

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARDA DENEYSEL OLARAK
OLUŞTURULAN HİPERLİPİDEMİ
MODELİNDE ALIÇ (*Crataegus tanacetifolia*)
BİTKİSİNİN MEYVE EKSTRE VE MEYVE
SİRKESİNİN HİPERLİPİDEMİYE VE OLASI
ENDOTEL HASARA KARŞI KORUYUCU
ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Celalettin Rahman ÇETİN
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Kadir BATÇIOĞLU**

MALATYA-2014

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARDA DENEYSEL OLARAK
OLUŞTURULAN HİPERLİPİDEMİ
MODELİNDE ALIÇ (*Crataegus tanacetifolia*)
BİTKİSİNİN MEYVE EKSTRE VE MEYVE
SİRKESİNİN HİPERLİPİDEMİYE VE OLASI
ENDOTEL HASARA KARŞI KORUYUCU
ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ**

Celalettin Rahman ÇETİN

Danışman öğretim üyesi: Prof. Dr. Kadir BATÇIOĞLU

Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyonu

Birimi

Tarafından 2011/148 proje numarası ile desteklenmiştir.

MALATYA-2014

ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından Biyokimya Anabilim Dalı Biyokimya Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Jüri Başkanı, Danışman Prof. Dr. Kadir BATÇIOĞLU



Üye Yrd.Doç.Dr. İsmet YILMAZ



Üye Yrd. Doç. Dr. Ayşe Burçin UYUMLU



ONAY :

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu...../...../2014 tarih ve 2014/.....sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Ergül ALÇIN
Enstitü Müdür V.

ÖZET

Bu çalışmamızda günümüzde ölüm risklerinin başında yer alan ateroskleroz ve daha sonrasında ateroskleroz oluşumunu takiben kalp krizi (MI) oluşumunun ana nedeni olan hiperlipideminin engellenmesi ve olası hiperlipideminin azaltılması için doğada doğal olarak yetişen alıç (*Crataegus tanacetifolia*) meyvesinin ve meyve sirkesinin hiperlipidemi ve ateroskleroz oluşum mekanizmasındaki faktörler olan Kolesterol, Trigliserid, HDL, LDL, Homosistein, P-Selektin, VCAM-1 değerleri üzerine olan etkinliğini inceledik.

Deneyssel olarak oluşturduğumuz hiperlipidemi modelinde kullandığımız ratları 7 farklı gruba ayırdık gruplarımız; Kontrol, HL(Hiperlipidemi), HL+8 hafta AE, HL+4 hafta AE, HL+4. haftadan sonra AS, HL+4. haftadan sonra ND+AS, HL+4. haftadan sonra ND+ AE şeklindedir. AE ve AS ratlara gruplara gavaj yoluyla verildi. 4 hafta sonunda ve 8. haftaların sonunda aldığımız kanların serumlarını ayırıştırarak Kolesterol, Trigliserid, HDL, LDL, Homosistein, P-Selektin, VCAM-1 düzeylerini ölçtük.

Elde ettiğimiz bulgular hem alıç sirkesinin ve hem de alıç ekstresinin diyetle ilavesinin, homosistein, P-selektin, TK, LDL-K ve TG düzeylerindeki düşüşü ve HDL-K düzeylerindeki artışı da daha belirgin hale getirdiğini gösterdi.

Sonuç olarak, yüksek yağlı diyet ile beslenme nedeniyle oluşan hiperlipidemi, hiperkolesterolemi, hiperhomosisteinemi ve artmış adhezyon molekülleri düzeyleri ile korele bir şekilde artan ateroskleroz riskini alıç meyve ekstresi ve sirkesinin azaltabileceği hipotezi üzerinden kurguladığımız bu çalışmada elde ettiğimiz bulgular göstermektedir ki; hem alıç meyve ekstresi hem de alıç sirkesi ayrı ayrı güçlü antiaterojenik etki gösterirken bu etkileri düşük yağlı diyetle kombine edildiğinde daha güçlü hale gelmektedir.

Anahtar kelime: Alıç, Alıç sirkesi, *Crataegus tanacetifolia*, Hiperlipidemi, Ateroskleroz.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF PROTECTIVE EFFECTS OF HAWTHORN (*Crataegus tanacetifolia*) FRUIT EXTRACT AND HAWTHORN FRUIT VINEGAR AGAINST EXPERIMENTAL HYPERLIPIDEMIA AND POSSIBLE ENDOTHELIAL DAMAGE IN RATS.

In this study, to prevent hyperlipidemia, is primary cause of atherosclerosis and heart attacks which leading causes of death, we investigated effectiveness of fruit extract and vinegar of naturally grown *Crataegus tanacetifolia* on total-, LDL- and HDL-cholesterol, triglycerides, homocysteine, P-Selectin and VCAM-1, which was involved in atherogenesis mechanism.

Experimentally hyperlipidemia-induced rats were divided into seven groups; Control, HL (Hyperlipidemia), HL+8 weeks *Crataegus* extract (CE), HL+4 weeks CE, *Crataegus* vinegar (CV) after 4 weeks HL, Normal diet (ND)+CV after 4 weeks HL, ND+CE after 4 weeks HL. CE and CV were administrated by gavage to rats. Total-, LDL- and HDL-cholesterol, triglycerides, homocysteine, P-Selectin and VCAM-1 levels were measured in serum which was obtained from collected blood samples at the end of 4. and 8. week of experiment.

Obtained findings showed that, addition of both CE and CV to diet has highlighted reductions in total- and LDL-cholesterol, triglycerides, homocysteine and P-Selectin levels and elevations in HDL-cholesterol level.

As a result, findings of this study which was designed based on the theory of CE and CV may diminish atherosclerosis risk which increases with hyperlipidemia, hypercholesterolemia, hyperhomocysteinemia and elevated levels of adhesion molecules in high fat diet indicates that although both CE and CV show strong anti-atherogenic effect, this effect becomes more stronger when combined with low fat diet.

Keywords: Hawthorn, Hawthorn vinegar, *Crataegus tanacetifolia*, Hiperlipidemia, Ateroskleroz.

TEŞEKKÜR

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalında yapmış olduğum bu tez çalışmamda başta çalışmam boyunca bana verdiği bilgi ve destekleri için ve bana bu akademik yolda güzel bir örnek olan sevgili hocam danışmanım Prof. Dr. Kadir BATÇIOĞLU'na, çalışmamda yardımlarını ve tecrübelerini esirgemeyen Yrd. Doç. Dr.İsmet YILMAZ'a, Yrd. Doç. Dr A.Burçin UYUMLU'ya, Arş. Görv. Basri SATILMIŞ'a ve yine çalışmamda bana yardım eden Biyolog Tuğba KİLİS 'e, Biyolog Savaş ÇELİK' e, çalışmamın istatistiğini yapan Prof. Dr. Metin Fikret GENÇ'e, alıç bitkisinin türünü teşhis eden Doç. Dr. Turan ARABACI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bu çalışmam süresince bana destek olan sevgili eşim Cemile ÇETİN'e oğullarım A.Cemil ÇETİN, M. Ali ÇETİN ve M. Hamza ÇETİN'ne teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
TABLolar DİZİNİ.....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Endotel.....	4
2.2. Endotel disfonksiyonu	5
2.2.1. Endotelden kaynaklanan mediyatörler	6
2.2.1.1. Küçük moleküller	6
2.2.1.2. Lipidler	6
2.2.1.3. Proteinler.....	6
2.2.1.4. Adhezyon molekülleri	6
2.2.1.5. Matriks proteinleri	7
2.2.1.6. Pıhtılaşma faktörleri	7
2.2.1.7. Antijenler	7
2.2.1.8. Enzimler.....	7
2.3. Hücreyel adhezyon molekülleri.....	8
2.3.1. Selektinler.....	9
2.3.1.1. L-selektinler (CD62L): (Leukocyte endothelial cell adesion molecule-1; LECAM-1).....	9
2.3.1.2. E-selektinler (CD62E): (Endothelial leukocyte adhesion molecule-1; ELAM-1)	10
2.3.1.3. P-selektinler (CD62P): (Granule membrane protein-140; GMP-140/ Platelet activation dependent granule to external membrane; PADGEM)	10

2.3.2. İntegrinler	10
2.3.3. İmmünglobulin süper ailesi	11
2.3.3.1. ICAM-1 (İntra selüler adhezyon molekülü-1) (CD54).....	11
2.3.3.2. ICAM-2 (İntra selüler adhezyon molekülü-2) (CD102).....	11
2.3.3.3. ICAM-3 (İntra selüler adhezyon molekülü-3) (CD50).....	12
2.3.3.4. ICAM-4 (İntra selüler adhezyon molekülü-4)	12
2.3.3.5. ICAM-5 (İntra selüler adhezyon molekülü-5)	12
2.3.3.6. VCAM -1 (Vasküler hücre adhezyon molekülü-1)	12
2.3.3.7. Nöral hücre adhezyon molekülü (NCAM, CD56)	12
2.3.3.8. PECAM-1 (CD31) (Trombosit endotelyal adhezyon molekülü)	12
2.3.3.9. LFA (Lökosit fonksiyonlu adhezyon molekülü).....	13
2.3.3.9.1. LFA- 1(Lökosit fonksiyonlu adhezyon molekülü-1)	13
2.3.3.9.2. LFA-2 (CD2),(Lökosit fonksiyonlu adhezyon molekülü-2)	13
2.3.3.9.3. LFA-3 (Lökosit fonksiyonlu adhezyon molekülü-3) (CD58)	13
2.3.3.10. Junctional adhesion molecule (JAM)	13
2.3.4. Kaderinler	14
2.3.4.1. E-kaderinler.....	14
2.3.4.2. P-kaderinler	14
2.3.4.3. V-kaderinler	14
2.3.4.4. N-kaderinler	14
2.3.4.5. H-kaderinler	14
2.3.5. Proteoglikanlar.....	14
2.4. Hiperlipidemi	16
2.4.1. Kolesterol	16
2.4.2. Trigliseridler (Triaçilgliseroller).....	17
2.4.3. Lipoproteinler	18
2.4.3.1. Şilomikron.....	19
2.4.3.2. Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein (VLDL).....	20
2.4.3.3. IDL	22
2.4.3.4. Düşük Dansiteli Lipoprotein (LDL).....	22
2.4.3.5. Yüksek Dansiteli Lipoprotein (HDL).....	23
2.4.3.6. Lipoprotein (a).....	25

2.4.4. Homosistein.....	26
2.4.5. Hiperlipidemilerin sınıflandırılması.....	26
2.4.5.1. Altta yatan hastalık veya nedene göre	27
2.4.5.1.1. Primer vakalar	27
2.4.5.1.2. Sekonder dislipidemi.....	30
2.4.5.1.3. Sporadik.....	31
2.4.5.2. Lipoproteinlerin elektroforetik mobilitesine göre	31
2.4.5.3. Patofizyolojik özelliklere göre	34
2.4.5.4. Plazmada artan lipit fraksiyonuna göre	34
2.6. Ateroskleroz.....	35
2.6.1. Ateroskleroz patofizyolojisi	36
2.6.2. Aterotrombozis	39
2.7. Alıç (crataegus)	42
2.8. Alıcın biyoaktif bileşenleri	43
2.8.1. Flavonoidler.....	43
2.8.2. Oligomer prosiyanidinler	45
2.8.3. Organik asitler	46
2.8.4. Triterpen organik asitler	46
2.9. Alıç sirkesi	47
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	49
3.1. Deney hayvanları.....	49
3.2. Hiperlipidemik yem.....	49
3.3. Vitamin D ₃	50
3.4. Alıç (Crataegus tanacetifolia)	50
3.4.1. Bitkinin genel morfolojik özellikleri	53
3.5. Alıç ekstresi	53
3.6. Alıç sirkesi	53
3.7. Deneyin yapılışı	54
3.7.1. Kontrol grubu	54
3.7.2. HL grubu(Hiperlipidemi)	54
3.7.3. HL+8 hafta AE grubu	54
3.7.4. HL+4. haftadan sonra AE.....	55

3.7.5. HL+4. haftadan sonra AS.....	55
3.7.6. HL+4. haftadan sonra ND ve AS.....	55
3.7.7. HL+4. haftadan sonra ND ve AE	55
3.8. Nitrit ve Nitrat analizi (Total Nitrit ve Direkt Nitrit Tayini)	55
3.8.1. Çözeltiler	56
3.8.1.1. Kadmiyum granülleri.....	56
3.8.1.2. Glisin-NaOH tamponu.....	56
3.8.1.3. Sülfanilamid çözeltisi	56
3.8.1.4. N-Naftiletilediamid(NNDA) çözeltisi	56
3.8.2. Deneyin yapılışı.....	57
3.8.2.1. Deproteinizasyon.....	57
3.8.2.2. Kadmiyum garnüllerinin aktivasyonu	57
3.8.2.3. Nitrat Ölçümü (Total nitrit ölçümü)	57
3.8.2.4. Nitrit Ölçümü	57
3.8.3. Standartlar	58
3.9. Total Kolesterol ölçümü	58
3.9.1. Reaktiflerin bileşimi.....	59
3.9.2. Prosedür.....	59
3.9.3. Hesaplama	60
3.10. Triglisericid ölçümü	61
3.10.1. Reaktif bileşimi.....	62
3.10.2. Prosedür.....	62
3.10.3. Hesaplama	63
3.11. HDL ölçümü	64
3.11.1. Reaktif bileşimi.....	64
3.11.2. Prosedür.....	65
3.11.3. Hesaplama	66
3.12. LDL ölçümü	67
3.12.1. Reaktif bileşimi.....	67
3.12.3. Prosedür.....	68
3.12.3. Hesaplama	69
3.13. Homosistein ölçümü.....	69

3.13.1. Reaktifler	70
3.13.2 Ölçüm prosedürü.....	72
3.14. P-Selektin ölçümü	73
3.14.1. Reaktifler	73
3.14.2. Ölçüm prosedürü.....	75
3.15. VCAM-1 ölçümü.....	76
3.15.1. Reaktifler	77
3.15.2. Ölçüm prosedürü.....	79
4. BULGULAR	80
4.1. Total kolesterol ölçüm sonuçları.....	80
4.2. LDL ölçüm sonuçları.....	83
4.3. HDL ölçüm sonuçları	86
4.4 Triglisericid ölçüm sonuçları.....	89
4.5. Nitrit ölçüm sonuçları.....	92
4.6. Total Nitrit ölçüm sonuçları.....	95
4.7. Homosistein ölçüm sonuçları.....	98
4.8. P-Selektin ölçüm sonuçları	101
4.9. VCAM-1 ölçüm sonuçları	104
5. TARTIŞMA	111
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	120
KAYNAKLAR.....	122
EKLER.....	135
Ek. 1: Etik kurul onay formu	135
ÖZGEÇMİŞ.....	137

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Endotel tabakası ve damar yapısı	4
Şekil 2.2. Kardiyovasküler risk faktörleri ve endotel disfonksiyonu ilişkisi	5
Şekil 2.3. L-Arjinin-Nitrik Oksit yolu	7
Şekil 2.4. Selektinin yapısı	9
Şekil 2.5. Kolesterolün yapısı	17
Şekil 2.6. Trigliseridin yapısı	18
Şekil 2.7. Şilomikronun yapısı	19
Şekil 2.8. Şilomikron metabolizması	20
Şekil 2.9. VLDL nin yapısı	21
Şekil 2.10. LDL nin yapısı	23
Şekil 2.11. HDL'nin yapısı	24
Şekil 2.12. HDL metabolizması	24
Şekil 2.13. Lipoprotein a nın yapısı	25
Şekil 2.14. Dr. Donald Sharp Fredrickson	32
Şekil 2.15. Kan damarının yapısı	36
Şekil 2.16. Ateroskleroz gelişimi	39
Şekil 2.17. Yırtılmış plak üzerine oturmuş non-okluziv trombosit zengin trombus; ince kapsülün altında lipidden-zengin nüve. (Tiyokrom boyası; trombus-kırmızı, kollajen-Mavi ve lipidler-renksiz.)	40
Şekil 2.18. Plak erozyonu; stenotik aterosklerotik plak üzerine oturmuş tıkaçıcı trombus; plak-trombus ara yüzeylerinde endotel kaybolmuştur, fakat aksi tarafta plak yüzeyi sağlam. (Trokrom boyası; trombus-kırmızı, kollajen-mavi)	41
Şekil 2.19. Aterogenezis	42
Şekil 2.20. Alıcın sistematiği	42
Şekil 2.21. Türkiyedeki <i>Crataegus</i> spp nin dağılımı	43
Şekil 2.22. Flavonoidlerin iskelet yapısı	44
Şekil 2.23. Prosiyanidin B1,B2,B3,B4 formülleri	45
Şekil 2.24. Oleneolik asit	46
Şekil 2.25. Ursolik asit	47
Şekil 2.26. Fermente olabilir şekerlerin 2 aşamalı oksidasyonu (etil alkol ve asetik asit fermentasyonu) sonucu asetik aside dönüşümü	47
Şekil 3.1. <i>Crataegus tanacetifolia</i> çiçek	50
Şekil 3.2. <i>Crataegus tanacetifolia</i> meyve	51

Şekil 3.3. Alıç meyvesi.....	51
Şekil 3.4. <i>Crataegus tanacetifolia</i> çiçekli genel görünüm.....	52
Şekil 3.5. <i>Crataegus tanacetifolia</i> ağaç.....	52
Şekil 3.6. Nitrit Standart Grafiği.....	58
Şekil 3.7. Total Kolesterol Standart Grafiği	61
Şekil 3.8. Trigliserid Standart Grafiği	64
Şekil 3.9. HDL-Kolesterol Standart Grafiği	66
Şekil 3.10. LDL-Kolesterol Standart Grafiği.....	69
Şekil 3.11. Homosistein standartının hazırlanması	71
Şekil 3.12. Homosistein Standart Grafiği	72
Şekil 3.13. P- Selektin standartının hazırlanması.....	74
Şekil 3.14. P-Selektin Standart Grafiği	75
Şekil 3.15. VCAM-1 standartının hazırlanması	77
Şekil 3.16. VCAM-1 Standart Grafiği.....	78
Şekil.4.1. Total kolesterol konsantrasyon değerlerinin gruplara göre dağılım grafiği	80
Şekil 4.2. LDL kolesterolün gruplara göre konsantrasyon değerleri grafiği.....	83
Şekil 4.3. HDL konsantrasyon değerlerinin gruplara göre dağılım grafiği.....	86
Şekil 4.4. Trigliserid konsantrasyon değerlerinin gruplara göre dağılım grafiği	89
Şekil 4.5. Nitrit konsantrasyon değerlerinin gruplara göre dağılım grafiğ	92
Şekil 4.6. Total nitrit konsantrasyon düzeylerinin gruplara göre dağılım grafiği	95
Şekil 4.7. Homosistein konsantrasyon düzeylerinin gruplara göre dağılım grafiği	98
Şekil 4.8. P-Selektin konsantrasyon düzeylerinin gruplara göre dağılım grafiği.....	101
Şekil 4.9. VCAM-1 konsantrasyon düzeylerinin gruplara göre dağılım grafiği	104

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Adhezyon molekülleri ve ligandlar	15
Tablo 2.2. Primer hiperlipidemiler	28
Tablo 2.3. Başlıca Sekonder Dislipidemi Nedenleri ve Klinik Bulguları	30
Tablo 2.4. Frederickson sınıflandırması	31
Tablo 2.5. Hiperlipideminin plazmada artan lipid fraksiyonuna göre sınıflandırılması	34
Tablo 3.1. Normal fare yemi içeriği (Elazığ yem).....	49
Tablo 3.2. Total kolesterol reaktif bileşimi	59
Tablo 3.3. Total kolesterol ölçüm prosedürü	59
Tablo 3.4. Kolesterol Reaktif, Numune, Standart, Kör hazırlama yöntemi	60
Tablo 3.5. Trigliserid reaktif bileşimi	62
Tablo 3.6. Trigliserid ölçüm prosedürü	62
Tablo 3.7. Trigliserid Reaktif, Numune, Standart, Kör hazırlama yöntemi	63
Tablo 3.8. HDL Reaktif ölçüm prosedürü.....	65
Tablo 3.9. HDL Reaktif 1, Numune, Standart, Kör hazırlama yöntemi	65
Tablo 3.10. HDL Reaktif 2, Numune, Standart, Kör hazırlama yöntemi	66
Tablo 3.11. LDL reaktif bileşimi.....	67
Tablo 3.12. LDL Reaktif 1, Numune, Standart hazırlama yöntemi.....	68
Tablo 3.13. LDL Reaktif ölçüm prosedürü	68
Tablo 3.14. LDL Reaktif 2, Numune, Standart hazırlama yöntemi.....	68
Tablo 3.15. Homosistein standart dilüsyon tablosu	71
Tablo 3.16. P-Selektin standart dilüsyon tablosu	74
Tablo 3.17. VCAM-1 standart dilüsyon tablosu	78
Tablo 4.1. Total kolesterol sonuçlarının gruplara göre ortalama ve standart hata değerleri .	81
Tablo 4.2. Total-kolesterol düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	82
Tablo 4.3. LDL sonuçlarının gruplara göre ortalama ve standart hata değerleri.....	84
Tablo 4.4. LDL-kolesterol düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	85
Tablo 4.5. HDL sonuçlarının gruplara göre ortalama ve standart hata değerleri	87
Tablo 4.6. HDL-kolesterol düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	88
Tablo 4.7. Trigliserid sonuçlarının gruplara göre ortalama ve standart hata değerleri	90
Tablo 4.8 Trigliserid düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	91
Tablo 4.9 Nitrit sonuçlarının gruplara göre ortalama ve standart hata değerleri.....	93
Tablo 4.10. Nitrit düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	94
Tablo 4.11. Total nitrit sonuçlarının gruplara göre ortalama ve standart hata değerleri.....	96

Tablo 4.12. Total nitrit düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	97
Tablo 4.13. Homosistein sonuçlarının gruplara göre ortalama ve standart hata değerleri	99
Tablo 4.14. Homosistein düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	100
Tablo 4.15. P-Selektin sonuçlarının gruplara göre ortalama ve standart hata değerleri	102
Tablo 4.16. P-Selektin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	103
Tablo 4.17. VCAM-1 sonuçlarının gruplara göre ortalama ve standart hata değerleri.....	105
Tablo 4.18. VCAM-1 düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	106
Tablo 4.19. Gruplar arası karşılaştırmalar için ANOVA toplu sonuçları	107
Tablo 4.19. Gruplar arası karşılaştırmalar için ANOVA toplu sonuçları (devam).....	108
Tablo 4.19. Gruplar arası karşılaştırmalar için ANOVA toplu sonuçları (devam).....	109
Tablo 4.19. Gruplar arası karşılaştırmalar için ANOVA toplu sonuçları (devam).....	110

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AAP	: Aminoantipirin
Abs	: Absorbans
ACAT	: Açıl koa kolesterol açıl transferaz
ACE	: Anjiotensin dönüştürücü enzim
AE	: Alıç ekstresi
AHA	: Amerikan kalp derneği
AMİ	: Akut myokard infarktüs
Apo	: Apoprotein
AS	: Alıç sirkesi
ATP	: Adenozin trifosfat
°C	: Santigrad derece
CETP"KE"	: Kolesterol esteri
CE	: Kolesterol esteri
CV	: Alıç sirkesi
cGMP	: Siklik guanozin monofosfat
cm	: Santimetre
DAP	: Dihidroksi aseton fosfat
DM	: Diyabetes mellitus
DSBmT	: N,N-bis (4-sulfobutyl)-m-toluidine disodium (DSBmT)
dl	: Desilitre
EDRF	: Endotel kaynaklı relaksan faktör
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
EKHF	: Endotelyal kaynaklı hiperpolarizan faktör
ELAM-1	: Endotelyal lökosit adhezyon molekülü-1
g	: Gram
GK	: Gliserol kinaz
GOOD	: Tampon
GPO	: Gliserol fosfat oksidaz
GSH	: Glutatyon
GSSG	: Glutatyon oksidaz

G3P	: Gliserol 3 fosfataz
HbA1c	: Hemoglobin A1c (Glikohemoglobin)
Hcy	: Homosistein
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein
HL	: Hiperlipidemi
HNE	: Hidroksinonel
HRP	: Horse radish peroksidaz
HT	: Hipertansiyon
HIV	: Human imino virüs
ICAM	: İntraselüler adhezyon molekülü -1
IDL	: Ara dansiteli lipoprotein
Ig	: İmmünglobülin
IL	: İnterlökin
IU	: Ünite
JAM	: Junctional(birleşim) adhezyon molekülü
KAH	: Kroner akciğer hastalıkları
Kda	: Kilo dalton
KE	: Kolesterol esteraz
KKH	: Kroner kalp hastalıkları
L	: Litre
LCAT	: Lesitin kolesterol asiltransferaz
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
LDL-K	: Düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol
LECAM-1	: Lökosit endotelyal adhezyon molekülü
LFA	: Lökosit fonksiyonlu adhezyon molekülü
L-NMA	: Monometil-L-arjinin
L-NAME	: Nitro-L-arjinin metil ester
Lp	: Lipoprotein
LPAM	: Integrin alpha 4 beta 7 (LPAM-1)
LPL	: Lipoprotein lipaz
LTB ₄	: Lökotertrin B4
Mac-1	: Makrofaj-1 antijen

MAdCAM	: Mucosal addressin cell adhesion molecule-1
MCP-1	: Monosit kemotaktik protein-1
MDA	: Malondialdehit
Mg	: Miligram
MES Tamponu:	2-(N-morpholino) ethane sulfonic acid
MHC-V	: Major histocompatibiliti (büyük histolojik uyumluluk) antijeni
μm	: Mikro metre
mm	: Milimetre
MMP	: Matriks metaloproteinaz
MI	: Miyokard infarktüs
NCAM	: Nöral hücre adhezyon molekülü
ND	: Normal diyet
ng	: Nano gram
NK	: Nöral krest hücreleri
nm	: Nanometre
m μ	: Milimikron
NNDA	: N-Naftil etilen diamid
NO	: Nitrik oksit
PADGEM	: Platalet activation dependant granule to external membran
PAF	: Trombosit aktivasyon faktörü
PAI-1	: Plazminojen aktivatör inhibitörü
PDGF	: Trombositten kaynaklanan büyüme faktörleri
PDGFR- β	: Trombositten kaynaklanan büyüme faktörü reseptörleri
PECAM	: Trombosit endotelial adhezyon molekülü
PGI ₂	: Prostaglandin 2
PHE	: Fenitoin
PIPES	: 1,4-Piperazindietansulfonsyre
POD	: Peroksidaz
SA	: Stabil
SGOT	: Aspartat amino transferaz
SGPT	: Alanin amino transferaz
Spp.	: Tür

TG	: Trigliserid
TK	: Total kolesterol
TNF	: Tümör nekrozis faktör
TMB	: 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine
t-PA	: Doku plazminojen aktivatörü
VCAM	: Vasküler selüler adhezyon molekülü
VLA	: Çok geç aktivasyon antijeni
VLDL	: Çok düşük dansiteli lipoprotein
vWF	: Von willebrand faktör
UA	: Un stabil
U/L	:Ünite/ litre

1. GİRİŞ

Son yıllardaki teknolojik gelişmeler sonucunda fiziksel aktivitelerin azalması ve hayvansal ürünlerin tüketiminin artması sonucunda insanlar için hiperlipidemi riskini de arttırmıştır. Hiperlipidemi, lipid metabolizması bozukluğu sonucunda gelişmekte olup, plazma trigliserid ve lipoprotein düzeyinin yükselmesi olarak tanımlanmaktadır. Hiperlipidemi, damarların intima tabakası altında lipid birikimi sonucu, hücrel-humoral reaksiyonlara neden olan ve ateroskleroz olarak bilinen vasküler bozukluğu meydana gelmektedir. Ateroskleroz ise, koroner kalp hastalığına (KKH)'a zemin hazırlayan faktörlerin başında gelmektedir (1).

Plazmada yüksek oranda kolesterol, özellikle de düşük dansiteli lipoprotein (LDL) ve trigliserit (TG) bulunması yanı sıra, yüksek dansiteli lipoprotein'in (HDL) düşük olması, tütün kullanımı, hipertansiyon, diyabet, erkek cinsiyet, egzersiz eksikliği, obezite ve stres aterosklerotik kardiyovasküler hastalık için önemli risk faktörleridir (2).

Koroner arter hastalıklarının en önemli belirtisi; miyokardın geçici iskemisi olarak kabul edilen ve göğüs ağrısı olarak kendini gösteren anjina pektorisdir. 65 yaşın üstünde olan erkeklerin % 20'sinde, kadınların ise % 13'ünde rastlanan bir bulgudur. Bu ağrının altında yatan başlıca sebep bir veya daha fazla koroner arterlerde görülen daralmadır. Stabil veya stabil olmayan angina olarak değerlendirilen anjina pektorisde hekim tarafından tedbir alınmaz ise, karşılaşılabilecek durum myokard infarktüstür (MI). MI, koroner arter tıkanması nedeni ile görülen irreversibl iske mi, yani kalp kasının ölümüdür. Sık rastlanan ani ölümlerin başlıca nedenlerinden biri olup altta yatan sebep ise yavaş yavaş gelişen aterosklerozdur (3).

Endotel kaygan, parlak yüze yli, vazodilatasyona eğilimli bir yapıdır. Ancak sigara, hipertansiyon, diyabet, dislipidemi, obezite gibi bilinen vasküler risk faktörleri, mekanik, hemodinamik ve şimik etkiler endotelin bu yapısını bozarlar.

Hipertansiyon, hiperhomosisteinemi, hiperlipidemi, sigara, ileri yaş ve ateroskleroz endotel disfonksiyonunun önde gelen nedenlerindendir (4). Bugün

vasküler endotelin, dolaşım ile çevre dokular arasında yalnızca yapısal bir bariyer olmadığı, aynı zamanda fizyolojik ve patolojik uyarılara yanıt olarak vasküler hemodinamiyi etkileyen mediyatörler de salgıladığı bilinmektedir (5).

Endotel hasarı, endotel tarafından vasküler adhezyon moleküllerinin ekspresyonuna yol açar. Monositler adhezyon moleküllerine bağlanarak subendotelyal bölgeye geçerler. İnflamatuar cevap, monositlerden oluşan makrofajlarla T lenfositlerin spesifik alt grupları tarafından oluşturulur ve bu hücreler aterogenezin her evresinde vardır. İnflamasyon ilerledikçe kandan göç eden ve lezyon içinde çoğalan makrofaj ve lenfositlerin sayısı artar. LDL, damar duvarını geçerek okside olur. Okside LDL sitokinlerin salınımında artışa ve nitrik oksit (NO) üretiminin inhibisyonuna neden olur (6).

Endotel ve düz kas hücrelerinden salgılanan makrofaj koloni stimule edici faktörler, monositler üzerinde okside LDL'leri tanıyan çöpçü (scavenger) reseptörleri üretirler. T hücrelerinden salınan sitokinlerle monositler, makrofajlara dönüşür ve okside LDL'leri bu reseptörler aracılığıyla içlerine alarak köpük hücrelerine dönüşürler. Bu hücreler aterosklerozun öncül hücreleridir (7). Endotel hasarı devam ettikçe trombositler de endotele yapışır. Monosit adezyonu, düz kas hücre göçü, makrofaj ve düz kas hücrelerinde lipid birikimi devam ederek intimada köpük hücre birikimini artırır ve makroskopik olarak yağlı çizgilenmelerin görülmesine yol açar (8). Düz kas hücreleri tarafından kollajen ve ekstrasellüler matriks sentezlenir. Sonuçta lipid dolu çekirdeği endotelyal yüzeyden ayıran fibröz şapka oluşur ve plak stabilize olur (9). Başlangıçta arter duvarı kalınlaştıkça lümen çapı giderek büyür ve arter genişleyerek yeniden şekillenir. Belli bir noktadan sonra daha fazla genişleme olmaz, lezyon arter lumeni içine doğru büyür ve lumeni daraltarak kan akımını engeller (10). Özellikle ileri lezyonlarda oluşan hassas plaklar, lumen trombozuna yol açabilecekleri için tehlikelidirler (11).

Alıç bitkisinin meyve ve çiçeklerinde antioksidan özellikteki flavonoidler (ör.flavanlar), vitaminler (özellikle C vitamini), saponin, organik asitler, eter yağı ve şekerler başta olmak üzere insan sağlığı bakımından faydalı birçok bileşen bulunmaktadır. Alıç ağacının yaprak, çiçek ve meyveleri kalbin düzenli çalışmasını

desteklemek ve kalp-damar sistemi fonksiyonlarını normalize etmek için kullanılmaktadır (12).

Çalışma konumuzu *Crataegus tanacetifolia* (Poir.) Pers. (Kotan alıcı) türü alıç bitkisinin antihiperlipidemik etkisi oluşturmaktadır. *Crataegus tanacetifolia* ülkemizde Karadeniz, İç Anadolu ve Doğu Anadolu bölgelerinde doğal olarak yayılış gösteren endemik bir türdür. Malatya'da ise Hekimhan dolaylarında kaydı bulunmaktadır. Çalışma konusunu oluşturan örnekler Malatya ili, Arapgir ilçesi, Suceyin Köyünde, 20.09.2011 tarihi, yaklaşık 1200 m rakımda toplanmıştır.

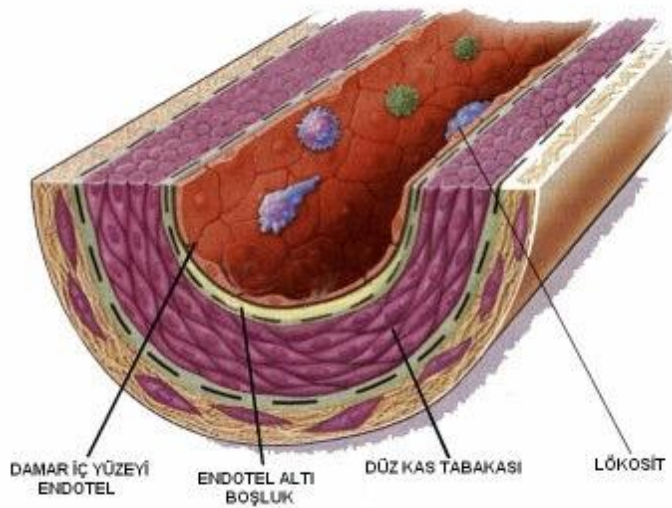
Sirke de insanlar tarafından binlerce yıldır baharat ve gıda koruyucu olarak kullanılan bir gıda maddesidir. Sirkenin antibakteriyel özelliği dışında kan basıncını düşürmesi, kardiyovasküler hastalıkları azaltması, antioksidan aktivitesi ve besin metabolizmasını düzenlemesi gibi insan sağlığına yararları hakkında birçok çalışma yapılmıştır (13).

Bu çalışmada hem alıç (*Crataegus tanacetifolia*) meyvesinin hem de alıç sirkesinin deneysel olarak hiperlipidemi oluşturulan ratlarda meydana gelen endotel doku hasarı ve yüksek kan lipid düzeylerine karşı koruyucu ve tedavi edici etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu bağlamda hiperlipidemik ratlarda hiperlipidemi oluşumunu ve alıç tedavisinin uygulanması süresince gözlenebilecek değişimleri izlemek amacıyla plazma trigliserid, total kolesterol, trigliserid, HDL, LDL düzeylerinin yanı sıra endotel hasarını değerlendirebilmek amacıyla VCAM-1, P-Selektin, NO₂, Total nitrit ve Homosistein düzeyleri ölçülmüştür.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Endotel

Endotel; hücre tabakası vasküler düz kas ile damar lümeni arasında uzanan, bazal membran üzerine yerleşmiş, damarların iç yüzeyini döşeyen tek sıra yassı hücrelerden meydana gelmiştir. Eskiden sadece mekanik bir bariyer olduğu düşünülen endotelin, bugün vasküler tonusu, hücre çoğalmasını, trombositlerin ve lökositlerin damar duvarı ile etkileşimini düzenleyen, tromboregülatör molekülleri ve büyüme faktörlerini sentezleyebilen, fiziksel ve kimyasal uyarılara yanıt veren bir doku olduğu bilinmektedir (4).

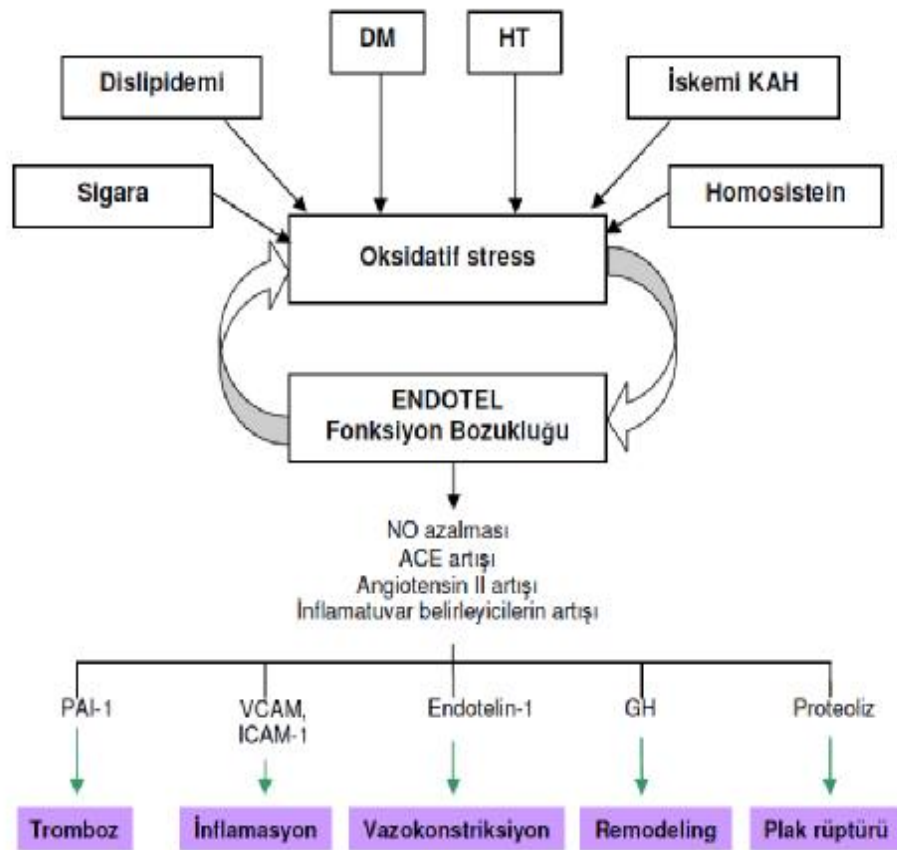


Şekil 2.1. Endotel tabakası ve damar yapısı (14)

Yüzeyindeki glikoproteinler ile glikozaminoglikanların negatif yük kazandırdığı endotel hücreler, hücrel ve hormonal moleküllerle etkileşim içinde olduklarından çok sayıda reseptör taşımaktadırlar. Trombosit agregasyon inhibisyonu, koagülasyon aktivasyonunun inhibisyonu, fibrinolizis fonksiyonları ile pıhtılaşmayı önleyici bir yüzey oluşturmak, ayrıca doku ve dolaşım arasında madde alışverişi, vasküler tonusun düzenlenmesi, lökosit ve trombosit adhezyonunun regülasyonu gibi görevleri vardır (15).

2.2. Endotel disfonksiyonu

Endotel kaygan, parlak yüzeyli, vazodilatasyona eğilimli bir yapıdır. Ancak sigara, hipertansiyon, diyabet, dislipidemi, obezite gibi bilinen vasküler risk faktörleri, mekanik, hemodinamik ve şimik etkiler endotel yapısını bozarlar. (16).



Şekil 2.2. Kardiyovasküler risk faktörleri ve endotel disfonksiyonu ilişkisi (17)

Bugün vasküler endotelin, dolaşım ve çevre dokular arasında yalnızca yapısal bir bariyer olmadığı, aynı zamanda fizyolojik ve patolojik uyarılara yanıt olarak vasküler hemodinamiyi etkileyen mediyatörler de salgıladığı bilinmektedir. Endotelden kaynaklanan bu mediyatörler damar tonusunun ayarlanmasında, hem

dilatatör hem de konstriktör maddeleri belli bir dengede salgılamaktadır. Bunu hem çevresindeki değişiklikleri algılayarak hem de vazoaktif maddeler salgılayarak yapar (5).

2.2.1. Endotelden kaynaklanan mediyatörler

2.2.1.1. Küçük moleküller

- Histamin
- Serbest radikaller
- EDRF (Endotel kaynaklı releksan faktör)=Nitrik Oksit
- Endotel kökenli konstruktör faktör
- Endotelyal kaynaklı hiperpolarizan faktör (EKHF)
- Adnedozin
- C tipi atriyal natriüretik faktör
- Anjiotensin II
- Endotelin-1

2.2.1.2. Lipidler

- Prostaglandinler (PGI₂, prostasiklin, tromboksan-A₂)
- Lökotrienler
- PAF (Trombosit aktivasyon faktör)

2.2.1.3. Proteinler

- Büyüme faktörleri (PDGF)

2.2.1.4. Adhezyon molekülleri

- ICAM (intraselüler adhezyon molekül)
- VCAM (vasküler adhezyon molekül)
- PECAM (Platelet endotelyal hücre adhezyon molekül)
- E-selektin
- P-selektin

2.2.1.5. Matriks proteinleri

- Heparan sülfat

2.2.1.6. Pıhtılaşma faktörleri

- t-PA (doku plazminojen aktivatörü)
- PAI-1(plazminojen aktivatör inhibitörü-1)
- vWF (von Willebrand faktör)

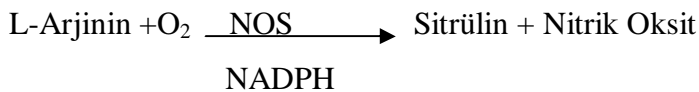
2.2.1.7. Antijenler

- MHC-V(major histocompatibili antijeni-V)

2.2.1.8. Enzimler

- ACE/ Reseptörler (18,19).

Endotel kaynaklı gevşetici faktör (EKGF) olarak da bilinen nitrik oksit (NO) eşleşmemiş bir elektron taşıyan yüksüz bir moleküldür. NO'in bu özelliği onu eşsiz bir mesajcı yapar. Yani yüksüz olduğu için membranlardan kolayca geçer, eşleşmemiş bir elektrona sahip olması nedeni ile hızlı reaksiyona girer, yarı ömrü 20-30 sn dir (20). NO, L - arjinin guanidin N terminalinden nitrik oksit sentaz (NOS) enziminin katalizlediği bir reaksiyon ile sentezlenir.



Şekil 2.3. L-Arjinin-Nitrik Oksit yolu (21)

NOS'in inhibisyonu çoğu vasküler dokuda vazokonstriksiyona ve sistemik arteriyal kan basıncında artmaya neden olur. NO yapımı, endotele bağımlı relaksasyonun temelini oluşturur. NO, endotel hücrelerinde sentezlendikten sonra damar düz kas hücrelerine difüzyonla girerek relaksasyon sağlar. Endotel hücresi, NO'ı sadece damar düz kaslarına doğru salgılamaz, aynı zamanda damar lümenine doğru da salgılar. Endotel kaynaklı NO, aynı zamanda siklik guanozin monofosfat

(cGMP) bağımlı mekanizmayla trombositlerin adezyonunu, aktivasyonunu, sekresyon ve agregasyonlarını inhibe eder. Bu özellik, endotelin NO üretiminin azaldığı ateroskleroz gibi durumlarda klinik önem kazanır (22). Endotel başlıca vazodilatör olarak NO salgılamakla birlikte daha az vazodilatör etkisi olan prostasiklin (PGI_2) ve endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör (EKHF) salgılamaktadır. Endotel, endotelyal vazodilatatörler NO, EKHF, PGI_2 dışında vazokonstriktör anjiotensinojen, vazokonstriktör prostoglandinler, trombosit aktive edici faktör (PAF) gibi kontraksiyon yapan mediyatörler de salgılar. Endotelin1, endotelde baskın olarak sentezlenen endotelin tipi olup damar düz kasında özel Endotelin A reseptörüne bağlanarak vazokonstriksiyona ve hücre büyümesine neden olmaktadır. Bunun aksine, Endotelin B reseptörleri ise NO salınımı aracılığıyla vazodilatasyona yol açmaktadır (23). Endotel disfonksiyonu aterosklerotik süreçteki en önemli mekanizmalardan biridir. Klasik ve yeni belirlenen risk faktörleri endotelde vazodilatatör cevabın azalmasına yol açan kronik hasarlar yaratırlar. Böylece endotelde oluşan vazokonstriksiyon, inflamatuvar hücrelerin birikimi, düz kas hücrelerinin migrasyonu, sitokin üretiminin artışı gibi olaylar aterosklerotik plak oluşumuna neden olurlar. Endotel disfonksiyonu yalnız plak oluşumuna neden olan aterosklerotik sürecin ilk basamağı olmakla kalmaz, ayrıca oluşan plağın büyümesine, çatlamasına ve trombojenik olayların tetiklenmesine de neden olur (24).

2.3. Hücresel adhezyon molekülleri

Endotelyal hücrelerle lökositler arasında adheziv etkileşimi sağlayan bir grup hücre yüzey molekülünün 1980'li yılların ortalarından itibaren moleküler olarak belirlenmesi, adhezyon molekülleri ile ilgili bilgilerimizin hızla artmasına neden olmuştur. Daha sonraki yıllarda adhezyon moleküllerinin, histogenez, embriyogenez, hücre büyümesi, hücre farklılaşması ve inflamasyon gibi olguların düzenlenmesinde görev aldıkları belirlenmiştir. Adhezyon molekülleri fonksiyonlarına ve yapılarına göre beş ayrı sınıfta incelenmeye başlandı. Bunlar;

1-Selektinler,

2-İntegrinler,

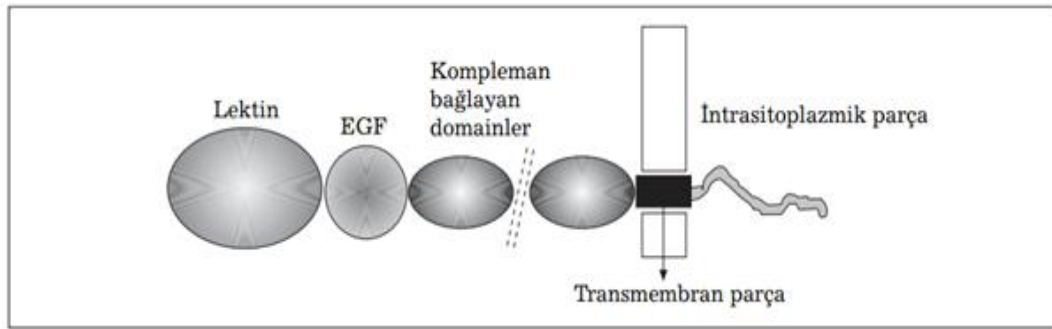
3-İmmünglobulin süper ailesine ait adhezyon molekülleri

4-Kaderinler

5-Proteoglikanlar (25,26)

2.3.1. Selektinler

Tanıyıcı olarak karbonhidratları kullanan adhezyon molekülleri olup lenfositlerin yerleşmesinde (homing) rol alan, ayrıca aktivasyon sonucu endotel hücrelerinde ve trombositlerde beliren yüzey proteinleridir (26). Selektinlerin yapısında reseptörlere bağlanmayı sağlayan lektin bölgesi vardır. Bir adet epidermal growth faktör (EGF) bölgesi, sayıları iki ile dokuz arasında değişen kompleman bağlayan bölge, kısa bir transmembran parçası ve küçük bir intrasitoplazmik parça içerirler (27).



Şekil 2.4. Selektinin yapısı (27)

Buldukları hücre çeşidine göre;

- Lökosit (L)-Selektin
- Endotelial (E)-Selektin
- Trombosit (P)-Selektin olarak isimlendirilirler.

2.3.1.1. L-selektinler (CD62L): (Leukocyte endothelial cell adesion molecule-1; LECAM-1)

Bu ailenin ilk tanımlanmış en küçük selektin molekülüdür. Lökositlerde yapısal olarak bulunur ve endotel hücresindeki ligandı ile etkileşir.. L-selektin; kemik iliğinden, protimosit, doğal T ve B hücreleri, bellek hücrelerinin bir alt grubu,

monosit ve granüositler üzerinde yapısal olarak eksprese edilir. Nötrofillerin inflamasyon bölgesine toplanması için gerekli yuvarlanma safhasından sorumludur. L-selektinin diğer selektinlerden farkı, hücre aktive olduktan sonra diğer selektinlerden daha hızlı bir şekilde hücre membranında yer almasıdır.

2.3.1.2. E-selektinler (CD62E): (Endothelial leukocyte adhesion molecule-1; ELAM-1)

Endotel hücre yüzeylerinde; endotoksin, Tümör Nekrozis Faktör (TNF) ya da İnterlökin-1 uyarısı sonucu baskılanır. Lökositlerin gevşek olarak endotele tutunmasını sağlarlar. P -selektinle birlikte nötrofil adezyonunda ve lökosit göçünde görev yaparlar. E-selektin sadece endotel hücrelerinden salınıp, monosit ve granüositlerin adezyonunu kolaylaştırır.

2.3.1.3. P-selektinler (CD62P): (Granule membrane protein-140; GMP-140/ Platelet activation dependent granule to external membrane; PADGEM)

P-Selektinler en büyük selektin molekülü olup trombositler ve endotel hücreleri üzerinde bulunurlar ve E-selektinlerle birlikte lökositlerin endotel üzerine gevşek olarak tutunmalarını sağlarlar. Nötrofiller, monositler, T bellek hücrelerinin bir alt grubu, akciğer, meme ve kolon kaynaklı çeşitli karsinomlar P-selektin bağlayan ligandları eksprese ederler. Histamin ve trombinle P-Selektin ekspresyonu çok hızlı bir şekilde belirir. Bu gruptaki selektinler; trombin, histamin ve kompleman fragmanları gibi çeşitli mediatörlerle uyarılabilir. Ancak endotel hücrelerine özgün Weibel-Palade cisimcikleri ve trombositlerde bulunan α granüllerinde P-selektinler hazır olarak da buldukları için α granüllerin membrana füzyonu ile P-selektinler çok hızlı olarak eksprese olabilirler (28).

2.3.2. İntegrinler

İntegrinler Ca^{+} bağlı hücre-hücre ve hücre-matriksi etkileşmesini sağlayan heterodimerik membran reseptörleridir. Yani, ekstraselüler matriks ile intraselüler ortam arasında integrasyonu sağlayan hücre yüzeyi glikoproteinleri olmaları sebebiyle “integrin ailesi” denilmektedir. Ancak integrinler, hücre-ekstraselüler matriks etkileşimleri kadar hücre-hücre etkileşimlerinde de önemlidir. İntegrinler alfa

ve beta zincirlerinden oluşan heterodimer bir yapıya sahiptirler. Farklı 14 adet alfa ve 8 adet beta zincirinin değişik kombinasyonu ile 20 adet integrin oluşmuştur. Beta alt grubu ile birleşme özelliklerine göre iki alt gruba ayrılırlar. En geniş grup **beta-1 integrinler** olup, bunlar; lenfosit yüzeyinde aktivasyonu izleyerek 2-4 hafta gibi geç olarak ortaya çıktıklarından, Very Late Activation Antigen (VLA) olarak da bilinir. Ekstraselüler matriks proteinlerine (fibronektin, laminin, kollajen, vitronektin) bağlandıklarından, yara iyileşmesinde rol oynarlar. T lenfosit migrasyonunda, ekstraselüler matriks proteinlerine tutunmayı sağlayan matriks reseptörüdürler. Beta-1 ailesinden yalnızca VLA-4, ekstraselüler matriks proteinleri dışında, immüoglobulin süper ailesinden VCAM-1'e bağlanarak, lenfosit trafiği ve yapışmasında etkili olur. Hücre-matriks ve hücre-hücre adhezyonundaki rollerine ek olarak, beta-1 integrinler, çeşitli virüslerin (HIV tip 1 gibi) ve bakterilerin memeli hücrelerine girmelerini de kolaylaştırırlar. Dört üyesi olan **beta-2 integrinler**, özellikle lökositlerde bulduklarından, lökosit integrinler olarak da bilinirler. Bunlar içinde, LFA-1; immüoglobulin süpergen ailesinden ICAM molekülleri ile birleşme özelliği ile lökositlerin inflamasyon alanına göçünde, NK ve sitotoksik T lenfositlerinin hedef hücreleri öldürmesinde önem taşır. Mac-1 ve p150/95, aynı zamanda kompleman reseptörleri olarak da çalışırlar (29).

2.3.3. İmmüoglobulin süper ailesi

Yapısal olarak Ig lere benzediği için bu adı almış olup yapısında olarak bir transmembran kısım ve stoplazmik kuyruk bulunmaktadır. Bu aile molekül çeşitliliği bakımından oldukça zengindir. Ailenin her üyesi, değişik miktarlarda Ig benzeri bölge içerirler ve antijen tanıma ve hücre adhezyonunda önemli rolleri vardır (30).

2.3.3.1. ICAM-1 (İntra selüler adhezyon molekülü-1) (CD54)

Endotel hücresi, lenfositler, monositler, düz kas hücreleri ve makrofajlarda eksprese edilen Ig süper ailesinin bir üyesidir.

2.3.3.2. ICAM-2 (İntra selüler adhezyon molekülü-2) (CD102)

Endotel hücrelerinde, monositlerde ve lenfositlerde eksprese olur, fakat proinflamatuvar sitokinler ekspresyonunu etkilemez. ICAM-1'den farklı olarak iki Ig

benzeri bölge içerir. Mac-1 bağlanma bölgesi o bölgesi olmadığından bulunmamaktadır.

2.3.3.3. ICAM-3 (İntra selüler adhezyon molekülü-3) (CD50)

Endotel hücrelerinde bulunmayıp yalnızca lökositlerde bulunur ve T-lenfositlerin adhezyonunda rol alır. ICAM-1'e yapısal olarak çok benzer, tek farkı üçüncü Ig bölgesine Mac-1 bağlanmaz.

2.3.3.4. ICAM-4 (İntra selüler adhezyon molekülü-4)

Eritrositlere özgüdür.

2.3.3.5. ICAM-5 (İntra selüler adhezyon molekülü-5)

Beyne özgüdür (31).

2.3.3.6. VCAM -1 (Vasküler hücre adhezyon molekülü-1)

VCAM-1, aktif endotel hücrelerinde, doku makrofajlarında, dendritik hücrelerde ve kemik iliği fibroblastlarında bulunur. T lenfositlerin, monositlerin ve eozinofillerin endotel hücrelerine adhezyonu ile görevlidir (5). Lökositlerde bulunan VLA grubu integrinler ile ilişkiye girer. Endotel hücreleri, antijen sunan hücreler, kemik iliği stromal hücreleri, embriyonik doku ve sinoviyal dokuda eksprese olurlar. İnflamasyon alanına lenfosit ve lökosit göçü ile lenfosit aktivasyonu ve ko-stimülasyonuna katılırlar (25).

2.3.3.7. Nöral hücre adhezyon molekülü (NCAM, CD56)

Nöral krest hücreleri, nöral hücreler, astrosit ve miyoblastta eksprese olur, embriyogenezde normal doku mimarisinin gelişimi ve hücre büyümesinde izlenen kontak inhibisyonuna katılırlar.

2.3.3.8. PECAM-1 (CD31) (Trombosit endotelyal adhezyon molekülü)

Trombosit endotel adhezyon molekülü-1(PECAM-1);CD31 ve endoCAM olarak da bilinen, 130 kilo dalton (kDa) ağırlığında immünoglobulin süper ailesinden

bir moleküldür (5 polimorfonükleer hücreler, monosit, trombosit, nötrofil ve endotel hücresi üzerinde eksprese olur).

2.3.3.9. LFA (Lökosit fonksiyonlu adhezyon molekülü)

Lökosit, eritrosit, endotel, epitelyal hücreler ve fibroblastlar üzerinden eksprese olurlar. Üç alt gruptan oluşurlar.

2.3.3.9.1. LFA- 1(Lökosit fonksiyonlu adhezyon molekülü-1)

Adhezyona bağlı lenfosit fonksiyonları için gerekli molekül olup antijenler yardımıyla T-hücre uyarılması, sitotoksik T-hücre fonksiyonu ve lenfositin endotele tutunması için gereklidir.

2.3.3.9.2. LFA-2 (CD2),(Lökosit fonksiyonlu adhezyon molekülü-2)

T-hücresi ve NK hücresi üzerinde eksprese olurlar, LFA-3'e bağlanarak T-hücresinin hedef hücreye adezyonu, T-hücre aktivasyonu ve ko-stimülasyonuna katılırlar.

2.3.3.9.3. LFA-3 (Lökosit fonksiyonlu adhezyon molekülü-3) (CD58)

Lökosit, eritrosit, endotel ve epitelyal hücreler, fibroblast üzerinde eksprese olurlar. CD2'ye bağlanarak, T-hücresinin hedef hücre ve antijen sunan hücreler ile ilişkisine, T-hücresinin eritrositler ile adhezyonuna (rozet oluşumu) aracılık ederler (28).

2.3.3.10. Junctional adhesion molecule (JAM)

Endotelde hücre-hücre komşuluğunda yer alan "junctional" adhezyon molekülleri (JAM)'de fonksiyonel olarak PECAM-1'e benzer (3). JAM endotelyal hücrelerde, hücreler arası kavşakta yapısal olarak bulunan bir moleküldür. JAM'ın monosit transmigrasyonunda önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (25).

2.3.4. Kaderinler

Kaderinler, moleküler ağırlıkları 120.000-140.000 kDa arasında değişen yapı ve fonksiyonları açısından Ca^{+2} 'a bağımlı transmembran proteinlerdir. Kaderinler üzerinde buldukları dokulara göre isimlendirilirler ve bugün bilinen beş kaderin grubu vardır (32).

2.3.4.1. E-kaderinler

Epitel hücrelerinde eksprese olurlar.

2.3.4.2. P-kaderinler

Plasentada eksprese olurlar ancak belirli dönemlerde diğer dokularda da buldukları bildirilmiştir.

2.3.4.3. V-kaderinler

Endotel hücreleri üzerinde eksprese olurlar.

2.3.4.4. N-kaderinler

Nöral dokularda ve kas hücrelerinde eksprese olurlar.

2.3.4.5. H-kaderinler

Kalp kasında eksprese olurlar (33).

2.3.5. Proteoglikanlar

Dört büyük adhezyon molekülü ailesine ilaveten son zamanlarda önem kazanmış bir gruptur. En önemli molekülü CD44 (Hermes-1, Pg p-1)'dür. Çok fonksiyonlu ve çok farklı şekillerde bulunabilen bir transmembran hyalürinat reseptörüdür. Endotel ve epitelyum hücresinde, kondrositlerde, fibroblast ve lökositlerde bulunur (26).

Tablo 2.1. Adhezyon molekülleri ve ligandlar (27)**Tablo 1.** Adezyon molekülleri ve ligandlar.

Adezyon molekülü	Dağılım	Ligandları	Fonksiyon
Selektinler			
E-selektin (CD62E)	Endotel hücresi	PSGL-1'de bulunan sialize, fukozile yapılar	Tutunma, yuvarlanma
P-selektin (CD62P)	Endotel hücresi, trombosit	PSGL-1'de bulunan sialize, fukozile yapılar	Tutunma, yuvarlanma
L-selektin (CD62L)	Lökosit	CD34, MAdCAM-1	Tutunma, yuvarlanma
Selektin ligandları			
E-selektin ligand (ESL-1)	Lökosit	E-selektin	Tutunma, yuvarlanma
P-selektin ligand-1 (PSGL-1/CD162)	Lökosit	E-, P-, L-selektin	Tutunma, yuvarlanma
İntegrinler			
β_1 ailesi			
$\alpha_4\beta_1$ (CD49/CD29) (VLA-4)	Lenfosit, bazofil, NK eozinofil	VCAM-1, fibronektin	Sıkı adezyon, migrasyon
β_2 ailesi			
$\alpha_L\beta_2$ (CD11a/CD18) (LFA-1)	Lökositler	ICAM-1, -2, fibrinojen	Sıkı adezyon, migrasyon
$\alpha_M\beta_2$ (CD11b/CD18) (Mac-1)	Nötrofil, monosit, NK, eozinofil	ICAM-1, fibrinojen, C3bi	Sıkı adezyon, migrasyon
$\alpha_X\beta_2$ (CD11c/CD18) (P150,95)	Miyeloid hücreler	ICAM-1, fibrinojen, C3bi	Sıkı adezyon
$\alpha_d\beta_2$ (CD11d/CD18)	Lökosit, eozinofil	VCAM-1, ICAM-3	Sıkı adezyon
β_3 ailesi			
$\alpha_v\beta_3$ (gpIIb/IIIa)(CD41/CD61)	Trombositler	Fibronektin, fibrinojen vWF, vitronektin, PECAM-1	Trombosit proliferasyonu migrasyonu
β_7 ailesi			
$\alpha_4\beta_7$ (LPAM-1)	Lenfosit, eozinofil, NK	MAdCAM-1, VCAM-1	Sıkı adezyon
İmmünglobulin süper ailesi			
ICAM-1 (CD54)	Endotel hücresi, lenfosit	LFA-1, Mac-1	Sıkı adezyon, migrasyon
ICAM-2 (CD102)	Endotel hücresi	LFA-1, Mac-1	Sıkı adezyon
ICAM-3 (CD50)	Endotel hücresi, lökosit	LFA-1	Sıkı adezyon
PECAM-1 (CD31)	Lökosit, platelet, endotel hücresi	PECAM-1, $\alpha_v\beta_3$	Sıkı adezyon, migrasyon
MAdCAM-1	Mukozal HEV	L-selektin, $\alpha_4\beta_7$	Yuvarlanma, sıkı adezyon
VCAM-1 (CD106)	Endotel hücresi	VLA-4, $\alpha_4\beta_7$	Sıkı adezyon
JAM-A	Endotel hücresi, lökosit	JAM-A, LFA-1	Sıkı adezyon, migrasyon
JAM-B	Endotel hücresi	JAM-B, JAM-C, VLA-4	Sıkı adezyon, migrasyon
JAM-C	Endotel hücresi, lökosit	Mac-1	Sıkı adezyon, migrasyon

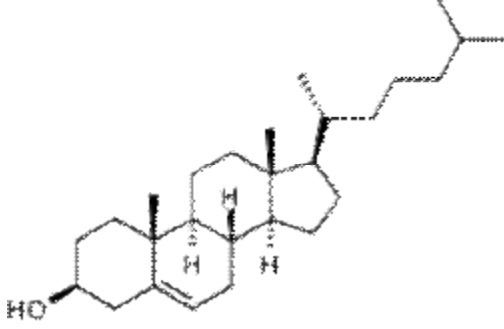
VLA-4: Very late antigen, LFA: Leukocyte function associated antigen, VCAM-1: Vascular cell adhesion molecule, ICAM-1, -2, -3: Inter-cellular adhesion molecule-1, -2, -3, PSGL-1: P-selectin glycoprotein ligand-1, LPAM-1: Lymphocyte-Peyer's patch adhesion molecule-1, MAdCAM-1: Mucosal addressin cell adhesion molecule, C3bi: Inactive form C3b, PECAM-1: Platelet endothelial cell adhesion molecule, HEV: High endothelial venules, JAM-A, -B, -C: Junctional adhesion molecule-A, -B, -C.

2.4. Hiperlipidemi

Son yıllardaki teknolojik gelişmeler sonucunda fiziksel aktivitelerin azalması ve hayvansal ürün tüketiminin artması insanlarda hiperlipidemi riskini de artırmıştır. Hiperlipidemi, lipid metabolizması bozukluğu sonucunda gelişmekte olup, plazma trigliserid ve lipoprotein düzeyinin yükselmesi olarak ifade edilmektedir. Yüksek seviyelerdeki LDL kolesterol, trigliserid, apoprotein B100, lipoprotein(a) ya da düşük seviyelerdeki HDL kolesterol ve apoprotein A1 hiperlipidemi oluşumunu yükselten faktörlerdir. Hiperlipidemi, damarların intima tabakası altında lipid birikimi sonucu, hücresel-humoral reaksiyonlara sebep olup ateroskleroz olarak bilinen vasküler bozukluğa neden olmaktadır. Ateroskleroz ise, koroner kalp hastalığına (KKH)'a zemin hazırlayan faktörlerin başında gelmektedir (1). Tüm dünyada önde gelen morbidite ve mortalite sebeplerinden olan kardiyovasküler hastalıkların patogeneğinde ateroskleroz önemli rol oynar. Ateroskleroz, etkilenen organın kan akımının azalmasına, oksijen ve diğer besin maddelerinden yoksun kalmasına neden olarak dokuda iskemi ya da infarktüse yol açar. Damar duvarında lipid depolanması ve ardından gelişen hücre proliferasyonu, aterosklerozdaki kan akımı azalmasının esas nedenidir. Plazmada yüksek oranda kolesterol, özellikle de LDL ve TG bulunması, bunun yanı sıra HDL'nin düşük olması, tütün kullanımı, hipertansiyon, diyabet, erkek cinsiyet, egzersiz eksikliği, obezite ve stres aterosklerotik kardiyovasküler hastalık için önemli risk faktörleridir (2).

2.4.1. Kolesterol

Kolesterol, hayvansal kökenli bir steroiddir; ilk kez 1775 yılında insan safra taşından izole edilmiş olup safrada bol miktarda bulunur. Kolesterol, lipid sınıfının büyük bir alt grubunu oluşturan steroidlerin bir üyesidir; molekül yapısı, steroid yapıda bir steran halkası içerir.

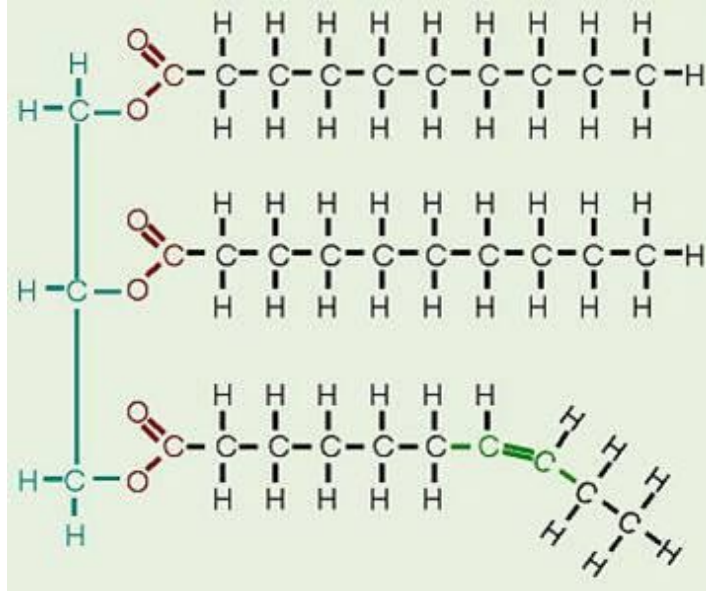


Şekil 2.5. Kolesterolün yapısı (34)

Kolesterol hücre membran bileşeni olmasından başka, steroid hormon, Vitamin D ve safra tuzlarının sentezinde de öncül molekül olup diyetle alındığı gibi (eksojen) vücutta da sentezlenir (endojen). İnsanlarda normal bir diyet 200-500 mg/gün kolesterol içerir. Kolesterol bağırsağa safra asitleri (800-1200mg/gün) ve dökülen bağırsak epitel hücreleri halinde (300 mg/gün) girer. Bu kolesterolün %30-60'ı geri emilir. Kolesterol biyosentezinin asıl merkezi karaciğer ve santral sinir sistemidir. Dokulardan emilmeyen kolesterol safra tuzları olarak bağırsaktan ve deriden atılır (35).

2.4.2. Trigliseridler (Triaçilgliseroller)

Her bir trigliserid molekülü, bir molekül gliserin ve üç molekül yağ asidinin esterleşmesinden meydana gelmiştir. Bütün bu şekildeki doğal yağlar trigliseridler diye adlandırılırlar ve bu yapılara nötral yağlar da denir. Yağ dokusundaki lipidlerin %95' i trigliseridlerdir (36).



Şekil 2.6. Trigliceridin yapısı (37)

Triaçilgliserol, başlıca karaciğer ve yağ dokusunda sentezlenir. Endojen triaçilgliserollerin büyük kısmı çok düşük dansiteli lipoproteinlerin (VLDL) bileşiminde, besinlerle alınan triaçilgliseroller ise şilomikron şeklinde genel dolaşıma katılmaktadır. LPL etkisi ile VLDL ve şilomikrondaki triaçilgliserollerden serbestleşen yağ asitleri, periferel dokular tarafından alındıktan sonra tekrar gliserolle esterleştirilerek triaçilgliserol halinde depolanır (38).

2.4.3. Lipoproteinler

Steroid hormonların ve safra asitlerinin ön molekülü olan kolesterol, diyetle alınabildiği gibi, % 10 – 20'si karaciğerde olmak üzere çeşitli vücut hücreleri tarafından da sentezlenebilir, bunun yanında hücre membranlarının yapısal komponentidir. Lipidler, plazmada taşınabilmeleri için bağlandıkları hidrofilik yapıdaki apoproteinler (Apo) ile lipoprotein denilen yapıları oluştururlar. Lipoproteinler ultrafiltrasyon yöntemi ile ayrımlarına göre:

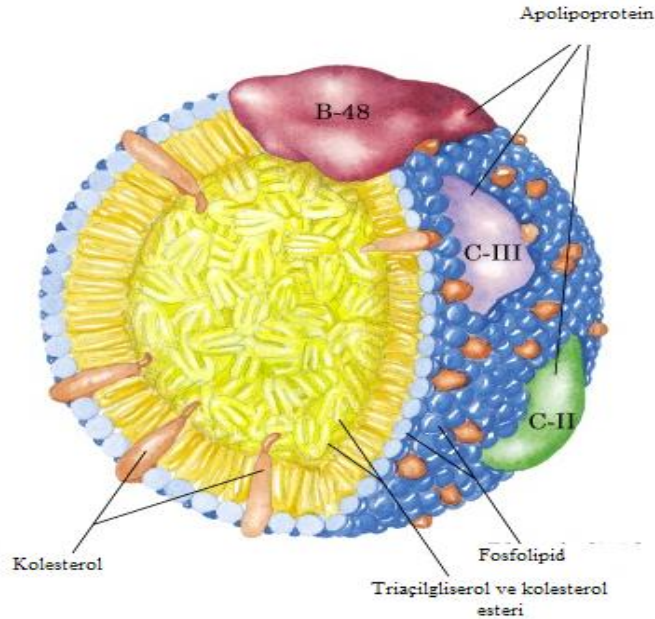
- 1.Şilomikronlar,
- 2.Çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL),
- 3.Ara dansiteli lipoproteinler (IDL),

4. Düşük dansiteli lipoproteinler (LDL),
5. Yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL),
6. Lipoproteina (Lp(a)) şeklinde adlandırılırlar.

Kolesterolün büyük bölümü LDL ile taşınmaktadır; endojen trigliseridler (TG) ise esas olarak VLDL ile taşınırlar. Kolesterolün ekstrahepatik dokulardan karaciğere tersine nakledilmesi işlemi ise HDL ile gerçekleştirilir (39).

2.4.3.1. Şilomikron

Şilomikronlar bağırsak mukoza hücrelerinde üretilir ve diyetle alınan trigliserid, kolesterol ve kolesterol esterlerini, lipidleri periferik dokulara taşırlar. Büyüklüğü 100-1000 nm arasında değişen yoğunluğu $<0.950\text{g/mL}$, elektroforetik mobilitesine göre incelendiğinde orjinde yer alan, plazmanın en büyük lipoprotein molekülü şilomikronlardır (40).

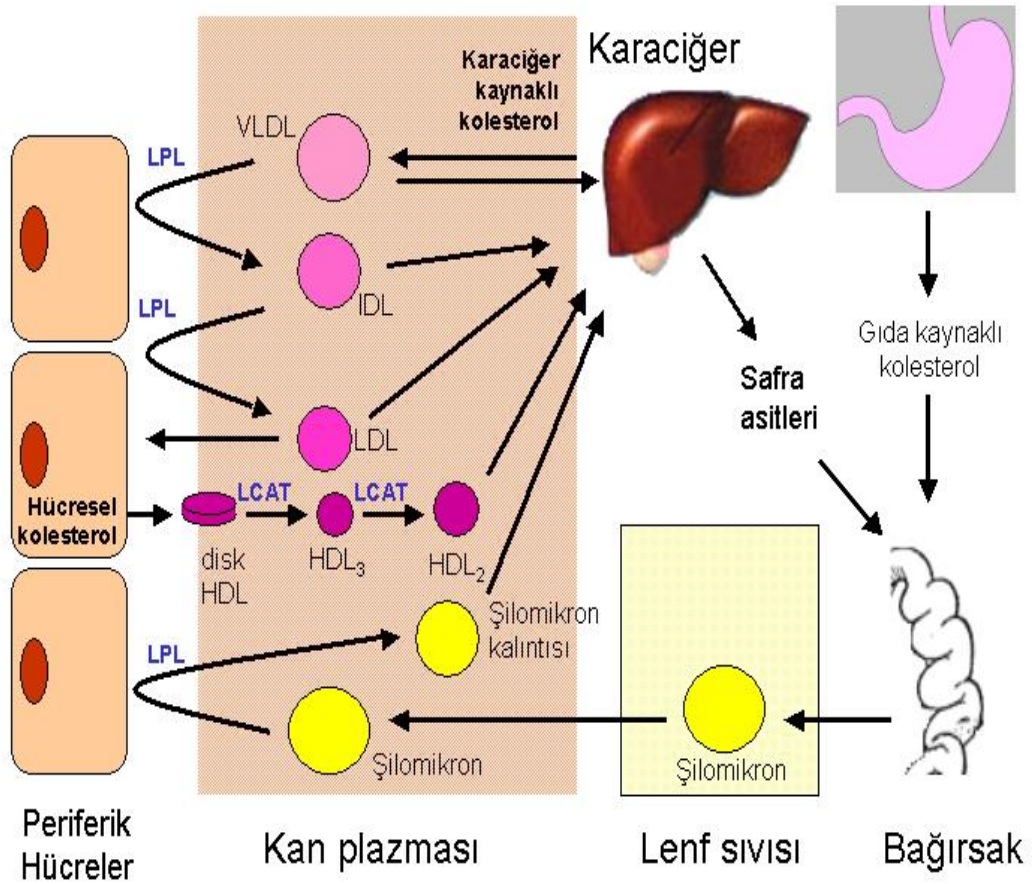


Şekil 2.7. Şilomikronun yapısı (41)

Şilomikronlar, plazma lipoproteinleri arasında yoğunluk olarak en küçük, boyut olarak en büyük lipoprotein grubunu oluştururlar. Yapısında bulunan

trigliserid ana komponent olup şilomikronların yaklaşık %90'ını, kalanını ise fosfolipid, kolesterol, kolesterol esterleri ve apolipoproteinler oluşturur.

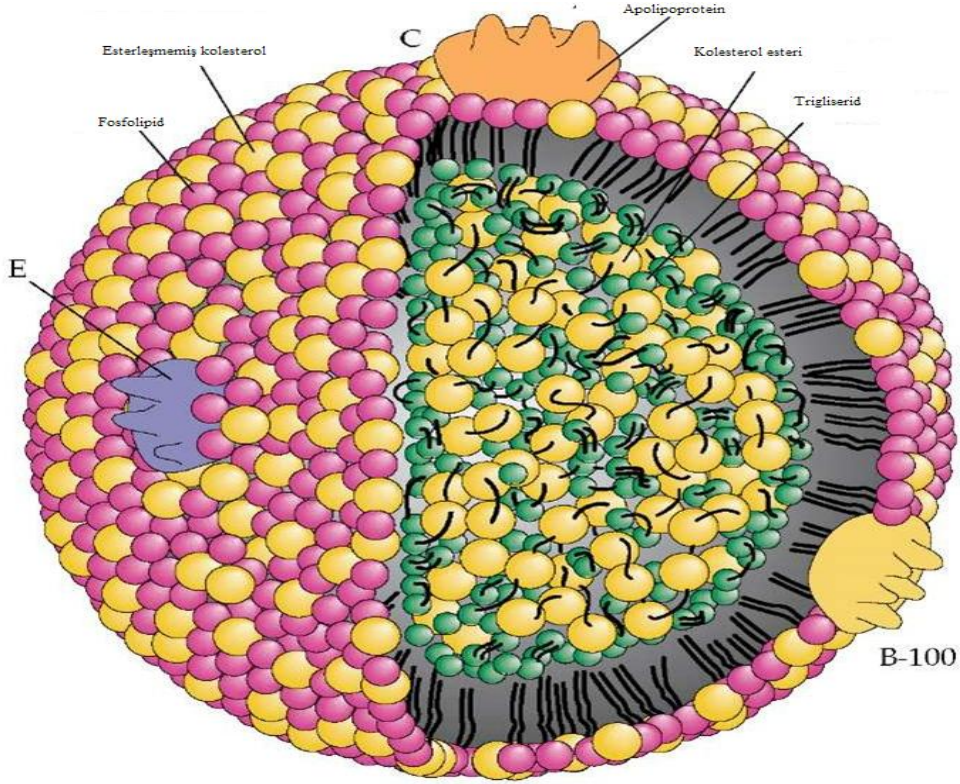
Epitelyum hücrelerinde oluşan şilomikronlar, ekzositozla lenf dolaşımına ve oradan duktus torasikus yolu ile kana aktarılırlar. Genel dolaşıma giren öncü şilomikronlar lenf ve kan dolaşımında HDL'den aktarılan Apo C-II, Apo C-III ve Apo E apolipoproteinlerini alarak olgun şilomikron haline dönüşürler (42).



Şekil 2.8. Şilomikron metabolizması (43)

2.4.3.2. Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein (VLDL)

Yapı ve kompozisyon olarak şilomikronlara benzemekle birlikte trigliserid içeriği daha az, kolesterol, fosfolipit ve protein içeriği daha fazladır. Partikül büyüklüğü 25-100 nm arasındadır, yoğunluğu <1.006 g/mL ve elektroforezde pre- β mobilitesi göstermektedir. Yapısında Apo C, Apo E ve Apo B-100 bulunmaktadır.



Şekil 2.9. VLDL nin yapısı (44)

VLDL ve şilomikronlar arasındaki başlıca farklar, sentez yeri ve taşıdıkları trigliseridlerin türüdür (45). VLDL, en çok karaciğerde sentezlenir, başlıca görevi açlıkta dokular için gerekli endojen kaynaklı lipitleri taşır, ancak bazı VLDL'ler ince bağırsakta sentezlenir ve safra kökenli yağ asitleri ile endojen kolesterolün yeniden emiliminde rol alırlar. Aşırı karbohidrat alımına bağlı olarak karaciğerde endojen yağ asitlerinin sentezi ve karaciğere serbest yağ asitlerinin giriş hızının fazlalaştığı durumlarda VLDL sentezinde artış görülür (46). Fonksiyonları trigliseridleri karaciğerden periferik dokulara taşımaktır. VLDL'ler dolaşımında birçok yapısal değişikliğe uğrarlar. Trigliseridler lipoprotein lipaz enzimi tarafından yıkılır, bu durum VLDL'nin boyutlarının küçülmesine ve daha yoğun olmasına neden olur. C ve E apolipoproteinlerinden oluşan yüzey bileşenleri HDL'ye transfer edilir. Son olarak, kolesterol esterleri HDL'den VLDL'ye transfer edilir. Bu değişikliklerden sonra VLDL, plazmada LDL'ye dönüştürülür. (47,48).

2.4.3.3. IDL

Plazma konsantrasyonu çok düşüktür. VLDL metabolizmasında bir ara ürün olarak tanımlanır. Partikül büyüklüğü ortalama 25-30 nm olup yoğunluğu 1.006-1.019 g/mL arasındadır. Elektroforezde yavaş pre- β mobilitesi gösterir, başlıca protein yapı taşları Apo B-100 ve Apo E'dir. Karaciğer tarafından temizlenir ya da hepatik lipazın etkisi ile LDL'ye dönüşerek katabolize olur (49).

2.4.3.4. Düşük Dansiteli Lipoprotein (LDL)

LDL'nin asıl görevi periferel dokulara kolesterol sağlamak olup bu işlevi hücre membranlarından serbest kolesterolü boşaltarak yaparlar. Kolesterol bütün hücrelerin membranında bulunur, dolayısıyla her hücrenin membran yapısı için kolesterole ihtiyaç vardır. Kolesterol hücre dışı kaynaklardan elde edilebilir. LDL'nin dokulara taşınmasında en büyük rolü, dokudaki reseptörle etkileşen Apo B-100 oynar. LDL dokulara endositozla reseptör aracılığı ile alınır. LDL'yi alan başlıca dokular; karaciğer, adrenal dokular ve yağ dokularıdır. Endositoza uğramış hücre membranındaki LDL reseptörleri LDL partiküllerini hücre içine alır. Lizozomlardan gelen asit karekterli lipazlarla LDL parçalanır ve içinde bulunan kolesterol serbestleşir. Bu kolesterolün bir kısmı membran yapısını yenilemek üzere membran yapısına birleşir. Kolesterolün fazlası "açıl KoA kolesterol aciltransferaz" aracılığı ile tekrar esterleşerek hücrede depo edilir. Bu arada LDL içinde bulunan apoproteinler de hidrolize olur ve serbestleşen amino asidler hücre içindeki amino asid havuzuna girerler (50).

LDL, VLDL'den daha az trigliserid içerir, ancak kolesterol ve kolesterol ester düzeyi daha yüksektir. LDL yaklaşık %75 lipid (%35 kolesterol esteri, %10 serbest kolesterol, %10 trigliserid ve %20 fosfolipid) ve %25 proteinden oluşur. Apo B-100 eser miktardaki Apo E dışında gerçekte bu partiküllerde bulunan yegâne proteindir (51).



Şekil 2.10. LDL nin yapısı (52)

Çoğu laboratuvarında total kolesterol, HDL ve trigliseridler ölçülmekte, bundan sonra epidemiyolojik çalışmalar için önerilen Friedewald formülü ile LDL hesaplanmaktadır. Özellikle ekonomik olması nedeniyle dünyada en yaygın olarak kullanılan yöntemdir (53).

Friedewald formülü:

$$\text{LDL kolesterol} = \text{Total kolesterol} - [\text{HDL kolesterol} + (\text{trigliserid}/5)]$$

Plazma trigliserid seviyesinin 400 mg/dl' nin üzerinde olduğu durumlarda LDL düzeyi bu formülle doğru şekilde hesaplanamaz. Bu durumda ardışık ultrasentrifüj gibi yöntemlerle ayrı ayrı ölçüm yapmak gerekir.

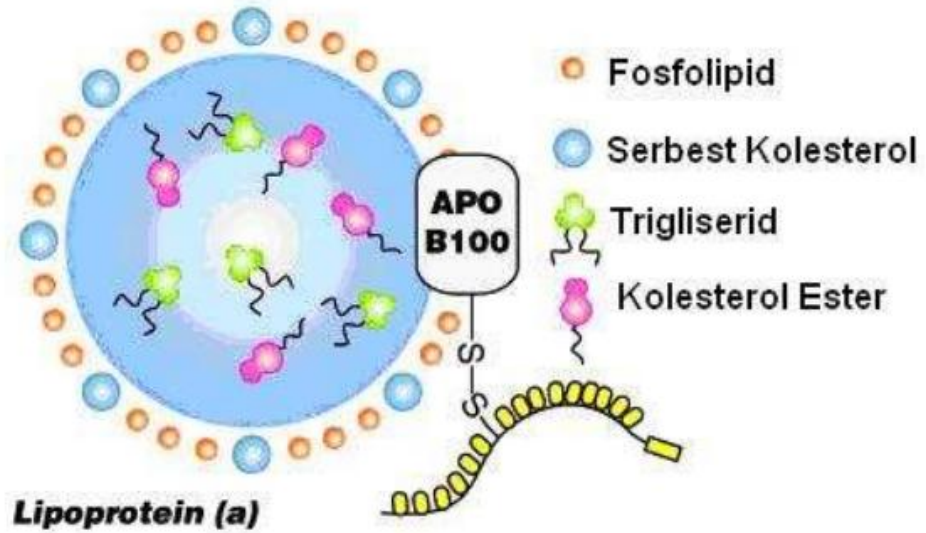
2.4.3.5. Yüksek Dansiteli Lipoprotein (HDL)

HDL, 7-10 nm'lik çapıyla lipoproteinlerin en küçük olanıdır. HDL, plazma total kolesterolünün %20-35'ini taşıyan bir lipoprotein olup, yapısının %50'sini protein, %50'sini lipitler oluşturur. HDL'nin lipit çekirdeğinde kolesterol esterleri yer alır. Major apoproteinleri Apo A-I ve Apo A-II'dir, az miktarda da Apo E ve Apo C'leri de içerir.

HDL karaciğerde sentezlenir ve kan dolaşımına salınır. Fonksiyonları; apo C-II'nin dolaşımdaki bir deposu olarak görev alırlar, ekstrahepatik dokulardan serbest kolesterolü uzaklaştırırlar ve esterleştirirler, kolesterol esterlerini VLDL'den LDL'ye yer değiştirme reaksiyonuyla transfer ederler ve kolesterol esterlerini karaciğere taşırlar. HDL karaciğerde yıkılır ve ekstrahepatik dokulardan topladığı kolesterol salıverilir. Bu kolesterol ya tekrar lipoproteinlere girer veya safra asidine dönüşür veya safrayla atılır (47,48).

2.4.3.6. Lipoprotein (a)

Yeni risk faktörlerinden olup karaciğerde sentezlenir. Majör lipid içeriği kolesteroldür ve iki komponenti vardır. Bunlardan birincisi LDL'ye benzer ve apo B100 molekülü ile bağlıdır, diğeri apo (a) glikoprotein molekülüdür. Lipoprotein (a)'nın önemi plazminojen, faktör VII, protrombin ve plazminojen aktivatörüne yapısal benzerliğinden kaynaklanır. İn vitro çalışmalar lipoprotein (a)'nın aterogeneizde kolesterol kavraması yoluyla direkt olarak ve fibrinolizi inhibe etmek suretiyle de indirekt olarak rol oynadığını göstermiştir (44).



Şekil 2.13. Lipoprotein a nın yapısı(56)

2.4.4. Homosistein

Homosistein, protein yapısında olmayan sülfürlü bir aminoasittir. Bu aminoasit, diyetle alınan ve endojen proteinlerden sentezlenen esansiyel bir aminoasit olan metiyoninin metil grubu alınmış bir türevidir. Remetilasyon yoluyla tekrar metiyonine dönüşerek ya da transsülfürasyon yoluyla sistein, metilmalonik ve 2-metilsitrik aside dönüşerek metabolize edilir (57).

Homosisteinin damar toksisitesi birbirinden farklı birçok etmenin katılımıyla ortaya çıkar. Bunlar şu şekilde sıralanmaktadır:

1. Homosisteinin homosistin, karışık disülfidler ve homosistein tiyolaktona otooksidasyonu esnasında, hidrojen peroksit, süperoksit ve hidroksil radikali gibi çeşitli sitotoksik reaktif oksijen türlerinin oluşumunu artırır. Bunlar lipid peroksidasyonunu uyararak düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oksitlenmesine, dolayısıyla trombosit aktivasyona ve kümelenmesine yol açar. Endotelden serbestleşen NO, süperoksit radikaliyle birleştiği için tüketilir. Sonuçta NO aracılığıyla gerçekleşen endotel bağımlı vazodilatasyon bozulmuş olur

2. Hiperhomosisteinemi, endotelin antitrombotik özelliğini protrombotik yönde değiştirir.

3. Homosistein damar düz kasındaki hücre büyümesini artırır. Hücre dışındaki matriks bileşenlerinin birikimini hızlandırır.

4. Damar düz kas hücresindeki kalsiyum salınımı ve damar reaktivitesi sonucu hiperhomosisteinemi artar (58).

Bu etkilerin neticesinde pıhtılaşma ve pıhtı yıkımı arasındaki denge pıhtılaşma yönüne doğru kayar ve sonucunda tromboz ve ateroskleroz oluşum riski artar.

2.4.5. Hiperlipidemilerin sınıflandırılması

Literatüre bakıldığında hiperlipidemilerin sınıflandırmasıyla ilgili birçok yaklaşım olduğu görülmektedir. 1960'lı yıllarda Frederickson ve arkadaşları tarafından lipoproteinlerin elektroforetik mobilitesine göre dizayn edilen Fredrickson sınıflandırması, 1970'de Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından revize edilerek, halen kullanılmakta olan son şeklini almıştır (59). Ancak Fredrickson sınıflandırmasının klinik açıdan yetersizliği, altta yatan genetik bozukluğu ve

fizyopatolojiyi yansıtmaması nedeniyle, daha sonra birçok sınıflandırma geliştirilmiştir. Halen ideal bir sınıflandırma sistemi olmamakla birlikte plazmada artan lipit fraksiyonuna göre sınıflandırma sistemi günümüzde ilgi görmektedir. Son yıllarda moleküler tanı yöntemlerindeki hızlı ilerlemeler sayesinde ise özellikle primer hiperlipidemi vakalarında genetik tanının ön plana çıktığı görülmektedir.

Sık kullanılan sınıflandırma sistemleri şöyle özetlenebilir;

- Altta yatan hastalık veya nedene göre:

1. Primer (Genetik, Ailesel)

2. Sekonder

a) Endokrin-Metabolik

b) Non-Endokrin

3. Sporadik

- Lipoproteinlerin elektroforetik mobilitesine göre
- Patofizyolojik özelliklere göre
- Plazmada artan lipit fraksiyonuna göre

2.4.5.1. Altta yatan hastalık veya nedene göre

Dislipidemiler yaygın olarak, primer veya sekonder dislipidemi olarak sınıflandırılmaktadır.

2.4.5.1.1. Primer vakalar

Genellikle lipoprotein metabolizmasında rol oynayan proteinlerin işleyişini bozan genetik bozukluklar sonucu ortaya çıkar (Tablo 2.).

Tablo 2.2. Primer hiperlipidemiler (60)

Hastalık	Mutant Gen	Kalıtım	Sıklık	Artan Lipoprotein	Klinik
Alleli şilomikronemi (Tip I)	LPL Apo CII	OR	1/10 ⁶	TG↑↑	Erüptif ksantoma, HSM, pankreatit
Alleli Hiperkolesterolemi (Tip IIa)	LDL reseptörü	OD	1/500 (Heterozigot) 1/10 ⁶ (Homozigot)	LDL	KKH, Tendon ksantoma Ksantelezma
Alleli defektif apoB-100 (Tip IIa)	Apo B	OD	1/1000	LDL	KKH, Tendon ksantoma
OD Hiperkolesterolemi (Tip IIa)	PCSK9	OD	?	LDL	Ksantom, KKH
OR Hiperkolesterolemi (Tip IIa)	ARH	OR	1/10 ⁶	LDL	KKH, Tendon ksantoma
Sitosterolemi (Tip IIa)	ABCG5-8	OR	1/10 ⁶	LDL	KKH, Tendon ksantoma
Poligenik Hip.kolesterolemi (Tip IIa)	Poligenik		1/30(?)	LDL	KKH, ksantom yok
Alleli kombine hiperlipidemi (Tip IIb)	?	OD	1/200	LDL,TG	KKH
Alleli disbetalipoproteinemi (Tip III)	Apo E	OD	1/10 ⁴	LDL,TG	Tüberoerüptif ksantom, periferik vasküler hastalık
Alleli hipertrigliseridemi (Tip IV)	?	OD	1/500	TG↑	± KKH
Alleli hipertrigliseridemi (Tip V)	LPL Apo CII	OD-OR	?	TG↑↑	Ksantoma ± KKH

I-Ailesel hiperkolesterolemi (Tip II hiperlipidemi)

1/500 oranında görülür. LDL-C reseptörü düzeyinde genetik bozukluk vardır ve otozomal kodominant geçişlidir. Tendon ksantomları ve erken yaşta ateroskleroz görülür. LDL-k seviyeleri 200-400 mg/dl arasındadır.

a) Poligenik hiperkolesterolemi

Endojen ve eksojen etkenler (kötü beslenme gibi) bir aradadır ve genellikle LDL-k düzeyleri 200-300 mg/dl arasındadır. TG seviyeleri normaldir, KKH riski normal kolesterol değeri olan bireylerden 2-3 kat daha fazladır.

b) Monogenik hiperkolesterolemi

En çok görülenler (olguların %5'inden azı), 19. kromozom defektlerine bağlı olup LDL-k'nin taşınması, bağlanması, hücre içine alınması, yeniden kullanımı ile ilgili genlerde mutasyon olmasıyla ilgilidir. Bu olguların heterozigot olanlarında LDL-k düzeyi 300-550 mg/dl arasındayken, homozigot olanlarında 500'den başlayıp 1000'li değerlere kadar çıkabilmektedir. Özellikle homozigot olgular çocuklukta ve gençlikte gelişen erken ateroskleroz ve komplikasyonlarıyla ortaya çıkabilirler.

Heterozigot olguların toplumda görülme sıklığı binde 1-2 iken, homozigot olguların görülme sıklığı milyonda 1 civarındadır.

II-Ailesel kombine hiperlipidemi

Sıklığı 1/200 civarında olup, otozomal dominant kalıtmı, sıklıkla total kolesterol düzeyinin 250-350 mg/dl arasında ve TG düzeyinin 250-500 mg/dl arasında olduğu lipid fonksiyon bozukluğudur.

III-Ailesel hipertrigliseridemi (Tip IV hiperlipoproteinemi)

Sıklığı 1/400-500'dür. Sıklıkla metabolik sendrom tablosunda görülür. Otozomal dominant geçişlidir ve VLDL-k ve TG yüksek, HDL-k düşüktür.

IV-Ailesel disbetalipoproteinemi (Tip III hiperlipidemi)

Yaklaşık olarak 1/5000 sıklıkta ortaya çıkar, anormal apolipoprotein E2 seviyeleri vardır. TG ve total kolesterol değerleri 300-1000 mg/dl arasındadır. Lipoprotein elektroforezinde prebeta bandı genişlemiştir. Ksantomalar ve erken ateroskleroz görülebilir.

V-Ailesel şilomikronemi (Tip I hiperlipidemi)

Çok nadir karşılanan metabolik bir bozukluktur, lipoprotein lipaz veya Apolipoprotein C-II eksikliğinde ortaya çıkar. Genellikle hipertrigliseridemi veya kombine hiperlipidemi tablosu içinde görülür. Klinikte eruptif ksantomlar, hepatosplenomegali, pankreatit görülebilir.

VI-Lipoprotein (a) hiperlipoproteinemisi

Lipoprotein(a); antiplasminojen etkili, damar içi trombolizi inhibe edici etkisi olan bir apoprotein içerir, bu nedenle aterojenik etkili bir lipoproteindir. Lipoprotein(a) düzeyinin 30 mg/dl'den yüksek olmasının ateroskleroz riskinde artışa neden olduğu bildirilmiştir.

VII-Apo AI gen defekti

HDL-k'nın genetik düzeyde oluşumu, olgunlaşması ve yıkımı yanında özellikle plazma TG seviyelerinden oldukça fazla etkilenir. Apo AI gen defektinde üretim hatasından dolayı HDL-k düzeylerinde düşüklük vardır ve otozomal dominant geçişlidir.

VIII-Ailesel defektif apolipoprotein B-100

1/700-800 arasında bir oranda apolipoprotein B 100 (Apo B 100) eksikliğine bağlı hiperkolesterolemi olduğu bilinmektedir. Şu ana kadar Apo B 100 eksikliği olan vakaların hepsinin heterozigot olduğu bildirilmiştir. Homozigot olgularla ilgili bilgiler yetersizdir, bu olgularda da total kolesterol düzeyleri 250-550 mg/dl arasındadır.

2.4.5.1.2. Sekonder dislipidemi

Tablo 2.3. Başlıca Sekonder Dislipidemi Nedenleri ve Klinik Bulguları (61,62)

Sekonder neden	Klinik bulgular
Obezite	Artmış TG, azalmış HDL
Diabetes mellitus	Artmış TG ve LDL, azalmış HDL
Kronik böbrek yetmezliği	Artmış TG ve LDL, azalmış HDL
HIV (antiretroviral tedavi sırasında)	Artmış TG, TK ve HDL
Hipotiroidi	Artmış TG, TK ve HDL
Nefrotik sendrom	Artmış TK ve LDL
Obstrüktif karaciğer hastalığı	Artmış TK
Glikojen depo hastalığı	Artmış VLDL
Akut hepatit	Artmış VLDL
İlaçlar	Çok değişken

2.4.5.1.3. Sporadik

Hiperlipidemiye neden olacak hiçbir bulgunun mevcut olmadığı vakalar, hastanın klinik tablosuna göre sporadik veya poligenik olarak sınıflandırılabilir (59).

2.4.5.2. Lipoproteinlerin elektroforetik mobilitesine göre

1972 yılında dünya sağlık örgütü (WHO) tarafından kabul gören Fredericson sınıflandırması aşağıda tablolarda gösterilmektedir (63).

Tablo 2.4. Frederickson sınıflandırması (59)

Tip	Elektroforez	Laboratuar Bulguları	Mekanizma
I	Şilomikron artışı	Yüksek TG, Düşük HDL	LPL veya Apo CII eksikliği/yokluğu
IIa	Pre-Beta artışı	Yüksek LDL	Azalmış LDL katabolizması Reseptör defekti, poligenik
IIb	Pre-Beta ve Beta artışı	Yüksek LDL ve VLDL	Artmış VLDL üretimi Bozulmuş LDL katabolizması
III	Geniş Beta bandı	Yüksek Kolesterol ve TG	Anormal ApoE Bozulmuş IDL katabolizması
IV	Pre-Beta artışı	Yüksek VLDL Sıklıkla düşük HDL	Bozulmuş VLDL katabolizması Diyetle aşırı alım
V	Şilomikron ve Pre-Beta artışı	Yüksek TG ve VLDL, Düşük HDL	Azalmış LPL aktivitesi VLDL aşırı üretimi



Photo from the U.S. National Library of Medicine.

Dr Fredrickson, shown here in 1969, changed our understanding of lipid metabolism and pathologies.

Şekil 2.14. Dr. Donald Sharp Fredrickson (63)

•Fredrickson fenotip I

Serum şilomikron konsantrasyonu ve belirgin olarak trigliserid yüksekliği mevcuttur. Eğer hipertrigliseridemi 2000 mg/dl'yi aşarsa vücudun belirli bölgelerinde ksantomlar oluşabilir, retinada lipid birikimi olabilir, hastalarda ayrıca pankreatit, hepatomegali ve splenomegali görülebilir. Tedavi için düşük yağ diyetli beslenme önerilmektedir.

•Fredrickson fenotip IIa

Serum LDL, trigliserid ve apolipoprotein B seviyeleri de %90 üstünde olabilir.

• **Fredrickson fenotip IIb**

Serum LDL ve VLDL konsantrasyonları belirgin olarak yükselmiştir, total kolesterol, trigliserid ve apolipoprotein B düzeyleri de %90 üzerinde olabilir.

• **Fredrickson fenotip III**

Serum VLDL artıkları ve şilomikron konsantrasyonları belirgin olarak artmıştır. Total kolesterol ve trigliserid düzeyleri %90 üzerindedir.

• **Fredrickson fenotip IV**

Serum VLDL konsantrasyonları belirgin olarak artmış olup düşük HDL düzeyiyle seyreder. Total kolesterol ve trigliserid düzeyleri %90 üzerinde olabilir.

• **Fredrickson fenotip V**

Serum VLDL ve şilomikron düzeyleri belirgin olarak artmış olup trigliserid düzeyleri %99 üzerindedir (64, 65).

Dislipidemi tanısında en az total kolesterol, trigliserid ve HDL-C düzeyleri ölçülmeli lipoprotein analizi en az 12-15 saatlik açlığı takiben yapılmalıdır. Aksi takdirde özellikle trigliseridlerle ilgili parametrelerde yanlış sonuçlar elde edilebilir. Dislipidemi, tanım olarak serum total kolesterol, LDL-C, TG, apo-B veya lipoprotein (a) düzeyinin %90 üzerinde, HDL-C'ün ise %10 altında olmasıdır. Düşük HDL ve yüksek LDL kolesterol değerleri özellikle artmış ateroskleroz riskini beraberinde getirmektedir. LDL ve VLDL'den farklı olarak HDL antiaterojenik etki gösterir; kan akışkanlığını artırır, ters kolesterol transportunu sağlar, endotel fonksiyonuna yardımcı olur, tromboz gelişimini önler. HDL düzeyinin 75 mg/dL'nin üzerinde olması uzun yaşam sendromu ile ilişkilidir. Ayrıca total kolesterolün HDL'ye oranı da mutlaka değerlendirmede göz önüne alınması gereken bir ölçüttür. Bu oran erkeklerde 6.4'ün, kadınlarda ise 5,6' nın üzerinde ise riskin arttığı belirlenmiştir. Normalde bu oranın 3.5-4.0 arasında olması idealdir.

Hipertrigliseridemi de artmış kardiyovasküler risk ile ilişkilidir. Trigliseridler apolipoprotein C-III'ten zengin olduklarından aterojenik özellik gösterirler ve bununla birlikte koagülasyon eğilimini arttırıp kan akışkanlığını azaltırlar (66).

2.4.5.3. Patofizyolojik özelliklere göre

- i. Yapım artışı (ailevi kombine hiperlipidemi, ailevi hipertrigliseridemi)
- ii. Plazma klirens defekti (ailevi hiperkolesterolemi, lipoprotein lipaz eksikliği)
- iii. Yapım artışı+plazma klirens defekti (Tip V hiperlipoproteinemi)(68)

2.4.5.4. Plazmada artan lipid fraksiyonuna göre

Hiperlipidemilerin sınıflandırılmasında kullanılan güncel yaklaşım, daha kolay ve tedavi açısından daha öz olan, plazmada artış gösteren lipid fraksiyonuna göre yapılan sınıflandırma sistemidir. Bu sistemde hiperlipidemiler; kolesterol artışı, trigliserid veya ikisinin birden artışı ile seyreden tipler olmak üzere 3 sınıfta incelenmektedir. (60,61)

Tablo 2.5. Hiperlipideminin plazmada artan lipid fraksiyonuna göre sınıflandırılması

Hiperkolesterolemi	Hipertrigliseridemi	Mikst hiperlipidemi
1. Ailesel hiperkolesterolemi	1. Ailesel şilomikronemi	1. Ailesel kombine hiperlipidemi
2. Ailesel defektif Apo-B100	2. Ailesel hipertrigliseridemi	2. Ailesel disbetalipoproteini
3. Otozomal resesif hiperkolesterolemi	3. Apo-CII eksikliği	3. Hepatik lipaz eksikliği
4. Otozomal dominant hiperkolesterolemi		
5. Ailesel Sitosterolemi		
6. Poligenik hiperkolesterolemi		

2.6. Ateroskleroz

Koroner arter hastalıklarının en önemli belirtisi; miyokardın geçici iskemisi olarak kabul edilen ve göğüs ağrısı olarak bilinen anjina pektoristir. 65 yaşın üstünde olan erkeklerin % 20'sinde, kadınların ise % 13'ünde rastlanan bir bulgudur. Bu ağrının altında yatan başlıca sebep bir veya daha fazla koroner arterlerde görülen daralmadır. Stabil angina (SA) veya unstabil angina (UA) olarak değerlendirilen anjina pektorisde hekim tarafından tedbir alınmaz ise, karşılaşılabilecek durum myokard infarktüsüdür (MI). MI; koroner arter tıkanması nedeni ile görülen irreversibl iskemi, yani kalp kasının ölümüdür. Sık rastlanan ani ölümlerin başlıca nedenlerinden biri olup bunun altında yatan sebep ise yavaş yavaş gelişen aterosklerozdur (3,67).

Aterosklerozu anlatmadan önce aterom plağın oluştuğu damar sisteminin yapısını inceleyelim. Sağlıklı kan damarlarında üç tabaka bulunur: En iç kısımda kanla temasta bulunan **intima** tabakası, lümenal yüzde bulunan tek sıralı endotel hücreleri ve endoteli media tabakasına bağlayan lamina elastika internadan meydana gelir. Ortada bulunan **tunika media**, düz kas hücrelerinden ve bu hücrelerin çevresinde bulunan kollajen, elastin lifler ve glikozaminoglikanlardan oluşur. En dışta ise, gevşek bir bağ dokusundan meydana gelen **tunika adventisya** mevcuttur.

Tunika intima

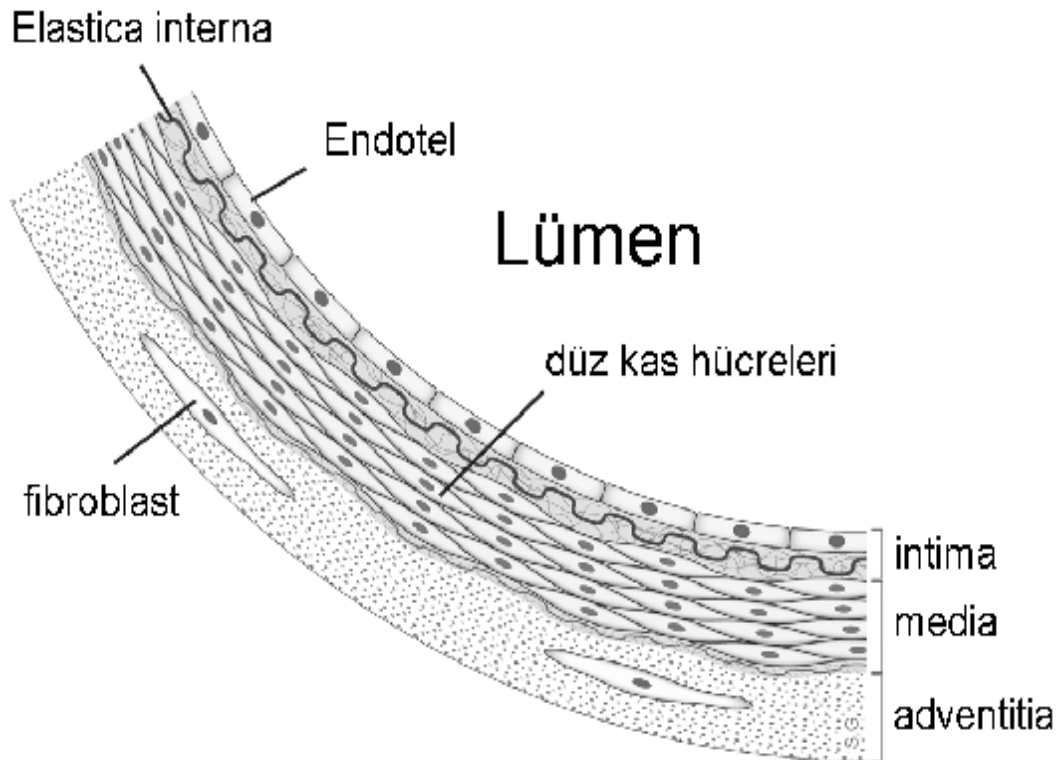
Tunica intima endotelyum tabakası, bunun bazal membranı ve az miktarda pirimitif mezenşimal hücreli bir bağ dokusu tarafından oluşur.

Tunika media

Arter duvarının en geniş tabakasıdır, tek bir hücre tipinden, vasküler düz kas hücresinden oluşmuştur. Vasküler düz kas hücresi arterin hücre kitlesinin büyük bir kısmını ve medianın bileşenlerini oluşturur. Düz kas hücreleri birbirlerine birleşme yeri kompleksleri ile yapışan uzun hücrelerdir. Bu hücreler dairesel tabakalar şeklinde organize olmuştur ve arter lümenini konsantrik daireler şeklinde çevrelerler.

Tunika adventisya

Çevredeki bağ dokusu stroması içine devam eden bir bağ dokusu yapısıdır. İç kısmı fibrözdür ve ön planda kollajen ve elastinden oluşur. Media tabakasından uzaklaştıkça bunların yerini gevşek bağ dokusu alır. Adventisya liflere ek olarak fibroblastlar, mast hücreleri, adipositler ve sempatik sinir uçlarını içerir. Normal arterde medianın iç kısmı ve tüm intima avaskülerdir (68).



Şekil 2.15. Kan damarının yapısı (69)

2.6.1. Ateroskleroz patofizyolojisi

Endotel hasarı, endotel tarafından vasküler adhezyon moleküllerinin ekspresyonuna yol açar. Monositler adhezyon moleküllerine bağlanarak subendotelyal bölgeye geçerler. İnflamatuar cevap, monositlerden oluşan makrofajlarla T lenfositlerin spesifik alt grupları tarafından oluşturulur ve bu hücreler aterogenezin her evresinde vardır. İnflamasyon ilerledikçe kandan göç eden ve lezyon içinde çoğalan makrofaj ve lenfositlerin sayısı artar. Bu hücrelerin

aktivasyonu, hidrolitik enzimler, sitokinler, kemokinler ve büyüme faktörleri gibi lezyon harabiyetini daha da artıran maddelerin salınımına neden olur ve sonuçta fokal nekroz gelişir. Bunun sonunda, LDL'de damar duvarını geçerek okside olur. Okside LDL sitokinlerin salınımında artmaya ve nitrik oksit (NO) üretiminin inhibisyonuna neden olur (6).

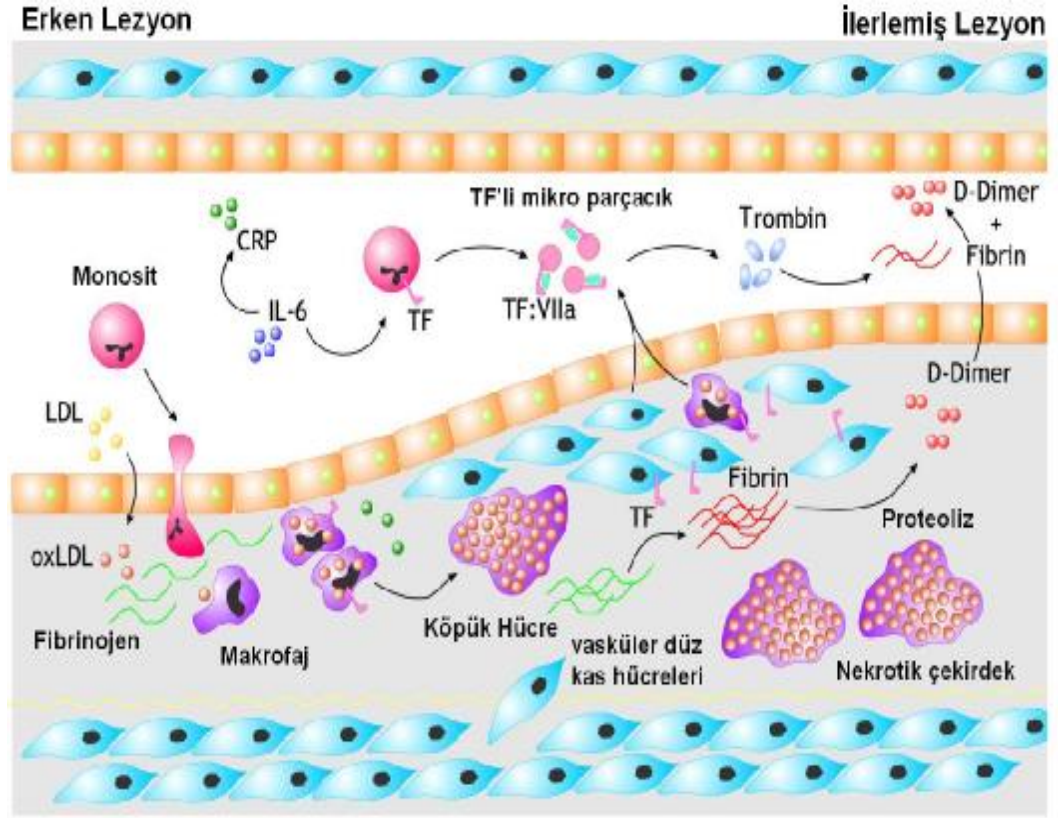
LDL oksidasyonu, LDL fosfolipidlerindeki poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonu ile başlamaktadır. Bunun sonucu, lesitin lizolesitine dönüşmekte ve Apo B kısmı scavenger reseptör tarafından tanınmasına yol açan kısmi yıkıma uğramaktadır ve yapısındaki ApoB'nin lizin kalıntılarının doğal LDL'de bulunmayan, malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonel (4-HNE) ile konjuge olmasıyla oksidasyona özgü lipid-protein kalıntıları oluşmaktadır. Bu olay hücrelerden süperoksit anyonlarının salınımı, membrana bağlı enzimlerin (fosfolipazların) LDL'ye direkt etkisi, hücre membranları içinde oluşan lipid peroksitlerin LDL'ye aktarılması veya hücre dışı proteoglikanlara bağlı LDL'nin metal iyonlarınca katalizlenen peroksidasyonu sonucu olabilir (70).

Endotel ve düz kas hücrelerinden salgılanan makrofaj koloni stimüle edici faktörler monositler üzerinde okside LDL'leri tanıyan çöpçü (scavenger) reseptörleri üretirler. T hücrelerinden salınan sitokinlerle monositler, makrofajlara dönüşür ve okside LDL'leri bu reseptörler aracılığıyla içlerine alarak aterosklerozun öncül hücreleri olan **köpük hücrelerine** dönüşürler (7).

Endotel hasarı devam ettikçe trombositlerde endotele yapışır, monosit adezyonu, düz kas hücre göçü, makrofaj ve düz kas hücrelerinde lipid birikimi devam ederek intimada köpük hücre birikimini artırır ve makroskopik olarak **yağlı çizgilenmelerin** görülmesine yol açar (8). Yağlı çizgilenmenin klinik önemi yoktur, ancak bazı yağlı çizgilenmeler, fibrin ve yağ içeren gerçek aterosklerotik plaklara dönüşürler. Bu durum hemodinamik zorlanma bölgelerinde olur (71). Endotelial hasar bölgesindeki vasküler düz kas hücreleri mediadan intimaya göç edip, proliferer olurlar. Endotelden, trombosit ve makrofajlardan salgılanan β fibroblast Büyüme Faktörü (β FBF) ve Trombositten Kaynaklanan Büyüme Faktörü (PDGF) düz kas hücre proliferasyonunu uyarırlar. Düz kas hücreleri tarafından kollajen ve ekstrasellüler matriks sentezlenir. Sonuçta lipid dolu çekirdeği endotelial yüzeyden

ayırır fibröz şapka oluşur ve plak stabilize olur (9). Başlangıçta arter duvarı kalınlaştıkça lümen çapı giderek büyür ve arter genişleyerek yeniden şekillenir. Belli bir noktadan sonra daha fazla genişleme olmaz, lezyon arter lumeni içine doğru büyür ve lumeni daraltarak kan akımını bozar. Oluşan plak, lipidden zengin bir çekirdek ve etrafını saran ekstrasellüler matriks proteininden oluşur. Fissür olan plakta fazla miktarda lipid gölcüğü ile köpük hücre infiltrasyonu vardır. Lipid gölcüğü trombositte zengin trombüs oluşumu için güçlü bir substrattır (10).

Özellikle ileri lezyonlarda oluşan hassas plaklar, lumen trombozuna yol açabilecekleri için tehlikelidir. Hassas plağın üzerine trombüs eklenmesi kararsız anjina, myokard infarktüsü, ani kardiyak ölüm gibi akut koroner sendromların en sık nedenidir. Plak yırtılma riski, plak büyüklüğünden çok plak tipine bağlıdır. Lipidden zengin ve yumuşak plaklar, kollojenden zengin ve sert plaklara göre daha hassas ve yırtılmaya daha yatkındırlar. Doku faktörü içeriğinin yüksek olması nedeniyle plaklar yırtıldıktan sonra daha trombojenik olurlar. Lipid birikimi, makrofaj infiltrasyonu, düz kas hücre eksikliği plağı kararsız hale getirerek yırtılmaya yatkın kılar. Otopsi verilerine göre sağlıklı bireylerin %9'u koroner arterlerde yırtılmış plak (trombüs olmadan) taşırken bu oran diyabetes mellitus ve hipertansiyon olan vakalarda %22'ye yükselmektedir. Hassas plaklar sık parçalanırlar. Ölümcül koroner arter hastalığında koroner arterlerde trombüs eklenen veya eklenmeyen birden fazla yırtık plak bulunur. Plak yırtılmasının en korkulan komplikasyonu arterin trombotik tıkanmasıdır. Akut koroner sendromlarda sorumlu trombüsün, %75'i trombojenik olan plak içeriğinin akan kana maruz kaldığı yerde plak yırtılması ile başlar ve parçalanan plaklar üzerinde trombüs oluşur (11).



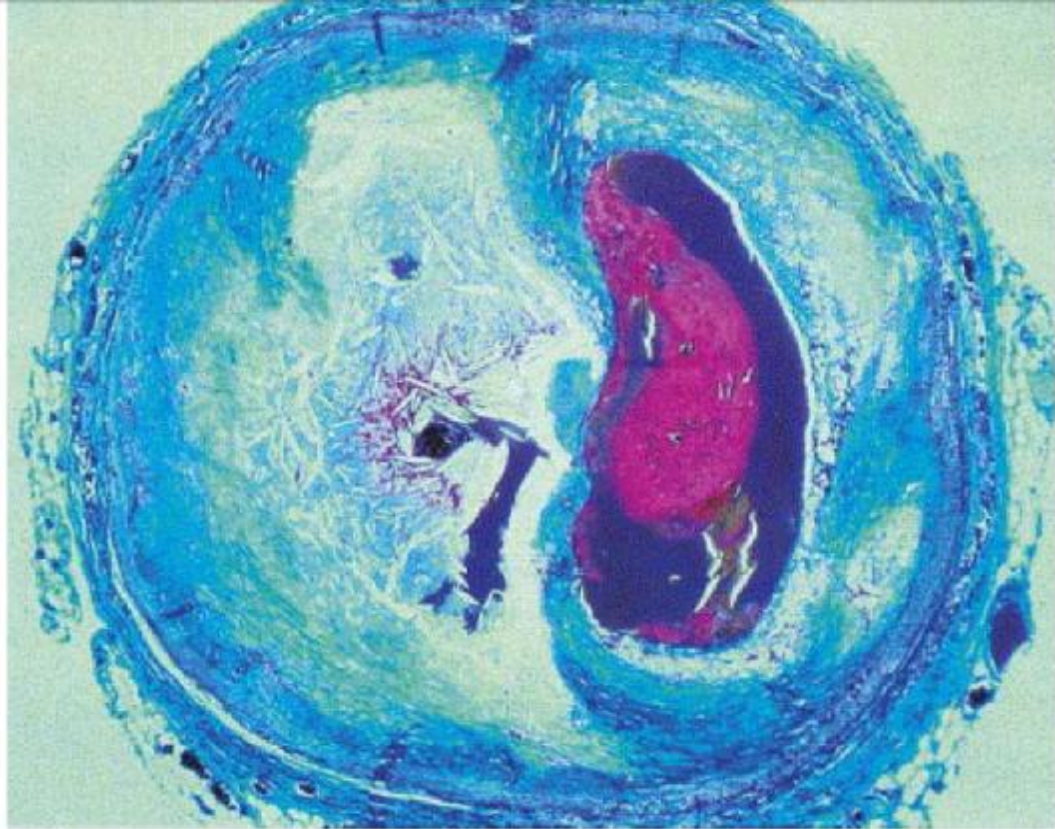
Şekil 2.16. Ateroskleroz gelişimi (72)

2.6.2. Aterotrombozis

Ateroskleroz ve arteriyel sistemde oluşturduğu lezyonun klinik manifestasyonlarına ve anatomik progresyonuna hemen her zaman trombozis eşlik etmektedir (intralumen, intraplak). Bundan dolayı yeni görüşte “Aterotrombozis” aterosklerozun yerine geçmiş durumdadır. Aterotrombozis sistemik bir arteriyel hastalıktır. En fazla, büyük ve orta büyüklükteki arterlerin intimasını tutmaktadır (karotis, aorta, koroner ve periferik arterler). Aterotrombotik plakların ana komponentleri:

- (1) konnektif doku- ekstrasellüler matriks içeriği; kollajen, proteoglikanlar ve fibronektin elastik fibriller;
- (2) kolesterol kristalleri, kolesterol esterler ve fosfolipidler;
- (3) monositlerden oluşmuş makrofajlar, T- lenfositler ve düz kas hücreleri;

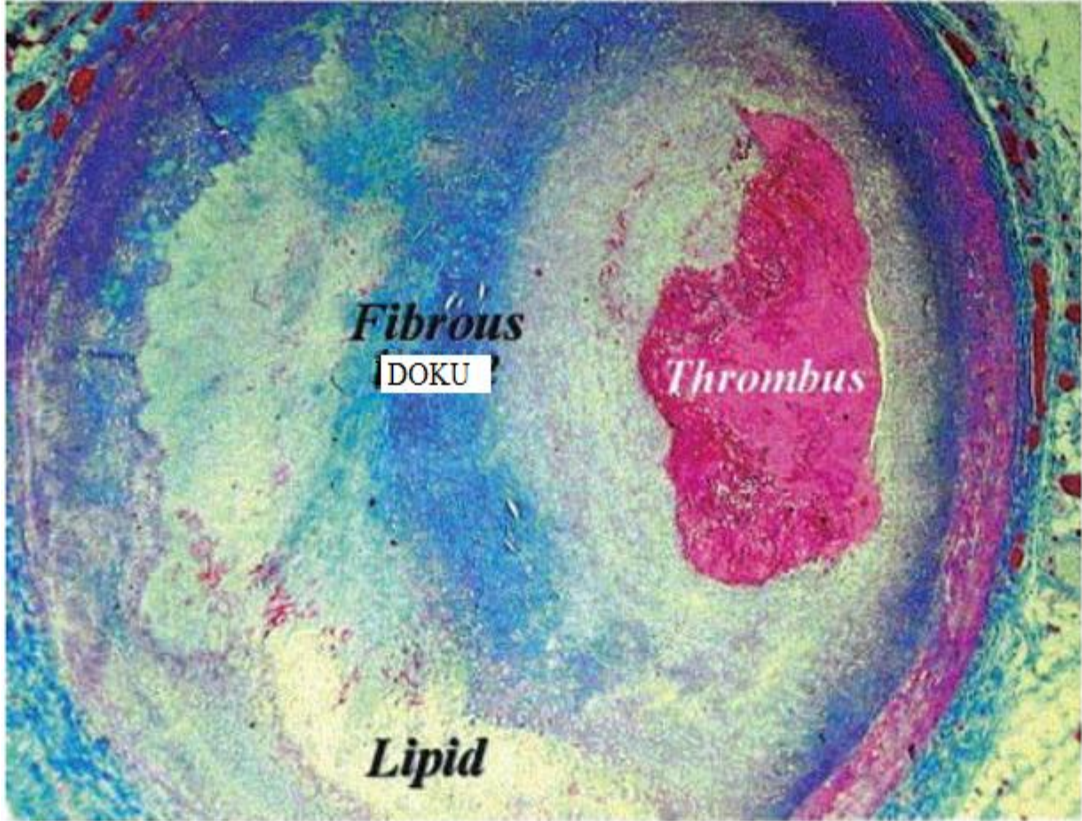
(4) trombotik materyal; trombositler ve fibrin depolanması ile farklı plaklarda bu komponentler değişen oranlarda meydana gelmiştir ve lezyonlara oldukça geniş bir spektrumda heterojenite sağlamaktadır. Bu komponentler primer olarak intimayı etkilemekte fakat mediya ve adventisyada da vasa vazorumların gelişimi dâhil sekonder değişiklikler olmaktadır. Ateroskleroz lipid nüvenin ekspansiyonuna doğru ve fibröz kapsülü yırtacak makrofajların plağın kenarlarına birikmesi ile progresyon göstermektedir.



Şekil 2.17. Yırtılmış plak üzerine oturmuş non-okluziv trombositten zengin trombus; ince kapsülün altında lipidden-zengin nüve. (Tiyokrom boyası; trombus-kırmızı, kollajen-Mavi ve lipidler-renksiz.) (73).

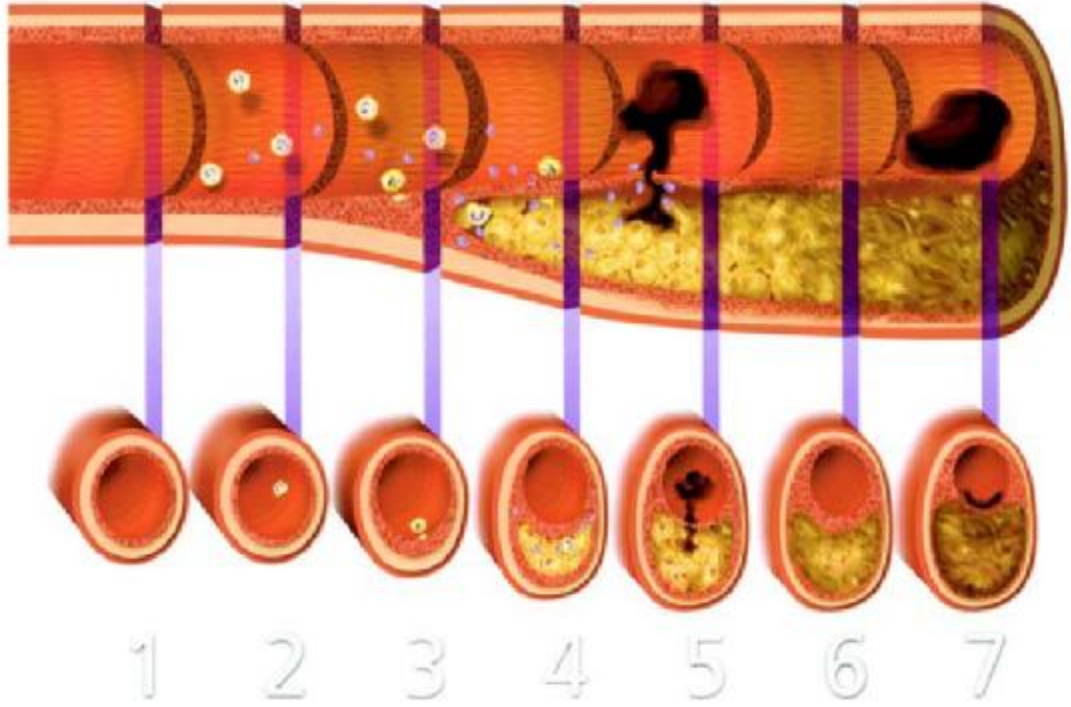
Plak rüptürünü tayin eden risk faktörleri; yükselmiş total kolesterol/HDL oranı, fibrö kapsülün kalınlığı (%95'i ≤ 64 micm). Buna göre patolojide hassas plağın tarifi; fibröz kapsülünün kalınlığı < 65 micm ve büyük miktarda makrofajlar ile infiltre olmuştur. İnsanda en sık koroner trombozu oluşturan odak plak rüptürüdür, ancak koroner trombus gelişen yerlerin %30-40'ında plak rüptürüne rastlanmamıştır.

Koroner trombozise uyan akut kardiyak-ölümlerin yaklaşık yarısında trombus yüzeysel erozyonun (proteoglikan düz kas hücrelerinden zengin plak) üzerinde görülmüş ve kapsül yırtılması saptanmamıştır. Aşınmış plaklar pre-menapozal kadınlarda sıklıkla görülmüştür. Aşınmış plaklar daha az stenotiktir ve daha düşük miktarda makrofaj infiltrasyonuna sahiptirler ve bunlarda kalsifikasyon insidensi çok daha az gösterilmiştir (şekil 19)



Şekil 2.18. Plak erozyonu; stenotik aterosklerotik plak üzerine oturmuş tıkaçıcı trombus; plak-trombus ara yüzeylerinde endotel kaybolmuştur, fakat aksi tarafta plak yüzeyi sağlam. (Trokrom boyası; trombus-kırmızı, kollajen-mavi) (73).

Sonuçta, arteriyel trombus meydana getiren iki farklı mekanizma vardır; plak rüptürü ve erozyon (şekil 18,19). “Yüksek-riskli” veya “hassas” kelimeleri, artmış trombozis riskli plakları tarif etmek için kullanılmıştır. Bu kelimelere ilave olarak “sorumlu- lezyon”, “iltihaplanmış ince-kapsüllü fibroateroma”, “kalsifik nodül”, “tromboze plak”, ve “hassas-hasta” kullanılmaktadır (74).



Şekil 2.19. Aterogenezis (75)

2.7. Alıç (*Crataegus*

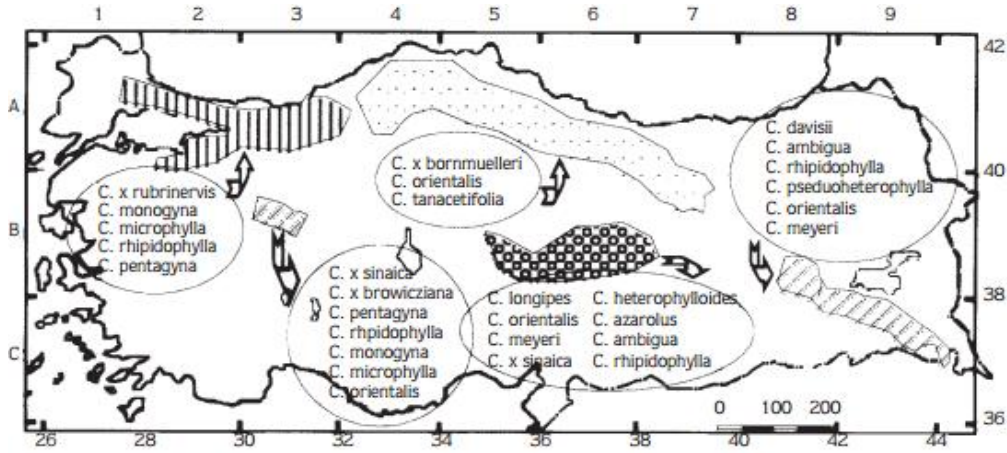
Crataegus cins ismi, Yunanca “kratos”tan gelir ve “güç” anlamındadır. Anadolu’da alıç, yemişen, geyik dikenli, kuş yemişi gibi isimleri ile tanınan *Crataegus* kışın yaprağını döken ağaç ya da çalılardır (76).

Alem: ***Plantae***

- ↳ Alt alem: ***Tracheobionta***
- ↳ Bölüm: ***Magnoliophyta***
- ↳ Sınıf: ***Magnoliopsida***
- ↳ Alt sınıf ***Rosidae***
- ↳ Takım: ***Rosales***
- ↳ Aile: ***Rosaceae***
- ↳ Cins: ***Crataegus***
- ↳ Tür: ***Crataegus***

Şekil 2.20. Alıcın sistematığı (77)

Alıç (*Crataegus*) genellikle kısa boylu kırmızı, pembe sarı veya beyaz renkli çiçeği ve 6-10 mm çapında, 1-3 tohumlu, lezzetli, meyveleri hafif ekşimsi ve meyveleri yenilebilen bir bitkidir. Gülgiller familyasına ait olup yaklaşık olarak 280 tane türünün olduğu sanılmaktadır. Kurak koşullara uyum sağlayabilen, kumlu taşlı topraklarda yetişebilen uzun ömürlü bir türdür. Alıç ağaçları Mayıs ayında çiçeklenir ve meyveleri sonbaharda toplanır. Türkiye'nin birçok bölgesinde özellikle dağlık alanlarda ve hatta toprağın fakir olduğu yerlerde bile fazla miktarda yetişebilmektedir (78). *Crataegus* L. (alıç) cinsi Rosaceae (Gülgiller) familyası üyesi olup ülkemizde yayılış gösteren toplam 24 türü bulunmaktadır (79).



Şekil 2.21. Türkiyedeki *Crataegus* spp nin dağılımı(76)

2.8. Alıçın biyoaktif bileşenleri

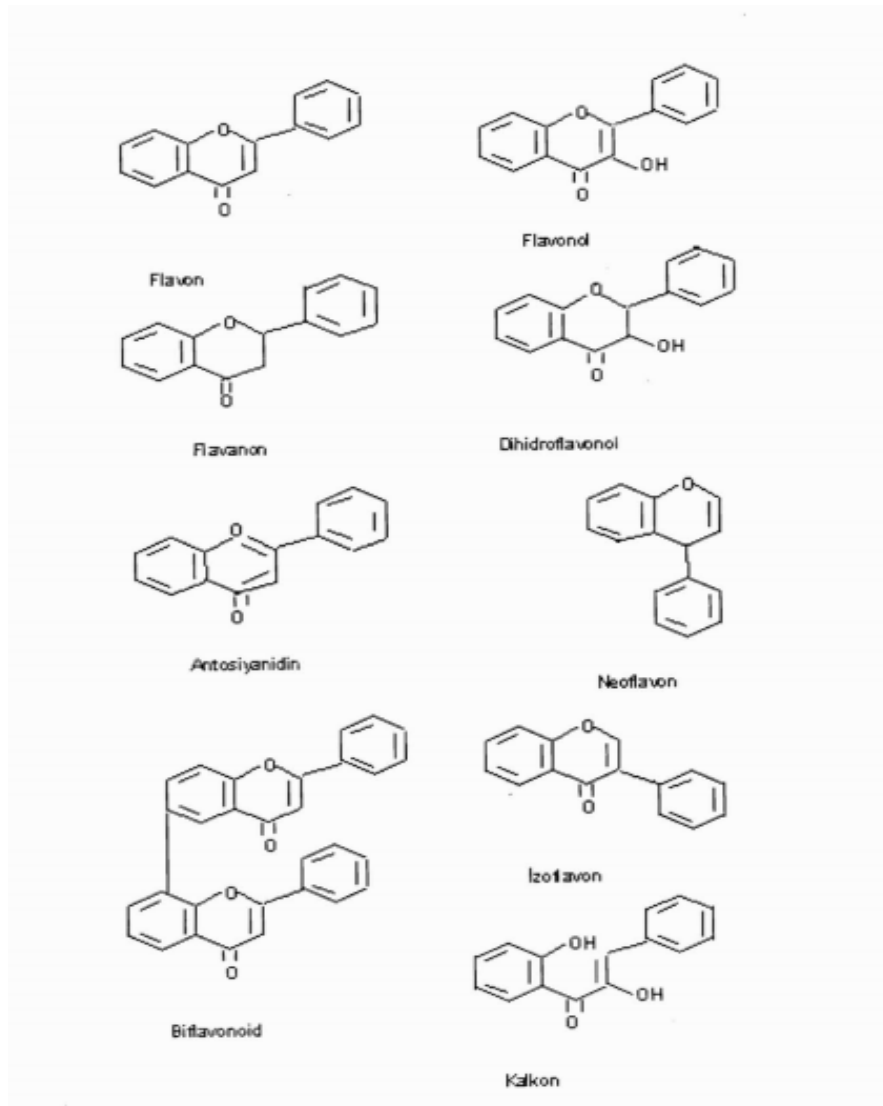
Alıç (*Crataegus* spp.) bitkisininin başlıca biyoaktif bileşenleri flavonoidler, oligomer prosiyanidler, kardiyotonik amin bileşikleridir (80). Bu bileşenlerin yanı sıra organik asitler, triterpen organik asitler, aktif polisakkarit yapılar alıç türlerinde bulunan diğer bileşenlerdir (81).

2.8.1. Flavonoidler

Bitki fenollerinin en geniş sınıfını difenilpropan (C6 - C3 - C6) iskeletine sahip flavonoidler oluşturmaktadır. Şu ana kadar bitkilerin yaprak, tohum, kabuk ve çiçek kısımlarında 6000'in üzerinde farklı yapıda flavonoid belirlenmiştir (82). İki fenil halkası ve bir hetero halkasından oluşan bu bileşikler, hetero halkanın farklı

yükseltgenme derecelerine göre flavonlar, flavonoller, flavanonlar, flavanonoller, flavon-3-oller, flavon-3,4-dioller, antosiyanidinler, auronlar gibi çeşitli alt sınıflara ayrılmıştır. Flavonoidler için farklı sınıflandırmalar mevcut olmasına karşın genel olarak 6 temel flavonoid sınıfı bildirilmektedir. Bunlar; flavonlar, flavanonlar, flavonoller, isoflavonoidler, antosiyaninler ve flavanlardır (83).

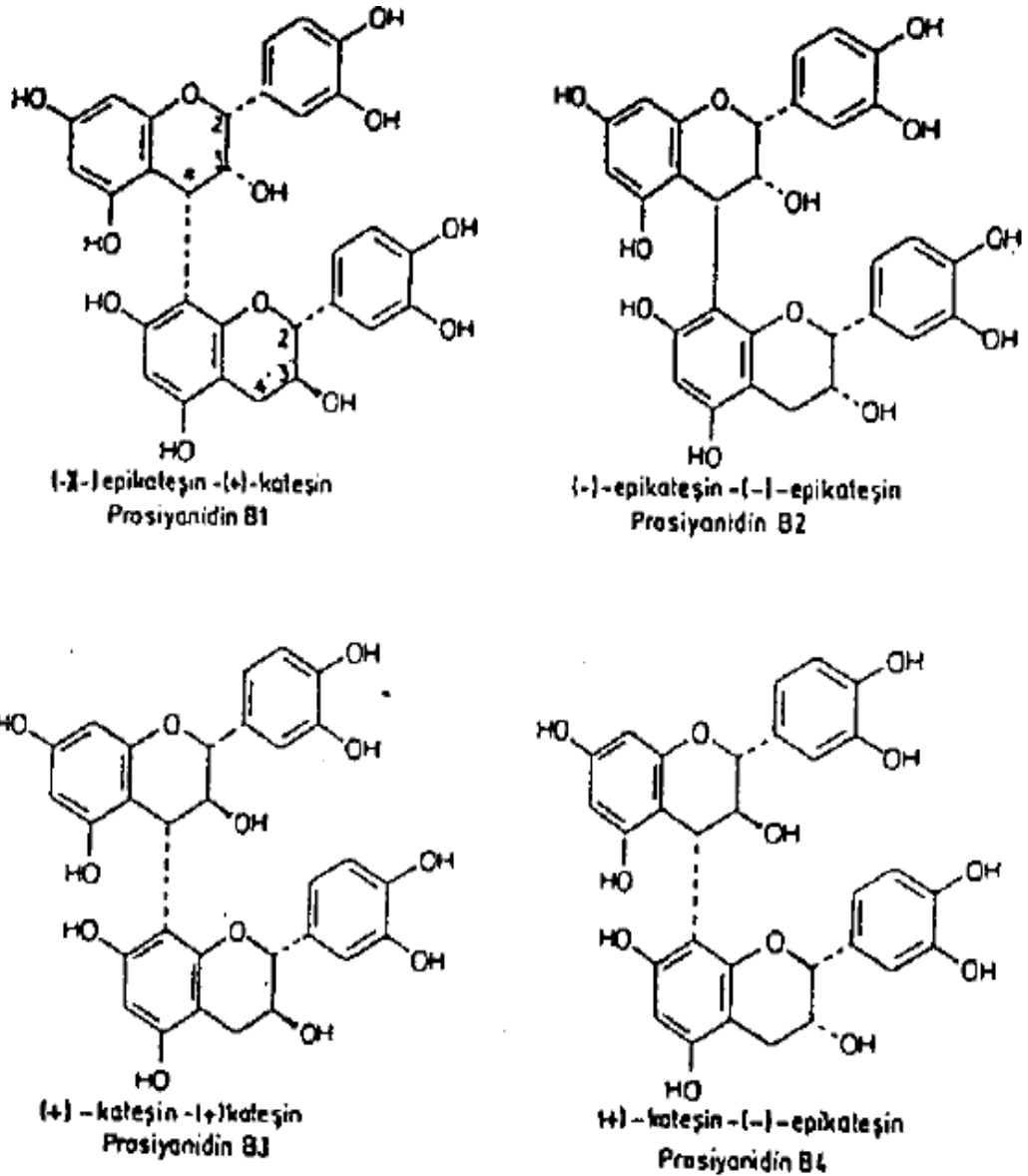
Flavonoidlerin aterosklerozis ve kronik kalp hastalıklarından koruyucu etkisinin muhtemel mekanizması; serbest radikalleri yakalayarak antioksidan yolla veya siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerini inhibe ederek antiinflamatuvar etki yoluyla aterosklerotik plakların büyümesini önlemek şeklindedir. İlâveten antitrombotik etkisi nedeniyle de aterosklerozisten korumaktadırlar (84).



Şekil 2.22. Flavonoidlerin iskelet yapısı (84)

2.8.2. Oligomer prosiyanidinler

Epikateşin ve kateşinin kondensasyonu ile oluşan polimerik yapılara prosiyanidinler denir (85). Prosiyanidinler dimer, oligomer ve polimer bileşikler olmak üzere üç ana gruptan oluşmaktadırlar. Prosiyanidinler B1,B2,B3,B4 olarak adlandırılmaktadırlar.



Şekil 2.23. Prosiyanidin B1,B2,B3,B4 formülleri (86)

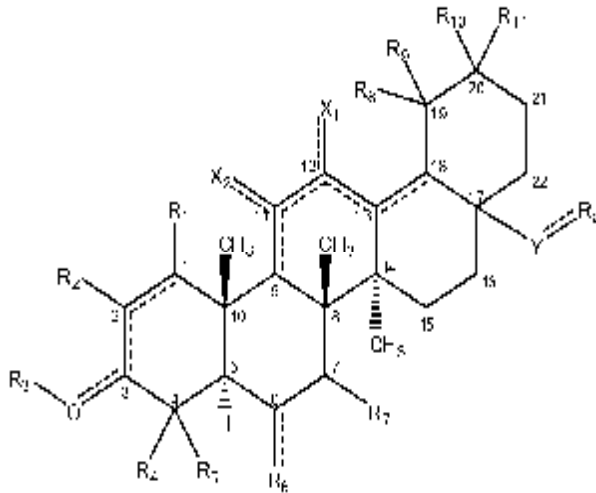
Alıç bitkisi ile yapılan son çalışmalar, bu bitki meyvelerinde prosiyanidin B2 dimerlerinin ağırlıklı olduğunu göstermektedir, ayrıca oligomer prosiyanidinlerin kalp kaslarını güçlendirdiği ve kan akım hızını atırdığı belirtilmektedir (81).

2.8.3. Organik asitler

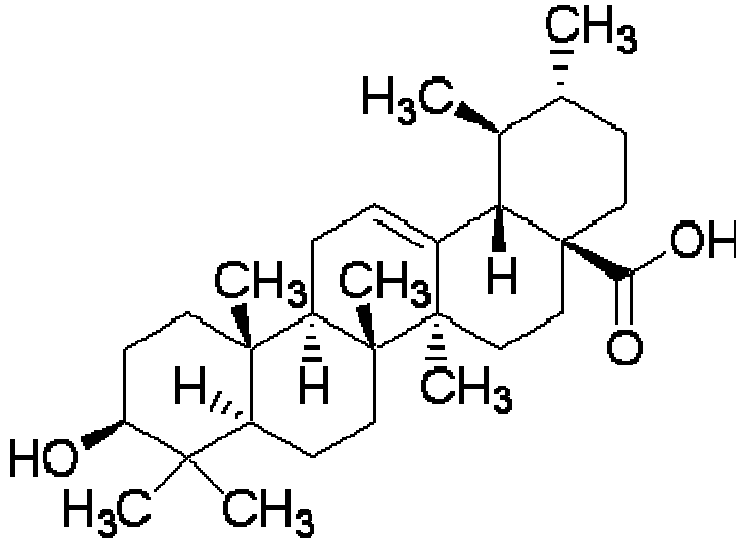
Crataegus bitkisinde bulunan organik asitlere malik asit, tartarik asit, sitrik asit, süksinik asit, askorbik asit, quinic asit, salisilik asit, 3-hidroksi ve 4-hidroksi benzoik asitler örnek verilebilir (81).

2.8.4. Triterpen organik asitler

Triterpenler yapılarına bağlı olarak 20 alt gruba ayrılırlar. Tıbbi bitkilerin pek çoğunda bulunan temel yapı oleanane triterpenidir. Bu tip bileşikler en sık oluşan dört formu ile temsil edilir: olenolik asit, ursolik asit ve a- ve b- amyrin dir. Triterpenler antioksidan, antialerjik, anti-hipertansif, karaciğer koruyucu ve kolesterol düşürücü biyoaktiviteye sahiptirler (87). Crataegus bitkisinde ise başlıca Oleanol asit, Ursolasit ve Crataegolasit (=2- α -Hydroxyoleanolasit) görülmektedir (88).



Şekil 2.24. Oleanolik asit (89)



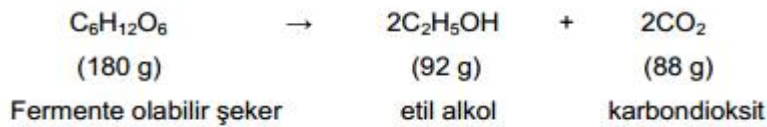
Şekil 2.25. Ursolik asit (90)

2.9. Alç sirkesi

Fransızca Vin aigre “Ekşi şarap” kelimesinden gelen sirke; şarap, melas, sorgum, elma, armut, üzüm, çilek, kavun, hindistan cevizi, bal, bira, patates, pancar, akçaağaç şurubu, malt, tahıl, peynir altı suyu dâhil olmak üzere mayalanabilir karbonhidrat kaynağı olan hemen hemen her üründen yapılabilmektedir. Mayalar ilk önce gıdalardaki şekeri alkole dönüştürürler daha sonra alkol asetik asit bakterileri tarafından sirkenin ana bileşeni olan asetik aside dönüştürülür.

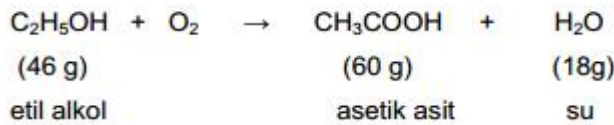
1. Aşama (Alkol fermentasyonu)

Anaerobik



2. Aşama (Asetik asit fermentasyonu)

Aerobik



Şekil 2.26. Fermente olabilir şekerlerin 2 aşamalı oksidasyonu (etil alkol ve asetik asit fermentasyonu) sonucu asetik aside dönüşümü (91,92).

Sirke, insanlar tarafından binlerce yıldır baharat ve gıda koruyucu olarak kullanılmaktadır. Sirkenin antibakteriyel özelliği dışında kan basıncını dışürmesi, kardiyovasküler hastalıkları azaltması, antioksidan aktivitesi ve besin metabolizmasını düzenlemesi gibi insan sağlığına yararları hakkında birçok çalışma yapılmıştır (14).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney hayvanları

Çalışmamızda İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezinden (İNÜTF-DEHÜM) alınan 70 adet yaklaşık 250±15 gr ağırlığında 6-7 aylık erkek Spraque Dawley cinsi rat kullanıldı.(Etik kurul no: 2011/A-61)

3.2. Hiperlipidemik yem

Hiperlipidemik modelimiz için gerekli olan toz yem Elazığ Yem Sanayi A.Ş.'den alındı. Normal toz yemin içeriği aşağıdaki gibidir;

Tablo 3.1. Normal fare yemi içeriği (Elazığ yem)

Su	En çok	% 12
Ham protein	En çok	% 24
Ham seluloz	En az	% 7
Ham kül	En çok	% 8
HCl'de çözünmeyen kül	En çok	% 2
NaCl	En çok	% 1
Kalsiyum	En az-En çok	% 1- 2,8
Fosfor	En az	% 0.9
Sodyum	En az-En çok	% 0.5-0,7
Metabolik enerji Kcal/Kg	En az	2.650
KULLANILAN MADDELER: Buğday, Arpa, Soya küspesi, Fındık küspesi, Melas mayası, Ayçiçeği tohumu küspesi, Pamuk tohumu küspesi, Mısır proteini, Rasmol, Et-Kemik unu, Balık unu, Kan unu, Kemik unu, Tuz, mermer tozu, melas, Tapiyoka, Sorgum, Kolza küspesi, Sentetik lizin, Sentetik metiyonin, Premiksler, Kepek, Süt tozu		

Yeme % 3 kolesterol, % 1 kolik asit ve % 3 bitkisel katı yağ (Vita bitkisel katı yağ: % 90 olan yağ içeriğinin % 60'ını doymuş, % 40'ını doymamış yağlar

oluşturmaktadır) eklenerek homojen hale getirildi. Daha sonra bir miktar su ile ıslatılarak bulamaç haline dönüştürüldü ve yem yapma makinasında pellet haline getirilerek kurutuldu. Yemler çalışma süresince her üç günde bir taze olarak hazırlandı.

3.3. Vitamin D₃

Hiperlipidemi gurubundaki her bir rata deneysel sürecin ilk günü 700000 IU/kg dozda Devit 3 (Deva İlaç San. A.Ş.) oral gavaj yoluyla tek doz uygulandı.

3.4. Alıç (*Crataegus tanacetifolia*)

Çalışmamızda kullanılan alıçlar *Crataegus tanacetifolia* (Poir.) Pers. (kotan alıcı) türü alıçlardır. *Crataegus tanacetifolia* ülkemizde Karadeniz Bölgesi, İç Anadolu ve Doğu Anadolu'da doğal olarak yayılış gösteren endemik bir türdür. Malatya'da ise Hekimhan dolaylarında kaydı bulunmaktadır (93). Çalışmada kullanılan örnekler Malatya ili, Arapgir ilçesi, Suceyin köyü kırsalından, 20/09/2011 tarihinde ortalama 1200 m yükseklikte toplanmıştır.



Şekil 3.1. *Crataegus tanacetifolia* çiçek (Canon Powershot A3350)



Şekil 3.2. *Crataegus tanacetifolia* meyve (94)



Şekil 3.3. Alıç meyvesi



Şekil 3.4. *Crataegus tanacetifolia* çiçekli genel görünüm



Şekil 3.5. *Crataegus tanacetifolia* ağaç

3.4.1. Bitkinin genel morfolojik özellikleri

Dik yükselici çalımı ya da kısa boylu olan alıç ağacı, 8-10 m boyunda ve seyrek dikenlidir. Yapraklar, obovattan rombik ovata kadar, 1.5-2.5(-5) x 1.5-2.5 cm, tabanı kuneat, yeşil, ince uzun yumuşak tüylü, alt yüzeyinde daha yoğun, loblar 3-7(-9), dik derin dişli, steril sürgünlerde orta damara kadar parçalı, salgılı-testere dişli, yaprak sapı 3-10 mm'dir. Korimbus 4-8 çiçeklidir. Çiçekler beyaz, 2- 2,5 cm çapında, sepaller geniş, üçgensel, meyvede geriye kıvrık, stiluslar 5 adettir. Meyve sarı, bazen kırmızı ile renklenmiş, küremsi, yaklaşık 2 cm çapında, özellikle uç ve taban kısmında kısa yumuşak tüylüdür ve genellikle 5 adet çekirdek bulundurmaktadır. Çiçeklenme dönemi 5, 6, 7. aylardır. Genel Habitatu: Pinus(çam) ya da Quercus(meşe) ormanında kayalık kireçtaşı yamaçlardır. (93).

3.5. Alıç ekstresi

5 gr çekirdekleri çıkarılmış alıç meyvesi sıcaklığı 60 °C olan %80 lik alkolde homojenize edildi ve 5000 g de 25 dakika santrifüj edildi. Üste kalan süpernatantlar toplandı kalan ekstrenin üzerine sıcaklığı 80°C olan deiyonize distile su eklenerek tekrar 500 g de 25 dakika santrifüj edildi. Bu işlem 4 defa tekrarlandı. Toplanan alkol, su, ekstre karışımı 25 ml kalana kadar evaporatörde buharlaştırıldı. Üzerine %95 lik alkol ilave edilerek 4°C 10 saat bırakıldı. Daha sonra çöken alıç biyoaktif bileşenleri üzerinde kalan sıvı faz yine evaporatörde tüm sıvı uzaklaşana kadar buharlaştırıldı. Balon jolenin içinde kalan jelimsi yoğun faz 25 ml distile suda çözülerek çalışma süresince ekstre olarak kullanıldı. Bu işlem çalışma süresince defalarca tekrarlandı ve ekstreler taze hazırlanarak ratlara konsantrasyonu 100 mg/kg dozda olacak şekilde 1 ml çözelti halinde verildi (95). Oral gavaj yardımıyla verildi.

3.6. Alıç sirkesi

Alıç sirkesi olarak bölgesel aktarlarda satılan Kemal Ünlü marka alıç sirkesi seyreltilerek kullanıldı. Ratlara 0,8 ml/kg dozda olacak şekilde oral gavaj uygulandı. (96).

3.7. Deneyin yapılışı

70 adet erkek rat her kafeste 3-4 rat bulunacak şekilde kafeslere yerleştirildi ve her grupta 10 rat olmak üzere 7 ayrı çalışma gurubu oluşturuldu, bu guruplardan farklı zamanlarda alınan kan numunelerinden de 11 ayrı örnek gurubu oluşturuldu. Çalışma boyunca su ve besin miktarında sınırlamaya gidilmezken, besin bileşimleri hiperlipidemi oluşturulması amaçlanan guruplarda farklılıklar içerdi. Ratlar kafeslere alındıktan sonra 1 hafta adaptasyon sağlanması amacıyla beklendi ve 1 haftanın sonunda çalışmaya başlandı. Çalışma süresince 12 saat karanlık 12 saat aydınlık periyodu izlendi.

1-KONTROL

2-HL(Hiperlipidemi)

3-HL+8 hafta AE

4-HL+4 hafta AE

5-HL+4. haftadan sonra AS

6-HL+4. haftadan sonra ND+ AS

7-HL+4. haftadan sonra ND+ AE şeklindedir.

3.7.1. Kontrol grubu

Kontrol grubundaki ratlar 8 hafta boyunca normal rat yemiyle beslendi. Bu guruptaki ratlardan birinci, dördüncü ve sekizinci haftalarda kan örnekleri alındı.

3.7.2. HL grubu(Hiperlipidemi)

Bu gurubtaki ratlara 8 hafta boyunca hazırladığımız hiperlipidemik yem verildi. Bu guruptaki ratlardan dördüncü ve sekizinci haftalarda kan örnekleri alındı.

3.7.3. HL+8 hafta AE grubu

Bu gurptaki ratlara 8 hafta boyunca hiperlipidemik yem ve 2 günde bir rat başına 1 ml olacak şekilde hazırladığımız alıç eksteresi i.g. gavajla verildi. Bu guruptaki ratlardan dördüncü ve sekizinci haftalarda kan örnekleri alındı.

3.7.4. HL+4. haftadan sonra AE

Bu gruptaki ratlar 4 hafta boyunca sadece hiperlipidemik yemle beslendi. 4 hafta sonra hiperlipidemik yeme devam edilerek 2 günde bir rat başına 1 ml (100 mg/kg dozda) olacak şekilde alıç ekstresi i.g. gavajla verildi. Bu gruptaki ratlardan dördüncü ve sekizinci haftalarda kan örnekleri alındı.

3.7.5. HL+4. haftadan sonra AS

Bu gruptaki ratlar 4 hafta boyunca hiperlipidemik yemle beslendi. 4 hafta sonra hiperlipidemik yeme devam edilerek iki günde bir 0,8 mg/kg (~1,5 ml) dozda alıç sirkesi i.g. gavaj yoluyla verildi. Bu gruptaki ratlardan dördüncü ve sekizinci haftalarda kan örnekleri alındı.

3.7.6. HL+4. haftadan sonra ND ve AS

Bu gruptaki ratlar 4 hafta boyunca hiperlipidemik yemle beslendi. 4 hafta sonra normal diyete geçildi ve devam eden 4 hafta süresince ND ve iki günde bir 0,8 mg/kg(~1,5 ml) dozda olacak şekilde alıç sirkesi verildi. Bu gruptaki ratlardan dördüncü ve sekizinci haftalarda kan örnekleri alındı.

3.7.7. HL+4. haftadan sonra ND ve AE

Bu gruptaki ratlar 4 hafta boyunca hiperlipidemik yemle beslendi. 4 hafta sonra normal diyete geçildi ve 2 günde bir rat başına 1 ml (100 mg/kg dozda) olacak şekilde alıç ekstresi i.g. gavajla verildi.

Deney süresince ratlardan birinci, dördüncü ve sekizinci haftalarda kanlar alındı. Alınan kan örneklerinden derhal serumlar ayrılarak çalışma anına kadar -45°C'de saklandı.

3.8. Nitrit ve Nitrat analizi (Total Nitrit ve Direkt Nitrit Tayini)

NO bioaktivitesinin ateroskleroz başlaması ve progresyonunda önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. NO lokal olarak etki gösteren ve hızlı metabolize olan bir maddedir. NO arjininden, nitrik oksit sentaz enzimi ile sentezlenir (97). Endotel normalde antiinflamatuvar özelliğe sahiptir. Bu özelliği aterosklerozun önlenmesinde

önemli bir yere sahiptir. NO, lökositlerin endoteline yapışmasını engellemek suretiyle antiadhezif ve antiaterosklerotik özellik göstermektedir. NO serbest radikal olmasının yanı sıra diğer reaktif oksijen radikalleri ile reaksiyona girer ve bu sayede serbest radikallerin endotel yapısında oluşturacağı hasarı azaltır. Gerek oksidan fonksiyonu gerekse antioksidan olması nedeni ile dengeli salınımı endotel fonksiyonlarının devamlılığı için önemlidir (98). NO metabolizması sonucunda idrarda ve plazmada nitrat ve nitrit oluşmaktadır. Plazmada NO'nun oksidasyonu sonucunda nitrat oluşmakta, kanda ise nitrat stabil olmadığı için çabucak nitrite dönüşmektedir. Çalışmamızda nitrit ve nitrat tayinini Najwa K. C. and Nabil W. W.'nin geliştirmiş olduğu kadmiyum-indirgenme metoduyla yapıldı (99).

3.8.1. Çözeltiler

3.8.1.1. Kadmiyum granülleri

Pense ile parçalanmış 20-40 mg kadmiyum granülleri 0,1 M H₂SO₄ çözeltisi içerisinde saklandı.

3.8.1.2. Glisin-NaOH tamponu

15 gr glisin deiyonize su içerisinde çözülerek üzerine 2M NaOH ilave edildi ve PH 9,7 ye ayarlanır. 1 L ye ayarlanır. 0-8 °C de 1 ay muhafaza edilebilir.

3.8.1.3. Sülfanilamid çözeltisi

5 gr sülfanilamid 500 ml 3M sıcak HCl solüsyonu içerisinde çözülür ve oda sıcaklığında 1 yıl muhafaza edilebilir.

3.8.1.4. N-Naftiletildiamid(NNDA) çözeltisi

50 mg NNDA 250 ml deionize su içerisinde çözülür. 0-8 °C de 2 ay muhafaza edilebilir

3.8.2. Deneyin yapılışı

3.8.2.1. Deproteinizasyon

0,5 µl seruma 2ml 75 mM ZnSO₄ çözeltisi ile 2,5 ml 55 mM NaOH çözeltisi eklenip karıştırılır.10 dakika beklenir ve ardından sanrifüj edilir.

3.8.2.2. Kadmiyum granüllerinin aktivasyonu

Daha önce H₂SO₄ çözeltisinde beklettiğimiz Cd granülleri 3 kez deionize su ile yıkandı. Glisin-NaOH tamponunda hazırlanmış 5 mM CuSO₄ çözeltisi içerisinde 1-2 dakika karıştırıldı ve çözelti döküldü. CuSO₄ üç kez Glisin-NaOH tamponu ile yıkandı. Daha sonra kadmiyum granülleri kurutma kâğıdı ile kurulandı. Bakır kaplı granüller hava ile fazla temas etmeden kullanılır. Kullanılan granüller daha sonra tekrardan yıkandı ve 0.1 M H₂SO₄ içerisinde muhafaza edildi.

3.8.2.3. Nitrat Ölçümü (Total nitrit ölçümü)

Tüplere 1ml Glisin-NaOH tamponu konulur. Örnek tüplerine 1 ml deproteinize serum üzerine 2,5 -3 gr aktive edilmiş kadmiyum granülleri eklenir. Standart tüplerine ise farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış KNO₃ çözeltisinden eklenir. Reaksiyon aktive edilmiş kadmiyum granüllerinin tüplere eklenmesiyle başlar ve eklendikten sonra 90 dakika oda sıcaklığında çalakanarak reaksiyon devam eder, 90 dakika sonunda tüplerden 2'şer ml alınır. Üzerine 1 ml sülfanamid ve 1 ml NNDA eklenerek çalkalanır ve karanlık bir ortamda 45 dakika bekletilir. Daha sonra 545 nm de ölçümleri yapılır.

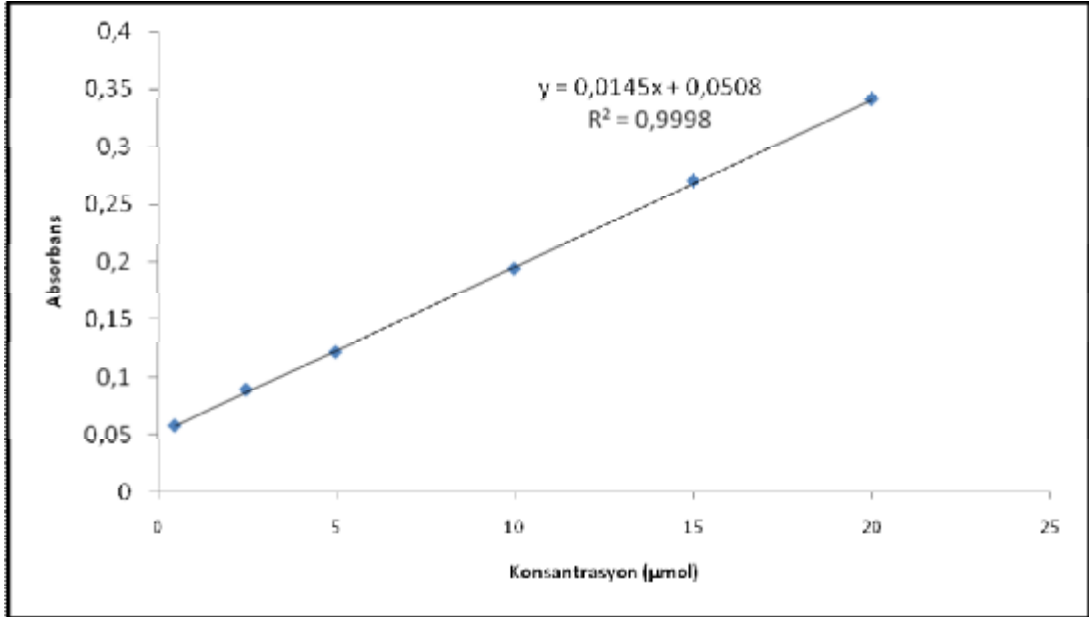
3.8.2.4. Nitrit Ölçümü

2 ml deproteinize serum Cd ile işleme maruz bırakılmadan üzerine 1 ml sülfanamid ve 1 ml NNDA eklenerek karıştırılır ve karanlıkta bekletilir.45 dakika sonra 545 nm de ölçümleri yapılır.

3.8.3. Standartlar

0,1 mol/L NaNO₂ veya KNO₃ stok çözeltisi çalışma gününde 10 mmol/L Na₂B₄O₇ içinde çözülerek çalışma konsantrasyonlarına seyreltilir.

0,5 , 2,5 , 5 , 10 , 15 ve 20 µmol konsantrasyonlarında hazırlanan standartlar kullanılarak kalibrasyon grafiği çizdirilmiştir.

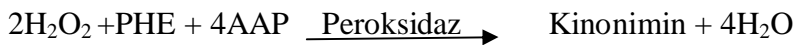
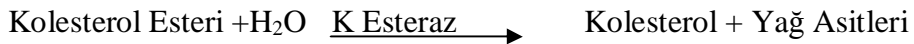


Şekil 3.6. Nitrit Standart Grafiği

$$y=0,0145x+0,0508 \quad R^2=0,9998$$

3.9. Total Kolesterol ölçümü (100-109)

Kolesterol ölçümünde Bilimsel Tıbbi Ürünler Pazarlama Sanayi Tic. Ltd.ŞTİ BT CHO-10600 (6*100ml) Bahçelievler - İZMİR - TURKEY chollesterol kiti kullanılmıştır. Ölçüm metodu;



şeklinde. Oluşan kırmızı rengin yoğunluğu 500 nm de ölçüldüğünde numune içerisindeki Total kolesterol miktarı ile doğru orantılıdır.

3.9.1. Reaktiflerin bileşimi

Tablo 3.2. Total kolesterol reaktif bileşimi

<u>Aktif İçerik</u>	<u>Konsantrasyon</u>
PIPES	90 mM
4-Aminoantipirin	0,40 mM
Kolesterol oksidaz	350 U/L
Kolesterol esteraz	500 U/L
Peroksidaz	1000 U/L
Fenol	28 mM
PH	7,0 ±0,2

3.9.2. Prosedür

Tablo 3.3. Total kolesterol ölçüm prosedürü

Dalga Boyu	500±20 nm
Sıcaklık	37°C
Optik Yol	1 cm
Test Tipi	Endpoint (son nokta)
Test Yönü	Artan

Tablo 3.4. Kolesterol Reaktif, Numune, Standart, K r hazırlama yöntemi

	K�r	Standart	Numune
Reaktif	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Distile su	10 µl	-	-
Standart	-	10 µl	-
Numune	-	-	10 µl

Karıştırdıktan sonra 5 dakika 37°C de inkübe edilir. K re karşı numune ve standart absorbanlarını okunur.

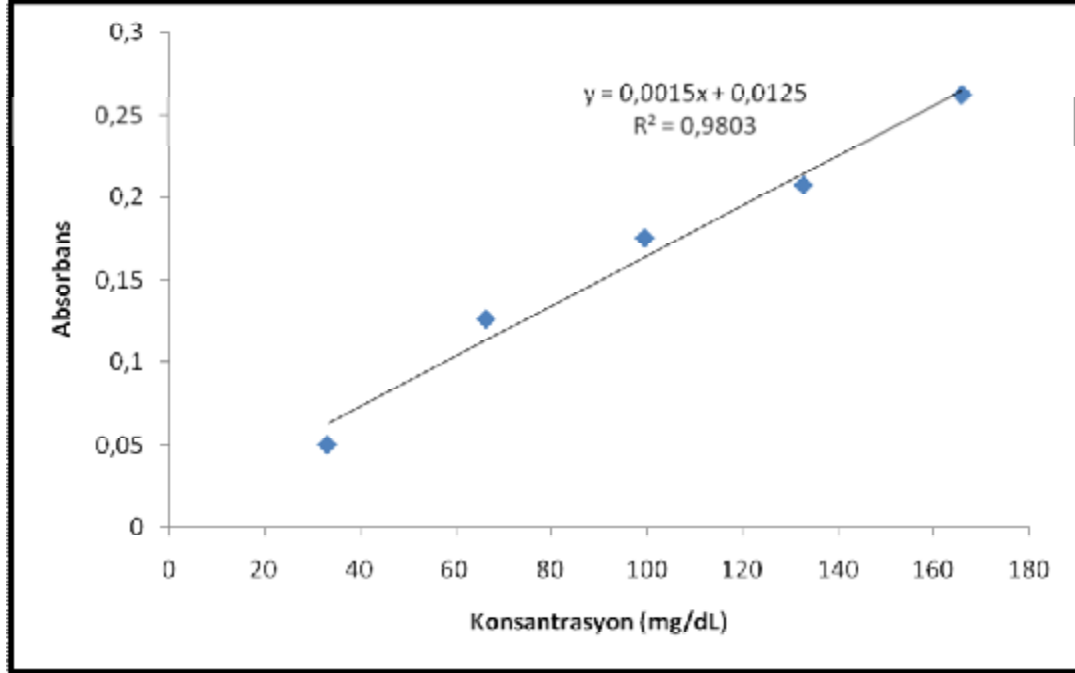
3.9.3. Hesaplama

(Abs= Absorbans)

Abs. Numune x Standart konsantrasyonu = Kolesterol (mg/dL)

Abs. Standart (mg/dL)

33,2 , 66,4 , 99,6 , 132,8 ve 166 mg/dl konsantrasyonlarında hazırlanan standartlar kullanılarak kalibrasyon grafiği çizdirilmiştir.

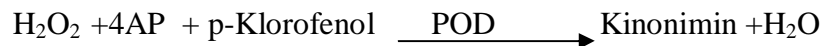
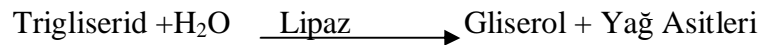


Şekil 3.7. Total Kolesterol Standart Grafiği

$$(y=0,0015x+0,0125 \quad R^2=0,9803)$$

3.10. Triglicerid ölçümü (110-119)

Triglicerid ölçümü için Bilimsel Tıbbi Ürünler Pazarlama Sanayi Tic. Ltd.ŞTİ BT triglycerides TRI-10600 Bahçelievler - İZMİR - TURKEY kiti kullanılmıştır. Hızlı, düzgün bir son nokta reaksiyonu üretmek üzere değiştirilmiş bir Trinder renk reaksiyonu kullanmaktadır.



Numunedeki triglicerid, lipaz tarafından gliserol ve yağ asitlerine hidrolize edilir. Daha sonra gliserol, gliserol kinaz (GK) tarafından katalize edilen bir reaksiyonla adenzin -5-trifosfat (ATP) tarafından gliserol-3-fosfata (G3P) ve adenzin-5-difosfata fosforile edilir. Gliserol-3-fosfat (G3P) daha sonra gliserolfosfat

oksidaz (GPO) tarafından dihidroksiaseton fosfat (DAP) ve hidrojen peroksit'e dönüştürülür. Daha sonra hidrojen peroksit, peroksidaz tarafından katalize edilen bir reaksiyonla kırmızı renkli kinon boyası üretmek üzere 4- aminophenazone (4-AP) ve p -chlorophenol ile reaksiyona girer. Üretilen kırmızı rengin yoğunluğu 505nm de okunduğunda numune içersindeki trigliserid konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

3.10.1. Reaktif bileşimi

Tablo 3.5. Trigliserid reaktif bileşimi

<u>Aktif İçerik</u>	<u>Konsantrasyon</u>
ATP	0,1 mM
4- Aminophenazone	0,1 mM
P-chlorophenol	2,0 mM
GPO	3500 U/L
Lipoprotein Lipaz	150000 U/L
GK	500 U/L
GOOD	50 mM
pH	7,5 ± 0,2

3.10.2. Prosedür

Tablo 3.6. Trigliserid ölçüm prosedürü

Dalga boyu	505 nm (490-550)
Sıcaklık	37 °C
Optik yol	1 cm
Test tipi	Endpoint (Son nokta)
Yön	Artan

Tablo 3.7. Triglisericid Reaktif, Numune, Standart, K r hazırlama yöntemi

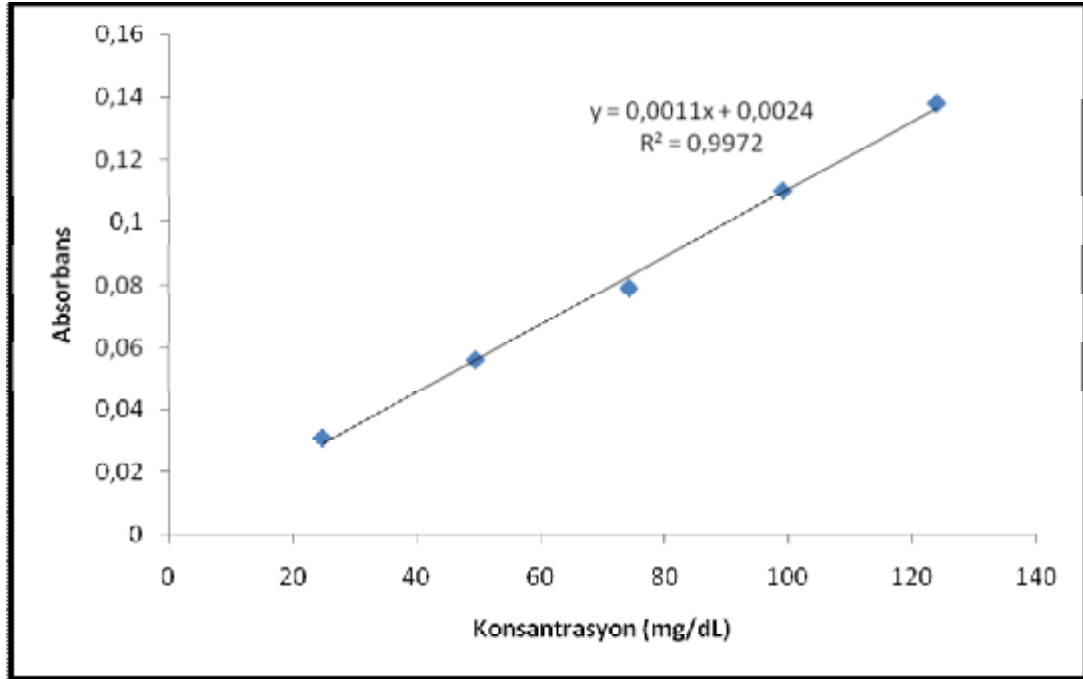
	K�r	Standart	Numune
Reaktif	1000 �l	1000 �l	1000 �l
Distile su	10 �l	-	-
Standart	-	10 �l	-
Numune	-	-	10 �l

Şeklinde karıştırılır ve 5 dak 37 C de ya da 10 dak.15-25  C de inkübe edilir. K re karşı standart ve örneğin absorbanları okunur. Nihai renk 30 dak. stabildir.

3.10.3. Hesaplama

$(\text{Abs. Numune}/\text{Abs. Standart}) \times \text{Standart konsantrasyonu}(\text{mg/dl}) = \text{Triglisericid}(\text{mg/dl})$

24,8 , 49,6 , 74,4 , 99,2 ve 124 mg/dl konsantrasyonlarında hazırlanan standartlar kullanılarak kalibrasyon grafiği çizdirilmiştir.



Şekil 3.8. Trigliserid Standart Grafiği

$$y=0,0011x+0,0024 \quad R^2=0,9972$$

3.11. HDL ölçümü (120-129)

HDL ölçümü için Bilimsel Tıbbi Ürünler Pazarlama Sanayi Tic. Ltd.ŞTİ BT triglycerides HDL-10400 Bahçelievler - İZMİR - TURKEY HDL kolesterol-direkt yöntemi ile serum HDL kolesterol seviyeleri ön hazırlık veya santrifüj aşamasına gerek görülmeden doğrudan ölçülmektedir. Bu yöntem bir tür iki reaktifli formatdadır. Birinci reaktifte HDL olmayan esterleştirilmemiş kolesterol enzim reaksiyonuna bağlıdır ve oluşan peroksit renksiz ürün vermek için DSBmT ile peroksidaz reaksiyonu tarafından tüketilir. İkinci reaktif HDL nin kantitatif belirlenmesi için, spesifik HDL, kolesterol esteraz (CE) ve renk oluşturmak için kromojenik bağı çöktürme kapasitesine sahip bir deterjan içerir.

3.11.1. Reaktif bileşimi

Reagent 1 (R1) : Kolesterol oksidaz (E.Coli) <1000 U/L, Peroksidaz (yaban turpu) <1300

ppg U/L, DSBmT <1 mM, Akseleratör <1 mM, Askorbik oksidaz <3000 U/L, koruyucu.

Reagent 2 (R2) : Kolesterol esterase (Pseudomonas sp) <1500 U/L, 4-AAP <1 mM, yüzey etkin reaktifi, koruyucu.

3.11.2. Prosedür

Tablo 3.8. HDL Reaktif ölçüm prosedürü

Birinci Dalgaboyu	600 nm
İkinci Dalgaboyu	700 nm
Sıcaklık	37°C
Optik yol	1 cm
Test tipi	Son Nokta / Numune körlü
Yön	Artan

1

Tablo 3.9. HDL Reaktif 1, Numune, Standart, Kör hazırlama yöntemi

	Standart	Numune
Reaktif 1	300 µL	300 µL
Standart	4 µL	--
Numune	--	4 µL

1. Reaktifle oda ısısına getirilir. (15-30°C)
2. Karıştırılır ve 37°C de 5 dakika inkübe edilir ve distile suya karşı numune (Abs.1 numune) ve standart (Abs.1 standart) absorbansları okunur.

Tablo 3.10. HDL Reaktif 2, Numune, Standart, Kör hazırlama yöntemi

	Standart	Numune
Reaktif 2	100 µl	100 µl

3. Tekrar 37° C konur ve 5 dakika sonra ve distile suya karşı numune (Abs.2 numune) ve standart (Abs.2 standart) final absorbanları okunur.

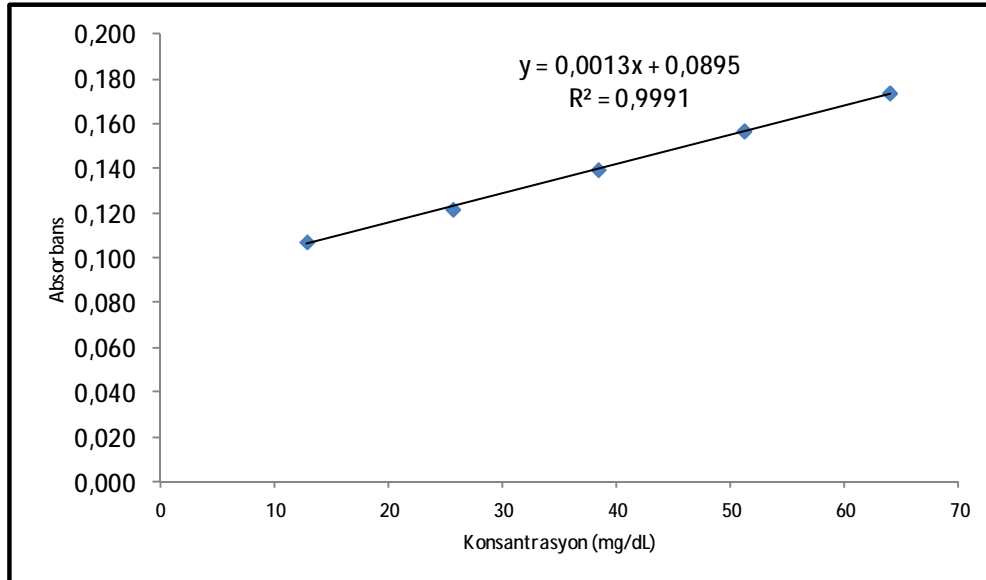
4. Numune ve standart için Δ Abs hesaplanır.

3.11.3. Hesaplama

$$(\Delta \text{Abs.} = \text{Abs.2} - \text{Abs.1})$$

$(\Delta \text{Abs. Numune} / \Delta \text{Abs. Standart}) \times \text{Standart Konsantrasyonu (mg/dl)} = \text{HDL - Kolesterol (mg/dl)}$

12,8 , 25,6 , 38,4 , 51,2 ve 64 mg/dl konsantrasyonlarında hazırlanan standartlar kullanılarak kalibrasyon grafiği çizdirilmiştir.

**Şekil 3.9.** HDL-Kolesterol Standart Grafiği

$$y=0,0013x+0,0895 \quad R^2=0,9991$$

3.12. LDL ölçümü (130-135)

LDL ölçümü için Bilimsel Tıbbi Ürünler Pazarlama Sanayi Tic. Ltd.ŞTİ LDL-10400 Bahçelievler - İZMİR – TURKEY. Bu metot serum yada plazmada herhangi bir ön hazırlık ya da santrifüj basamakları gerektirmeden direkt olarak LDL –c seviyelerini ölçmeye dayalı bir metottur. Bu metot iki reaktif formatındadır ve tek bir deterjanın özelliklerine bağlıdır. Bu deterjan (reaktif 1) sadece LDL olmayan lipoprotein partiküllerini çözer. Oluşan renksiz reaksiyon sonucunda ayrılan kolesterol, kolesterol esteraz ve kolesterol oksidaz tarafından kullanılır. Geri kalan LDL partiküllerini ve kromojenik çiftleri çözen ikinci deterjan (reaktif 2) renk oluşturur, oluşan rengin yoğunluğu örnekteki LDL kolesterol miktarı ile orantılıdır.

3.12.1. Reaktif bileşimi

Tablo 3.11. LDL reaktif bileşimi

<u>Aktif İçerik</u>	<u>Konsantrasyon</u>
Reaktif 1	
MES Tampon (pH 6,3)	< % 1,0
Kolesterol esteraz	< 1500 U/L
Kolesterol oksidaz	< 1500 U/L
Peroksidaz	< 1300 U/L
4-aminoantipirin	< % 0,1
Reaktif 2	
Mes Tampon (pH 6,3)	< % 1,0
N,N-Bis (4-sulphobutyl)-toluidine, disodium (DSBmT)	< 1,0 Mm

3.12.3. Prosedür

Tablo 3.12. LDL Reaktif 1, Numune, Standart hazırlama yöntemi

	Standart	Numune
Reaktif 1	300 µl	300 µl
Standart	3 µl	-
Numune	-	3 µl

Tablo 3.13. LDL Reaktif ölçüm prosedürü

Birinci Dalgaboyu	546 nm
İkinci Dalgaboyu	660 nm
Sıcaklık	37°C
Optik yol	1 cm
Test tipi	Son Nokta / Numune körlü
Yön	Artan

1. Reaktifler oda ısına getirilir. (15-30°C).
2. Karıştırılır ve 37°C de 5 dakika inkübe edilir ve distile suya karşı numune (Abs.1 numune) ve standart (Abs.1 standart) absorbansları okunur.

Tablo 3.14. LDL Reaktif 2, Numune, Standart hazırlama yöntemi

	Standart	Numune
Reaktif 2	100 µl	100 µl

3. Tekrar 37° C konur ve 5 dakika sonra ve distile suya karşı numune (Abs.2

numune) ve standart (Abs.2 standart) final absorbanları okunur.

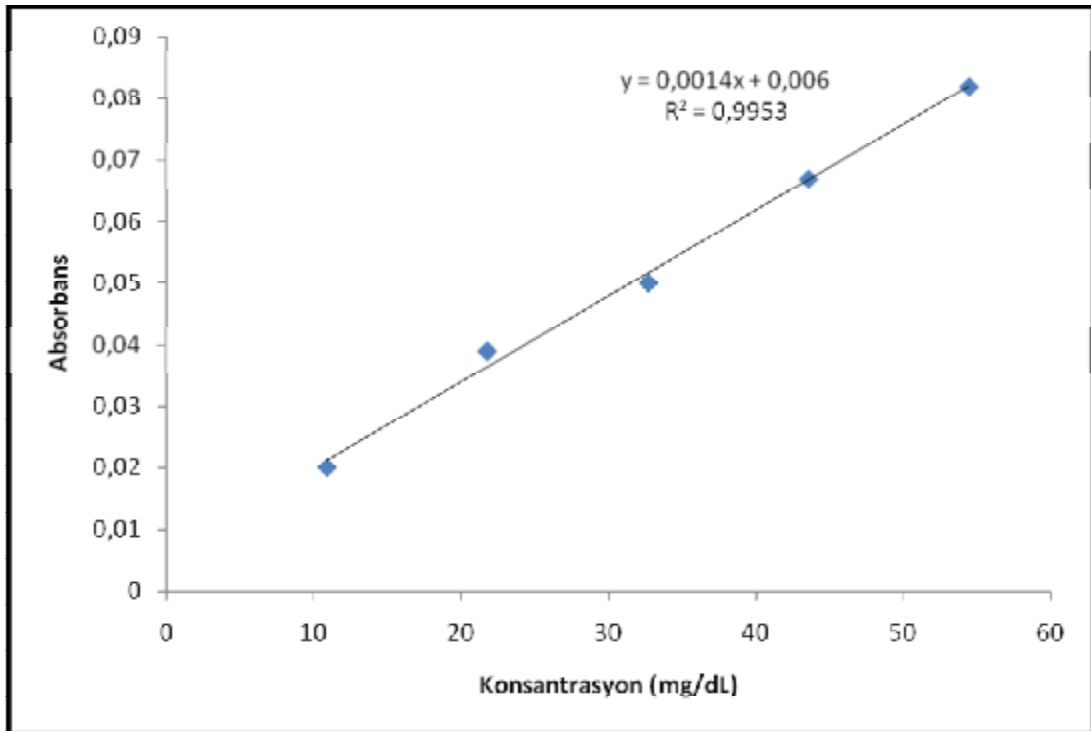
4. Numune ve standart için Δ Abs. hesaplanır.

3.12.3. Hesaplama

$$(\Delta \text{Abs.} = \text{Abs.2} - \text{Abs.1})$$

$(\Delta \text{ Abs. Numune} / \Delta \text{ Abs. Standart}) \times \text{Standart Konsantrasyonu (mg/dl)} = \text{LDL-Kolesterol (mg/dl)}$

10,9 , 21,8 , 32,7 , 43,6 ve 54.5 mg/dl konsantrasyonlarında hazırlanan standartlar kullanılarak kalibrasyon grafiği çizdirilmiştir.



Şekil 3.10. LDL-Kolesterol Standart Grafiği

$$y = 0,0014x + 0,006 \quad R^2 = 0,9953$$

3.13. Homosistein ölçümü

Çalışmamızda CUSABİO Rat Homocysteine (Hcy) ELISA Kit (katolog no: CSB-E13376r China) kullanılmıştır. Bu ölçümde “Kantitatif sandviç enzim

immünoassay” tekniği kullanılır. Homosistein (hcy) için spesifik olan antibadiler mikrolate’in üstüne toplanmıştır. Standartlar ve örnekler küvet (hücreler) içine pipetlenir ve tüm homosisteinlerin hücrelerin yüzeyindeki antibadiler ile bağlanması sağlanır. Bağlanmayan içeriğın ortamdaki uzaklaştırılmasından sonra biotin ile konjuge homosisteine özgü antibadi kuyulara eklenir. Yıkamadan sonra avidin ile konjuge olan Horseradish peroksidaz (HRP) kuyulara eklenir. Bağlanmamış olan avidin ile konjüge enzim reaktifinin ortamdaki uzaklaştırılmasının ardından, substrat solüsyonu kuyulara eklenir ve bağlı olan Homosistein (hcy) miktarı ile orantılı bir şekilde renk oluşumu gözlenir. Renk oluşumu sonlandırılır ve absorbans ölçümü yapılır.

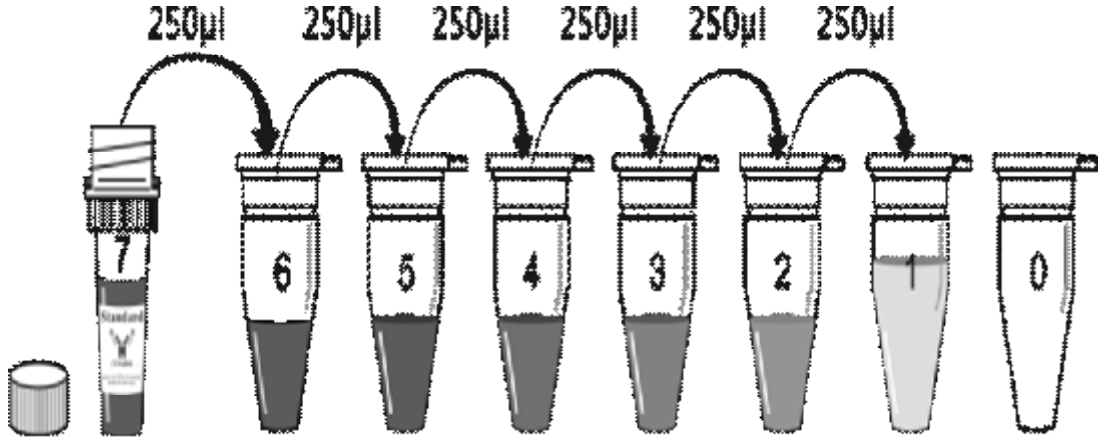
3.13.1. Reaktifler

1) **Biyotin- antibodi (1×):** Kullanmadan önce şişe santrifüjlenir. Biyotin - antibadi reaktifi 10 µl Biyotin-antibadi +990 µl distile su şeklinde 100 kat seyreltilir.

2) **HRP-avidin (1×):**Kullanmadan önce şişe santrifüjlenir. HRP- avidin 10 µl HPR-avidin 990 µl distile su şeklinde 100 kat seyreltilir.

3) **Wash buffer (Yıkama solüsyonu):** Eğer solüsyonda kristallenme oluşmuş ise oda sıcaklığında tamamen çözülene kadar hafifçe çalkalanır. 20 ml Wash buffer 500 ml distile su ile 25 kat seyreltilir.

4) **Standartlar:** Standart 6000-10000 rpm de 30s sanrifüj edilir. Standart 1 ml sample dilüent ile sulandırılır. Böylece 50 nmol/ml stok solüsyonu hazırlanmış olur. Dilüsyon öncesi oda sıcaklığında yaklaşık 15 dakika hafifçe çalkalanır.7 tane standart tüpü hazırlanır.



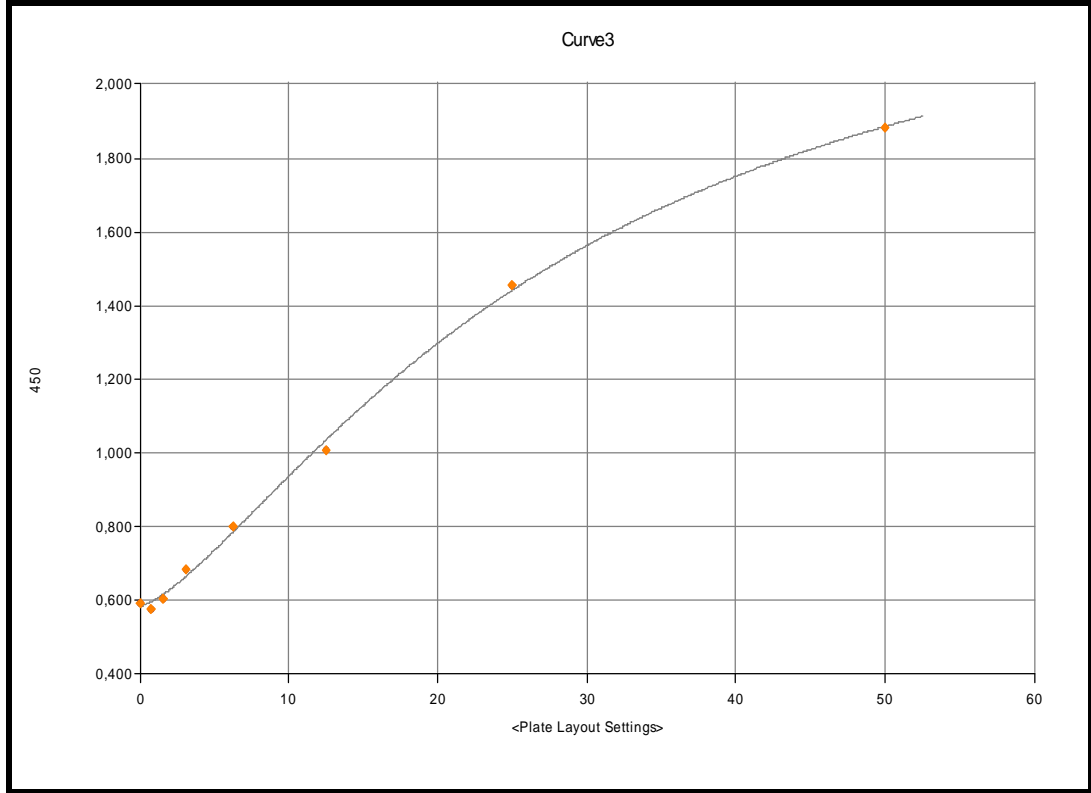
Şekil 3.11. Homosistein standartının hazırlanması(136)

Önce tüplerin hepsine 250 µl sample dilüent konur. Sonra stok solüsyonundan ilk tüpe 250 µl eklenir. Yani seri dilüsyon yapılır. Stok solüsyonu en yüksek standart olarak 0 nolu tüp ise içerisinde sadece sample dilüent bulunduğundan sıfır standart olarak kabul edilir.

Tablo 3.15. Homosistein standart dilüsyon tablosu(136)

Tüp	S7	S6	S5	S4	S3	S2	S1	S0
nmol/ml	50	25	12,5	6,25	3,12	1,56	,078	0

50 25 12,5 6,25 3,12 1,56 0,78 0 nmol/ml konsantrasyonlarında hazırlanan standartlar kullanılarak kalibrasyon grafiği çizdirilmiştir.



Şekil 3.12. Homosistein Standart Grafiği

$$y = (-1,904 / (1 + (x/28,8)^{1,4})) + 2,49 \quad R^2 = 0,999$$

3.13.2 Ölçüm prosedürü

- 1) Önce tüm reaktifler ve standartlar hazırlanır.
- 2) Kaç numune çalışacağınızı ve kuyucuklardan ne kadarını kullanacağınızı belirleyin ve kalanları +4°C de saklayın.
- 3) Her kuyucuğa 100 µl standart ve örnek eklenir. Üzeri yapışkan şerit örtülür ve 37°C' de 2 saat inkübasyona bırakılır.
- 4) Herbir kuyucuktaki sıvı kısım dökülür. Ancak yıkama işlemi yapılmaz.
- 5) 100 µl biotin-antibadi reaktifinden eklenir ve yeni bir yapışkan strip ile kapatılarak 37°C' de 1 saat inkübasyona bırakılır.
- 6) Üstteki sıvı kısım uzaklaştırılır ve yıkama yapılır. Bu işlem 3 kez tekrarlanır. Yıkama işleminde her bir kuyucuk için 200 µl yıkama solüsyonu

kullanılır ve kuyucuklara yıkama solüsyonu fişkırtılarak tüm bağlanmamış bileşenler ortamdaki uzaklaştırılır. Son yıkama sonrası tüm yıkama solüsyonu aspire edilir. Plate kâğıt havlu üzerine ters çevirilir.

7) Her kuyucuğa 100 µl HRP-avidin eklenir. Yapışkan strip ile kapatılır ve 37°C’ de 1 saat inkübe edilir.

8) Altıncı basamaktaki yıkama işlemi 5 defa tekrarlanır.

9) Her kuyucuğa 90 µl TMB substratı eklenir. Karanlık ortamda 37°C’ de 15-30 dakika inkübe edilir.

10) Her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklenir.

11) 5 dakika içerisinde mikropate reader ile 450 nm’ de okuma yapılır. Dalga boyu düzeltmesi uygulanacak ise 540 ya da 570 nm’ de de ölçüm yapılır.

3.14. P-Selektin ölçümü

Çalışmamızda CUSABİO Rat P-Selektin ELİSA kiti (katolog no: CSB-E07399r China) kullanılmıştır. Bu ölçümde “Kantitatif sandviç enzim immünoassay” tekniği kullanılır. P-Selektin için spesifik olan antibadiler mikropate’in üstüne toplanmıştır. Standartlar ve örnekler küvet (hücreler) içine pipetlenir ve tüm P-Selektin hücrelerin yüzeyindeki antibadiler ile bağlanması sağlanır. Bağlanmayan içeriğin ortamdaki uzaklaştırılmasından sonra botin ile konjuge homosisteine özgü antibadi kuyulara eklenir. Yıkamadan sonra avidin ile konjuge olan Horseradish peroksidaz (HRP) kuyulara eklenir. Bağlanmamış olan avidin ile konjüge enzim reaktifinin ortamdaki uzaklaştırılmasının ardından, substrat solüsyonu kuyulara eklenir ve bağlı olan P-Selektin miktarı ile orantılı bir şekilde renk oluşumu gözlenir. Renk oluşumu sonlandırılır ve absorbans ölçümü yapılır.

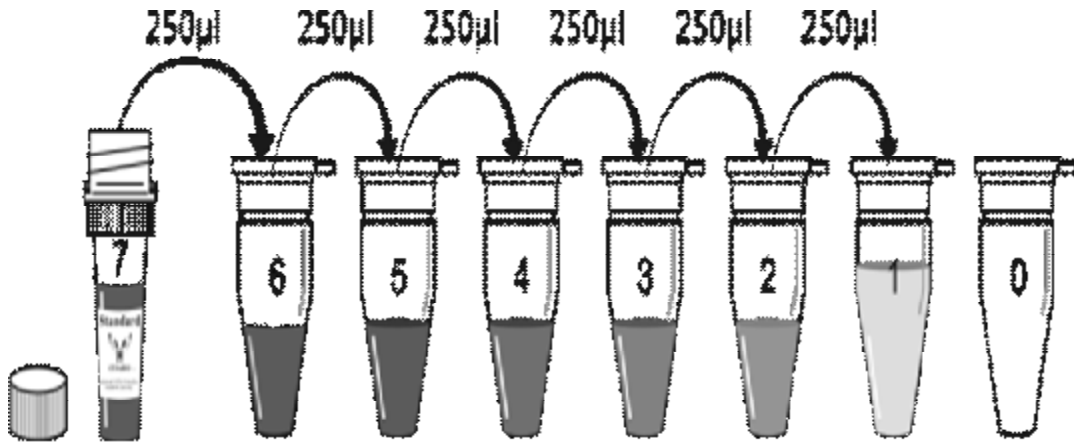
3.14.1. Reaktifler

1) **Biyotin-antibodi (1×):** Kullanmadan önce şişe santrifüjlenir. Biyotin-antibadi reaktifi 10 µl Biyotin-antibadi +990 µl distile su şeklinde 100 kat seyreltilir.

2) **HRP-avidin (1×):** Kullanmadan önce şişe santrifüjlenir. HRP- avidin 10 µl HPR-avidin 990 µl distile su şeklinde 100 kat seyreltilir.

3) **Wash buffer (Yıkama solüsyonu):** Eğer solüsyonda kristallenme oluşmuş ise oda sıcaklığında tamamen çözülene kadar hafifçe çalkalanır. 20 ml Wash buffer 500 ml distile su ile 25 kat seyreltilir.

4) **Standartlar:** Standart 6000-10000 rpm de 30s sanrifüj edilir. Standart 1 ml sample dilüent ile sulandırılır. Böylece 600 ng/ml stok solüsyonu hazırlanmış olur. Dilüsyon öncesi oda sıcaklığında yaklaşık 15 dakika hafifçe çalkalanır, 7 tane standart tüpü hazırlanır.



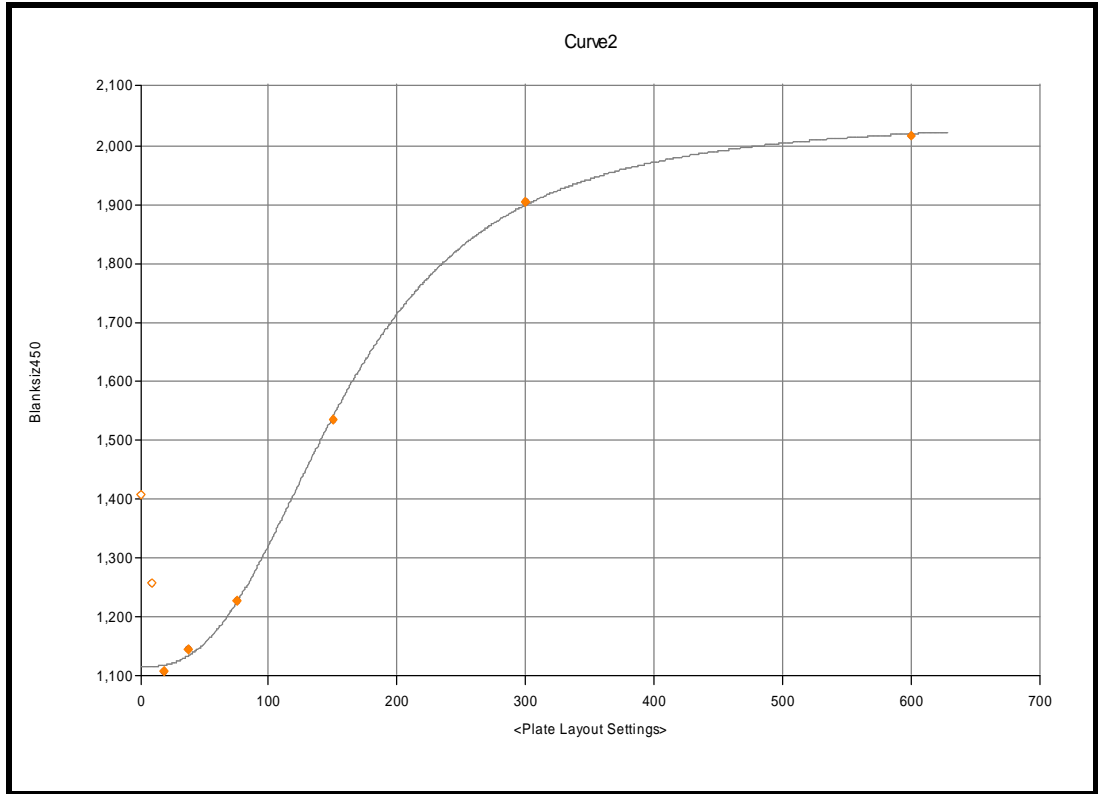
Şekil 3.13. P- Selektin standartının hazırlanması(137)

Önce tüplerin hepsine 250 µl sample dilüent konur. Sonra stok solüsyonundan ilk tüpe 250 µl eklenir, yani seri dilüsyon yapılır. Stok solüsyonu en yüksek standart olarak 0 nolu tüp ise içerisinde sadece sample dilüent bulunduğundan sıfır standart olarak kabul edilir.

Tablo 3.16. P-Selektin standart dilüsyon tablosu (137)

Tüp	S7	S6	S5	S4	S3	S2	S1	S0
ng/ml	600	300	150	75	37,5	18,75	9,38	0

600 300 150 75 37,5 18,75 9,38 0 ng/ml konsantrasyonlarında hazırlanan standartlar kullanılarak kalibrasyon grafiği çizdirilmiştir.



Şekil 3.14. P-Selektin Standart Grafiği

$$y = (-0,93 / (1 + (x/160)^{2,66})) + 2,05 \quad R^2 = 1$$

3.14.2. Ölçüm prosedürü

- 1) Önce tüm reaktifler ve standartlar hazırlanır.
- 2) Kaç numune çalışacağınızı ve kuyucuklardan ne kadarını kullanacağınızı belirleyin ve kalanları +4°C de saklayın.
- 3) Her kuyucuğa 100 µl standart ve örnek eklenir, üzeri yapışkan şerit örtülür ve 37°C' de 2 saat inkübasyona bırakılır.
- 4) Herbir kuyucuktaki sıvı kısım dökülür, ancak yıkama işlemi yapılmaz.
- 5) 100 µl biotin-antibadi reaktifinden eklenir ve yeni bir yapışkan strip ile kapatılarak 37°C' de 1 saat inkübasyona bırakılır.

6)Üstteki sıvı kısım uzaklaştırılır ve yıkama yapılır, bu işlem 3 kez tekrarlanır. Yıkama işleminde her bir kuyucuk için 200 µl yıkama solüsyonu kullanılır ve kuyucuklara yıkama solüsyonu fişkırtılarak tüm bağlanmamış bileşenler ortamdaki uzaklaştırılır. Son yıkama sonrası tüm yıkama solüsyonu aspire edilir, plate kağıt havlu üzerine ters çevrilir.

7)Her kuyucuğa 100 µl HRP-avidin eklenir, yapışkan strip ile kapatılır ve 37°C’ de 1 saat inkübe edilir.

8)Altıncı basamaktaki yıkama işlemi 5 defa tekrarlanır.

9)Her kuyucuğa 90 µl TMB substratı eklenir, karanlık ortamda 37°C’ de 15-30 dakika inkübe edilir.

10)Her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklenir.

11)5 dakika içerisinde mikropate reader ile 450 nm’ de okuma yapılır. Dalga boyu düzeltilmesi uygulanacak ise 540 ya da 570 nm’ de de ölçüm yapılır.

3.15. VCAM-1 ölçümü

Çalışmamızda CUSABİO Rat VCAM-1(Vasküler selüler ahdezyon molekülü) ELİSA kiti (katolog no: CSB-E07275 China) kullanılmıştır. Bu ölçümde “Kantitatif sandiviç enzim immünoassay” tekniği kullanılır. VCAM-1 için spesifik olan antibadiler mikropate’in üstüne toplanmıştır. Standartlar ve örnekler küvet (hücreler) içine pipetlenir ve tüm VCAM-1 hücrelerin yüzeyindeki antibadiler ile bağlanması sağlanır. Bağlanmayan içeriğin ortamdaki uzaklaştırılmasından sonra botin ile konjuge homosisteine özgü antibadi kuyulara eklenir. Yıkamadan sonra avidin ile konjuge olan Horseradish peroksidaz (HRP) kuyulara eklenir. Bağlanmamış olan avidin ile konjüge enzim reaktifinin ortamdaki uzaklaştırılmasının ardından, substrat solüsyonu kuyulara eklenir ve bağlı olan VCAM-1 miktarı ile orantılı bir şekilde renk oluşumu gözlenir. Renk oluşumu sonlandırılır ve absorban ölçümü yapılır.

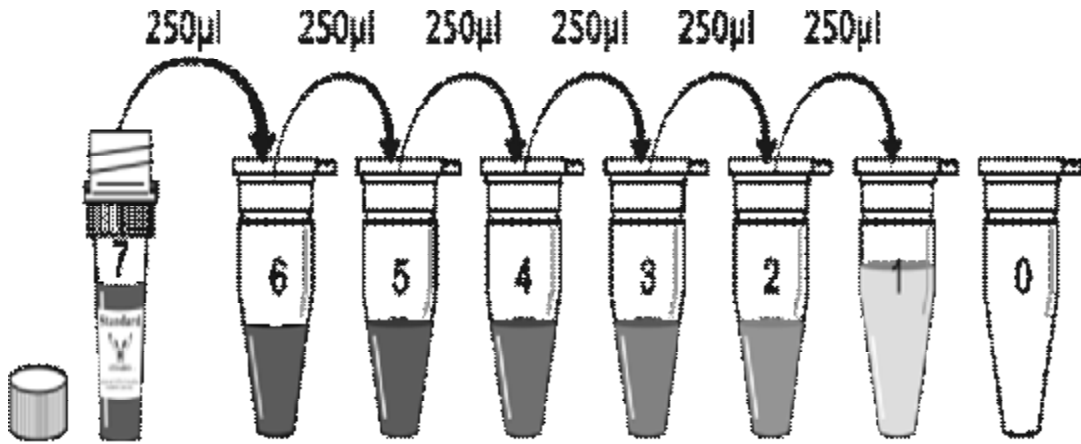
3.15.1. Reaktifler

1) **Biyotin-antibodi (1×):** Kullanmadan önce şişe santrifüjlenir. Biyotin-antibadi reaktifi 10 µl Biyotin-antibadi +990 µl distile su şeklinde 100 kat seyreltilir.

2) **HRP-avidin (1×):** Kullanmadan önce şişe santrifüjlenir. HRP-avidin 10 µl HRP-avidin 990 µl distile su şeklinde 100 kat seyreltilir.

3) **Wash buffer (Yıkama solüsyonu):** Eğer solüsyonda kristallenme oluşmuş ise oda sıcaklığında tamamen çözülene kadar hafifçe çalkalanır. 20 ml Wash buffer 500 ml distile su ile 25 kat seyreltilir.

4) **Standartlar:** Standart 6000-10000 rpm de 30s sanrifüj edilir. Standart 1 ml sample dilüent ile sulandırılır. Böylece 1000 ng/ml stok solüsyonu hazırlanmış olur. Dilüsyon öncesi oda sıcaklığında yaklaşık 15 dakika hafifçe çalkalanır. 7 tane standart tüpü hazırlanır.



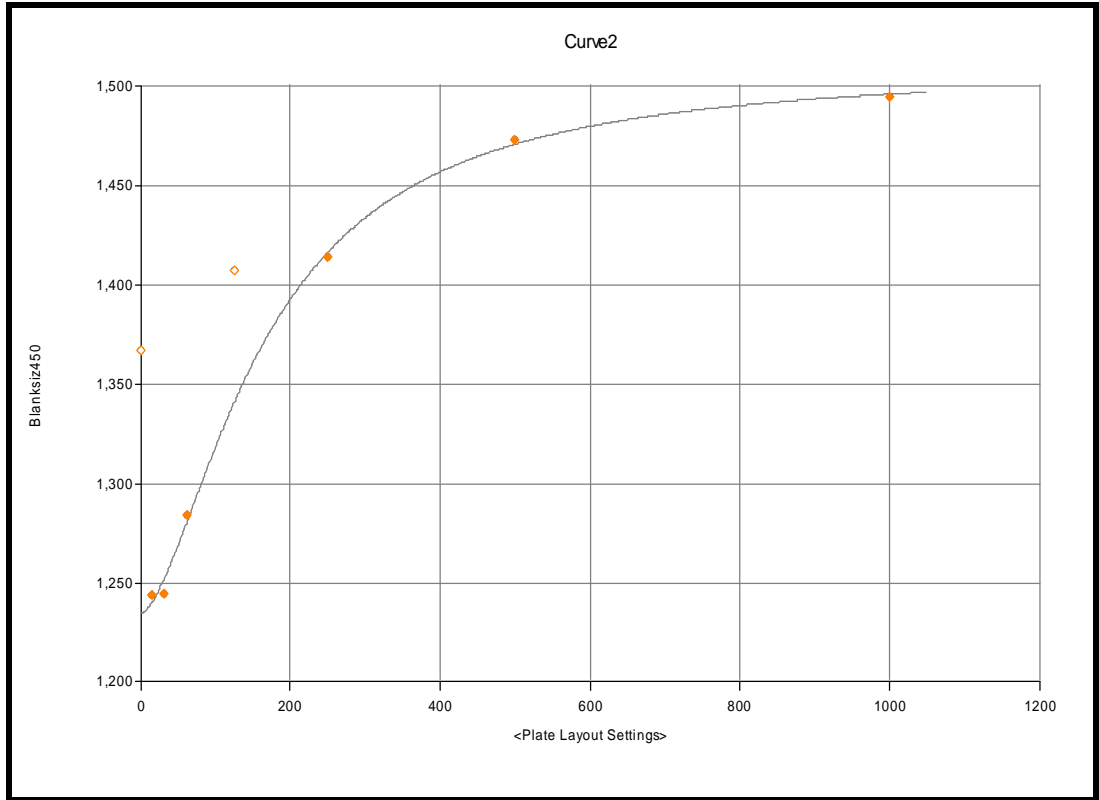
Şekil 3.15. VCAM-1 standartının hazırlanması (138)

Önce tüplerin hepsine 250 µl sample dilüent konur. Sonra stok solüsyonundan ilk tüpe 250 µl eklenir. Yani seri dilüsyon yapılır. Stok solüsyonu en yüksek standart olarak 0 nolu tüp ise içerisinde sadece sample dilüent bulunduğundan sıfır standart olarak kabul edilir.

Tablo 3.17. VCAM-1 standart dilüsyon tablosu (138)

Tüp	S7	S6	S5	S4	S3	S2	S1	S0
ng/ml	1000	500	250	125	62,5	31,2	15,6	0

1000 500 250 125 62,5 31,2 15,6 0 ng/ml konsantrasyonlarında hazırlanan standartlar kullanılarak kalibrasyon grafiği çizdirilmiştir.

**Şekil 3.16.** VCAM-1 Standart Grafiği

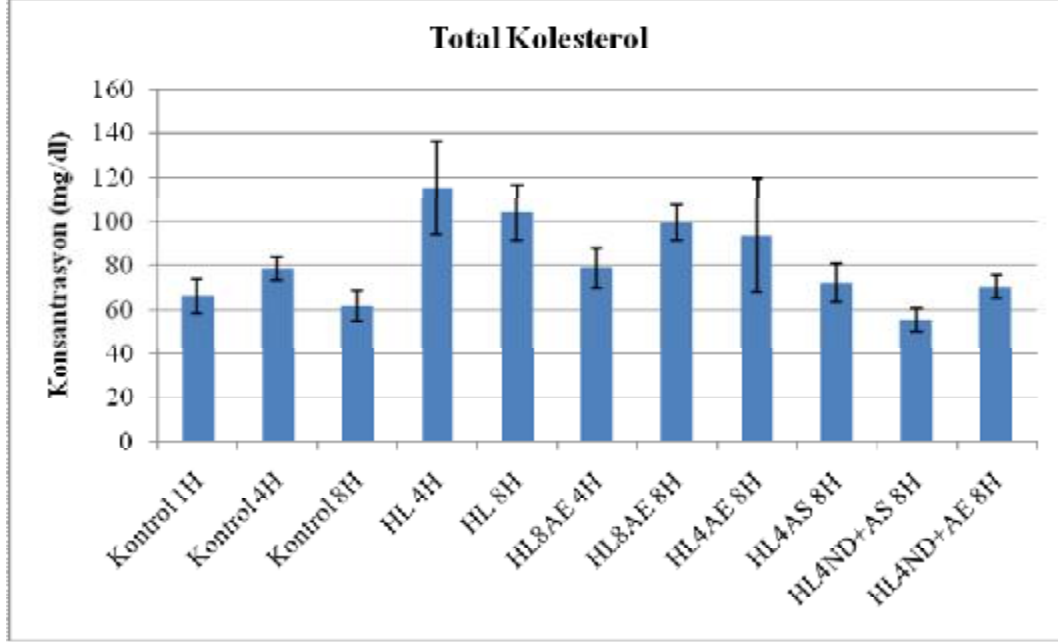
$$y = (-0,28 / (1 + (x/167)^{1,63})) + 1,51 \quad R^2 = 0,999$$

3.15.2. Ölçüm prosedürü

- 1)Önce tüm reaktifler ve standartlar hazırlanır.
- 2)Kaç numune çalışacağınızı ve kuyucuklardan ne kadarını kullanacağınızı belirleyin ve kalanları +4°C de saklayın.
- 3)Her kuyucuğa 100 µl standart ve örnek eklenir. Üzeri yapışkan şerit örtülür ve 37°C' de 2 saat inkübasyona bırakılır.
- 4)Herbir kuyucuktaki sıvı kısım dökülür. Ancak yıkama işlemi yapılmaz.
- 5)100 µl biotin-antibadi reaktifinden eklenir ve yeni bir yapışkan strip ile kapatılarak 37°C' de 1 saat inkübasyona bırakılır.
- 6)Üstteki sıvı kısım uzaklaştırılır ve yıkama yapılır. Bu işlem 3 kez tekrarlanır. Yıkama işleminde her bir kuyucuk için 200 µl yıkama solüsyonu kullanılır ve kuyucuklara yıkama solüsyonu fişkırtılarak tüm bağlanmamış bileşenler ortamdaki uzaklaştırılır. Son yıkama sonrası tüm yıkama solüsyonu aspire edilir. Plate kâğıt havlu üzerine ters çevirilir.
- 7)Her kuyucuğa 100 µl HRP-avidin eklenir. Yapışkan strip ile kapatılır ve 37°C' de 1 saat inkübe edilir.
- 8)Altıncı basamaktaki yıkama işlemi 5 defa tekrarlanır.
- 9)Her kuyucuğa 90 µl TMB substratı eklenir. Karanlık ortamda 37°C' de 15-30 dakika inkübe edilir.
- 10)Her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklenir.
- 11)5 dakika içerisinde mikroplate reader ile 450 nm' de okuma yapılır. Dalga boyu düzeltilmesi uygulanacak ise 540 ya da 570 nm' de de ölçüm yapılır.

4. BULGULAR

4.1. Total kolesterol ölçüm sonuçları

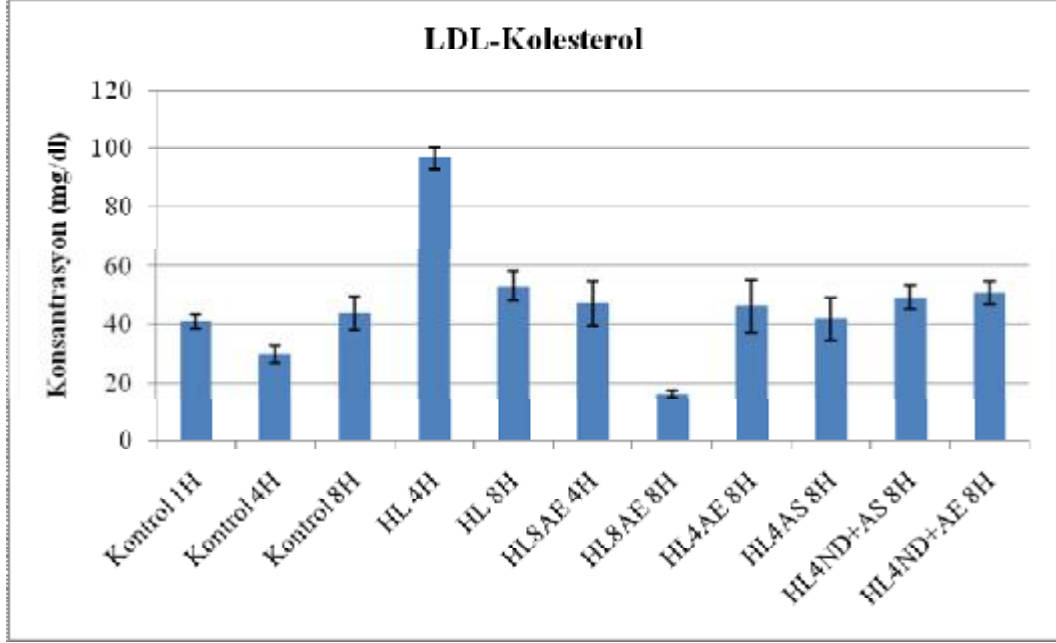


Şekil.4.1. Total kolesterol konsantrasyon değerlerinin gruplara göre dağılım grafiği

Tablo 4.1. Total kolesterol sonuçlarının gruplara göre ortalama ve standart hata değerleri

Total kolesterol Gruplar	Örnek Sayısı	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	Ortalamanın % 95 Güven Aralığı		En Küçük	En Büyük
					Alt Sınır	Üst Sınır		
Kontrol 1H	9	66,1167	23,5387	7,8462	48,0232	84,2101	26,56	94,76
Kontrol 4H	9	78,8344	15,3206	5,1069	67,058	90,6109	41,17	91,39
Kontrol 8H	5	115,458	47,2777	21,1432	56,755	174,161	67,67	165,4
HL 4H	5	79,048	19,8835	8,8922	54,3593	103,7367	56,23	95,82
HL 8H	8	61,8263	20,0813	7,0998	45,0379	78,6146	41,17	93,7
HL8AE 4H	5	103,96	28,3643	12,6849	68,7411	139,1789	75,72	147,63
HL8AE 8H	5	99,75	17,8697	7,9916	77,5618	121,9382	70,18	117,03
HL4AE 8H	5	93,816	57,3609	25,6526	22,593	165,039	11,74	156,61
HL4AS 8H	7	72,36	22,5983	8,5413	51,4601	93,2599	48,7	118,09
HL4ND+AS 8H	5	55,49	12,1522	5,4346	40,4011	70,5789	45,92	75,93
HL4ND+AE 8H	7	70,5057	13,4407	5,0801	58,0751	82,9363	52,86	88,55
Toplam	70	79,0977	30,0945	3,597	71,9219	86,2735	11,74	165,4

4.2. LDL ölçüm sonuçları

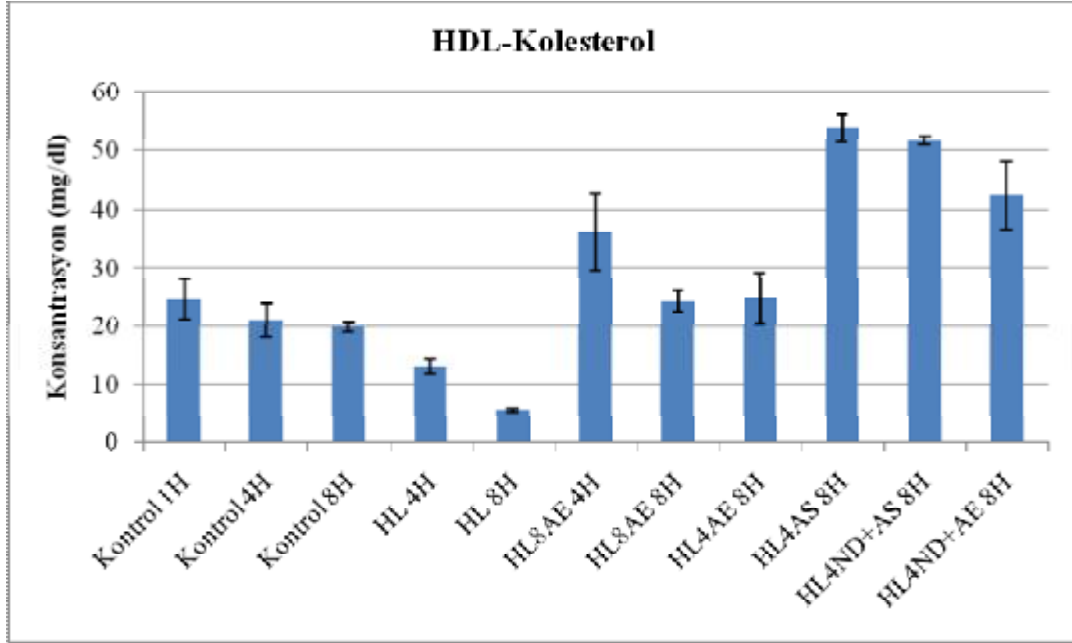


Şekil 4.2. LDL kolesterolün gruplara göre konsantrasyon değerleri grafiği

Tablo 4.3. LDL sonuçlarının gruplara göre ortalama ve standart hata değerleri

LDL Gruplar	Örnek Sayısı	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	Ortalamanın % 95 Güven Aralığı		En Küçük	En Büyük
					Alt Sınır	Üst Sınır		
Kontrol 1H	9	41,0844	6,9221	2,3074	35,7636	46,4053	30,29	53
Kontrol 4H	9	29,7556	8,8717	2,9572	22,9361	36,575	20,36	49,21
Kontrol 8H	5	96,67	8,6667	3,8758	85,9089	107,4311	86,43	109,5
HL 4H	5	47,258	16,9565	7,5832	26,2037	68,3123	33,64	74,14
HL 8H	8	43,8379	15,8798	5,6144	30,5621	57,1138	15,79	67
HL8AE 4H	5	53,19	11,164	4,9927	39,3281	67,0519	38,72	68,14
HL8AE 8H	5	16,21	2,4884	1,1128	13,1203	19,2997	12,43	18,43
HL4AE 8H	5	46,262	19,9256	8,911	21,5211	71,0029	17,86	72,64
HL4AS 8H	7	41,8371	19,4308	7,3442	23,8666	59,8076	11,43	64,86
HL4ND+AS 8H	5	49,258	9,2424	4,1333	37,7821	60,7339	37,76	61,43
HL4ND+AE 8H	7	50,8843	10,78	4,0745	40,9145	60,8541	42,79	70,93
Toplam	70	45,4508	20,8985	2,4979	40,4677	50,4338	11,43	109,5

4.3. HDL ölçüm sonuçları

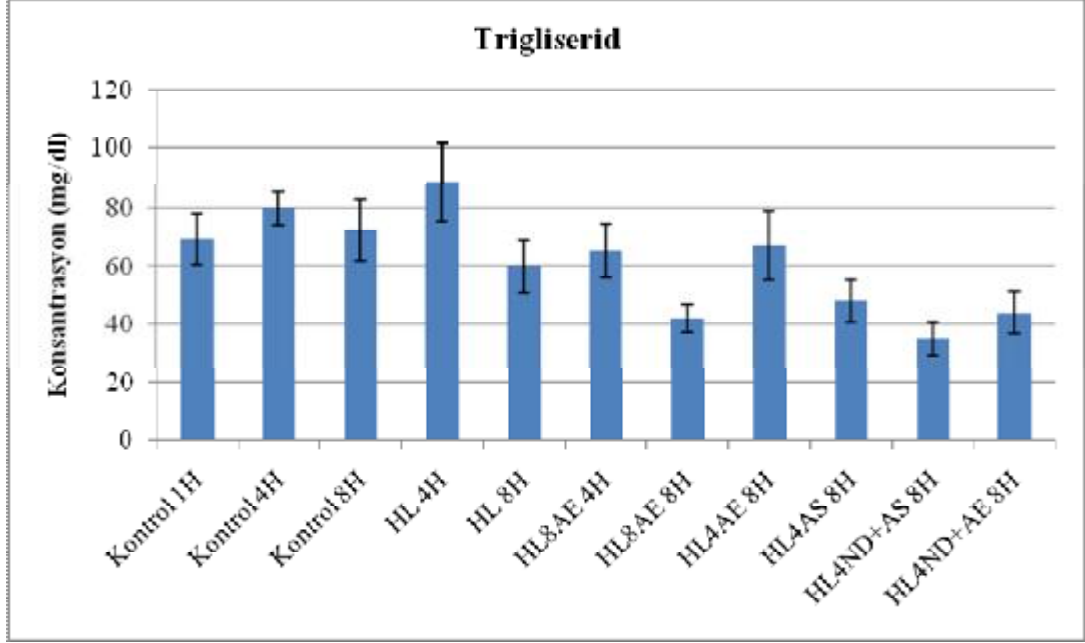


Şekil 4.3. HDL konsantrasyon değerlerinin gruplara göre dağılım grafiği

Tablo 4.5. HDL sonuçlarının gruplara göre ortalama ve standart hata değerleri

HDL Gruplar	Örnek Sayısı	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	Ortalamanın % 95 Güven Aralığı		En Küçük	En Büyük
					Alt Sınır	Üst Sınır		
Kontrol 1H	9	24,5967	10,4513	3,4838	16,5631	32,6302	6,25	37,56
Kontrol 4H	9	21,0167	8,3332	2,7777	14,6112	27,4221	15,64	42,95
Kontrol 8H	5	13,146	2,8229	1,2625	9,6409	16,6511	8,1	14,56
HL 4H	5	36,17	14,7501	6,5964	17,8554	54,4846	10,18	46,18
HL 8H	8	19,85	2,4432	0,8638	17,8074	21,8926	15,79	24,56
HL8AE 4H	5	5,586	0,5913	0,2644	4,8518	6,3202	4,64	6,25
HL8AE 8H	5	24,268	4,0172	1,7965	19,28	29,256	19,48	30,56
HL4AE 8H	5	24,774	9,6312	4,3072	12,8153	36,7327	8,1	30,72
HL4AS 8H	7	53,9114	6,0588	2,29	48,308	59,5148	49,95	66,87
HL4ND+AS 8H	5	51,716	1,3244	0,5923	50,0715	53,3605	50,1	53,64
HL4ND+AE 8H	7	42,3814	15,3718	5,81	28,1649	56,598	25,49	71,25
Toplam	70	28,881	16,3768	1,9574	24,9761	32,7859	4,64	71,25

4.4 Trigliserid ölçüm sonuçları

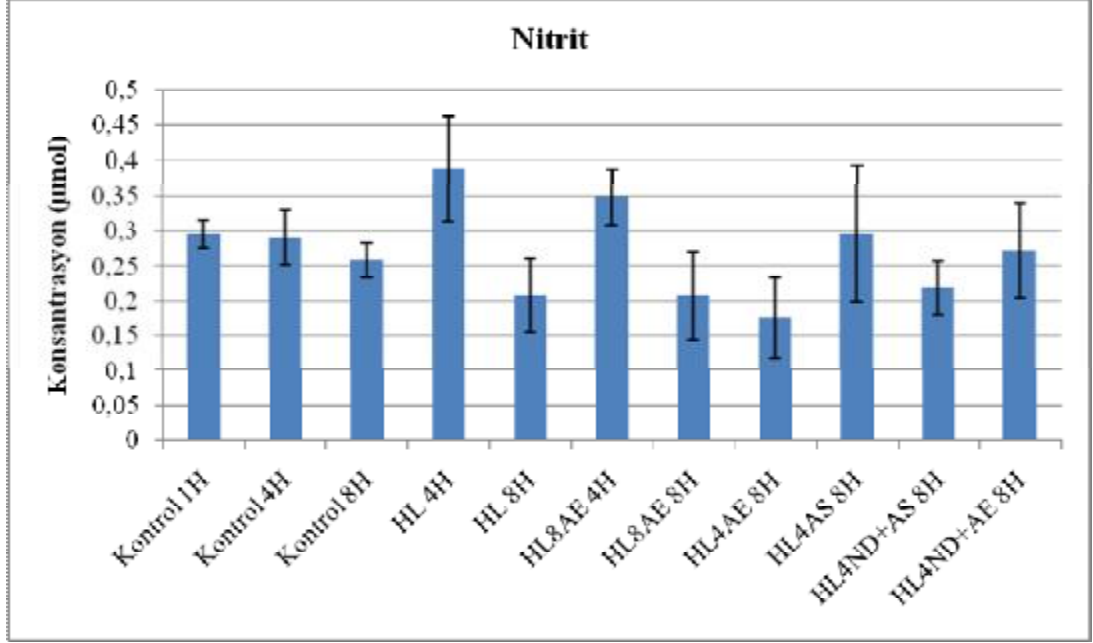


Şekil 4.4. Trigliserid konsantrasyon değerlerinin gruplara göre dağılım grafiği

Tablo 4.7. Triglicerid sonuçlarının gruplara göre ortalama ve standart hata değerleri

Triglicerid	Örnek Sayısı	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	Ortalamanın % 95 Güven Aralığı		En Küçük	En Büyük
					Alt Sınır	Üst Sınır		
Gruplar								
Kontrol 1H	9	69,2211	26,0862	8,6954	49,1694	89,2728	31,3	106,88
Kontrol 4H	9	79,8322	17,5722	5,8574	66,325	93,3394	53,32	100,06
Kontrol 8H	5	88,59	29,0661	12,9988	52,4997	124,6803	61,62	127,41
HL 4H	5	65,354	20,8701	9,3334	39,4403	91,2677	48,56	99,41
HL 8H	8	72,2513	29,7923	10,5332	47,3443	97,1582	39,97	125,35
HL8AE 4H	5	59,82	19,7328	8,8248	35,3185	84,3215	41,19	90,64
HL8AE 8H	5	42,102	10,9264	4,8864	28,5351	55,6689	23,64	51,45
HL4AE 8H	5	67,144	26,7525	11,9641	33,9264	100,3616	36,89	94,09
HL4AS 8H	7	48,0557	19,5866	7,403	29,9411	66,1703	24,48	69,09
HL4ND+AS 8H	5	35,008	12,579	5,6255	19,3891	50,6269	24,48	56,4
HL4ND+AE 8H	7	43,9857	18,8442	7,1224	26,5578	61,4136	22,8	76,09
Toplam	70	62,1981	25,9274	3,0989	56,016	68,3803	22,8	127,41

4.5. Nitrit ölçüm sonuçları

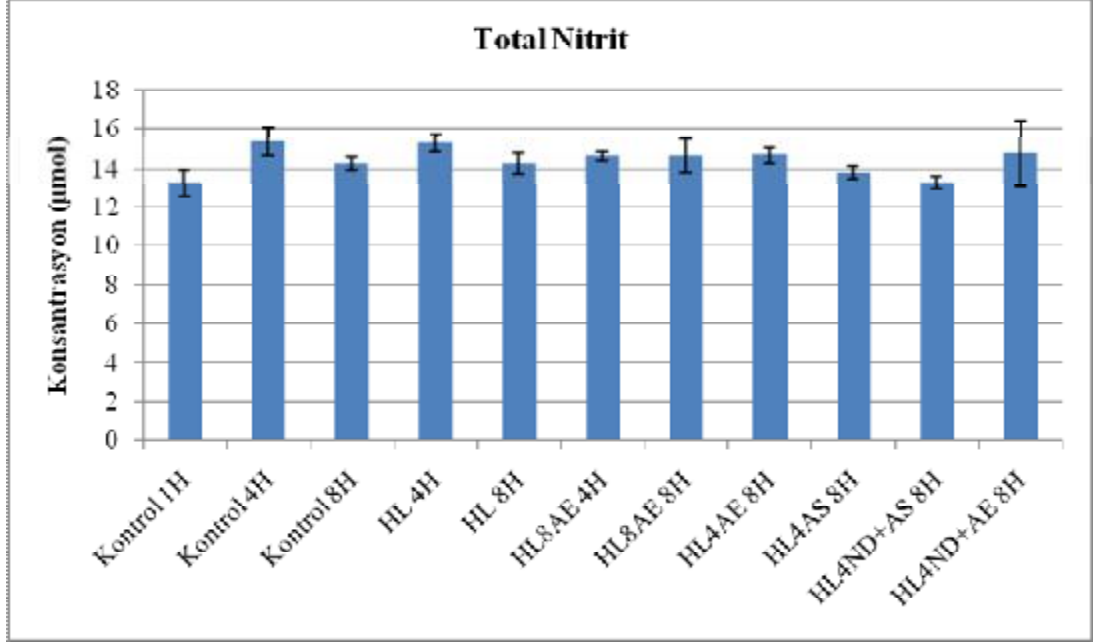


Şekil 4.5. Nitrit konsantrasyon değerlerinin gruplara göre dağılım grafiği

Tablo 4.9 Nitrit sonuçlarının gruplara göre ortalama ve standart hata değerleri

Nitrit Gruplar	Örnek Sayısı	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	Ortalamanın % 95 Güven Aralığı		En Küçük	En Büyük
					Alt Sınır	Üst Sınır		
Kontrol 1H	9	0,2961	0,0595	0,0198	0,2504	0,3419	0,24	0,4
Kontrol 4H	9	0,291	0,117	0,0390	0,2011	0,3809	0,16	0,55
Kontrol 8H	5	0,3882	0,1662	0,0743	0,1819	0,5945	0,24	0,63
HL 4H	5	0,3482	0,0889	0,0398	0,2378	0,4586	0,24	0,47
HL 8H	8	0,2585	0,0691	0,0244	0,2007	0,3163	0,16	0,32
HL8AE 4H	5	0,2078	0,1183	0,0529	0,0609	0,3547	0,08	0,4
HL8AE 8H	5	0,2078	0,1417	0,0634	0,0319	0,3837	0,08	0,4
HL4AE 8H	5	0,1766	0,1282	0,0573	0,0175	0,3357	0,08	0,4
HL4AS 8H	7	0,296	0,2569	0,0971	0,0584	0,5336	0,08	0,86
HL4ND+AS 8H	5	0,2196	0,0850	0,0380	0,1141	0,3251	0,08	0,32
HL4ND+AE 8H	7	0,2724	0,1793	0,0678	0,1066	0,4383	0,08	0,63
Toplam	70	0,2725	0,1396	0,0167	0,2392	0,3057	0,08	0,86

4.6. Total Nitrit ölçüm sonuçları

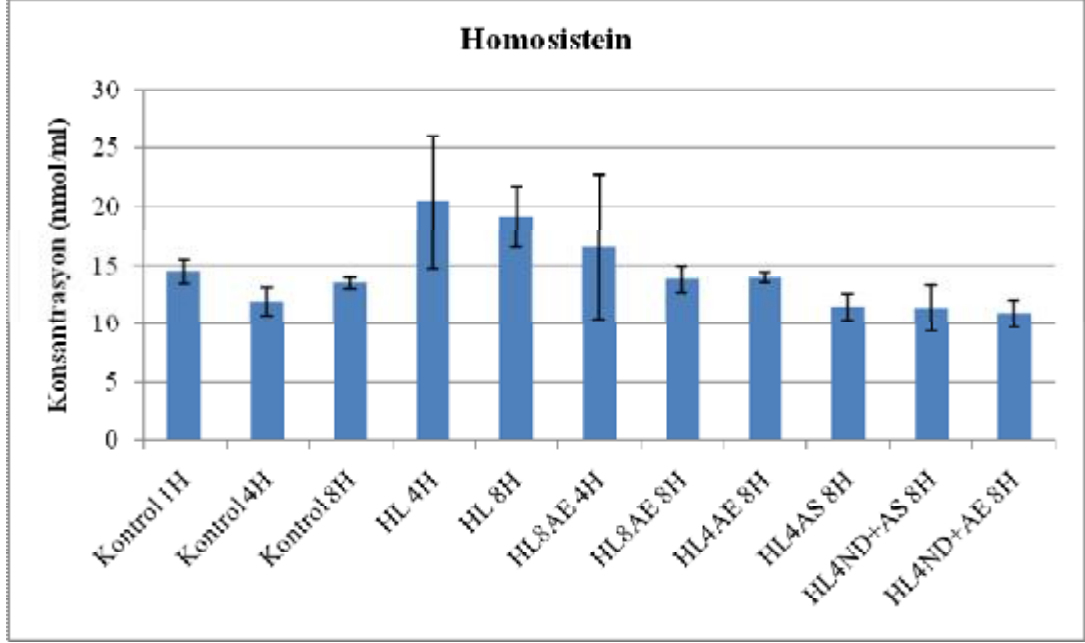


Şekil 4.6. Total nitrit konsantrasyon düzeylerinin gruplara göre dağılım grafiği

Tablo 4.11. Total nitrit sonuçlarının gruplara göre ortalama ve standart hata değerleri

Total Nitrit Gruplar	Örnek Sayısı	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	Ortalamanın % 95 Güven Aralığı		En Küçük	En Büyük
					Alt Sınır	Üst Sınır		
Kontrol 1H	9	13,2378	2,0941	0,698	11,6281	14,8475	10,99	17,14
Kontrol 4H	9	15,3433	2,0736	0,6912	13,7494	16,9372	13,01	19,66
Kontrol 8H	5	15,278	0,9321	0,4168	14,1207	16,4353	14,34	16,79
HL 4H	5	14,634	0,4627	0,2069	14,0594	15,2086	13,99	15,18
HL 8H	8	14,2875	0,8931	0,3158	13,5408	15,0342	13,15	15,74
HL8AE 4H	5	14,256	1,1759	0,5259	12,7959	15,7161	13,08	16,09
HL8AE 8H	5	14,676	1,9596	0,8764	12,2428	17,1092	11,89	17,28
HL4AE 8H	5	14,69	0,8559	0,3828	13,6273	15,7527	13,57	15,81
HL4AS 8H	7	13,81	0,877	0,3315	12,9989	14,6211	13,01	15,6
HL4ND+AS 8H	5	13,29	0,7207	0,3223	12,3951	14,1849	12,52	14,06
HL4ND+AE 8H	7	14,76	4,3312	1,6371	10,7543	18,7657	9,66	23,64
Toplam	70	14,3663	1,9307	0,2308	13,9059	14,8266	9,66	23,64

4.7. Homosistein ölçüm sonuçları

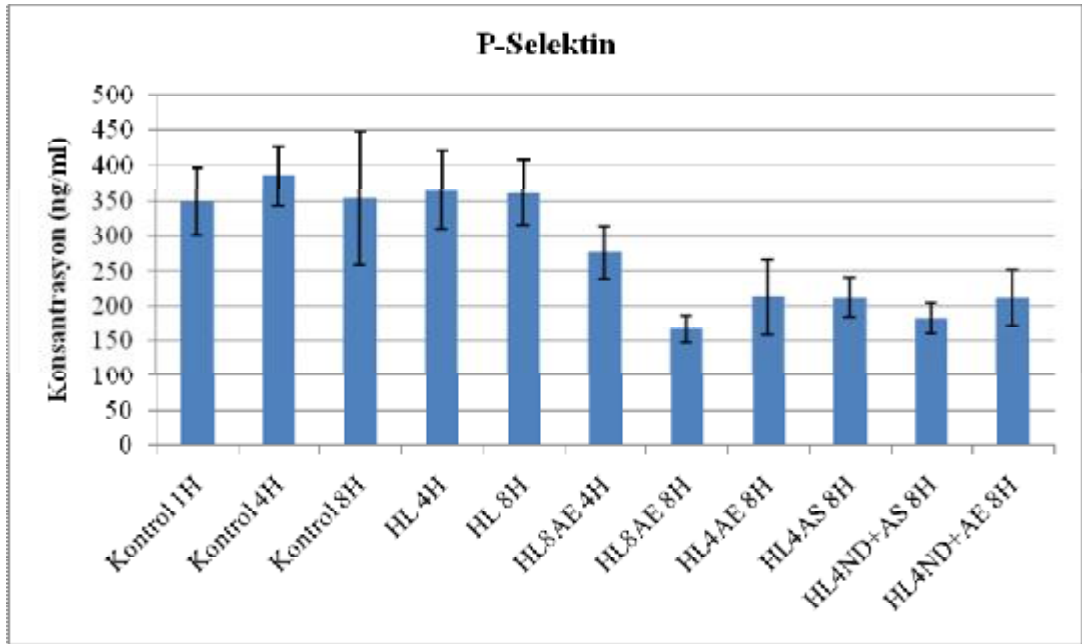


Şekil 4.7. Homosistein konsantrasyon düzeylerinin gruplara göre dağılım grafiği

Tablo 4.13. Homosistein sonuçlarının gruplara göre ortalama ve standart hata değerleri

Homosistein Gruplar	Örnek Sayısı	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	Ortalamanın % 95 Güven Aralığı		En Küçük	En Büyük
					Alt Sınır	Üst Sınır		
Kontrol 1H	9	14,5467	3,0777	1,0259	12,1809	16,9124	8,55	19,37
Kontrol 4H	9	11,9344	3,6726	1,2242	9,1115	14,7574	8,06	19,21
Kontrol 8H	5	20,42	12,5423	5,6091	4,8466	35,9934	12,7	42,37
HL 4H	5	16,61	13,8035	6,1731	-0,5293	33,7493	5,33	39,21
HL 8H	8	13,53	1,4811	0,5236	12,2918	14,7682	11,82	16,3
HL8AE 4H	5	19,182	5,7466	2,57	12,0466	26,3174	14,62	28,94
HL8AE 8H	5	13,88	2,5365	1,1344	10,7305	17,0295	10,94	16,7
HL4AE 8H	5	14,028	0,9794	0,438	12,8119	15,2441	12,38	14,95
HL4AS 8H	7	11,4914	3,0669	1,1592	8,655	14,3279	5,12	15,17
HL4ND+AS 8H	5	11,406	4,3062	1,9258	6,0592	16,7528	4,18	15,59
HL4ND+AE 8H	7	10,9457	3,0943	1,1695	8,084	13,8075	6,34	13,74
Toplam	70	14,018	6,0198	0,7195	12,5826	15,4534	4,18	42,37

4.8. P-Selektin ölçüm sonuçları

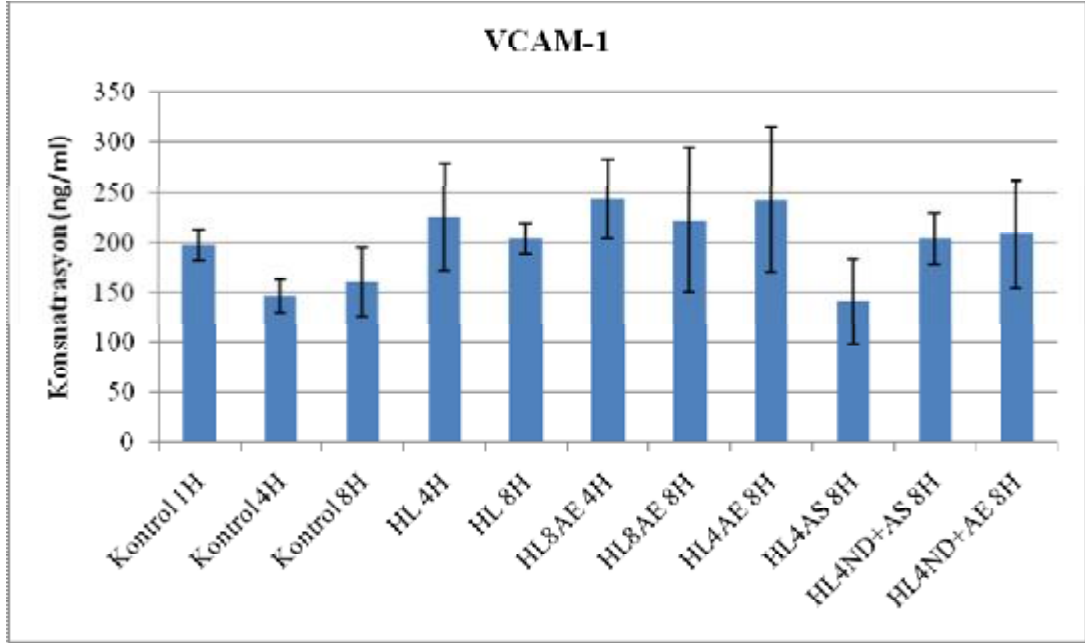


Şekil 4.8. P-Selektin konsantrasyon düzeylerinin gruplara göre dağılım grafiği

Tablo 4.15. P-Selektin sonuçlarının gruplara göre ortalama ve standart hata değerleri

P-Selektin Gruplar	Örnek Sayısı	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	Ortalamanın % 95 Güven Aralığı		En Küçük	En Büyük
					Alt Sınır	Üst Sınır		
Kontrol 1H	9	349,04	144,2117	48,0706	238,189	459,891	119,54	606,27
Kontrol 4H	9	384,7789	123,5548	41,1849	289,8063	479,7515	233,09	639,18
Kontrol 8H	5	365,454	123,7855	55,3585	211,7541	519,1539	239,43	522,1
HL 4H	5	277,07	84,5153	37,7964	172,1304	382,0096	146,87	350,62
HL 8H	8	354,01	266,8127	94,3326	130,949	577,071	133,76	960,69
HL8AE 4H	5	361,31	102,5144	45,8458	234,0215	488,5985	269,96	534,39
HL8AE 8H	5	167,45	43,8038	19,5897	113,0603	221,8397	108,7	217,52
HL4AE 8H	5	212,924	121,4642	54,3205	62,1062	363,7418	116,57	423,43
HL4AS 8H	7	212,2114	75,4045	28,5002	142,4739	281,949	126,66	336,53
HL4ND+AS 8H	5	182,612	47,5081	21,2463	123,6229	241,6011	117,69	239,1
HL4ND+AE 8H	7	212,3357	106,9794	40,4344	113,3963	311,2752	105,29	399,5
Toplam	70	289,1769	149,5859	17,8789	253,5094	324,8444	105,29	960,69

4.9. VCAM-1 ölçüm sonuçları



Şekil 4.9. VCAM-1 konsantrasyon düzeylerinin gruplara göre dağılım grafiği

Tablo 4.17. VCAM-1 sonuçlarının gruplara göre ortalama ve standart hata değerleri

VCAM-1 Gruplar	Örnek Sayısı	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	Ortalamanın % 95 Güven Aralığı		En Küçük	En Büyük
					Alt Sınır	Üst Sınır		
Kontrol 1H	9	198,1744	47,4866	15,8289	161,673	234,6759	130,1	269,4
Kontrol 4H	9	147,3	49,0889	16,363	109,5669	185,0331	72,08	234,76
Kontrol 8H	5	225,586	118,2031	52,862	78,8175	372,3545	34,66	347,68
HL 4H	5	243,78	88,1376	39,4163	134,3427	353,2173	167	360,06
HL 8H	8	161,195	99,1535	35,0561	78,3006	244,0894	57,67	357,76
HL8AE 4H	5	204,424	33,9185	15,1688	162,3086	246,5394	171,41	244,13
HL8AE 8H	5	222,344	160,7848	71,9052	22,7033	421,9847	62,75	463,88
HL4AE 8H	5	243,03	159,02801	71,11949	45,5666	440,4854	40,22	410,25
HL4AS 8H	7	141,6529	114,0475	43,1059	36,1765	247,1292	56,91	385,23
HL4ND+AS 8H	5	204,824	56,4331	25,2377	134,753	274,895	148,82	295,37
HL4ND+AE 8H	7	208,89	141,5831	53,5134	77,9475	339,8325	57,3	472,15
Toplam	70	250,7761	467,8238	55,9156	139,2275	362,3248	34,66	472,15

Tablo 4.19. Gruplar arası karşılaştırmalar için ANOVA toplu sonuçları

		Kareler Toplamı	Df	Kareler Ortalaması	F	Anlamlılık değeri.
Total Kolesterol	Gruplar Arası	20441,530	10	2044,153	2,868	,006
	Gruplar İçi	42050,520	59	712,721		
	Toplam	62492,050	69			
Trigliserid	Gruplar Arası	17171,798	10	1717,180	3,468	,001
	Gruplar İçi	29212,057	59	495,120		
	Toplam	46383,856	69			

Tablo 4.19. Gruplar arası karşılaştırmalar için ANOVA toplu sonuçları (devam)

		Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Anlamlılık değeri.
HDL	Gruplar Arası	14050,594	10	1405,059	18,607	,000
	Gruplar İçi	4455,288	59	75,513		
	Toplam	18505,883	69			
LDL	Gruplar Arası	20491,255	10	2049,126	12,536	,000
	Gruplar İçi	9644,390	59	163,464		
	Toplam	30135,645	69			

Tablo 4.19. Gruplar arası karşılaştırmalar için ANOVA toplu sonuçları (devam)

		Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Anlamlılık değeri.
Nitrit	Gruplar Arası	,211	10	0,02110	1,098	,379
	Gruplar İçi	1,133	59	0,01921		
	Toplam	1,344	69			
TOTAL NİTRİT	Gruplar Arası	34,725	10	3,473	,921	,521
	Gruplar İçi	222,467	59	3,771		
	Toplam	257,192	69			

Tablo 4.19. Gruplar arası karşılaştırmalar için ANOVA toplu sonuçları (devam)

		Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Anlamlılık Değeri
P-Selektin	Gruplar Arası	446714,277	10	44671,428	2,402	,018
	Gruplar İçi	1097225,268	59	18597,038		
	Toplam	1543939,545	69			
Homosistein	Gruplar Arası	560,312	10	56,031	1,704	,101
	Gruplar İçi	1940,149	59	32,884		
	Toplam	2500,461	69			
VCAM-1	Gruplar Arası	3419358,863	10	341935,886	1,727	,096
	Gruplar içi	11681921,167	59	197998,664		
	Toplam	15101280,030	69			

5. TARTIŞMA

Günümüzde artan metropolleşme, endüstriyel ve teknolojik gelişmeler ve makineleşme sonucu ortaya çıkan hareketsiz ancak yoğun iş temposuna bağlı olarak insanların yaşam biçiminde ve beslenme alışkanlıklarında önemli değişiklikler meydana gelmiştir. Bu yeni yaşam biçiminin dikkat çeken yanları; enerjice zengin, posası düşük, şeker, fruktoz ya da sentetik tatlandırıcılarla tatlandırılmış, hayvansal ya da hidrojenize bitkisel yağ oranı yüksek besinlerle beslenme ve sedanter yaşam tarzıdır. Böyle bir yaşam biçiminin sonucu olarak günümüzde, gelişmiş ve gelişmekte olan toplumlarda obezite ve hiperlipidemi önemli sağlık sorunlarından biri haline gelmiştir. Biz bu çalışmada, sorunun hiperlipidemi ayağına yoğunlaştık ve ülkemizde yaygın olarak yetişmekte olan alıç (*Crataegus tanacetifolia*) bitkisinden hazırlanan meyve ekstre ve sirkesinin anti-hiperlipidemik ve anti-aterojenik etkilerini inceledik.

Hiperlipidemi, lipid metabolizmasının primer bozukluğu ya da sekonder nedenlere bağlı olarak gelişip, plazma total kolesterol (TK), düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-K), ve trigliserid (TG) düzeylerinin yüksekliği olarak ifade edilmektedir. Yüksek seviyelerdeki (LDL-K), apoprotein B100, lipoprotein(a) ya da düşük seviyelerdeki yüksek dansiteli lipoprotein (HDL-K) kolesterol ile apoprotein A1 ve homosistein, hiperlipidemi ve aterogenez gelişimini arttıran önemli risk faktörlerdir. Hiperlipidemi, damarların intima tabakası altında lipid birikimi sonucu, hücrel-humoral reaksiyonlara sebep olan ve ateroskleroz olarak adlandırılan vasküler bozukluğa yol açmaktadır. Ateroskleroz ise, koroner kalp hastalığına (KKH)'na zemin hazırlayan faktörlerin başında gelmektedir. Kalp hastalıkları günümüzde tüm dünyadaki ölüm nedenlerinin yaklaşık %50'sini oluşturarak birinci sırada yer alırken, miyokard enfarktüsü geçirenlerin %40'ının yaşamını yitirdiği bilinmektedir (139).

Genel olarak, lipid metabolizmasında görev alan enzimlerin defektli, yetersiz ya da hiç sentezlenememesi ile karakterize olan genetik temelli primer hiperlipideminin dışında toplumda en yaygın görülen hiperlipidemi tipi beslenme alışkanlıkları, yaşam biçimi, kullanılan ilaçlar ya da başka bir hastalığa bağlı nedenlerle ortaya çıkan sekonder hiperlipidemidir. Deney hayvanlarında yapılan

çalışmalarda deneysel olarak oluşturulmaya çalışılan hiperlipidemi modeli insanlardaki bu hiperlipidemi tipine karşılık gelmektedir. Sıklıkla deney hayvanlarının yemlerine katılan kolesterol, doymuş yağlar ve kolik asidin yanısıra yüksek doz Vitamin D uygulanması kısa süre içerisinde hiperlipidemi gelişmesine neden olmaktadır. Biz de bu çalışmada %3 kolesterol, %1 kolik asit ve %3 hidrojenize edilerek doyurulmuş bitkisel yağ içeren bir yem rasyonu hazırlayarak hiperlipidemi gurubundaki ratları bu yemle besledik ve ilaveten oral gavaj yoluyla Vitamin D₃ uygulayarak hiperlipidemi gelişiminin hızlanmasını sağladık. Öte yandan uzun yıllardır halk arasında kalp damar hastalıklarından korunmada ve tedavisinde yaygın olarak kullanılan alıç bitkisinin koruyucu etkinliğini değerlendirebilmek amacıyla meyve ekstrelerini ve meyve sirkesini farklı guruplarda hiperlipidemik yemle birlikte uyguladık. İki farklı çalışma gurubunda ise 4 hafta boyunca hiperlipidemik beslenmeden sonra hiperlipidemik yem kullanımına son verilerek, ratlar takip eden 4 hafta boyunca normal diyetle beslenmeye başlandı ve beraberinde deneyin sonlanacağı 8.hafta sonuna kadar bu guruplardan birine alıç meyve ekstresi, diğerine ise alıç meyve sirkesi uygulandı, böylece ekstre ve sirkenin diyet ile birlikte kullanıldığında etkinliğinin artıp artmadığını değerlendirme imkanımız oldu.

Dört hafta boyunca hiperlipidemik yemle beslenen ratlarda 4. haftanın sonunda TK, LDL-K, VCAM-1 ve homosistein düzeylerinde önemli artış gözlenirken HDL-K düzeyleri anlamlı bir şekilde azalma gözlemlendi ($p < 0.05$). TG düzeylerinde gözlenen hafif artış ise istatistiksel fark içermemekteydi. Bu bulgular bize elde etmek istediğimiz dislipidemili rat çalışma guruplarını oluşturabildiğimizi gösterdi. Bugüne kadar bu konuda yapılmış olan çalışmalarda araştırmacılar, temelde ateroskleroza hedef almış, aterogenezi tüm aşamalarıyla irdelemiş ve süreçte rol oynayan aktörleri ve oynadıkları rolleri tanımlayarak antiaterojenik ajanlar keşfetmeye çalışmışlardır. Biz de bu çalışmada aynı amaçla alıç meyve ekstresi ve sirkesini test ettik. Dört hafta hiperlipidemik yemle beslenen ratlarda bulgular arasında ilk dikkat çeken TK ve LDL-K düzeylerindeki dramatik artışa karşın HDL-K düzeylerindeki azalmadır. Aterom plak gelişim süreci olarak tanımlanan aterogeneizde LDL-K çok önemli bir tetikleyici faktördür. Hiperkolesterolemi gelişmesinin ardından kk lipoprotein partikülleri agrege olarak arteriyal intimada birirmektedir. Biriken partiküllerde meydana gelen oksidasyonlar ve

modifikasyonlara vasküler endotel tabakanın artan geçirgenliği de eşlik etmektedir. Artan geçirgenlik nedeniyle lökositler ve okside LDL partikülleri endotel hücrelerin arasından subintimal alana geçerler. Bu bölge okside LDL, monositler ve T-lenfositlerin biriktiği, aterogenezi başlatan tetikleyici aktivitelerin cereyan ettiği başlama bölgesidir. Sürecin bir sonraki aşamalarında yer alan önemli basamaklardan bir tanesi ise köpük hücre oluşumudur. Arteriyal intimaya toplanan monositler, lipidleri fagosite etmeye çalışırlar, özellikle okside LDL'yi yutan monositler bu yapıyı fagosite edemedikleri için köpük hücreye ya da lipid yüklü makrofajlara dönüşürler. Makrofajlar üzerindeki LDL reseptörlerinin önemli bir kısmı çöpçü reseptörleri olarak bilinirler ve bu reseptörler doğal yapıdaki lipoproteinlerle değil okside LDL gibi doğal yapısını yitirmiş lipoproteinlerle etkileşirler. İlginç bir şekilde, ortamda okside LDL bulunması bu reseptörlerin up-regülasyonuna neden olarak köpük hücre oluşumunda sürekli artan bir döngü yaratmaktadır. Sürece yakından bakıldığında net bir şekilde anlaşılacağı üzere aterogenezin etyopatogenezinde asıl tetikleyici unsur doğal LDL lipoproteini değil okside LDL partikülleri'dir. LDL-K düzeylerini normal sınırlar içerisinde tutmak kadar oksidasyonunu önlemek de önem taşımaktadır. Quettier DC ve ark (2003) çalışmalarında alıç meyve, çiçek ve yaprak ekstralarının Cu^{+2} aracılı LDL oksidasyonunu inhibe ettiğini ve güçlü radikal süpürücü kapasiteye sahip olduklarını rapor etmişlerdir (140). Akila M ve Devaraj H (2008) çalışmalarında alıç ve mango ekstralarının ratlarda antioksidan etki gösterdiğini ve bu etkinin ekstralar birlikte kullanıldığında sinerjik olduğunu göstermişlerdir (141). Deney guruplarımızda hiperlipidemik yemle beslenme nedeniyle TK ve LDL-K düzeylerindeki artış ilk 4 haftada daha keskin iken sonraki 4 haftada yatay bir değişim gösterdi. Bu bize organizmanın bir süre sonra lipid metabolizması ile ilişkili yolaklarda upregülasyon aracılı bir reorganizasyona gittiğini, yani kolesterol düzeylerindeki artışı tolere etmeye yönelik bir defans geliştirdiğini düşündürmektedir. Hiperlipidemik yemle eş zamanlı olarak verdiğimiz alıç ekstresinin ise 4. Haftanın sonunda hem TK hem de LDL-K düzeylerindeki artışı anlamlı düzeyde ($p<0.05$) inhibe ettiğini gördük. 8. hafta sonuçlarına baktığımızda, hiperlipidemik yem ile birlikte alıç ekstresi uygulanmasının TK düzeyinde anlamlı bir etki göstermezken özellikle LDL-K düzeylerindeki azalma devam etmiştir ($p<0.05$). Öte yandan hiperlipidemik yem ile

beslenmeyle birlikte hem 4. haftada azalmış olan hem de 8. haftada azalmaya aynı oranda devam etmiş olan ($p<0.05$) HDL-K düzeyleri alıç ekstresi uygulanması ile birlikte artmış ve 4 hafta sonunda kontrol grubunun da üzerinde değerlere ulaşırken 8. haftada kontrol grubuyla paralel değerler almıştır ($p<0.05$).

Sonuç olarak, 8 hafta boyunca hiperlipidemik yem ile birlikte alıç ekstresi uyguladığımız grupta, hem TK hem de LDL-K düzeylerindeki artış önlenirken LDL-K deki azalma daha dramatiktir. HDL-K düzeylerindeki azalma ise alıç ekstresi uygulanmasıyla tümüyle inhibe olmuştur. Rajendran S ve ark. (1996) hepatosit plasma membranlarında yapmış oldukları çalışmalarında aterojenik diyetle eş zamanlı olarak alıç tentürü uygulanmasının rat hepatosit LDL reseptörlerini aktive ettiğini aynı zamanda karaciğerde safra tuzlarının sentez ve sekresyonunu hızlandırdığını in vivo ve in vitro deneylerle ortaya koymuşlardır (142). LDL reseptör aktivasyonu dolaşımdaki LDL-K'ün intavasküler ortamdan uzaklaştırılmasını sağlarken karaciğerde safra tuzlarının artan sentez ve sekresyonu hepatositlere kolesterol geçişini hızlandıracaktır. Shanthi S ve ark (1994) nın çalışma bulguları da bu sonuçları destekler nitelikte olup alıç ekstresinin ratlardaki hipolipidemik etkisini ortaya koymaktadır (143). Xu H (2009), ApoE den yoksun transgenik farelerde, yüksek kolesterol diyeti ile birlikte farklı gruplara uygulanan simvastatin ve alıç meyve ekstresinin benzer düzeyde etki göstererek, total ve LDL kolesterol düzeylerini anlamlı şekilde düşürdüğünü ve alıç meyve ekstresinin hiperlipidemi tedavisinde destek tedavi stratejisi olabileceğini rapor etmiştir (144).

Öte yandan, alıç ekstresinin kolesterol emilimini azaltması ve/veya kolesterol metabolizması ile ilişkili yolları sitümüle etmesi bir başka olası mekanizmadır. Alıç meyvesi son derece zengin biyoaktif bileşenler içermektedir ve bu bileşenlerin kolesterolün de novo sentezini inhibe etmesi de muhtemeldir. Ancak literatürde buna cevap verecek içerikte bir çalışmaya rastlanamazken polifenollerin kolesterol ve doymuş yağların emilimini azalttığı birçok kez rapor edilmiştir. Başar A. ve ark. alıçın meyve, çiçek ve yapraklarından elde edilen ekstralarında önemli miktarda vitamin C, flavonoidler, glikozidler, antosiyanidin ve proantosiyanidinler, saponinler, taninler ve kardiyovasküler sistem üzerinde spesifik etkilere sahip olan kardiyotonik aminler bulunduğunu rapor etmişlerdir. Bu bileşenlerin her birinin süreçteki olası

rolü ayrı ayrı çalışma konusu olarak değerlendirilmelidir (145). Goodman-Gruen D. ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada 66 hiperkolesterolemik postmenapozal kadına yüksek düzeyde izoflavon içeren izole soya proteini diyeti verilmiş, sadece soya proteini alanlar ile izoflavon içeren soya proteini alanlar karşılaştırıldığında izoflavon içeren soya protein diyeti alanların LDL-K belirgin bir azalma HDL-K düzeyinde belirgin artma olduğu gözlemlenmiştir (146). Ayrıca; Somova ve arkadaşlarının *Olea europaea*'dan izole ettikleri triterpenoidlerin ratlar üzerindeki antihipertansif, antiaterosklerotik ve antioksidan aktivitelerini çalışmışlardır. Hipertansif ratlara *Olea europaea*'dan izole edilen oleonik asit ve ursolic asit içeren oleuafricein maddesi oral olarak verilmiş ve ratlarda normalin üzerinde olan kan lipid parametrelerinin ve tansiyon değerlerinin bu maddelerin 6 haftalık uygulanması sonucunda normal düzeylere döndüğü gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar *Olea europaea* özütlerinin antihipertansif, antihiperlipidemik, hipoglisemik etkilerinin bulunduğunu, toksik olmamaları ve ucuz olmalarından dolayı antihiperlipidemik ve antihipertansif olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir (147).

Homosistein, protein yapısına katılmayan ve metiyoninin demetilasyonu ile oluşan sülfürlü bir modifiye aminoasittir. Plazma homosistein konsantrasyonu, homosistein metabolizmasında görev yapan enzimlerin sentezinden sorumlu genlerde genetik bir defekt yok ise büyük oranda beslenme şekline bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Hayvansal protein ve doymuş yağ içeriği yüksek beslenme şekillerinde plazma homosistein düzeyleri yükselmektedir. Ateroskleroz gelişimi sırasında plazma LDL-K artışı ile homosistein düzeylerindeki artış arasında pozitif bir korelasyon bulunmaktadır. Çalışmamızda hiperlipidemik yem ile beslenen ratların 4. ve 8. hafta plazma homosistein düzeyleri kontrol gurubuna göre anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Artan plazma homosistein düzeyleri ateroskleroz açısından önemli bir risk faktörü olmakla beraber homosisteinin ateroskleroz etiyopatoogenezinin hangi evresinde rol oynadığı net bir şekilde aydınlatılabilmiş değildir. Ancak mevcut bilgilerimiz ve literatürde rapor edilmiş bulgular ışığında şu muhtemel mekanizmaların, homosistein-aterogenez ilişkisinde etkili olabileceğini ileri sürebiliriz; yüksek homosistein konsantrasyonlarında homosisteinin tiyol gurubu taşıyan biyomoleküllerle etkileşimi sonucu oluşan homosistein-tiyolakton molekülü LDL-K ile birleşerek makrofajlar tarafından

fagosite edilemeyen partiküller oluşturur ve köpük hücre oluşumuna katkı sağlar. Öte yandan, homosisteinemi monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1) ve IL-8 yapımını hızlandırarak endotel geçirgenliğin artmasına neden olmaktadır. Ayrıca homosistein konsantrasyonlarındaki artış, oksidatif stresi artırarak sürece katkı sağlayabilir. Özellikle yüksek homosistein konsantrasyonlarında GSH/GSSG oranı GSSG lehine bozulmakta ve hücresel bileşenler oksidasyona açık hale gelmektedir. Yapılan çalışmalar, homosisteineminin endotelde GPx enzimi mRNA ekspresyonunu ve enzim sentezini suprese ettiği ve H₂O₂ aracılı lipid peroksidasyonunu artırdığını göstermiştir. İlaveten homosisteinin kendisi de Cu⁺² aracılı oksidasyona uğrayarak ortamdaki H₂O₂ konsantrasyonunu artırmaktadır (148). Tüm bu olası mekanizmalar dikkate alındığında homosisteinemi ile aterogenez arasında güçlü bir korelasyon olduğu söylenebilir. Çalışmada kullandığımız alıç preparatları hiperlipidemik yemle beslenen ratlardaki artan homosistein düzeylerini 8 hafta içerisinde kontrol gurubu düzeylerine çekmiştir (p<0.05). Aksoy Ş. N. ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada sağlıklı 126 kişide vitamin ve homosistein düzeyleri kişilerin demografik, yaşam tarzı ve diyet özelliklerine göre ölçülmüştür ve bu çalışma sonucunda günlük yeşil sebze ve meyve tüketimi daha fazla olan grupta sebze, meyve tüketimi düşük olan gruba göre homosistein düzeyleri anlamlı olarak daha düşük ölçülmüştür (148).

Çalışmamızda değerlendirmeye kattığımız bir diğer parametre sınıfı ise lökosit adhezyon molekülleridir. Çünkü lezyonel alanda lökosit birikimi aterogenezin özellikle erken aşamasında önemli bir basamaktır. Normal endotel hücreleri lökosit adhezyonuna karşı dirençli iken aterogenezde hiperlipidemi ve hiperkolesteroleminin ardından endotele tutunan lökositler artan geçirgenlik nedeniyle endotel hücreleri arasından subintimal alana geçerler ve birikmeye başlarlar. Bu bağlamda, lökositlerin adheziv potansiyellerinin bir göstergesi olan immünglobulin süperfamilyasından vasküler hücre adhezyon molekülü (VCAM-1) ve adhezyon moleküllerinin diğer bir kategorisi selektin ailesinin iki üyesinden biri olan P-selektin düzeylerini değerlendirdik. Hiperlipidemik yemle beslenen ratlarda P-selektin düzeyleri kontrol gurubuyla aynı aralıkta seyrederken alıç sirke ve ekstrelerinin uygulandığı guruplarda hem kontrol hem de çalışma guruplarındaki düzeyler anlamlı şekilde düşmüştür (p<0.05). VCAM-1 ise hiperlipidemik yemle beslenme sonrası anlamlı şekilde artarken bu artış sadece alıç sirkesi tarafından inhibe edilebilmiştir (p<0.05).

Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda yeni oluşan ateromatöz lezyonlar üzerindeki endotel hücrelerinde VCAM-1'in aşırı ekspresyonu gösterilmiştir (149). Genetiği değiştirilmiş farelerde yapılan çalışmalar da VCAM-1 ve P selektinin aterogenezdeki rollerini destekler niteliktedir (150, 151, 152). Shin I.S. ve ark (2012) yapmış oldukları çalışmalarında deneysel olarak alerjik astım oluşturulan farelerde alıç meyve ekstresi uygulanması sonucu artmış olan ICAM-1 ve VCAM-1 düzeylerinde anlamlı bir azalma ve matriks metalloproteinaz -9 (MMP-9) aktivitesinde de önemli düzeyde inhibisyon gerçekleştiğini rapor etmişlerdir.(151). İlaveten, Fürts R. ve ark. (2010) miyosit hücre kültür ortamına alıç çiçek ve yapraklarından elde edilen ekstrenin ilave edilmesiyle PDGFR- β (platelet-derived growth factor reseptor- β) blokağı aracılığı ile damar düz kas hücrelerinin migrasyon ve proliferasyonunu inhibe ettiğini ve bu etkisi nedeniyle anjiyoplastik girişim sonrası gözlenen re-stenozisin önlenmesinde etkili bir ajan olarak kullanılabileceğini rapor etmişlerdir (154).

Nitrik oksit, platelet agregasyonunun inhibisyonu, damar düz kasında gevşetici etkisi, hücre adezyonunun kontrolü ve damar geçirgenliği üzerine olan etkileri nedeniyle aterogenezde rol oynayan önemli endojen moleküllerden bir tanesidir. Özellikle lökositler üzerindeki etkileri süreçle doğrudan ilişkilidir. Nitrik oksit sentaz enziminin inhibitörleri olan L-NMA, L-NAME ve aminoguanidin gibi bileşikler lökosit adezyonunu artırır. L-NMA, nötrofil yüzeylerinde CD11/CD18 derişimini artırır. CD11/CD18, ICAM-1 veya P-selektinlere karşı hazırlanan monoklonal antikorlar, NOS inhibitörlerinin artırdığı lökosit adezyonunu baskırlar. Bu bulgular, nitrik oksidin lökosit yüzeyindeki adhezyon moleküllerinin derişimini ve adezyon molekülleri arasındaki etkileşimin kontrolünde rol aldığını gösterir. NOS inhibitörü olan arjinin analogları PAF ve LTB₄ sentezini de artırır. PAF ve LTB₄ de CD11/CD18 sentezini indüklerler ve böylece lökositlerin endotel hücrelerin konstitütif olarak sentezlediğı ICAM-1'e yapışmasını sağlarlar. NO sentezi ile P-selektin düzeyleri arasında da negatif bir korelasyon olduğu bilinmektedir (155). Aterogenezde oynadığı önemli rol nedeniyle kontrol ve çalışma guruplarımızdaki ratlarda plazma NO_x düzeylerini değerlendirdik. Bu amaçla serbest nitrit ve total nitrat düzeylerini ölçtük. Elde ettiğimiz bulgular, total nitrat düzeylerinde guruplar arasında anlamlı bir fark olmadığını gösterirken hiperlipidemik yemle beslenen ratlarda 8.haftada serbest nitrit düzeylerinde belirgin bir azalmaya işaret etmektedir. Ancak serbest nitritin biyolojik ortamlarda hızlıca nitrata indirgeniyor olması nedeniyle nitrik oksid düzeylerinin dolaylı olarak

değerlendirilmesi amacıyla yapılan ölçümlerde daha çok total nitrat düzeylerinin dikkate alınması tercih edilmektedir. Bu açıdan yaklaşıldığında serbest nitrit düzeylerinde molekülün aşırı kararsız yapısı nedeniyle guruplar arasında bir tutarsızlık gözlenirken, total nitrit düzeylerinde kontrol ve çalışma gurupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenememiştir ($p<0.05$). Birman H. ve arkadaşlarının *Crataegus tanacetifolia* bitkisi ile yapmış olduğu çalışmada *Crataegus* doğal flavonoidi olan hiperozitin, böbrek dokusundaki eNOS aktivitesinde artışa neden olduğu gösterilmiştir. (156)

Sirkenin kullanımı modern tıbbın babası Hipokrat'a kadar gitmektedir. Hipokrat sirkeyi enfeksiyon, iltihap ve ülserlerin temizlenmesinde kullanmıştır. Eski bir ilaç olan sirke ve baldan yapılan oksimel, Hipokrat ve arkadaşları tarafından kronikleşen öksürük tedavilerinde kullanılmıştır (157). Çalışmamızda alıç ekstresi ile paralel şekilde diğer bir çalışma gurubumuzdaki ratlara hiperlipidemik yem ile birlikte i.g. gavaj yoluyla alıç sirkesi uyguladık. Sirke uygulanan gurupta da TG, T-KOL, LDL-K, homosistein, P-selektin ve VCAM-1 düzeyleri hiperlipidemi gurubuna göre anlamlı düzeyde azalma gösterirken ($p<0.05$), HDL-K düzeyleri artmış ($p<0.05$) ancak total nitrat düzeylerinde anlamlı bir fark gözlenememiştir ($p>0.05$). Kadaş Z'nin yapmış olduğu çalışmada, gönüllülük esasına göre belirlenmiş 37 hastaya 4 hafta süresince günde yarım su bardağı ılık suya ilave edilmiş bir tatlı kaşığı alıç sirkesi verilerek bu kişilerde kilo değişimi, kan basıncı, glukoz, üre, kreatinin SGOT, SGPT, kolesterol LDL, VLDL, trigliserid, glikohemoglobin (HbA1c) ve EKG analizleri yapılmış ve bu kişilerde kan şekeri ve total kolesterolün azaldığı, kilo kaybı gözlemlendiği ve HbA1c seviyesinin düştüğü rapor edilmiştir (158).

Hiperlipidemiyle ilişkili olarak aterogeneze karşı önleyici ve tedavi edici yaklaşımlar sıklıkla, ilaç tedavisi (statinler ya da lipaz inhibitörleri gibi), diyet ve alternatif tıbbi ürünlerin (bitkisel preparatlar) kullanımını kapsamaktadır. Bu yaklaşımların birlikte kullanımı daha etkili sonuçlar verirken alternatif tıbbi ürünlerin ilaçlarla eş zamanlı kullanımı bitki ekstrelerinin içerdiği biyoaktif bileşenlerin ilaçlarla olası istenmeyen etkileşimleri nedeniyle bazı riskleri de beraberinde taşımaktadır. Bu bağlamda ilaç ya da bitkisel kürlerin uygun bir diyetle birlikte uygulanması hem daha hızlı sonuç vermekte hem de herhangi bir yan etki riski taşımamaktadır.

Biz de çalışmamızda, hiperlipidemik yemle beslediğimiz ratlardan oluşan çalışma guruplarımız arasından iki guruba, dördüncü haftadan itibaren alıç sirkesi ve alıç ekstresi verilmesinin yanı sıra hiperlipidemik beslemeye son vererek normal diyet uygulamaya başladık, böylece mevcut yüksek yağlı beslenme düzenindeyken daha düşük yağlı ve daha düşük kalorili bir beslenme düzenine geçen bireylerdekine benzer bir beslenme modeli oluşturabilmeyi amaçladık. Diğer bir ifadeyle hiperlipidemik ratlara alıç ekstresi ve alıç sirkesi uygulanmasının diyetle kombine edildiğinde daha güçlü antihiperlipidemik etki gösterip göstermeyeceğini belirlemek istedik. Elde ettiğimiz bulgular hem alıç sirkesinin hem de alıç ekstresinin diyetle kombine uygulanmasının, homosistein, P-selektin, TK, LDL-K ve TG düzeylerindeki düşüşü ve HDL-K düzeylerindeki artışı da daha belirgin hale getirdiğini gösterdi.

Sonuç olarak, yüksek yağlı diyet ile beslenme nedeniyle oluşan hiperlipidemi, hiperkolesterolemi, hiperhomosisteinemi ve artmış adhezyon molekülü düzeyleri ile uyumlu bir şekilde artan ateroskleroz riskini alıç meyve ekstresi ve sirkesinin azaltabileceği hipotezi üzerinden kurguladığımız bu çalışmada elde ettiğimiz bulgular göstermektedir ki; hem alıç meyve ekstresi ve hem de alıç sirkesinin ayrı ayrı güçlü antiaterojenik etki gösterirken bu etkilerin düşük yağlı diyetle kombine edildiğinde daha belirgin hale gelebileceğini göstermektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Hiperlipideminin oluşumunda genetik nedenler yani primer nedenler yanında günümüz de sekonder nedenlerden dolayı artış göstermesi günümüz yaşam koşullarının ve beslenme alışkanlıklarımızın değişmesi ve bozulmasından dolayı kaynaklanmaktadır. Bu bağlamda çalışmamızda ratlarda yüksek yağlı diyetle beslenme sonucunda oluşacak hiperlipidemi ve ateroskleroz riskine karşı alıç (*Crataegus tanacetifolia*) meyve ekstresi ve meyve sirkesinin etkisini farklı diyetler uygulayarak inceledik. Oluşturduğumuz deneysel hiperlipidemi modeli ile 4. ve 8. hafta sonunda aldığımız kan örneklerinde HL grubundaki ratlarda TK, LDL-K, VCAM-1 ve homosistein düzeylerinde bariz bir artış olduğunu gözlemledik.

Hiperlipidemik yemle beraber başladığımız HL + 8AE grubunda 4. Haftanın sonunda TK ve LDL-K düzeylerindeki artışın istatistiki olarak anlamlı biçimde ($p<0.05$) azaldığını gözlemledik. 8. haftanın sonunda TK düzeyinde anlamlı bir etki gözlemlenmezken LDL-K düzeyindeki azalma devam etmiştir. HDL-K düzeyi ise 4. haftanın sonunda kontrol grubunun üzerine çıkarken 8. hafta sonunda kontrol grubuyla paralel değerler almıştır. Bu çalışma grubu alıç ekstresinin hipolipidemik etki gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda HL+8AE grubunda 4 ve 8. hafta plazma homosistein düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde yüksek iken alıç meyve ekstresi ve alıç meyve sirkesinin hiperlipidemi ile beraber uygulandığı gruplarda Homosistein düzeyleri 8 hafta sonunda kontrol grubu düzeylerine gerilemiştir ($p<0.05$).

HL grubunda P-Selektin düzeyleri kontrol grubu ile aynı düzeyde seyrederken alıç sirkesi ve alıç ekstresi ile beslenen gruplarda P-Selektin düzeyleri hem kontrol hem de diğer çalışma gruplarında düşüş göstermiştir.

VCAM-1 düzeyi hiperlipidemik beslenme ile anlamlı bir şekilde artarken bu artış sadece alıç sirkesinin uygulandığı gruplarda inhibe edilmiştir.

Serbest nitrit düzeylerinde serbest nitritin aşırı kararsız olmasında dolayı gruplar arasında tutarsızlık gözlenirken total nitrit düzeylerinde kontrol ve çalışma grupları arasında anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p<0.05$).

Alıç sirkesinin uygulandığı gruplarda TG, TK, LDL-K, homosistein, P-Selektin ve VCAM-1 düzeyleri HL grubuna göre anlamlı düzeyde azalma gösterirken ($p<0,05$) HDL-K düzeyleri artmış ve total nitrat düzeylerinde anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p<0,05$).

Sonuç olarak; çalışmamızda alıç meyve ekstresi ve meyve sirkesinin anti hiperlipidemik ve antiaterojenik etkilerinin olduğu ve bu etkinin düşük yağlı diyetle daha da artacağı gözlemlenmiştir.

Özellikle Malatya yöresinde ve ülkemizin birçok bölgesinde yetişen doğal ve yabani olarak yetişen alıç bitkisinin sadece tatlı bir meyve olarak değil ayrıca tıbbi olarakta değerlendirilmesinde yaptığımız bu çalışma ve yapılacak diğer çalışmalar ışığında alıcın halk arasındaki kullanımı ve tıbbi öneminin algılanması sağlanabilir.

Ayrıca eczacılık ve ilaç sanayinde alıç bitkisinden yararlanılarak yan etkisi daha az olan ilaçlar üretip ve ülkemizde bol miktarda yetiştiği için maddi olarakta ülkemize katkı sağlanacak atılımlar yapılabilir. Böylelikle bozkırın yalnız ağaçları olan alıç bitkisi de gerektiği değeri bulabilir.

KAYNAKLAR

1. Rağbetli C. (2009). Hiperlipidemi. *Van Tıp Dergisi*: 16 (1):43-47.
2. Harold, H., Craine, L., Hart, D. (2007). *Organic Chemistry, A Short Course*(12. baskı), Houghton Mifflin Company, 33-40.
3. Nordin Fredrikson, G., Hedblad, B., Berglund, G., Nilsson, J. (2003). Plazma oxidized LDL: a predictor for acute myocardial infarction? *J Intern Med* 253:425-29.
4. Davignon, J., Ganz, P. (2004). Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation*, 109, III27-III32.
5. Chen, F., Castranova, V., Shi, X., Demers M, L., (1999). New insights into the role of nuclear factor kappa b, an ubiquitous transcription factor in the initiation of disease. *Clin Chem*, 45: 7-17.
6. Delanty, N., Vaughan, CJ.,(1997). Vascular effects of statin in stroke. *Stroke*, 28: 1-15.
7. Crawford, MH., DiMarco, JP. (2003). Ateroskleroz Pathogenezi. *Crawford Kardiyoloji*, 1: 1-12.
8. Kumar, V., Cotran, RS., Robbins, SL. (1997). Atherosclerosis. *Basic Pathology* (6. baskı), 282-288.
9. Ross R. (1999). Atherosclerosis- an inflammatory disease. *N Engl J Med* 340:115-126.
10. Barış, N., Sipahi, İ., Tuzcu, E.Murat. (2006). Koroner Aterosklerozun Görüntülenmesinde İnvasküler Ultrasonografi Beklentilerimizin Ne Kadarını Karşılıyor. *Fırat Tıp Dergisi* 2006;11(1): 1-5.
11. Fuster, V., Alexander, RW., O'Rourke, R. (2002). Aterogenez ve Belirleyicileri. *The Heart* (10. Baskı), 1065-1075.
12. Karadeniz, T. (2004). *Şifalı Meyveler*. K.T.Ü. Ordu Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Bölümü, Ordu, 34-36.
13. Öztürk, A., Özdemir, Y., Göksel, Z. (2009). Elma Sirkesi ve Teröpatik Etkileri; *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, 2 (1):155-158.

14. Munzel, T., Sinning, C., Post, F., Warnholtz, A., Schulz, E. (2008). Pathophysiology, diagnosis and prognostic implications of endothelial dysfunction. *Ann Med*, 40, 180-96.
15. Bombeli, T., Mueller, M., Haerberli, A. (1997). Anticoagulant properties of the vascular endothelium. *Thromb Haemost*, 77: 408-423
16. Yaylalı, Y.T., Küçükaslan, M. (2011). Endotel disfonksiyonu. *Pamukkale Tıp Dergisi*.4(3):152-157.
17. Müller, MM., Griesmacher, A. (2000). Markers of endotelial dysfunction. *Clin Chem Lab Med*, 38(2):77-85.
18. Önder, M.R., Nalbantgil, İ. (1997). "Endotel ve fonksiyonları, Ege Ü." *Tıp Fak. Kardioloji BD*, 60-68.
19. Demir, F. (2008). Hiperlipidemik hastalarda rosuvastatin, atorvastatin, simvastatin, fluvastatin, pravastatin'nin lipid profili, endotel fonksiyonu, proteinuri, eGFR üzerine etkileri ve yan etki sıklığının karşılaştırılması. Uzmanlık tezi, Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.
20. Charles, J., Lowenstein, MD., Jay, L., Dinerman, MD., Solomon, H., Snyder, MD.(1994). Nitrik oxide, A physiologic Messenger. *Annals of internal medicine*, volume 120, issue 3 pages 227-237.
21. Türköz, Y., Özerol, E. (1997). Nitrik Oksit'in Etkileri ve Patolojik Rollerini. *Journal of Turgut Özal Medical Center*, 4(4):453-461.
22. J.G, Diodati., Dakak, N., Gilligan, D.M., Quyyumi, A.A. (1998). Effect of atherosclerosis on endothelium dependent inhibition of platelet activation in humans. *Circulation*, 98: 17-24
23. Spieker, LE., Noll, G., Ruschitzka, F.T., Maier, W., Lüscher, TF. (2000). Working under pressure: the vascular endothelium in arterial hypertension. *J Hum Hypertens*, 14: 617-630
24. Esper, RJ., Nordoby, RA., Vilarino, JO., Paragano, A., Cacharron, JL., Macharado, RA. (2006). Endothelial dysfunction: a comprehensive appraisal. *Cardiovasc Diabetol*, 5: 4.
25. Güç, D. (2004). Adhezyon Molekülleri. *Astım Allerji İmmünoloji*, 2(2):95-102.

26. Taçyıldız, N., Çavdar, A.O. (1995). Adhezyon molekülleri ve metatastaz. *Ankara tıp mecmuası*, Vol:48 199-214.
27. Aytekin, C., İkincinciogulları, A. (2004). Lökosit Adezyonu ve Lökosit Adezyon Defekti Sendromları. *Astım Allerji İmmünoloji*, 2(3):157-166
28. Şensoy, A., Öznurlu, Y. (2009). Hücre adhezyon molekülleri. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Dergisi*, Cilt: 4 Sayı: 1 Sayfa: 57-68
29. Terekeci, M.H., Şahan, B., Top, C. (2008). Hücre adhezyon molekülleri. *Nobel Medicus*, 4(1): 4-10
30. Eken, E. İ. (2008). Yavaş kroner akım teşhisi alan hastalarda plazma ICAM-1, VCAM-1, E-Selektin ve Homosistein düzeylerinin saptanması, uzmanlık tezi, Cumhuriyet Üniversitesi. Sivas.
31. Behrens, J. (1994). Cadherins as determinants of tissue morphology and sprocessors of invasion. *Acta Anat (Basel)*, 149:165-9
32. Alattia, JR., Tong, KI., Takeichi, M., Ikura, M. (2002). Cadhe-rins. *Methods Mol Biol*, 172:199-210.
33. Lee, SW. (1996). H-cadherin, a novel growth inhibitory function and diminished expression in human bre-ast cancer. *Nature Med*, 2: 776-82.
34. Wikipedia. 11.03.2013, <http://tr.wikipedia.org/wiki/Dosya:Cholesterol.png>
35. Levy, E., Spahis, S., Sinnett, D., Peretti, N., Maupas-Schwalm, F., Devlin, E., Lambert, M., Lavoie, MA. (2007). Intestinal cholesterol transport proteins: an update and beyond. *Curr Opin Lipidol*, 18-310-318.
36. Özbek, S., Çullu, F., Tümay, G.T. (1993). Doğumdan bir yaşına kadar anne sütü veya Formula ile Beslenen Bebeklerde Total Kolesterol, HDL-C, LDL-C, Değerlerinin Değerlendirilmesi. *Türk Pediatri Arşivi*, Cilt 28, sayı 3.
37. Faranjit. 11.03.2013, <http://faranjit.org/triglicerid-nedir.html>
38. Gürdöl, F., Ademoğlu, E. (2006). *Biyokimya*, (1. Baskı), İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi,
39. Tamer, İ., Dabak, R., Tamer, G., Orbay, E., Sargın, M. (2011). Güncel klavuzlar ışığında hiperlipidemi. *Aile hekimliği dergisi*. Cilt:2 sayı:3
40. Telefoncu, A., Değer, O., Kılınç, A., Çolak, A. (2008). *Metabolizmanın Regülasyonu ve Metabolik Bozukluklar*. Bornova-İzmir: Ege Üniversitesi Basım Evi, s. 112-113.

41. Santa monica koleji. Erişim: 07.05.2013,
http://homepage.smc.edu/wissmann_paul/anatomy2textbook/1cholesterol.htm
1
42. Karaca, L., Demirtaş, S., Ergüder, İ.(2006). *Lipidler ve Ateroskleroz*. Ankara: Bizim Büro Basımevi. 112 s
43. Wikipedia. Erişim: 07.05.2013,
http://upload.wikimedia.org/wikipedia/tr/2/2e/Lipoprotein_trafik2_tr.png
44. what-when-how. Erişim: 07.05.2013. <http://what-when-how.com/wp-content/uploads/2012/04/tmp8625.jpg>
45. Tanrıkulu, S. (2004). Koroner Arter Hastalığı olgularında Kolesterol Ester Transfer Protein Polimorfizminin araştırılması. Yüksek Lisans tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
46. Baykara, O. (2003). Beyin Travması ve Kafa Yaralanması Geçiren Hastalarda Apolipoprotein E Gen Polimorfizminin İncelenmesi. Yüksek Lisans, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
47. Ulukaya, E. (1997). Lipid Metabolizması. A. Tollugil, A., Dirican, M., ve Ulukaya, E. (Ed.). *Lippincott's Biyokimya* (2. bs) (s.163-222). İstanbul: Nobel. Tıp Kitapevi.
48. M. (2000). Lipitler. M. Aksoy (Haz.). Beslenme Biyokimyası(s. 115-174). Ankara: Hatiboğlu Yaymevi.)
49. Kızıldağ, S., (1997). Anjiyografi ile koroner kalp hastalığı tanısı konulmuş kişilerde serum lipid, Aapoprotein, lipoprotein ve HDL subfraksiyonlarının incelenmesi, Yüksek Lisans tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
50. Chait, A., Heinecke, JW. (1999). Lipoproteins, modified lipoproteins and atherosclerotic vascular disease. Editör (Betteridge, DJ., Illingworth, DR., Shepherd, J.) . *Lipoproteins in Health and Disease* (s. 597-10). Newyork: Arnold.
51. Sarandöl, A., Sarandöl, E., Eker, S.S., Karaağaç, E.U., Hızlı, B.Z., Dirican, M., Kırılı, S., (2006). Oxidation of Apolipoprotein B containing lipoproteins and serum paraoxonase/arylesterase activities in major depressive disorder, *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* 30(6): 1103-1108 s.

52. Thehealthycow. Erişim: 05.05.2013,
<http://thehealthycow.blogspot.com/2012/09/everything-you-need-to-know-about.html>
53. Nauck M, Warnick GR, Rifai N: (2002). Methods for Measurement of LDL-Cholesterol: A Critical Assessment of Direct Measurement by Homogeneous Assays versus Calculation. *Clin Chem* 2002; 48(2):236-254.
54. Ucdavis beslenme sağlığı enstitüsü. Erişim: 07.05.2013,
<http://ffhi.ucdavis.edu/prog/lnp/proj/comp>
55. Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Role of HDL in preventing atherogenic modification of LDL. *Atherosclerosis* 146: 13-18, 1999.
56. Terados, N., Iglesias, E., Venta, R. (2010). New cardiovascular risk factors and physical activity. *Apunts Med Esport*, 2010;45(167):201–208.
57. Bolander, C.G. 2002, Focus On Homocysteine And The Vitamins Involved In Its Metabolism. France: *Springer Bussiness Media Gmbh*, s:262.
58. Temel İ, Özerol E. (2002). Homosistein Metabolizma Bozuklukları ve Vasküler Hastalıklarla İlişkisi. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 9; 149-57.
59. Beaumont, JL., Carlson, LA., Cooper, GR., Fejfar, Z., Fredrickson, DS., Strasser, T. (1970). Classification of hyperlipidaemias and hyperlipoproteinaemias. *Bull World Health Organ.* 43(6): s. 891-915.
60. Kliegman, R., Richard E. Behrman, R.E., Jenson, H.B., Stanton, F.B. (2007). *Nelson textbook of pediatrics* (18. Baskı). Philadelphia: Saunders.
61. Weisgraber, K.H., Bersot, T.P., Mahley, R.W. (2008). Disorders of lipid metabolism. Kronenberg, H., Williams, R.H. *Williams textbook of endocrinology* (11. Baskı). Philadelphia: Saunders/Elsevier. s.1589-1653
62. Lughetti,L., Predieri, B., Bruzzi, P., Balli. F. (2008). Approaches to dyslipidemia treatment in children an adolescents. *Expert rev Endocrinol. Metab*, 3(5): s. 615-633.
63. Wong, S., Al-Sarraf, A., Ignaszewski, A., Frohlich, J. (2012). Dr D.S. Fredrickson: Foundingfather of the field of lipidology, *BC Medical Journal*, vol. 54 no. 7,

64. Miller M, Gambert SR.(2004). *Endocrine disorders*. In: Landefeld SC, Palmer MR, Johnson AM, Lyons LW (eds). United States: McGraw-Hill Companies, s.317-37.
65. Stout, W.R.(2003). Atherosclerosis and lipid metabolism. (Tallis, R.C., Fillit, M.H.). *Geriatric Medicine and Gerontology*. (6. Baskı). London: Elsevier-Churchill Livingstone, s. 355-71.
66. Ittrup, H.H., Tybjaerg-Hansen, A., Nordestgaard, B.G.(1999). Lipoprotein lipase mutations, plasma lipids and lipoproteins, and risk of ischemic heart disease. A meta-analysis. *Circulation* 99: 2901-7
67. Penny, W.F., Ben-Yehuda, O., Kuroe, K., Long, J., Bond, A., Bhargava, V., Peterson, J.F., Mc Daniel, M., Julicano, J., Witztum, J.L., Ross, Jr. J., Peterson, K.L. (2001). Improvement of coronary artery endothelial dysfunction with lipid lowering therapy: Heterogeneity of segmental response and correlation with plasma oxidized low density lipoprotein. *J Am Coll Cardiol* 37: 766-774.
68. Schwartz, S.M., Heimark, R.L., Majesky, M.W. (1990). Developmental mechanisms underlying pathology of arteries. *Physiol Rev*, 70(4):1177-1209 p
69. Wikipedia.16.03.2013.
http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/05/Anatomy_artery.png
70. Daugherty, A., Dunn, J.L., Rateri, D.L., Heinecke, J.W. (1994). Myeloperoxidase, a catalyst for lipoprotein oxidation, is expressed in human atherosclerotic lesions. *J Clin Invest*, 94: 437-44.
71. Mc Phee, J.S., Lingappa, R.V., Ganong, W.F. (2000). Pathophysiology of Disease (3. Baskı). Newyork: Appleton & Lange s. 269-273.
72. Wikipedia. Erişim: 16.03.2013,
<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/df/Aterorojenez-hucresel-tr.JPG>.
73. Fuster, V., Moreno, P.R., Badimon, J.J. (2005). Atherothrombosis and high-risk plaque. *JACC*, 46: 937- 54

74. Enar, R. (2006). *Ateroskleroz – Aterotromboz*, Ateroskleroz; Koroner, Serebral, Periferik Arter Tutulumu Sempozyum Dizisi yayın No: 52.19-20 Ekim 2006-İstanbul(s. 9 – 27). İstanbul: STE- İÜ CTF
75. Teragawa, H., Fukuda, Y., Matsuda, K., Udea, K., Higashi, Y., Oshima, T., Yoshizumi, M., Chayama, K. (2004). Relation between C reactive protein concentrations and coronary microvascular endothelial function. *Heart*. July; 90(7): 750-754.
76. Dönmez, AA., (2004). The genus *Crataegus* L. (Rosaceae) with special reference to hybridisation and biodiversity in Turkey. *Turk J Bot*, 28, 29-37.
77. Türkiye bitkileri Veri Sitesi.Erişim: 15.05.2013.
http://turkherb.ibu.edu.tr/index.php?sayfa=1&tax_id=3781
78. Gültekin, C.H. (2005). Bozkırın Yalnız Ağaçları: Alıçlar. Eğirdir Orman Fidanlığı. *Bilim Teknik*, Subat 1-3.
79. Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M.T. (2012). *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*, pp. 122-125. İstanbul: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını.
80. Meriçli, A.H. (1989). *Crataegus* türlerinin kimyasal bileşikleri ve farmakolojik etkileri. *Pharmacia-JTPA*, 29: 63(1, 2, 3) 26-30.
81. Jennifer, E., Edwards, P.N., Browne, N.T., Timothy, A.D., Paul, R., Shipley, A.(2012). Review of the chemistry of the genus *Crataegus*. *Phytochemistry* 79 5–26.
82. Harborne, J.B., Williams, C.A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55, 481-504.
83. Çapanoğlu, E., Boyacıoğlu, D. (2009). Meyve ve Sebzelerin Flavonoid içeriği Üzerine işlemenin Etkisi. *Akademik Gıda* 7(6) (2009) 41-46.
84. Kahraman, A., Serteser, M., Köken, T. (2002). *Flavonoidler*. Kocatepe Tıp Dergisi. 3, 01-08.
85. Nizamlioglu, M.N., Nas, S. (2010). Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*. No:1, 5, 20-35.

86. Artık, N., Murakamı, H. (1997). Türk elmasıyü konsantrelerinin fenolik madde ve prosiyanidin bileşiminin HPLC ile belirlenmesi; *Gıda*,(1997)22(5):327-335.
87. Solomons, T.W.G., Fryhle, B.C. (2000). *Organic Chemistry* (Okay,G., Yıldırım, Y.). 7. baskı, İstanbul: Litaratür yayıncılık. 1144–1147.
88. Orman genel müdürlüğü. Erişim 20.05.2013, http://web.ogm.gov.tr/birimler/merkez/odundisiurun/Dkmanlar/bitkisel_urunler_sube_mudurlugu/BITKISEL%20URUNLER/ALIC_X.pdf.
89. Biyovizyon. Erişim: 21.05.2013, <http://www.biovision.com/oleanolic-acid-4078.html>
90. Bridgat alışveriş sitesi. Erişim: 22.05.2013, http://www.bridgat.com/index1.php?page=images&id=301132&f=Ursolic_acid.gif
91. Adams, M.R., (1998). Vinegar. In; Microbiology of Fermented Foods (Ed. Wood, J.B) *Blackie Academic&Professional*(2. Baskı), 1:1-44. 9
92. Aktan, N., Kalkan, H. (1998). *Sirke Teknolojisi.*, İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi 82s.
93. Browicz, K. (1972). Crataegus L. In: Davis, P. H. (ed.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 4*, Scotland: Edinburgh Univ. Press, pp. 135–136.
94. Bitki çizimleri sitesi. Erişim: 21.03.2013, http://plantillustrations.org/illustration.php?id_illustration=35625
95. Wang, N.T., Lin, H.I., Yeh, D.Y., Chou, T.Y., Chen, C.F., Leu, F.C., Wang, D., Hu, R.T. (2009). Effects of the Antioxidants Lycium Barbarum and Ascorbic Acid on Reperfusion Liver Injury in Rats; *Transplantation Proceedings*, 41, 4110–4113.
96. Lozano,J.D., Juárez-Flores, B.İ., Pinos-Rodríguez, J.M., Aguirre-Rivera,J.R., Álvarez-Fuentes, G. (2012). Supplementary effects of vinegar on body weight and blood metabolites in healthy rats fed conventional diets and obese rats fed high-caloric diets. *Journal of Medicinal Plants Research Vol. 6(24)*, s. 4135-4141.

97. Ignarro, L.J. (1989). Endothelium derived NO: actions and properties. *FASEB J*, 3: 31-36.
98. Palmer, R.M.J. (1987). Ferrige AG. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium derived relaxing factor. *Nature*, 327:524-526.
99. Najwa K. C., Nabil W. W. (1990). Determination of Inorganic Nitrate in Serum and Urine by a Kinetic Cadmium-Reduction Method. *Clin. Chem*, 36/8, 1440-1443.
100. Lieberman, C., (1885). *Ber.* 18: 1803
101. Burchard, H. (1890). *Chem. Fentr.* 61: 25.
102. Flegg, H.M., (1973). *Ann. Clin. Biochem.* 10: 79.
103. Richmond, W., (1972). *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 29: Suppl. 26, abstr. 3: 25.
104. Allain, CC., Poon, L.S., Chan, C.S., Richmond, W., Fu, P.C. (1974). *Clin. Chem.* 20: 470.
105. Roeschlau, P., Bernt, E., Gruber, W., Kiln, Z. (1974). *Chem. Kiln. Biochem* 12: 226.
106. Trinder, P., (1969). *Ann. Clin. Biochem.* 6: 24.
107. Perlstein, M.T., Thibert, R.J., Zak, B. (1977). *J. Microchem.* 22: 403.
108. Witte, D. L., Barrett, II, D. A., Wycoff, D. A. (1974). Evaluation of an enzymatic procedure for determination of serum cholesterol with the Abbott ABA-100. *Clin. Chem.* 20, 1282.
109. National Institute of Health Publication (1987). "Detection, Evaluation and Treatment of High Cholesterol in Adults" (No. 88- 2926). USA: National institutes of health (NIH).
110. Bergermayer, H.O. (1963). Wieland. *Methods of Enzymatic Analysis* (s .211-214). USA: Academic Press.
111. Eggstein, M., Kreutz, F.H. (1966). *Klin. Wochenschr*, 44: 262.
112. Bucolo, G., David, H. (1973). *Clin. Chem*, 19: 656.
113. Megraw, R.E., Dunn, D.E., Biggs, H.G. (1979). *Clin. Chem.* 25: 273.
114. Trinder, P. (1969). *Ann. Clin. Biochem* 6: 24.
115. Barham, D. (1972). *Trinder, P. Analyst* 97: 142.
116. Fossati, P., Prencipe, L. (1982). *Clin. Chem*, 28: 2077.

117. McGowan, M.W., Artiss, J.D., Strandbergh, D.R., Zak, B. (1983). *Clin. Chem*, 29: 538.
118. Young, D.S., Pestaner, L.C., Gibberman, V. (1975). *Clin. Chem*, 21:1D
119. Sisson, J.A. (1976). *Handbook of Clinical Pathology*. Philadelphia: JB Lippincott Co.
120. Castelli, W.P., Doyle, J.T., Gordon, T., Hames, C.G., Hjortland, M.C., Hulley, S.B., Kagan, A., Zukel, W.J. (1977). HDL Cholesterol and other lipids in coronary heart disease. *Circulation*, 55;767.
121. Barr, D.P., Russ, E.M., Eder, H.A. (1951). Protein-lipid relationships in human plasma. *Am. J. Med*, 11; 480.
122. Crouse, J.R., Parks, J.S., Schey, H.M., Kahl, F.R. (1985). Studies of low density lipoprotein molecular weight in human beings with coronary artery disease *J. Lipid Res.*, 26;566.
123. Gotto, A.M. (1988). Lipoprotein metabolism and the etiology of hyperlipidemia, *Hospital Practice*, vol: 23; Suppl. 1, 4.
124. Gordon, T., Castelli, W.P., Hjortland, M.C., Kannel, W.B., Dawber, T.R. (1977). High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. *Am. J. Med.*62;707.
125. Badimon, J.J., Badimon, L., Fuester, V. (1990). Regression of Atherosclerotic Lesions by High Density Lipoprotein Plasma Fraction in the Cholesterol-Fed Rabbit. *Journal of Clinical Investigation*, 85: 1234-41.
126. Williams, P., Robinson, D., Bailey, A. (1979). High density lipoprotein and coronary risk factor. *Lancet*, 1; 72.
127. Tietz, N.W. (1986). *Clinical Guide to Laboratory Tests*. Philadelphia: WB Saunders Co. s. 256.
128. Warnick, G.R., Wood, P.D. (1995). National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol: Executive Summary. *Clinical Chemistry*, Vol. 41, No. 10, 1427-1433
129. Young, D.S. (1990). *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*. (3. Sürüm). Washington: Press, DC, 3-104thru 3-106.
130. Warnick, G.R., Nauck, M., Rifai, N. (2001). *Clin. Chem*, 47: 1579-1596.


131. Young, D.S. (1995). Effects of drugs on clinical Lab. Tests (4. Baskı). Washington: AACC Press.
132. Yound, D.S. (2001). *Effects of disease on Clinical Lab. Tests* (4. Baskı). Washington: AACC Press.
133. Burtis C.A., Edward, R., Ashwood, M.D. (1999). Tietz Textbook of Clinical Chemistry (3. Baskı) Washington: AACC Press.
134. Bachorik, P.S., Ross, J.W. (1995). National Cholesterol Education Programme Recommendations for Measurement of Low-Density Lipoprotein Cholesterol: Executive summary. *Clin Chem*, 1995;41(10):1414
135. Tietz, N.W. (1986). *Clinical Guide to Laboratory Tests*. Philadelphia: W.B. Saunders Co. s.256.
136. Cusabio. Erişim: 28.04.2013, [http://www.cusabio.com/Instructions/CSB-E13376r_Rat_Homocysteine\(Hcy\)ELISA_Kit.pdf](http://www.cusabio.com/Instructions/CSB-E13376r_Rat_Homocysteine(Hcy)ELISA_Kit.pdf).
137. Cusabio. Erişim: 28.04.2013, http://www.cusabio.com/Instructions/CSB-E07399r_Rat_p-selectin ELISA_Kit.pdf.
138. Cusabio. Erişim: 28.04.2013, http://www.cusabio.com/Instructions/CSB-E07275r_Rat_V-CAM -1 ELISA_Kit.pdf.
139. Kayaalp O. (2000) Hipolipidemik İlaçlar: Kayaalp O, ed. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Ankara: Hacettepe TAŞ Kitapçılık Ltd Şti, 2000: 1. cilt, 8.baskı, 567-587.
140. Quettier-Deleu, C., Voiselle, G., Fruchart, J.C., Duriez, P., Teissier, E., Bailleul, F., Vasseur, J., Trotin, F. (2003). Hawthorn extracts inhibit LDL oxidation. *Pharmazie*. Aug;58(8):577-81.
141. Akila, M., Devaraj, H. (2008). Synergistic effect of tincture of Crataegus and Mangifera indica L. extract on hyperlipidemic and antioxidant status in atherogenic rats. *Vascul Pharmacol*. Oct-Dec;49(4-6):173-7.
142. Rajendran, S., Deepalakshmi, P.D., Parasakthy, K., Devaraj, H., Devaraj, S.N. (1996). Effect of tincture of Crataegus on the LDL-receptor activity of hepatic plasma membrane of rats fed an atherogenic diet. *Atherosclerosis*. Jun;123(1-2):235-41.
143. Shanthi, S., Parasakthy, K., Deepalakshmi, P.D., Devaraj, S.N. (1994). Hypolipidemic activity of tincture of Crataegus in rats. *Indian J Biochem Biophys*. Apr;31(2):143-6.
144. 142. Xu, H., Xu, H.E., Ryan, D. (2009). A Study of the Comparative Effects of Hawthorn Fruit Compound and Simvastatin on Lowering Blood Lipid Levels. *Am. J. Chin. Med.* 37, 903.

145. Alinterim, B. (2012). Alıç Bitkisinin (*Crataegus Monogyna*) Kardiyovasküler Etkileri. *KSÜ Doğa Bil. Derg.*, 15(3).
146. Goodman-Gruen, D., Kritz-Silverstein, D. (2001). Usual dietary isoflavone intake is associated with cardiovascular disease risk factors in postmenopausal women. *J. Nutr.* 131:1020-1026.
147. Somova, L.I., Shode, F.O., Ramnanan, P., Nadar, A., (2003). Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, subspecies *africana* leaves, *Journal of Ethnopharmacology*, 84, 299-305.
148. Aksoy, Ş.N., Geyikli, İ., Saygılı İ.E. (2006). Sağlıklı kişilerde plazma homosistein düzeyinin belirleyicileri. *Türk Biyokimya Dergisi*. 31(4); 175-178.
149. Hansson, G.K., Libby, P., Schonbeck, U., Yan, Z.Q. (2002). Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis. *Circulation Research*. 91: 281.
150. Ley, K., Huo, Y. (2001). VCAM-1 is critical in atherosclerosis. *J Clin Invest* 107:1209.
151. Cybulsky, M.I., Liyama, K., Li, H., Zhu, S., Chen, M., Liyama, M., Davis, V., Gutierrez-Ramos, J.C., Connelly, P.W., Milstone, D.S. (2001). A major role for VCAM-1, but not ICAM-1, in early atherosclerosis. *J Clin Invest*. 107:1255.
152. Dong, Z.M., Chapman, S.M., Brown, A.A., Wagner, D.D. (1998). The combined role of P- and E-selectins in atherosclerosis. *J Clin Invest* 102:145.
153. Shin, I.S., Lee, M.Y., Lem, H.S., Ha, H., Seo, C.S., Kim, J.C., Shin, H.K. (2012). An extract of *Crataegus pinnatifida* fruit attenuates airway inflammation by modulation of matrix metalloproteinase-9 in ovalbumin induced asthma. *Plos One*. 7(9):e45734
154. Fürst, R., Zirgiebel, U., Totzke, F., Zahler, S., Vollnar, A.M., Koch, E. (2010). The *Crataegus* extract WS[®] 1442 inhibits balloon catheter-induced intimal hyperplasia in the rat carotid artery by directly influencing PDGFR- β . *Atherosclerosis*. Volume 211, Issue 2, August 2010, Pages 409–417.
155. Kılınç, A., Kılınç, K. (2001). *Nitrik oksid biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri*. Ankara: Palme yayıncılık.
156. (Birman, H., Dar, K.A., Kapucu, A., Olgaç, V., Gürel, E. 2011. Deneysel Hipertansif Sıçanlarda *Crataegus tanacetifolia* (Alıç) ve Hiperozitin Tükrük

Bezi İle Böbrek Dokusu Üzerine Etlileri ve Nitrik Oksit (NO) İle İlişkisi.
Nobel Med. 7(1); 17-22.

157. Öztürk, A., Özdemir, Y., Göksel, Z.(2009). Elma sirkesinin teröpatik etkileri. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi* 2 (1):155-158.
158. (Kadaş, Z., (2011). Alç sirkesinin biyoaktif özelliklerinin ve metabolik etkilerinin incelenmesi. Yüksek Lisans, Abant İzzet Baysal Üniversitesi. Bolu.

EKLER**Ek. 1: Etik kurul onay formu**


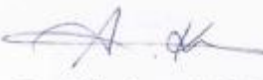


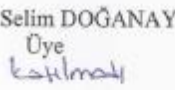
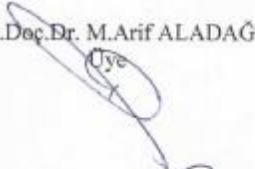
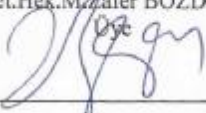
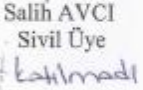



İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 09-06-2011
 Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya
 Araştırma Protokol no.su : 2011/A-61
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : Sıçan
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyü : Wistar-Albino
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D Farketmez
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 60 adet
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı : 3-4 aylık, 200-250 gr

Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyelerinden Doç. Dr. Kadir BATÇIOĞLU'nun yürütlücüsü olduğu "Ratlarda deneysel olarak oluşturulan hiperlipidemi modelinde alıç (*Crataegus oxyacantha*) bitkisinin meyve ekstre ve sirkesinin hiperlipidemiye ve olası endotel hasara karşı koruyucu etkinliğinin incelenmesi" isimli 2011/A-61 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

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

 Prof.Dr. Yusuf TÜRKÖZ Başkan	 Doç.Dr. Abdurrahman KARAMAN Başkan Yard.	 Yrd.Doç.Dr. Mustafa KARAKAPLAN Raporör
 Prof.Dr. Ahmet KIZILAY Üye	 Prof.Dr. Selim DOĞANAY Üye katılmadı	 Yrd.Doç.Dr. M.Arif ALADAG Üye
 Vet.Hek.M.Zafer BOZDAĞ Üye	 Salih AVCI Sivil Üye katılmadı	 Yaşin EROĞLU Sivil Üye

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DENEY HAYVANLARI ETİK KURUL BAŞKANLIĞI



Sayı : B.30.2.İNÜ.0.20.05.05/ 22
Konu :2011/A-61 nolu çalışma

19.12.2013

Sayın: Prof. Dr. Kadir BATÇIOĞLU
Biyokimya Anabilim Dalı

2011/A-61 protokol nolu "Ratlarda deneysel olarak oluşturulan hiperlipidemi modelinde ahç (*Crataegus oxyacantha*) bitkisinin meyve ekstre ve sirkesinin hiperlipidemiye ve olası endotel hasara karşı koruyucu etkinliğinin incelenmesi" isimli proje başlığının, "Ratlarda deneysel olarak oluşturulan hiperlipidemi modelinde ahç (*Crataegus tanacetifolia*) bitkisinin meyve ekstre ve meyve sirkesinin hiperlipidemiye ve olası endotel hasara karşı koruyucu etkinliğinin incelenmesi" şeklinde değiştirilmesi Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı tarafınca uygun görülmüştür.

Doç. Dr. M. Arif ALADAĞ
Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

10 Haziran 1979 yılında Malatya'da doğdum. İlk orta ve lise eğitimimi Malatya'da tamamladım. 1998 yılında İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri M. Y. O. Tıbbi laboratuvar bölümünü kazandım. 2000 yılında birincilikle mezun oldum. 2001 yılında İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünü kazandım. 2004 yılında Biyoloji bölümünden mezun oldum. 2010 yılında İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Ana bilim dalında Yüksek lisans eğitimime başladım. Şu an Samsun Alaçam Toplum Sağlığı Merkezinde Laboratuvar teknisyeni olarak görev yapmaktayım.