziegler RG, Nomura AMY, West DW, Kolonel LN, Horn-Ross PL, et al. Soy intake and risk of breast cancer in Asians and Asian-Americans. *Am J Clin Nutr* 1998; 68 (6 suppl): 1437-1443.
15. Jones PJ. Clinical nutrition: 7. Functional foods—more than just nutrition. *CMAJ* 2002; 166: 1555-1563.
16. Kardinaal AF, Waalkens-Berendsen DH, Arts CJ. Pseudo-estrogens in the diet, health benefits and safety concerns. *Trends Food Sci Technol* 1997; 8: 327-333.
17. Ostlund RE. Phytosterols in human nutrition. *Ann Rev Nutr* 2002; 22:533-549.
18. Isolauri E. The role of probiotics in paediatrics. *Curr Pediatr* 2004; 14: 104-109.
19. Reed J. Cranberry flavonoids, atherosclerosis and cardiovascular health. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2002; 42(Suppl): 301-316.
20. Wylie-Rosett J, Mossavar-Rahmani Y, Gans K. Recent dietary guidelines to prevent and treat cardiovascular disease, diabetes, and obesity. *Heart Disease* 2002; 4: 220-230.
21. Hertog MG, Feskens EJ, Hollman PC, Katan MB, Kromhout D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet* 1993; 342: 1007-1011.
22. Durak I, Kavutcu M, Aytac B, Avcı A, Devrim E, Özbek H, Öztürk H. Effects of garlic extract consumption on blood lipid and oxidant/ antioxidant parameters in humans with high blood cholesterol. *J Nutr Biochem* 2004; 15: 373-377.

23. Walker HA, Dean TS, Sanders TA, Jackson G, Ritter JM, Chowienczyk PJ. The phytoestrogen genistein produces acute nitric oxide-dependent dilation of human forearm vasculature with similar potency to 17beta-estradiol. *Circulation* 2001; 103: 258-262.
24. Kinsella J, Lokesh B, Stone R. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease: possible mechanisms. *Am J Clin Nutr* 1990; 52:1-28.
25. Newman WP, Freedman DS, Voors AW. Relation of serum lipoprotein levels and systolic blood pressure to early atherosclerosis. *N Engl J Med* 1986; 314: 138-144.
26. Kaya A. Aterosklerozis, Hipertansiyon ve Diyet. *Aktüel Tıp Dergisi, Beslenme ve Diyet Sayısı* 1997; 2,2(10): 642-645.
27. Smith EL, Smith PE, Gillian C. Diet, exercise and chronic disease patterns in older adults. *Nutr Review* 1988; 46 (2): 52-61.
28. Rynbergen M, Dibble A. *Nutrition in health and disease*. Philadelphia: 16 Ed JB Lippincott Co 1976
29. Ross R. Pathogenesis of atherosclerosis. *N Engl J Med* 1986; 314:488-500.
30. De Bakey ME, Gotto AM, Scott LW, Forett LP. Diet, nutrition, and heart disease. *J Am Diet Assoc* 1986; 86 (6) 729-731.
31. Werner GT, Sareen DK. Serum cholesterol levels in the population of Punjab in North West India. *Am J Clin Nutr* 1983; 31: 1479-1483.
32. Kris-Etherton PM, Krummel D. Role of nutrition in the prevention and treatment of coronary heart disease in women. *J Am Diet Assoc* 1993; 93: 987-993.

33. Thamson GR. A Book of Hiperlipidemia. Published by Current Science Ltd. London 1989; 1066-1073
34. Mercanlıgil. S. Koroner arter hastalıklarında lipoproteinlerin ve apoproteinlerin önemi. Beslenme ve Diyet Dergisi 1991; 20 (2): 243-250.
35. Grundy MS. Monounsature fatty acids, plasma cholesterol and coronary heart disease. Am J Clin Nutr 1987; 45: 161-164.
36. Mercanlıgil S. Değişik türdeki görünür yağın ratlarda koroner arter hastalıklarının risk faktörlerine etkileri. Doktora Tezi, H Ü Sağ Bil Enst 1991
37. Berkow R. Disorders of Lipid Metabolism. The Merck Manual of Diagnosis and Therapy. Fourteenth Edition USA 1982; 737-742
38. Mahan LK, Arlin M. Nutrition in cardiovascular atherosclerotic disease. In: Ruth DT, Rader I, Brown MJ (Eds). Krause's food, nutrition and diet therapy-8: Philedalphia: WB Saunders Co 1994; 357-386.
39. Mahly WR, Innerarity L. Plasma lipoproteins, apolipoproteins structure and function. J Lipid Reserch 1984; 25:1277-1273.
40. Zeigler EE, Filer LJ. Present Knowledge in Nutrition ILSI Pres. Washington DC 1996; 430-437.
41. Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical Physiology. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi 1996; 463-469
42. Lioyd JK, Muller DPR. Disorders of Lipid Metabolism, Textbook of Pediatric Nutrition The Bath Pres. Avan 1991; 134-141
43. Sandkamp M, Funke H, Schulte H, Konler E, Assmann G. Lipoprotein (a) is an independent risk factor for myokardial infarction at a young age. Clin Chem 1990; 36: 20-23.

44. Wallentin L, Sundin B. HDL2 and HDL3 lipid levels in coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1985; 59: 131-136.
45. Krause RM. Regulation of high density lipoprotein levels *Med. Clin North Am* 1982; 66: 403-430.
46. Hegele R. The Pathogenesis of atherosclerosis. *Clin Chim Acta* 1996;246:21-38.
47. Harper HA. *Review of Physiological Chemistry*. Longe Medical Publications. USA 1975
48. Stary HC. Natural history and histological classification of atherosclerotic lesions: An Update. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20(5): 1177-1178.
49. Aldons JL. Atherosclerosis. *Nature* 2000; 407: 233-241.
50. Ross R. Atherosclerosis-An Inflammatory Disease. *N Engl J Med* 1999; 340(2): 115-126.
51. Ross R. The patogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362: 801-809.
52. Addmann G, Cullen P, Jossa F, Lewis B, Mancini M. Coronay heart disease: reducing tehe risk. *Arterioscler Tromb Vasc Biol* 19: 1819-1999
53. Mendelsohn ME, Karas RH. The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *N Engl J Med* 1999; 340: 1801-1811.
54. Schieken RM. The menagement of the famly at high risk for coronary heart disease. *Cardiol Clin* 1989; 7: 467-477.
55. De Lorgeril M, Renaud S, Mamelle N, Salen P, Martin JL, Monjaud I, et al. Mediterranean α -linolenic asid rich diet in secondery prevention of coronay heart disease. *Lancet* 1994; 343: 1454-1459.

56. Majors A, Ehrhart LA, Pezacka EH. Homocysteine as a risk factor for vascular disease: enhanced collagen production and accumulation by smooth muscle cell. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 2074-2081.
57. Stary HC. Atlas of atherosclerosis progression and regression, London and Newyork: Parthenon publishing 1999; 733-734.
58. Stary HC. The development of calcium deposits in atherosclerotic lesions and their persistence after lipid regression. *Am J Cardiol* 2001; 88:16E-19E.
59. Rang HP, Dale MM, Ritter JM. Pharmacology, Churchill Livingstone, Fourt edition 1999; 301-309.
60. Nagel T, Resnick N, Atkinson WJ, Dewey CF Jr, Gimbrone MA Jr. Shear stres selectively upregulates intracelluler adhesion molecule-1 expression in cultured human vascular endothelial cells. *J Clin Invest* 1994; 94: 885-891.
61. Mondy JS, Linder V, Miyashiro JK, Berk BC, Dean RH, Geary RL. Platelet-derived growth factor ligand and receptor expression in response to altered blood flow in vivo. *Circ Res* 1997; 81:320-327.
62. Resnick N, Collins T, Atkinson W, Bonthron DT, Dewey CF Jr, Gimbrone MA Jr. Platelet-derived growth factor B chain promoter contains a cis-actin Fluid shear-stress-responsive element. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 4591-4595.
63. Lin MC, Almus-Jacobs F, Chen HH, Graham CNP, Mackman N, Shyy JY-J, Chien S.: Shear stress induction of the tissue factor gene. *J Clin Invest* 1997; 99: 737-744.
64. Palinski W, Rosenfeld ME, Yla-Herttuala S, Gurtner GC, Socher SS, Butler SW, et al. Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 1372-1376.

65. Holvoet P, Perez G, Zhao Z, Brouwers E, Bernar H, Collen D. Malondialdehyde modified low density lipoproteins in patients with atherosclerotic disease. *J Clin Invest* 1995; 95: 2611-2619.
66. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. *Basic Histology* 7th ed. East Norwalk: Appleton & Lange 1992; 222-225.
67. Pugsely MK, Tabrizchi R. The vascular system. An overview of structure and function. *J Pharm Tox Meth* 2000; 44: 333-340.
68. Kadar A. and Glasz T. Development of atherosclerosis and plaque biology. *Cardiovascular Surgery* 2001; 9:109-121.
69. Claudio N, D'Armiento FP, Mancini FP, Postiglione A, Witztum JL, Palumbo G, Palinski W. Fatty streak formation occurs in human fetal aortas and is greatly enhanced by maternal hypercholesterolemia. Intimal accumulation of low density lipoprotein and its oxidation precede monocyte recruitment into early atherosclerotic lesions. *J Clin Invest* 1997; 100: 2680-2690.
70. Jack PS, Gray TM, McMahan CA, Tracy RE, Newman WP, Herderick EE, Cornhill JF. Prevalence and extent of atherosclerosis in Adolescents and Young Adults. Implications for prevention from the pathobiological determinants of atherosclerosis in Youth Study *JAMA* 1999; 281: 727-735.
71. Renu V, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM. Lessons from sudden coronary death a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1262.
72. Stary HC, Chandler AB, Glagov S, Guyton JR, Insull W, Rosenfeld ME, et al. A definition of initial, fatty streaks and intermediate lesions of atherosclerosis. *Circulation* 1994; 89: 2462-2478.

73. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W, et al. A Definition of advanced types of atherosclerotic lesion and a histological classification of atherosclerosis. *Circulation* 1995; 92:1355-1374.
74. Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation* 1995; 91: 2844-2850.
75. Bennett MR, Boyle JJ. Apoptosis of vascular smooth muscle cells in atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1998; 138: 3-9.
76. Weissberg P. Mechanisms modifying atherosclerotic disease-from lipids to vascular biology. *Atherosclerosis* 1999; 147: 3-10.
77. Geng YJ, Wu Q, Muszynski M, Hansson GK, Libby P. Apoptosis of vascular smooth muscle cells induced by in vitro stimulation with interferon-gamma, tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 19-27.
78. De Meyer GR, Bult H. Mechanisms of neointima formation-lessons from experimental models. *Vas Med* 1997; 2:179-189.
79. Finking G, Hanke H. Nikolajewitsch Anitschkow (1885-1964) established the cholesterol-fed rabbit as a model for atherosclerosis research. *Atherosclerosis* 1997; 135: 1-7.
80. Lieber CS, Leo MA, Mak KM, Xu Y, Cao Q, Ren C, et al. Model of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 502-509.
81. Gresham GA. Animal models of atherosclerosis. In: Peeters H, Gresham GA, Paoletti R (Eds) *Arterial pollution, an integrated view on atherosclerosis*. New York: Plenum Press 1983; 5-64.

82. Vesselinovitch D. Animal models and studt of atherosclerosis. ARCH Pathol Lab Med 1988; 112: 1011-1017.
83. Onur AC. Defibrotidin aterojenik diyet uygulanan tavşanlarda beyin ve böbrek serbest radikal ve antioksidanlara etkisi. Uzmanlık Tezi, İzmir: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi 1999.
84. Sevin G. Defibrotid ile tedavinin tavşan karotid arterinde intimal kalınlaşma ve vasküler reaktivite üzerine olan etkisi. Yüksek Lisans Tezi, İzmir: Ege Üni. Sağlık Bilimleri Enstitüsü 1996.
85. Mitchell JH, Gardner PT, McPhail DB, Morrice PC, Collins AR, Duthie GG. Antioxidant efficacy of phytoestrogens inchemical and biological model systems. Arch Biochm Biophys 1998; 360: 142-148.
86. Tanos V, Brzezinski A, Drize O, Struss N, Peretz T. Synergistic inhibitory effects of genistein and tamoxifen on human dysplastic and malignant epithelial breast cells in vitro. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2002; 102: 188-194.
87. Mitchell JH, Collins AR. Effects of a soy milk supplement on plasma cholesterol levels and oxididative DNA damage in men: a pilot study. Eur J Nutr 1999; 38: 143-148.
88. Fritsche S, Steinhart H. Occurence of hormonally active compunds in food: a review. Eur Food Res Technol 1999; 209: 153-179.
89. Stark A, Madar Z. Phytoestrogens a review of recent findings. J Pediatr Endocrinol Metab 2002; 15: 561-572.
90. Arora A, Nair MG, Strasburg GM. Antioxidant activities of isoflavones and their biological metabolites in a liposomal system. Arch Biochem Biophys 1998; 356: 133-141.

91. Giles D, Wei H. Effect of structurally related flavones/isoflavones on hydrogen peroxide production and oxidative DNA damage in phorbol ester-stimulated HL-60 cells. *Nutr Cancer* 1997; 29: 77-82.
92. Cai K, Wei F. Effect of dietary genistein on antioxidant enzyme activities in SENCAR mice. *Nutr Cancer* 1996; 25: 1-7.
93. Dixon RA, Ferreira D. Genistein. *Phytochemistry* 2002; 60: 205-211.
94. Akiyama T, Ishida J, Nakagawa S, Ogawara H, Watanabe S, Itoh N, et al. Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. *J Biol Chem* 1987; 262: 5592-5595.
95. Goldwyn S, Lazinsky A, Wei H. Promotion of health by soy isoflavones: efficacy, benefit and safety concerns. *Drug Metabol Drug Interact* 2000; 17: 261-289.
96. Polkowski K, Mazurek AP. Biological properties of genistein. A review of in vitro and in vivo data. *Acta Pol Pharm* 2000; 57: 135-155.
97. Arora A, Nair MG, Strasburg GM. Antioxidant activities of isoflavones and their biological in liposomal system. *Arc Biochem Biophys* 1998 Aug 15; 356(2): 133-141.
98. Figtree GA, Griffiths H, Lu YQ, Webb CM, MacLeod K, Collins P. Plant-derived estrogens relax coronary arteries in vitro by a calcium antagonistic mechanism. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 1977-1985.
99. Williams JK, Clarkson TB. Dietary soy isoflavones inhibit in-vivo constrictor responses of coronary arteries to collagen-induced platelet activation. *Coron Artery Dis* 1998; 9: 759-764.

100. Nestel PJ, Yamashita T, Sasahara T, Pomeroy S, Dart A, Komesaroff P, et al. Soy isoflavones improve systemic arterial compliance but not plasma lipids in menopausal and perimenopausal women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* (B89) 1997; 17: 3392-3398.
101. Chin-Dusting JP, Fisher LJ, Lewis TV, Piekarska A, Nestel PJ, Husband A. The vascular activity of some isoflavone metabolites: implication for a cardioprotective role. *British J Pharmacol* 2001; 133: 595-605.
102. Nevala R, Paukku K, Korpela R, Vapaatalo H. Calcium-sensitive potassium channel inhibitors antagonize genistein- and daidzein-induced arterial relaxation in vitro. *Life Sci* 2001; 69: 1407-1417.
103. Sheila G, West Ph D. Soy Supplements with phytoestrogens reduce blood pressure at rest and during stress in middle aged men. Presented in the. 4th International Symposium on the Role of Soy in Preventing and Treating Chronic Disease. San Diego CA USA 2001; 69 ; 1407-1417.
104. Humphrey LL, Chan BK, Sox HC. Postmenopausal hormone replacement therapy and the primary prevention of cardiovascular disease. *Ann Intern Med* 2002; 137: 273-284.
105. Morito K, Hirose T, Kinjo J, Hirakawa T, Okawa M, Nohara T, et al. Interaction of phytoestrogens with estrogen receptors alpha and beta. *Biol Pharm Bull* 2001; 24: 351-356.
106. Ariyo AA, Villablanca AC. Estrogens and lipids. Can HRT designer estrogens, and phytoestrogens reduce cardiovascular risk markers after menopause? *Postgrad Med* 2002; 111: 23-30.

107. Raines EW. Biology of atherosclerotic plaque formation: possible role of growth factors in lesions. *J Nutr* 1995; 125: 624-630.
108. Schonherr E, Kinsella MG, Wight TN. Genistein selectively inhibits platelet-derived growth factor-stimulated versican biosynthesis in monkey arterial smooth muscle cells. *Arch Biochem Biophys* 1997; 339: 351-361.
109. Vincent A, Ruan M, Fitzpatrick LA. Gender differences in the effect of genistein on vascular smooth muscle cells: a possible cardioprotective effect? *J Gen Specif Med* 2001; 4: 28-34.
110. Mizutani K, Ikeda K, Nishikata T, Yamori Y. Phytoestrogens attenuate oxidative DNA damage in vascular smooth muscle cells from stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 2000; 18: 1833-1840.
111. Pan W, Ikeda K, Takebe M, Yamori Y. Genistein, diadzein and glycitein inhibit growth and DNA synthesis of aortic smooth muscle cells from stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J Nutr* 2001; 13: 1154-1158.
112. Kondo K, Suzuki Y, Ikeda Y, Umemura K. Genistein, an isoflavone included in soy, inhibits thrombotic vessel occlusion in the mouse femoral artery and in vitro platelet aggregation. *Eur J Pharmacol* 2002; 22: 53-57.
113. Liu W, Song ZJ, Liang NC. Effect of genistein on aggregation and cytosolic free calcium in pig platelets *Zhongguo Yao Li Xue Bao* 1998; 19: 54-542.
(Abstract)
- 114.** Schone NW, Guidry CA. Genistein inhibits reactive oxygen species (ROS) formation during activation of rat platelets. *The FASEB J* 1996; 10: 43-50
115. Wang X, Yanagi S, Yang C, Inatome R, Yamamura H. Tyrosine phosphorylation and Syk activation are involved in thrombin-induced

- aggregation of epinephrine-potentiated platelets. *J Biochem (Tokyo)* 1997; 121: 325-330.
116. Squadrito F, Altavilla D, Squadrito G, Saitta A, Cucinotta D, Minutoli L, et al. Genistein supplementation and estrogen replacement therapy improve endothelial dysfunction induced by ovariectomy in rats. *Cardiovasc Res* 2000; 45: 454-462.
117. Satoh K. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clin Chim Acta* 1978; 90: 37-43.
118. Yagi K. Assay of lipid peroxidation in blood plasma or serum. *Methods Enzymol* 1984; 105: 328-331.
119. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358.
120. Ellman GL: SH groups determination in biological fluids. *Anal Biochem* 1970; 46: 237
121. Eklund A, Sjöblom L. Effects of the source of dietary protein on serum low density lipoprotein and tocopherol levels in female rats. *J Nutr* 1980; 110: 2321-2335.
122. Anthony MS, Clarkson TB, Hugues CL, Morgan MT, Burke GL. Soybean isoflavones improve cardiovascular risk factors without affecting the reproductive system of peripubertal rhesus monkeys. *J Nutr* 1996; 126: 43-50.
123. Anthony S, Petter S. *Soy Protein and Health*. St Louis Missouri 1996; 258-262
124. Merz-Demlow BE, Duncan AM, Wangen KE, Xu X, Carr TP, Phipps WR, Kurzer MS. Effects of soy isoflavones on plasma lipids of premenopausal normocholesterolemic women. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 1462-1469.

125. Killion SL, Hunter GC, Eskelson CD, Dubick MA, Putnam CW, Hall KA, et al. VitaminE levels in human atherosclerotic plaque: influence of risk factors. *Atherosclerosis* 1996; 126: 289-297.
126. Christopher KG, Joseph LW. *Atherosclerosis: The Road Ahead*. *Cell* 2001; 104: 503-516.
127. Bocan TMA, Mueller SB, Mazur MJ, Uhlendorf PD, Brown EQ, Kieft KA. The relationship between the degree of dietary-induced hypercholesterolemia in the rabbit and atherosclerotic lesion formation. *Atherosclerosis* 1993; 102: 9-22.
128. Goodman-Gruen D, Kritz-Silverstein D. Usual dietary isoflavone intake is associated with cardiovascular disease risk factors in postmenopausal women. *J Nutr* 2001; 131: 1202-1206.
129. Anthony MS, Clarkson TB, Bullock BC, Wagner JD. Soy protein versus soy phytoestrogens in the prevention of diet-induced coronary artery atherosclerosis of male cynomolgus monkeys. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 2524-2531.
130. Thomas B. Clarkson. Cardiovascular Effects of Soy Phytoestrogens: Preclinical Studies. Abstract from "Mechanistic Studies of Cardiovascular Effects of Botanicals" Wake Forest University 2002; 4: 22-23.
131. Kirk EA, Sutherland P, Wang SA, Chait A, Leboeuf RC. Dietary isoflavones reduce plasma cholesterol and atherosclerosis in C57BL/6 mice but not LDL receptor-deficient mice. *J Nutr* 1998; 128: 954-959.
132. Sirtori CR, Gatti E, Mantero O, Conti F, Agradi E, Tremoli E, et al. Clinical experience with the soybean protein diet in the treatment of hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr* 1979; 32: 1645-1658.

133. Descovich GC, Ceredi C, Gaddi A, Benassi MS, Mannino G, Colombo L, et al. Multicentre study of soybean protein diet for outpatient hypercholesterolemic patients. *Lancet* 1980; 2: 709-712.
134. Lovati MR, Manzoni C, Canavesi A, Sirtori M, Vaccarino V, Marchi M, et al. Soybean protein diet increases low density lipoprotein receptor activity in molecular cells from hypercholesterolemic patients. *J Clin Invest* 1987; 80: 1498-1500.
- 135.** Bulur H, Gökkuşu C, Uysal M. Erythrocyte lipid peroxidation and anemia in cholesterolled rabbits. *Nutr Rep* 1986; 18: 385-8
136. Rathi AB, Nath N, Chari SN. Action of bioflavonoids on lipid peroxidation and glutathione redox system in hyper-cholesterolemic rats. *Indian J Med Res* 1984; 79: 506-513.
137. Sulyok S, Bar-Pollak ZS, Feher E, Kemenes I, Kantor I, Feher J. Liver Lipid peroxidation induced by cholesterol and its treatment with a dihydro-quinoline type free radical scavenger in rabbits. *Acta Physiol Hungarica* 1984;64:437-442.
138. Heinle H, Liebich H. The influence of diet-induced hypercholesterolemia on the degree of oxidation of glutathione in rabbit aorta. *Atherosclerosis* 1980; 37: 637-640.
139. Loeper J, Emerit J, Goy J, Rozenstajn L, Fragny M. Fatty acids and lipid peroxidation in experimental atheroma in the rabbit. *Biology* 1984; 32: 693-697.
140. Loeper J, Emerit J, Goy J, Beclu O, Leoper J. Lipid peroxidation during human atherosclerosis. *IRCS Med Sci* 1983; 11: 1034-1035.

141. Goto Y. Lipid peroxides as a cause of vascular diseases, In: "Lipid Peroxides in Biology and Medicine, Eds: K.Yagi, Academic Press, New York" 1982;295-303.
142. Yagi K. Assay for serum lipid peroxide level and its clinical significance, In: "Lipid Peroxides in Biology and Medicine, Eds: K. Yagi, Academic Press, New York" 1982; 223-242.
143. Tsai AC. Lipid peroxidation and glutathione peroxidase activity in the liver of cholesterol-fed rabbits. *J Nutr* 1975; 105: 946-951.
144. Bereza UL, Brewer GJ, Hill GM. Effect of dietary cholesterol on erythrocyte peroxidant stress in vitro and in vivo. *Biochem Biophys Acta* 1985; 835:434-440.
145. Kunitomo M, Yamaguchi Y, Matsushima K, Bando Y. Cholesterol metabolism in serum and aorta of inbred mice fed a high cholesterol diet. *Japan J Pharmacol* 1984; 34: 153-158.
146. Prasad K, Kalra J. Oxygen free radicals and hypercholesterolemic atherosclerosis: Effect of vitamin E. *Am Heart J* 1993; 125: 958-973
147. Stokes KY, Cooper D, Taylor A, Granger DN. Hypercholesterolemia promotes inflammation and microvascular dysfunction: role of nitric oxide and superoxide. *Free Radical Biol Med* 2002; 33: 1026-1036
148. Wever RMF, Lüscher TF, Cosentino F, Rabelink TJ. Atherosclerosis and the two faces of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* 1998; 97: 108-112.
149. Görg P, Kakkar VV. Increased uptake of monocyte-treated low density lipoproteins by aortic endothelium in vivo. *Atherosclerosis* 1987; 65: 99-107.
150. Prisco D, Rogasi PG, Matucci M, Pannicia R, Abbate R, Gensini GF, Serneri GG. Age related changes in platelet lipid composition. *Thromb Res* 1986; 44: 427-437.

151. Cromheeke KM, Kockx MM, De Meyer GR, Bosmans JM, Bult H, Beelaerts WJ, et al. Inducible nitric oxide synthase colocalizes with signs of lipid oxidation/oxidation in human atherosclerotic plaques. *Cardiovascular Research* 1999; 43: 744-754.
152. Prasad K, Kalra J. Experimental atherosclerosis and oxygen free radicals. *Angiology* 1989; 40: 835-843.
153. Yamaguchi Y, Matsuno S, Kagota S, Haginaka J, Kunitomo M. Fluvastatin reduces modification of low-density lipoprotein in hyperlipidemic rabbit loaded with oxidative stress. *Eur J Pharmacol* 2002; 436: 97-105.
154. Matsubara, T, Ziff M. Increased superoxide anion release from human endothelial cells in response to cytokines. *J Immunol* 1986; 137: 3295-3298
155. Ohara Y, Peterson TE, Harrison DG. Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production. *J Clin Invest* 1993; 91: 2546-2551
156. Rikitake Y, Kawashima S, Takeshita S, Yamashita T, Azumi H, Yasuhara M, et al. Anti-oxidative properties of fluvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, contribute to prevention of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis* 2001; 154: 87-96
157. Konneh MK, Rutherford C, Li S, Anggard EE, Ferns GAA. *Atherosclerosis* 1995; 113: 29-39.
158. Sumi D, Hayashi T, Thakur NK, Jayachandran M, Asai Y, Kano H, et al. HMG-CoA reductase inhibitor possesses a potent anti-atherosclerotic effect other than serum lipid lowering effects superoxide anion scavenging action. *Atherosclerosis* 2001; 155: 347-357.

159. Lee MK, Bok SH, Jeong TS, Moon SS, Lee SE, Park YB, Choi MS. Supplementation of naringenin and its synthetic derivative alters antioxidant enzyme activities of erythrocyte and liver in high cholesterol-fed rats. *Bioorganic and Med Chem* 2002; 10: 2239-2244.
160. Paul A, Calleja L, Joven J, Viella E, Ferre N, Camps J, et al. Supplementation with vitamin E and/or zinc does not attenuate atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice fed a high-fat, high-cholesterol diet. *Int J Vitam Nutr Res* 2001; 71: 45-52.
161. Wiseman H, O'Reilly JD, Adlercreutz H, Mallet AI, Bowey EA, Rowland IR, et al. Isoflavone phytoestrogens consumed in soy decrease F(2)-isoprostane concentrations and increase resistance of low-density lipoprotein to oxidation in humans. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 395-400.
162. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner LI. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malondialdehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* 1991;11:81.
163. Jenkins DJ, Kendall CW, Vidgen E, Vuksan V, Jackson CJ, Augustin LS, et al. Effect of soy-based breakfast cereal on blood lipids and oxidized low-density lipoprotein. *Metabolism* 2000; 49: 1496-1500.
164. Ismail MF, Gad MZ, Hamdy MA. Study of the hypolipidemic properties of pectin, garlic and ginseng in hypercholesterolemic rabbits. *Pharmacol Res* 1999; 39: 157-166
165. Erdinçler DS, Seven A, İnci F, Beğler T, Candan G. Lipid peroxidation and antioxidant status in experimental animals: Effect of aging and hypercholesterolemic diet. *Clin Chim Acta* 1997; 265: 77-84.

166. Del Boccio G, Lapenna D, Porreca E, Pennelli A, Savini F, Feliciani P, et al. Aortic antioxidant defence mechanisms: time-related changes in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis* 1990; 81: 127-135.
167. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412-416.
168. Day CP, Yeaman SJ. The biochemistry of alcoholic fatty liver. *Biochem Biophys Acta* 1994; 1215-1233.
169. Wertheimer SJ, Myers CL, Wallace RW, Parks TP. Intercellular adhesion molecule-1 gene in human endothelial cells. *J Biol Chem* 1992; 267: 12030–12035.
170. Davis JN, Kucuk O, Djuric Z, Sarkar FH. Soy isoflavone supplementation in healthy men prevents NF-Kb activation by TNF- α in blood lymphocytes. *Free Radical Biol Med* 2001; 30: 1293-1302.

9. ÖZGEÇMİŞ

1974 yılında Urfa ili Viranşehir ilçesinde doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi İzmir’ de tamamladıktan sonra 1993 yılında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesine girdim. 1999 yılında tıp fakültesinden mezun olduktan sonra 1999-2002 yılları arasında Şırnak ili Silopi ilçesinde pratisyen hekim olarak görev yaptım. 2002 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ihtisasına başlayıp halen Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD’ ında görev yapmaktayım.