



**HİPERKOLESTEROLEMİ OLUŞTURULMUŞ RATLARDA
Centranthus longiflorus VE β -SİTOSTEROLÜN
OKSİDATİF STRES VE LİPİD PROFİLİ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN BİYOKİMYASAL İNCELENMESİ**

Seda AŞKIN

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Fatma Zühal UMUDUM**

Doktora Tezi - 2019

TC
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HİPERKOLESTEROLEMİ OLUŞTURULMUŞ
RATLARDA *Centranthus longiflorus* VE β -SİTOSTEROLÜN
OKSİDATİF STRES VE LİPİD PROFİLİ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN BİYOKİMYASAL İNCELENMESİ**

Seda AŞKIN

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Doktora Tezi

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Fatma Zühal UMUDUM

ERZURUM
2019

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**HİPERKOLESTEROLEMİ OLUŞTURULMUŞ RATLARDA
Centranthus longiflorus ve B-SİTOSTEROLÜN OKSİDATİF STRES
VE LİPİD PROFİLİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN BİYOKİMYASAL
İNCELENMESİ**

Seda AŞKIN

Tez Savunma Tarihi :29.07.2019

Tez Danışmanı : Prof.Dr. Fatma Zühal UMUDUM (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof.Dr. Nuri BAKAN (Atatürk Üniversitesi)

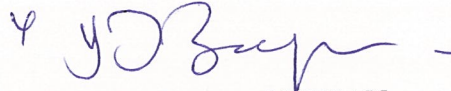
Jüri Üyesi :Prof. Dr. Taha Abdulkadir ÇOBAN (Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi)

Jüri Üyesi :Doç. Dr. Hamit Hakan ALP (Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi)

Jüri Üyesi :Dr. Öğr. Üyesi Zafer BAYRAKTUTAN (Atatürk Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.



Prof.Dr. Duygu ARIKAN
Enstitü Müdürü

**Doktora Tezi
ERZURUM - 2019**

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	VI
ÖZET	VII
ABSTRACT.....	VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
TABLolar DİZİNİ.....	XII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Hiperlipidemi	4
2.1.1. Plazma Lipoproteinleri	5
2.1.1.1. Plazma lipoproteinlerinin yapı ve fonksiyonları.....	5
2.1.1.2. Plazma lipoproteinlerinin sınıflandırması.....	6
2.1.2. Lipoprotein Metabolizması.....	6
2.1.2.1. Plazma lipoprotein metabolizmasında rol oynayan enzimler	8
2.1.3. Hiperlipidemi sınıflandırması	10
2.1.4. Hiperlipidemi Belirtileri	11
2.1.5. Hiperlipidemi Komplikasyonları	12
2.1.5.1. Ateroskleroz.....	12
2.1.5.2. Koroner arter hastalığı (KAH).....	13
2.1.5.3. Miyokard infarktüsü (MI).....	13

2.1.5.4. İskemik inme.....	13
2.1.6. Hiperlipidemi İçin İlaç Sınıfları.....	13
2.1.6.1. Statinler (3-Hidroksi-3-metilglutaril koenzim A (HMG CoA) redüktaz inhibitörleri)	14
2.1.6.2. Safra asidi ayraçları	15
2.1.6.3. Fibratlar.....	16
2.1.6.4. Niasin	18
2.1.6.5. Ezetimibe (Seçici kolesterol emilim inhibitörü)	18
2.1.7. Hiperlipidemi İçin Yeni Potansiyel Hedefler ve Tedaviler	19
2.1.7.1. Kolesterol ester transfer proteini (CETP) inhibitörleri	19
2.1.7.2. Açıl-CoA kolesterol açıl transferaz inhibitörleri (ACAT).....	23
2.1.7.3. Mikrozomal trigliserit transfer protein inhibitörleri	23
2.1.7.4. Skualen sentaz inhibitörleri	24
2.1.7. 5. Hidroksimetilglutaril-CoA sentaz inhibitörleri.....	24
2.1.7.6. ATP sitrat liyaz inhibitörleri	24
2.1.7.7. Açıl koenzim A: Diaçilgliserol açıltransferaz (DGAT).....	25
2.1.7.8. Skualen epoksidaz inhibitörleri	25
2.1.7.9. Lanosterol sentaz inhibitörleri	25
2.2. Valerianaceae familyası ve <i>Centranthus longiflorus</i> türü.....	25
2.3. Beta-sitosterol (BS).....	26
2.3.1. Beta-sitosterol Kaynakları	27
2.3.2. Beta-sitosterolün Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	27

2.3.3. Beta-sitosterolün Tedavi Edici Potansiyeli	28
2.3.3.1. Antioksidan aktivite	28
2.3.3.2. Anjiyogenik etki	28
2.3.3.3. Antihiperlipidemik ve anti-ateroskleroz etkileri	29
2.3.3.4. Antipiretik etkinlik	29
2.3.3.5. Anti-enflamatuar aktivite	29
2.3.3.6. Anti-diyabetik etki	29
2.3.4. Beta-Sitosterolün Toksisitesi	30
3. MATERYAL ve YÖNTEM	32
3.1. Materyal	32
3.1.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması	32
3.1.2. Uygulama Grupları	32
3.1.3. Bitki materyali <i>C. longiflorus</i> un β -sitosterol içeriğinin belirlenmesi	34
3.1.4. Beta-Sitosterol Uygulaması	36
3.1.5. Hiperkolesteroleminin deneysel indüksiyonu	36
3.1.6. Anacetrapib Uygulaması	37
3.2. Yöntem	37
3.2.1. Anti-hiperlipidemik Çalışma	37
3.2.2. Dokuların Toplanması ve Homojenizasyon İşlemleri	38
3.2.3. Oksidatif Stres Değişkenleri	39
3.2.3.1. Malondialdehit miktar tayini	40
3.2.3.2. Toplam oksidan durum tayini	40

3.2.3.3. Toplam antioksidan kapasite tayini	41
3.2.3.4. Protein Karbonil oksidatif hasarın belirlenmesi	41
3.2.3.5. Oksidatif DNA hasar analizi (8-OH-dG).....	43
3.3. İstatistiksel analizler	45
4. BULGULAR	46
4.1. <i>C. longiflorus</i> 'un bitki ekstraktındaki β -sitosterol miktarı	46
4.2. Biyokimyasal Analizler	47
4.2.1. Total Kolesterol , Trigliserid , HDL-K ve LDL-K	47
4.2.1.1. Total Kolesterol	47
4.2.1.2. Trigliserid.....	49
4.2.1.3. HDL-Kolesterol	50
4.2.1.4. LDL-Kolesterol.....	51
4.2.1.5. Alanin aminotransferaz	52
4.2.1.6. Aspartat aminotransferaz	53
4.2.1.7. Kolesterol ester transfer protein.....	54
4.2.2. Oksidatif stres parametreleri	55
4.2.2.1. Malondialdehit	56
4.2.2.2. Protein Karbonil İçeriği	58
4.2.2.3. Toplam oksidan durum	61
4.2.2.4. Toplam antioksidan kapasite	63
4.2.2.5. 8-OH-deoksiguanozin.....	66
5. TARTIŞMA	68

6. SONUÇ ve ÖNERİLER	75
KAYNAKLAR	76
EKLER	93
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	93
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU	94
EK-3. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU.....	95
EK-4. DOKTORA TEZ SAVUNMA SINAVI TUTANAĞI.....	96



TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışma için her türlü desteği sağlayan, bilgi ve deneyim katkıları ile tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Fatma Zühal UMUDUM'a en içten saygı ve şükranlarımı sunarım.

Doktora eğitimim boyunca tecrübesi, bilimsel bakış açısı ve katkıları için Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ebubekir BAKAN, Bölümümüz öğretim üyelerinden, Prof. Dr. Nuri BAKAN, Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ, Prof. Dr. Sait KELEŞ, Doç. Dr. Nurinnisa ÖZTÜRK, Dr. Öğr. Üyesi Zafer BAYRAKTUTAN ve Dr. Öğr. Üyesi Muhammet ÇELİK, Emekli Öğretim Üyesi Prof. Dr. Yaşar Nuri ŞAHİN ile birlikte anabilim dalı araştırma görevlileri, idari ve teknik personeline, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı sekreteri Keriman ERDEN'e, çalışmalarım esnasında bana yardımcı olan Prof. Dr. Elif ÇADIRCI, Prof. Dr. Bilal YILMAZ, Prof. Dr. Yusuf KAYA, Prof. Dr. Memiş ÖZDEMİR ve Dr. Öğr. Üyesi Melike YILDIZ'a ayrıca bugünlere gelmemde maddi ve manevi her türlü desteklerini esirgemeyen aileme, çalışmalarım esnasında benim her türlü sıkıntılarıma katlanan değerli eşime, çocuklarım Selim Arda ve Elif Ada'ya teşekkür ederim.

Seda AŞKIN

ÖZET

Hiperkolesterolemi Oluşturulmuş Ratlarda *Centranthus longiflorus* ve β -Sitosterolün Oksidatif Stres ve Lipid Profili Üzerine Etkilerinin Biyokimyasal İncelenmesi

Amaç: Valerianaceae familyasına ait olan *Centranthus longiflorus* (CL), Türkiye'de kırmızı kediotu olarak bilinir. β -Sitosterol (BS), kolesterole benzer kimyasal yapıya sahip başlıca bitkisel steroldür. Bu çalışmanın amacı, yetişkin Wistar ratlarında, CL ve BS'nin Triton WR-1339 kaynaklı akut hiperlipidemi üzerinde hipolipidemik etkilerinin olup olmadığını araştırmaktır.

Materyal ve Metot: Bu çalışmada önce CL bitkisinden CL özütü elde edildi. Daha sonra 48 tane Wistar ratları kullanılarak sekiz gruba ayrıldı: Grup A-kontrol; fizyolojik su. Grup B; fizyolojik su + CL. Grup C; fizyolojik su + BS. Grup D; fizyolojik su + anacetrapib. Grup E; fizyolojik su + Triton WR-1339. Grup F; Triton WR-1339 + CL. Grup G; Triton WR-1339 + BS. Grup H; Triton WR-1339 + anacetrapib. Triton WR-1339 enjeksiyonundan 24 saat sonra, toplam kolesterol (TK), düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol (LDL-K), yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterol (HDL-K), trigliseritler (TG), kolesterol ester transfer proteini (CETP) ve oksidatif DNA hasarını ölçmek için kan örnekleri alındı. Kalp ve karaciğer dokularında malondialdehit (MDA), protein karbonil (PKI), total oksidan durumu (TOD) ve total antioksidan kapasite (TAK) seviyeleri belirlendi.

Bulgular: CL ve BS uygulaması, TK seviyelerini önemli ölçüde azalttı. Buna ilaveten, CL ve BS hiperlipidemik sıçanların plazmasındaki LDL-K ve TG seviyelerini kısmen düşürdü. Ek olarak, Triton WR-1339 uygulaması, MDA, PKI ve TOD seviyelerini arttırırken, CL ve BS tedavisi bu parametreleri Wistar ratlarda önemli ölçüde azalttı. Ayrıca CL ve BS, TAK seviyesini yükseltti ve güçlü bir CETP inhibitör etki gösterdi.

Sonuç: Bu bulgular, CL ve BS'nin plazma lipit konsantrasyonunu azalttığını ve antioksidan ve anti-CETP özellikleri nedeniyle hipolipidemik etkiye sahip olabileceklerini gösterdi.

Anahtar Kelimeler: *Centranthus longiflorus*, Hiperlipidemi, Oksidatif stres, Triton WR-1339, β -Sitosterol

ABSTRACT

Biochemical Investigation of the Effects of *Centranthus longiflorus* and β -Sitosterol on Oxidative Stress and Lipid Profile in Rats with Hypercholesterolemia

Objective: *Centranthus longiflorus* (CL), which belongs to the family Valerianaceae, is known as red valerian in Turkey. β -Sitosterol (BS) is the major plant sterol with a similar chemical structure to cholesterol. The aim of this study was to investigate the presence of hypolipidemic effects of CL and BS on Triton WR-1339-induced acute hyperlipidemia in adult Wistar rats.

Material and Method: In this study, CL extract was obtained from *Centranthus longiflorus* plant. Then forty-eight rats were divided into eight groups: Group A-control; physiological water. Group B; physiological water + CL. Group C; physiological water + BS. Group D; physiological water + anacetrapib. Group E; Physiological water + Triton WR-1339. Group F; CL + Triton WR-1339. Group G; BS + Triton WR-1339. Group H; Anacetrapib + Triton WR-1339. At 24 hours after injection of Triton WR-1339, blood samples were collected to measure plasma lipid levels total cholesterol (TC), low-density lipoprotein-cholesterol (LDL-C), high density lipoprotein-cholesterol (HDL-C), triglycerides (TG), cholesteryl ester transfer protein (CETP) and oxidative DNA damage. Malondialdehyde (MDA), protein carbonyl content (PCC), total oxidant status (TOS) and total antioxidant capacity (TAC) levels were determined in heart and liver tissues.

Results: CL and BS administration significantly reduced TC levels. In addition, CL and BS partially reduced LDL-C and TG levels in plasma of hyperlipidemic rats. Additionally, Triton WR-1339 administration increased MDA, PCC and TOS levels, whereas CL and BS treatment significantly reduced these parameters in Wistar rats. In addition, CL and BS increased TAC levels and showed a strong CETP inhibitory effect.

Conclusion: These findings showed that CL and BS reduce plasma lipid concentration and may have hypolipidemic effect due to their antioxidant and anti-CETP properties.

Keywords: *Centranthus longiflorus*, Hyperlipidemia, Oxidative stress, Triton WR-1339, β -Sitosterol

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACAT	: Açıl Co-A transferaz.
AI	: Aterojenik indeks
BS	: β -Sitosterol
CETP	: Kolesterol ester transfer proteini
CL	: <i>Centranthus longiflorus</i>
ELISA	: Enzim bağı immunosorbent assay
Eq	: Equivalent
GPx	: Glutasyon peroksidaz
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
KRI	: Koroner risk indeksi
MDA	: Malondialdehit
MnSOD	: Mn süperoksit dismutaz
NPC1L1	: Niemann-Pick C1 benzeri 1 Proteinini
8-OHdG	: 8-hidroksi-2-deoksiguanozin
PKI	: Protein karbonil içeriği
ROT	: Reaktif oksijen türleri
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
TAK	: Total antioksidan kapasite
TBARS	: Tiyoarbitürik asit reaktif maddeler
TOD	: Total oksidan durum

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Kolesterol transportu	4
Şekil 2.2. Lipoprotein metabolizmasının basitleştirilmiş akış şeması.....	7
Şekil 2.3. Ters kolesterol transportunda CETP'nin rolü	7
Şekil 2.4. Lipoprotein metabolizmasında rol alan enzimler	10
Şekil 2.5. Aterosklerozda oksidatif stresin rolü	12
Şekil 2.6. Anacetrapib'in CETP aracılı kolesterol transportu üzerine etkileri.....	21
Şekil 2.7. Anacetrapib bağlı CETP' nin aracılık ettiği homotipik transfer.....	22
Şekil 2.8. Aterosklerozda CETP inhibisyonunun rolü.....	23
Şekil 2.9. β -sitosterolün yapısal formülü.....	28
Şekil 3.1. <i>C. longiflorus</i> bitkisi.....	34
Şekil 3.2. <i>Centranthus longiflorus</i> bitkisinin ülkemizdeki dağılış alanları	35
Şekil 3.3. <i>Centranthus longiflorus</i> bitkisinin toplandığı mevki	35
Şekil 3.4. Triton WR-1339'un kimyasal yapısı	37
Şekil 3.5. Anacetrapib'in kimyasal yapısı	37
Şekil 3.6. Wistar ratlarının deneylere hazırlanması, tartılması, kan numunelerinin alınması ve diseksiyonu	39
Şekil 4.1. β -sitosterolün GC-MS kromatogramları (5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 ve 750 μ g / mL)	46
Şekil 4.2. <i>Centranthus longiflorus</i> 'un tipik bir kromatogramı (10 mg / mL)	47
Şekil 4.3. Uygulama gruplarında TK sütun grafiğı	49
Şekil 4.4. Uygulama gruplarında TG sütun grafiğı	50
Şekil 4.5. Uygulama gruplarında HDL-K sütun grafiğı	51
Şekil 4.6. Uygulama gruplarında LDL-K sütun grafiğı.....	52

Şekil 4.7. Uygulama gruplarında ALT sütun grafiği.....	53
Şekil 4.8. Uygulama gruplarında AST sütun grafiği	54
Şekil 4.9. Uygulama gruplarında CETP sütun grafiği.....	55
Şekil 4.10. Kalp dokuda MDA sütun grafiği.....	58
Şekil 4.11. Karaciğer dokuda MDA sütun grafiği.....	58
Şekil 4.12. Kalp dokuda PKI sütun grafiği.....	60
Şekil 4.13. Karaciğer dokuda PKI sütun grafiği.....	61
Şekil 4.14. Kalp dokuda TOD sütun grafiği.....	63
Şekil 4.15. Karaciğer dokuda TOD sütun grafiği	63
Şekil 4.16. Kalp dokuda TAK sütun grafiği	65
Şekil 4.17. Karaciğer dokuda TAK sütun grafiği.....	66
Şekil 4.18. Uygulama gruplarında 8-OH-dG sütun grafiği	67

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Primer hiperlipidemi	11
Tablo 2.2. Hiperlipidemi için ilaç tedavisi.....	14
Tablo 2.3. CETP düzenleyici ve inhibitörleri	20
Tablo 2.4. CETP inhibitörlerinin gelişimsel durumları	21
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan gruplar	33
Tablo 4.1. Toplam kolesterol (TK), trigliserid (TG), HDL-K ve LDL-K'nın düzeyleri Ortalama $\pm$ SD, n= 6) ile Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.....	48
Tablo 4.2. ALT ve AST düzeyleri (Ortalama $\pm$ SD, n= 6) ile grup ortalama verilerine ait Çoklu Karşılaştırma Test sonuçları.....	53
Tablo 4.3. CETP düzeyi değerleri (Ortalama $\pm$ SD, n= 6) ile grup ortalama verilerine ait Çoklu Karşılaştırma Test sonuçları.....	55
Tablo 4.4. MDA düzeyi değerleri (Ortalama $\pm$ SD, n= 6) ile grup ortalama verilerine ait Çoklu Karşılaştırma Test sonuçları.....	57
Tablo 4.5. PKI düzeyi değerleri (Ortalama $\pm$ SD, n= 6) ile grup ortalama verilerine ait Çoklu Karşılaştırma Test sonuçları.....	59
Tablo 4.6. TOD düzeyi değerleri (Ortalama $\pm$ SD, n= 6) ile grup ortalama verilerine ait Çoklu Karşılaştırma Test sonuçları.....	62
Tablo 4.7. TAK düzeyi değerleri (Ortalama $\pm$ SD, n= 6) ile grup ortalama verilerine ait Çoklu Karşılaştırma Test sonuçları.....	64
Tablo 4.8. 8-OH-dG düzeyi değerleri (Ortalama $\pm$ SD, n= 6) ile grup ortalama verilerine ait Çoklu Karşılaştırma Test sonuçları	67

1. GİRİŞ

Hiperlipidemi, özellikle aterosklerozun başlangıç aşamasında kritik bir adım olarak kabul edilen kardiyak kan damarlarının endotelinde fazla miktarda LDL birikimine neden olarak kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörü oluşturmaktadır.¹ Felç ve koroner arter hastalıkları da dahil olmak üzere birçok önemli olumsuz olayın altında yatan ve patolojik bir durum olan ateroskleroz ise plazmada yüksek düzeyde kolesterol, trigliserid gibi lipid ve oksidatif stres birikimi ile karakterizedir.² Günümüzde, kolesterol sentezinde ana enzim olarak işlev gören 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A redüktazı (HMG-CoA redüktaz) inhibe eden statinler kardiyak problemleri ve mortaliteyi azaltmak için anti-hiperlipidemik ilaçlar olarak kullanılmaktadırlar.¹ Bununla birlikte bazı çalışmalar statinlerin, başta akut vasküler hastalarda olmak üzere birçok olumsuz etkiye neden olabileceğini göstermiştir.³ Bu nedenle son çalışmalar, statinlerin yan etkileri olmaksızın olumlu etkiler sağlayabilen, kolesterol ester transfer proteini (CETP) ni inhibe eden ilaçlar ve β -sitosterol gibi bitkisel doğal ürünler üzerine yoğunlaşmıştır.^{4,5} HMG-CoA redüktaz inhibitörlerinin piyasaya sürülmesinden bu yana geçen 30 yılda başka lipid modülatörleri piyasaya sürülemedi. CETP'yi inhibe etmek yoluyla HDL-K'ü arttırmak, yüksek riskli hastalarda kardiyovasküler riskini azaltmak için güzel bir stratejidir. Lipoproteinler arasındaki trigliserid ve kolesterol ester (CE) transferleri CETP ile gerçekleştirilir; Bu yolağın engellenmesi HDL-K konsantrasyonunu artırır. Torcetrapib, dalcetrapib, anacetrapib ve evacetrapib gibi ilaçlar CETP inhibitörü olarak hiperlipidemi tedavisinde kullanılmaktadır.

Torcetrapib, hipertansiyon ve serum aldosteron konsantrasyonunu artırması gibi yan etkileri nedeniyle daha ciddi kardiyovasküler vakalara ve mortaliteye yol açmıştır.⁶ Klinik olarak geliştirilmeye başlayan ikinci CETP inhibitörü dalcetrapibin ise etkisiz

kaldığı için Faz 3 klinik denemeleri sonlandırılmıştır. Dalcetrapib, HDL-K seviyesini yükselten ancak LDL-K konsantrasyonunu düşürmeyen bir CETP modülatörüdür.⁶ Torcetrapib, anacetrapib ve evacetrapib gibi bazı CETP inhibitörleri lipoproteinler arasındaki CE transferine hem heterotipik hem de homotipik olarak aracılık ederken, dalcetrapib sadece heterotipik CE transferini etkiler. Dalcetrapib, daha küçük molekül ağırlıklı yapısı ve triflorid parçacıkları içermemesi bakımından diğer CETP inhibitörlerinden farklı bir kimyasal yapıya sahiptir. Dalcetrapib, farmakolojik açıdan aktif tiyol formuna hidrolize edilmesi gereken bir ön ilaçtır.⁶

Diğer iki CETP inhibitörü olan anacetrapib ve evacetrapibin, Faz 3 klinik çalışmaları ise sürdürülmektedir. Her iki molekülde HDL-K'ü arttırıp ve LDL-K'ü düşürerek yararlı etkiler göstermiştir.⁶ Anacetrapib ve evacetrapib'in başarısı ancak Faz 3 klinik araştırmaların tamamlanmasının ardından doğrulanacaktır. CETP'nin aşırı ifadesi ya da diğer bir deyişle CETP'nin inhibe edilememesi sonucunda ateroskleroz ortaya çıkabilir. Artan LDL-K düzeyleri ve azalmış HDL-K seviyeleri önemli risk faktörleri olup ateroskleroz insidansında hayati bir rol oynamaktadır.⁷

Oksidatif stres, hiperkolesterolemiyi ateroenez ile ilişkilendiren etken faktörlerden birisidir. Bu bağlamda, özellikle kalp ve karaciğer gibi metabolik işlevleri fazla olan dokuları korumak için yeni ilaçlar keşfetmek amacıyla önerilen önemli bir yaklaşım, hiperkolesterolemik ateroskleroz da dahil olmak üzere oksidatif stres koşullarını modüle edebilen tıbbi bitkiler veya bunların sekonder metabolitleri gibi doğal ürünlerin kullanılmasıdır.⁸ Bunun bir örneği, *Centranthus longiflorus* ve *Bambusa balcooa* gibi birçok bitkide bulunan bir triterpenoid bileşeni olan β - sitosterol (BS)'dür.^{9,10} Son yıllarda gerçekleştirilen çalışmalar ile BS'nin antikanser, antioksidan ve antidiabetik gibi pozitif etkileri rapor edilmiştir.¹⁰ Ayrıca, BS'nin hipolipidemik etki gösterebileceği varsayılmaktadır.¹¹ Ancak BS'nin bu etkinliği henüz tam olarak

anlaşılamamıştır. BS'nin, ince bağırsakta, Niemann-Pick C1-benzeri 1 proteini (NPC1L1) ile taşınmak için kolesterol ile rekabet edip kolesterol emilimini azaltabileceği düşünülmektedir.¹² Bu bağlamda, hipotezimiz BS'nin hiperkolesterolemik hayvanlardaki plazma lipoproteinleri, karaciğer ve kalp dokularına yararlı etkiler gösterebileceğiydi.

Bu çalışmada, Triton WR-1339 indüksiyonu ile hiperlipidemi oluşturulan rat modeli kullanıldı. Hiperkolesterolemik hayvanlar, karaciğer ve kardiyak dokularda toplam kolestrol (TK) ve trigliserid (TG) içeriklerinde belirgin bir artış sergiler ve ayrıca aterojenik indeks (AI) ve koroner risk indeksi (KRI) üzerinde belirgin bir artış gösterirler. Ayrıca, hiperkolesterolemik hayvanlarda karaciğer ve kardiyak reaktif oksijen türleri (ROT) ve tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARS) düzeyleri artar.

Bu çalışma ile oksidatif stresin hiperkolesterolemik ateroskleroza katkıda bulunduğu ve BS'nin hiperkolesterolemi sırasında güçlü hipolipidemik ve antioksidan etkiler yaptığı göz önüne alındığında, BS ve *Centranthus longiflorus* tedavisinin hiperkolesterolemik sıçanları aterosklerozdan koruyup koruyamayacağını gözlemlemek ve antioksidan mekanizmaların rolünü araştırmak amaçlanmıştır. Ayrıca CETP inhibisyonu, oksidatif stres ve antioksidan olayların moleküler mekanizmalarını anlamaya çalışmak suretiyle, hiperkolesterolemiyi yüksek seçicilik ve etkinlikte inaktif eden, ancak normal hücrelere minimal toksik etkili olan ilaç ve tedavileri geliştirmek için bilime katkı sağlamak hedeflenmiştir. Birçok anti-kolesterol ajanında olduğu gibi anacetrapibin de ciddi yan etkileri mevcuttur. Çalışmamızda; istenmeyen yan etkileri azaltmak ve anacetrapibin hipolipidemik etkilerini arttırmak için yeni anti-kolesterol ajanlarıyla düşük dozlardaki sinerjistik etkisinin saptanması da amaçlanmıştır.

Ateroskleroz, arterlerin daralmasına neden olan arter duvarında kolesterol birikmesi nedeniyle arterlerin sertleşmesi sürecidir. Koroner arter hastalığı, serebrovasküler ve periferik vasküler hastalıklar gibi ateroskleroz ve ateroskleroz ile ilişkili bozukluklar hiperlipideminin varlığı ile hızlanır.¹⁸ Hiperlipidemi, aterosklerozun ve ilişkili kardiyovasküler hastalıkların başlangıcında ve ilerlemesinde önemli bir işlev arz eden, düşük yoğunluklu lipoproteinlerde oksidatif modifikasyonlara yol açabilen, oksijen serbest radikallerin önemli ölçüde üretilmesine neden olan oksidatif stresin artması ile ilgilidir.¹⁹

Statinler ve fibratlar, yüksek plazma kolesterol ve trigliseridlerin azaltılması için başlıca antihiperlipidemik maddeler olarak kullanılmaktadır. Özellikle daha önce yapılan klinik çalışmalarda hiperlipideminin tedavisinde birkaç inhibitörün umut verici bir potansiyel gösterdiği rapor edilmiştir.²⁰ Bu inhibitörler arasında lanosterol sentaz inhibitörleri, skualen epoksidaz inhibitörleri, diaçil gliserol açil transferaz inhibitörleri, ATP sitrat liyaz inhibitörleri ve CETP inhibitörleri sayılabilir.

2.1.1. Plazma Lipoproteinleri

2.1.1.1. Plazma lipoproteinlerinin yapı ve fonksiyonları

Lipitler suda çözünmeyen bileşiklerdir, bunlar sulu bir ortam olan kan plazması içerisinde taşınabilmek amacıyla spesifik proteinler ile bir araya gelerek kısmen suda çözünebilen lipoproteinleri oluştururlar. Lipoproteinler, nonpolar lipitler (triacilgliserol ve kolesterol esterleri), amfipatik lipitler (fosfolipitler ve kolesterol) ve apoprotein olarak bilinen özgün proteinlerden oluşmuşlardır.^{21(s.582)} Apolipoproteinler, plazmada lipitlere bağlanan amfipatik proteinlerdir.²² Lipoprotein çekirdeğin trigliserit ve kolesterol ester içeriği arttıkça lipoprotein boyutu artar. Lipoproteinlerin yoğunluğu ise protein içerikleriyle orantılı, lipid içerikleriyle ise ters orantılı olarak artış gösterir.²³

Plazma lipoproteinleri, kullanım ve depolama yerlerinde sentezlenen ve absorbe edilen önemli bir enerji kaynağı olan trigliseritlerin taşınması için önemlidir. Ayrıca, farklı emilim, sentez, katabolizma ve eliminasyon yerleri arasındaki kolesterol taşınımı için de gereklidir.²⁴

2.1.1.2. Plazma lipoproteinlerinin sınıflandırması

Klinik tanı açısından önem taşıyan dört ana lipoprotein sınıfı vardır. Bunlar eksojen lipidlerin emiliminden kaynaklanan şilomikronlar (ŞM), triaçilgliserollerin dokulara aktarılması için karaciğerde oluşturulan çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL), VLDL metabolizması sonucu oluşan düşük dansiteli lipoproteinler (LDL) ve kolesterol taşınması aynı zamanda şilomikron ve VLDL metabolizmasında rol alan yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL) dir. Ayrıca lipoproteinler elektroforetik özelliklerine göre de α -, β -, ve pre- β -lipoproteinler olarak sınıflandırılabilirler.^{21(s.583)}

2.1.2. Lipoprotein Metabolizması

Hemen hemen tüm diyetisel yağlar bağırsak lümeninden bağırsak lenfine emilir ve şilomikronlar halinde paketlenir. Bu lipoproteinler, trigliseridi gliserol ve yağ asitlerine hidrolize eden endotelial lipoprotein lipaz tarafından hidrolize edildikleri yer olan kan dolaşımına geçerler. Bundan sonra, şilomikron kalıntıları karaciğerde emilmekte ve VLDL formunu oluşturmak üzere kolesterol, kolesterol esterler ve ApoB100 ile paketlenmektedir. VLDL'nin kan dolaşımına salınmasından sonra, VLDL, lipoprotein lipaz etkisiyle IDL'ye dönüştürülür. Ayrıca, lipoprotein lipaz tarafından hidrolizinden sonra IDL, LDL'ye dönüştürülerek daha fazla apolipoprotein kaybı olur.²⁵

Lipoprotein metabolizmasının temelleri Şekil 2.2'de gösterilmiştir.

Kandaki HDL kolesterol, kolesterol esterine lesitin kolesterol açıltransferaz (LCAT) enzimi ile esterleştirilir ve LDL reseptörü aracılığıyla karaciğere geri dönmek için VLDL ve LDL' ye transfer edilir. Kolesterol ester, CETP ile LDL parçacıklarına aktarıldıktan sonra LDL-reseptör aracılı endositoza tabi tutularak hepatositlere alınır ve burada kolesterol esterler kolesterole hidrolize edilip, vücuttan safra asidi olarak atılır.²⁶

2.1.2.1. Plazma lipoprotein metabolizmasında rol oynayan enzimler

Plazma lipoproteinlerinin metabolizmasında yer alan başlıca enzimler, lipoprotein lipaz (LPL), hepatik lipaz (HL), LCAT, kolesterol ester transfer protein (CETP), mikrozomal trigliserid protein (MTP) ve açıl Co-A transferaz (ACAT) dır.

Lipoprotein lipaz; kalp, kas, yağ dokusu, makrofajlar ve süt salgılayan meme bezlerindeki endotelial hücrelerde eksprese edilen çok işlevli bir enzimdir. LPL, TG in üç serbest yağ asidi ve gliserole hidrolizinde kritik bir rol oynar. Bunun yanı sıra LPL, kolesterol açısından zengin lipoproteinlerin ve serbest yağ asitlerinin reseptör aracılı lipoprotein alımında yardımcı olur.²⁷

Hepatik lipaz, lipoprotein metabolizmasını düzenleyen çok fonksiyonlu bir proteindir. Karaciğerde hepatositler tarafından sentezlenir, ayrıca adrenal bez, yumurtalık ve makrofajlarda bulunur. HL, plazma lipoproteinlerinin fosfolipidlerini ve trigliseritlerini hidrolize eder. Bunlara ilaveten HL, hücre yüzeyi reseptörleri ve proteoglikanlar tarafından lipoprotein absorpsiyonunu kolaylaştırarak hücrel lipit dolaşımını etkilerler.²⁸

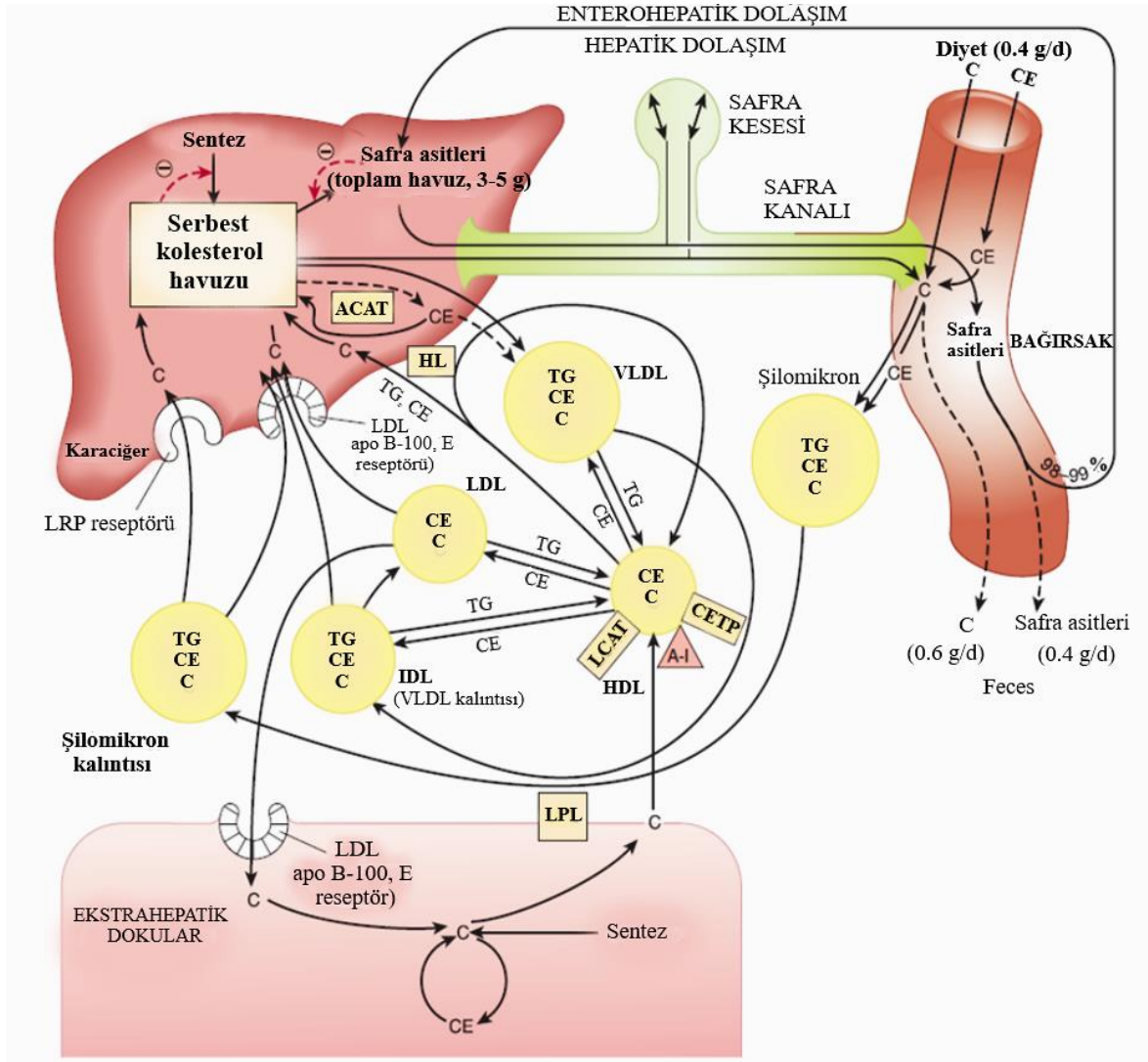
LCAT, HDL metabolizmasında önemli bir enzimdir. Bu enzim, plazmada serbest kolesterolü kolesterol esterlere dönüştürür. Esterleşmiş kolesterol lipoprotein çekirdeğinde tutulur ve sonunda olgun HDL meydana gelir.²⁹

Plazma lipit transfer proteini olarak da adlandırılan CETP, plazma partikülleri arasında kolesterol esterlerin ve trigliseritlerin çift yönlü transferine olanak sağlayan

hidrofobik bir plazma glikoproteinidir. CETP eksikliği, HDL düzeylerinin artması ve LDL düzeylerinin azalmasıyla ilişkilidir.²⁹

Mikrozomal trigliserid protein (MTP), nötral lipidlerin, trigliseritlerin ve kolesterol esterlerin membranlar arasında transferini katalizleyen bir lipit transfer proteinidir. MTP, şilomikron ve VLDL gibi apo B proteini içeren lipoproteinlerin oluşumunda aktif rol alır.^{13(s.720)} Ayrıca MTP, glikolipit sunan moleküllerin biyosentezinde ve kolesterol ester biyosentezinin düzenlenmesinde de önemli olduğu bilinmektedir.³¹

Açıl Co-A transferaz (ACAT), uzun zincirli yağ açıl-CoA ve kolesterolü kullanarak kolesteril esterlerinin sentezinde yer alan membrana bağlı bir proteindir. ACAT, çeşitli dokularda hücrel kolesterol homeostazında önemli rol oynar ve hücrelerde aşırı kolesterolün toksik birikimini önler.³² ACAT', karaciğer, bağırsak ve adrenal korteksde kolesterol esteri oluşturan ana enzimdir.^{33(s.466)}



Şekil 2.4 Lipoprotein metabolizmasında rol alan enzimler ²¹

2.1.3. Hiperlipidemi sınıflandırması

Primer: Aynı zamanda genetik bir kusur nedeniyle ailesel olarak da adlandırılır, monogenik (tek gen defekti) veya poligenik (çoklu gen defektleri) olabilir. Primer hiperlipidemi genellikle Tablo 2.1'de özetlenen anormal lipoprotein modellerinden birini sergiler.³⁴

Sekonder: Diyabet, nefrotik sendrom, kronik alkolizm, hipotiroidizm gibi başka bir bozukluğa bağlı olarak veya kortikosteroidler, beta blokerleri ve oral kontraseptif gibi ilaçların kullanılması ile ortaya çıkabilir. Sekonder hiperlipidemi, hipertrigliseridemi ile birlikte pankreatite neden olabilir. Hiperlipidemisinin en önemli nedeni, kişinin yaşam tarzı alışkanlıklarıdır. Temel olarak doymuş yağ ve kolesterolün toplam kalori alımının yüzde 40'ını aştığı diyet durumlarında hiperlipidemisinin ortaya çıktığı bildirilmiştir.³⁵

Tablo 2.1. Primer hiperlipidemi

Tipi	Hastalık	Neden	Oluşum sıklığı	Yükselmiş plazma lipoproteini
I	Primer hiperlipoproteinemi	Lipoprotein lipaz eksikliği, Değişen ApoC ₂	Çok nadir	Şilomikronlar
IIa	Ailesel hiperkolesterolemi	LDL reseptör eksikliği	Daha az yaygın	LDL
IIb	Ailesel kombine hiperlipidemi	Azalmış LDL reseptörü	En yaygın	LDL ve VLDL
III	Ailesel disbetalipoproteinemi	Apo E-2 sentezinde defekt, artmış ApoB	Nadir	IDL
IV	Ailesel hipertrigliseridemi	Artan VLDL üretimi ve azalan atılımı	Yaygın	LDL
V	Endojen hipertrigliseridemi	Artan VLDL üretimi ve azalmış LPL	Daha az yaygın	VLDL ve Şilomikronlar

2.1.4. Hiperlipidemi Belirtileri

Genel olarak hiperlipideminin spesifik bir belirtisi yoktur, ancak genellikle rutin muayene sırasında veya inme, kalp krizi gibi bir durumda saptanabilir. Yüksek kan kolesterol seviyesi olan veya hastalığın ailesel formlarını bulunduran hastalarda, özellikle gözaltında olmak üzere deri altında kolesterol birikimi sonucu oluşan ksantomlar görülebilir. Aynı zamanda, yüksek trigliseritli hastalarda, vücutlarının farklı bölgelerinde çok sayıda sivilce benzeri lezyonlar oluşabilir.³⁴

2.1.5. Hiperlipidemi Komplikasyonları

2.1.5.1. Ateroskleroz

Hiperlipidemi, kardiyovasküler hastalıkların ana nedeni olan ateroskleroz için en önemli risk faktörüdür. Ateroskleroz; lipit, kolesterol, kalsiyum birikimi ve arterlerin duvarlarında fibröz plakların gelişmesi ile karakterize patolojik bir süreçtir.³⁶ Son yıllarda yapılan araştırmalar oksidatif stresin, esasen LDL yi oksitleyerek vasküler duvarda reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşturulması yoluyla hiperkolesterolemik ateroskleroz patogenezinde yer aldığını ortaya koymuştur.³⁷ Oksidatif stres, LDL'yi modifiye ederek okside LDL'yi üretir. Okside LDL yağ hücresi toplayıcı makrofaj tarafından tanınır ve köpük hücreli makrofajlar oluşur. Böylece, okside LDL tarafından aktive edilen makrofajlar, endotel hücrelerinde meydana gelen hasar nedeniyle aterosklerozun ilerlemesine katkıda bulunarak daha fazla oksidatif stres oluşturabilirler.³⁸ Şekil 2.5’de oksidatif stres ile aterosklerozis arasındaki ilişki verilmiştir.



Şekil 2.5. Aterosklerozda oksidatif stresin rolü

2.1.5.2. Koroner arter hastalığı (KAH)

Koroner arter hastalığının başlıca sebebi olan ateroskleroz, lipid birikimi ve atardamar duvarındaki fibröz plakların oluşması ile karakterize olup, miyokarda kan sağlayan arterlerin daralmasına neden olur. Buda kalbin ihtiyaç duyduğu kan akışının sınırlandırılması ve oksijen miktarının yetersizliği ile sonuçlanır. Yüksek lipid profili koroner ateroskleroz gelişimi ile ilişkilidir.^{36,39}

2.1.5.3. Miyokard infarktüsü (MI)

MI, kalp hücrelerinin zarar görmesine veya ölümüne neden olan, bir veya daha fazla kardiyak arterde kan ve oksijen kaynaklarının ulaşımının kısmen veya tamamen bloke edildiği durumda ortaya çıkan bir durumdur. Çalışmalar, miyokard infarktüsünden hayatta kalanların dörtte birinin hiperlipidemik olduğunu göstermektedir.^{40,41}

2.1.5.4. İskemik inme

Genellikle inme, beyin içindeki küçük bir damarda bulunan bir kan pıhtısının veya gevşeyen bir aterosklerotik plak parçasının bir arteri tıkaması sonucu meydana gelir. Birçok klinik çalışma, toplam kolesterolün ve LDL nin % 15 oranında düşürülmesinin ilk inme riskini önemli ölçüde azalttığını ortaya koymuştur.^{42,43}

2.1.6. Hiperlipidemi İçin İlaç Sınıfları

LDL başlıca aterojenik lipoprotein olduğu için bu lipoproteinin kandaki miktarının azaltılması ile aterosklerozun ve dolayısıyla oluşan kardiyovasküler yan etkilerin giderilmesi sağlanabilir. Yüksek LDL'ye ek olarak diğer risk faktörleri ve KAH'nın varlığı söz konusu ise yaşam tarzı değişimi ile birlikte ilaç tedavisinde başlamak gereklidir. Monoterapinin hiperlipideminin tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir, ancak kapsamlı bir yaklaşım için kombinasyon tedavisi gerekebilir.⁴⁴ Günümüzde, antihiperlipidemik ilaçlar; statinleri, safra asidi bağlayıcı reçineleri, fibrin

asit türevlerini, nikotinik asit türevlerini ve kolesterol emilimini inhibe eden ilaçları içeren beş ana grupta (Tablo 2.2) yer almaktadır.³⁵

Tablo 2.2. Hiperlipidemi için ilaç tedavisi

İlaçlar	Lipitler üzerindeki etkiler
1- Statinler	
Lovastatin (10-80 mg)	TG'yi azaltır
Simvastatin (5-40 mg)	LDL'yi azaltır
Atorvastatin (10-80 mg)	HDL'yi artırır
2- Safra asit bağlayıcı reçineler	
Kolestamin (4-16 mg)	LDL'yi azaltır
Colestipol (5-30 mg)	HDL'yi artırır
3- Fibrik asit türevleri	
Gemfibrozil (1200 mg)	TG'yi azaltır
Bezafibrate (600 mg)	LDL'yi azaltır
Fenofibrate (200 mg)	HDL'yi artırır
4- Nikotinik asit türevleri	
	TG'yi azaltır
Niasin (2-6 mg)	LDL'yi azaltır
	HDL'yi artırır
5- Kolesterol emilim inhibitörleri	
Ezetimibe (10 mg)	Kolesterolü düşürür

2.1.6.1. Statinler (3-Hidroksi-3-metilglutaril koenzim A (HMG CoA) redüktaz inhibitörleri)

Bu sınıf lovastatin, simvastatin, pravastatin, fluvastatin, atorvastatin ve rosuvastatini içerir. Statinler, hiperkolesterolemi tedavisinde geniş olarak reçete edilirler. Kolesterol seviyelerinde % 20 ile % 50 lik bir düşüş sağlayabilirler. Yüksek riskli erişkinlerde koroner morbidite ve mortalite insidansının azalmasıyla yakından ilişkilidirler.⁴⁴ Bu ilaçlar HMG-koenzim A redüktaz (kolesterol biyosentezinde hız

sınırlayıcı enzim) ın yapısal analoglarıdır. Statinler bu enzimi inhibe ederek, TK, LDL ve ApoB plazma seviyelerini önemli ölçüde azaltırlar. Bununla birlikte, statinler plazma trigliseritlerinde de azda olsa bir düşüşe ve HDL'nin plazma seviyesinde küçük bir artışa neden olur.⁴⁵ Diğer HMG-CoA redüktaz inhibitörleri arasında dialil disülfid (DADS) ve dialil tiyosülfinat bulunur. DADS, sarımsaktan elde edilen bir organosülfür bileşiğidir, düşük konsantrasyonlarda kolesterol sentezini % 10-25 oranında azalttığı gösterilmiştir. Allisinin bir metaboliti olan dialil tiyosülfinat, 7-dehidrokolesterol oluşumunu bloke eder ve kolesterol üretimini azaltır. Yeni DADS türevi olan Bis- (3- (4-nitrofenil) prop-2-ene) disülfid, plazma toplam kolesterolü azaltmada etkilidir.⁴⁶

Statinlerin kullanıldığı durumlarda sıklıkla karşılaşılan yan etkiler, geçici gastrointestinal semptomlar, baş ağrısı, kas ağrısı ve baş dönmesi olarak sıralanabilir. Bu semptomlar daha yüksek dozlarda daha yaygındır ve farklı bir statin kullanıldığında çözülebilir.⁴⁷ Statinler ayrıca miyopati, rabdomyoliz ve serum transaminazında artışa da neden olurlar. Bu maddeler böbrek için zararlıdır ve çoğu zaman böbrek hasarına sebebiyet verirler. Tüm bunlara ilaveten statinlerin kardiyomiyopatiye yol açabileceğide bildirilmiştir.⁴⁸ Son olarak klinik çalışmalarda statin kullanımının tip 2 diyabet vakalarındaki artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.⁴⁹

2.1.6.2. Safra asidi ayraçları

Safra asidi sentezi, karaciğerdeki kolesterol katabolizmasının ana yoludur ve yetişkin insan karaciğerinde yaklaşık 500 mg kolesterolün günlük olarak safra asitlerine dönüştürüldüğü tahmin edilmektedir. Safra asitleri bağırsak içine salınır ve yağların emilimini kolaylaştırmada önemli bir role sahiptir.⁵⁰ Safra asidi ayraçları, büyük çözünmez bir kompleks oluşturmak üzere bağırsaktaki negatif yüklü safra asitlerine bağlanan, bağırsaklarda emilmeyen ve böylece dışkıyla dışarı atılan, pozitif yüklü reçinelerdir. Bu reçineler vücuda verildiğinde safra atılımı on katına kadar arttırılır, bu

da kolesterolün safra asitlerine daha fazla dönüşmesine neden olur. Ayrıca safra asidi ayraçları HDL seviyelerini de arttırırlar.⁵¹

Safra asidi ayraçları arasında kolestiramin, kolestipol, kolestimid ve kolesevelam bulunur. Kolestiramin ve kolestipol, şu anda mevcut olan iki safra asidi ayraç maddesidir. Kolestiramin, stiren ve divinilbenzen polimerlerinden oluşan bir kuaterner amindir. Kolestipol ise dietilentriamin ve 1-kloro-2,3-epoksipropanın bir kopolimeridir.⁵²

Zayıf hasta toleransı nedeniyle başlangıç tedavisi olarak safra asidi ayraçları nadiren kullanılır. Safra asidi ayraçlarının kullanıldığı hastalardaki en yaygın şikâyetler gastrointestinal rahatsızlıklardır. Bunların arasında kabızlık, mide bulantısı, hazımsızlık, şişkinlik ve midede gaz birikmesi sayılabilir.⁵³ Uzun süreli tedavide safra asidi ayraç ajanları, kalsiyum kaybına bağlı osteoporoza neden olabilir. Ayrıca, bilinmeyen bir mekanizma ile hipertrigliseridemiye şiddetlendirebilir. Son olarak, bazı vitamin ve minerallerin eksikliğine yol açabilir.⁵¹

2.1.6.3. Fibratlar

Fibratlar, plazma trigliseritlerinde önemli bir düşüşe ve LDL kolesterolünde hafif bir azalmaya yol açan antihiperlipidemik ajan sınıfıdır. Bu sınıf içerisinde yaygın olarak kullanılan ajanlar arasında klofibrat, gemfibrozil, fenofibrat ve bezafibrat bulunur. Bu ajanlar ayrıca HDL kolesterol seviyesini orta derecede arttırmaktadır. Anjiyografik çalışmalar, fibratların koroner aterosklerozun ilerlemesini yavaşlatmakta ve koroner arter hastalığının görülme sıklığını azaltmada önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Kemirgenlerde ve insanlarda yapılan çalışmalardan elde edilen veriler, fibratların dört ana etki mekanizmasına sahip olduklarını göstermektedir:

Bunların birincisi; Lipoprotein lipazın uyarılmasıdır. Fibratlar birincil olarak nükleer transkripsiyon reseptörü PPAR- α (Peroxisome proliferator-activated receptor

alpha) için ligandlar olarak işlev görür. Bunlar lipoprotein lipaz ekspresyonunu arttırırken bir lipoprotein lipaz inhibitörü olan apo C-III'ün ekspresyonunu azaltırlar. Fibratlar ayrıca apo AI ve apo AII'nin ifadesini artırarak HDL kolesterol seviyesini arttırırlar.⁵⁴

İkincisi; hepatik yağ asidi alımının arttırılması, hepatik trigliserit üretiminin ise azaltılmasıdır. Fibratlar, yağ asidi taşıma proteini ve açıl-CoA sentetaz üretimini arttırır, bu da yağ asidinin karaciğer tarafından alımının artmasına ve bunun sonucunda trigliserit üretimi için daha az yağ asitleri elde edilmesine katkıda bulunur.⁵⁵

Üçüncüsü; Plazmada LDL partüküllerinin konsantrasyonunun azaltılmasıdır. Fibratların reseptör aracılı yolak ile LDL katabolizmasını arttırdığı görülmektedir. LDL partükülleri daha fazla kolesterol bakımından zengin hale gelmiş olmaları nedeniyle reseptörler için daha fazla afiniteye sahip olurlar. Fibratlar ayrıca yavaş yavaş metabolize olan, potansiyel olarak aterojenik LDL parçacıklarının oluşumunu da engeller.⁵⁶

Dördüncüsü ve sonuncusu; HDL üretiminde artış ve ters kolesterol transportunun uyarılmasıdır. Fibratlar, karaciğerde apo A-I üretimini artırır. Bu artış, apo A4 ve HDL-kolesterolün plazma seviyelerinde yükselmeye ve daha etkili bir ters kolesterol taşınmasına neden olur.⁵⁷ Genellikle fibratların vücutta iyi tolere edildiği düşünülmektedir. Ancak yan etkileri de mevcuttur. En sık görülen yan etkiler arasında gastrointestinal semptomlar, miyopati, aritmi, deri döküntüleri ve safra taşları sayılabilir. Karaciğer ve böbrek fonksiyon bozukluğu olan hastalarda fibratlardan kaçınmak gereklidir.⁵¹

2.1.6.4. Niasin

Suda çözünabilen bir vitamin olan niasin (vitamin B3), hiperlipidemi tedavisi için kullanılan en eski lipit düşürücü ajan olup, kardiyovasküler morbidite ve

toplam mortaliteyi azaltmayı sağlamıştır. Niasin, TK, LDL kolesterolü ve TG azaltır. Ayrıca, niasin, günlük belirli bir dozda kullanıldığında düşük HDL seviyelerinin tedavisi için mevcut en etkili tedavilerden birisidir.⁵⁸ Niasin, adipoz dokuda lipolizi inhibe ederek dolaşımdaki serbest yağ asitlerinin oranını azaltır.⁵⁸ Karaciğer genellikle triağılglicerol sentezi için önemli bir öncü olarak dolaşımdaki yağ asitlerini kullanır. Bu nedenle, niasin, VLDL salgısını inhibe ederek LDL üretimini azaltmaktadır. Ayrıca, niasin tedavisi apo A-1'in kademeli temizlenmesini azaltıp ve HDL sentezini artırarak HDL kolesterol konsantrasyonlarını yükseltir.⁵¹

Niasin tedavisi başarılı sonuçlar elde etse de oluşturduğu yan etkiler sebebiyle kullanımı sınırlı kalmaktadır. En sık görülen yan etkiler, hastaların dörtte üçünden fazlasında görülen yoğun deri kızarıklıkları, kaşıntı, baş ağrısı ve bazı hastalarda bulantı ve abdominal rahatsızlıklardır. Niasin ayrıca karaciğer enzimlerini de yükseltir. Niasin ile birlikte statinlerin uygulanması rabdomiyoliz insidansını artırır. Son olarak niasin, glukoz intoleransını ve gut hastalığını tetikleyen hiperürisemiye de destekler.⁵³

2.1.6.5. Ezetimibe (Seçici kolesterol emilim inhibitörü)

Fitosterol ve kolesterolün bağırsak emilimini inhibe eden ilaç grubunun ilk üyesi olan ezetimibenin keşfi ve gelişimi, hiperkolesterolemi tedavisini ilerletmiştir. Ezetimibe, yağda çözünen vitaminlerin plazma konsantrasyonları üzerinde herhangi bir etki göstermeksizin ince bağırsaktan kolesterol emilimini inhibe eder.⁵⁹ LDL kolesterol seviyelerinde statin ve ezetimibenin kombinasyonu, % 25'lik bir düşüş sağlarken, statin dozunun ikiye çıkarılması LDL kolesterol seviyelerinde ancak % 6'lık bir düşüşe ulaşabilmiştir.⁶⁰ Ezetimibe, ince bağırsakta kolesterol emilimini seçici olarak inhibe ederek, insan sterol taşıma proteini olan Niemann-Pick C1-benzeri 1 proteinini (NPC1L1) bloke edip bağırsak kolesterolünün karaciğere verilmesinde bir azalmaya yol açar. Bu, kolesterolün kandan temizlenmesinde bir artışa neden olur.⁶¹ Ezetimibe

genellikle iyi tolere edilir; En yaygın görülen yan etkiler baş ağrısı, karın ağrısı ve ishaldir. Ezetimibenin alanin transaminaz ve aspartat transaminaz gibi karaciğer fonksiyon testlerini gösteren enzimlerde yükselmelere neden olduğu bildirilmiştir.⁶²

2.1.7. Hiperlipidemi İçin Yeni Potansiyel Hedefler ve Tedaviler

Son zamanlarda, birçok klinik çalışma antihiperlipidemik aktiviteye sahip umut verici yeni potansiyel ajanları ortaya çıkarmıştır. Bu kapsamda, bu araçların bazıları incelenecektir.

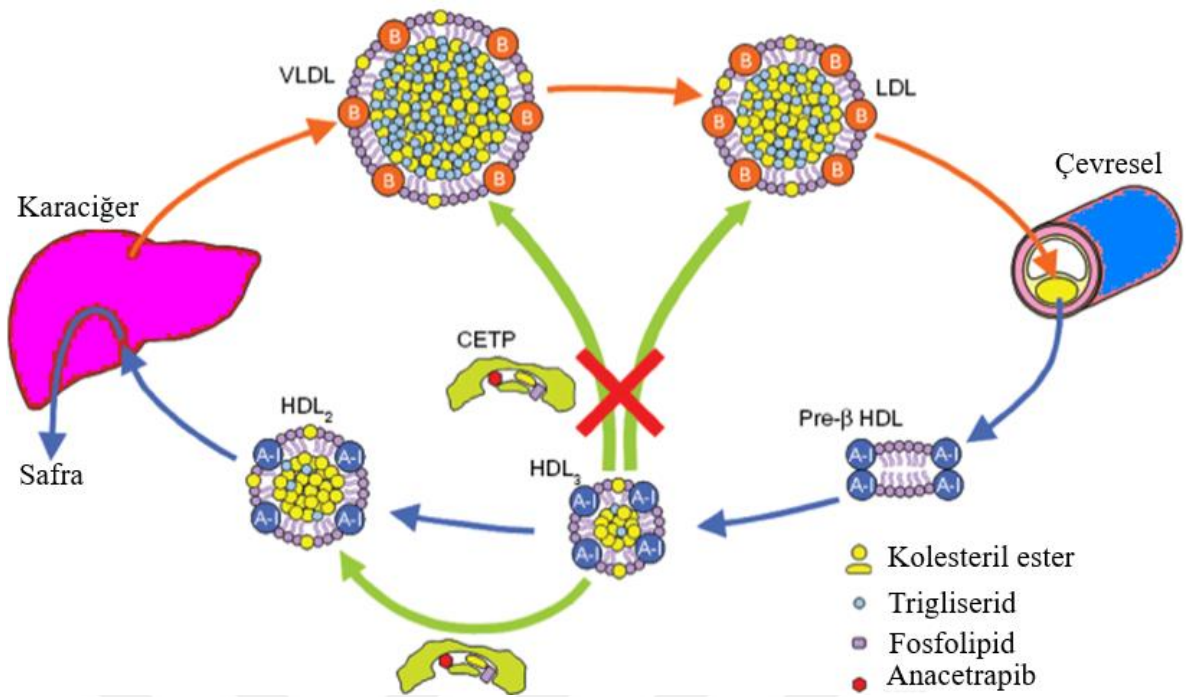
2.1.7.1. Kolesterol ester transfer proteini (CETP) inhibitörleri

Günümüzde, CETP inhibitörü olarak dört adet etken madde kullanılmaktadır. Bunlar sırasıyla; torcetrapib, dalcetrapib, anacetrapib ve evacetrapib'tir. Tablo 2.3'de CETP inhibitörlerinin bazı kimyasal ve kliniksel özellikleri verilmiştir. CETP, kolesterol esterlerinin antiaterojenik HDL'den proaterojenik apolipoprotein B içeren VLDL ve LDL'ye transferini kolaylaştırır (Şekil 2.6). Dahası, birçok çalışma, CETP'nin ters kolesterol taşınmasına katılarak proaterojenik bir rol oynayabileceğine dair kanıt olduğunu ve CETP'nin inhibisyonunun aterosklerozun ilerlemesini yavaşlattığı fikrini desteklediğini göstermiştir.⁶ CETP inhibitörlerinden anacetrapib klinik çalışmaların Faz III aşamasında yeni bir bileşiktir. Anacetrapib, CETP inhibitörlerinin torcetrapib serisine aittir, ancak torcetrapibin aksine kardiyovasküler etkileri yoktur. Anacetrapib, CETP'nin transfer işlevlerini bloke ederek HDL 'de belirgin bir artış, LDL kolesterolünde azalma gibi olumlu bir plazma lipid profili sağlar.⁶

Tablo 2.3. CETP düzenleyici ve inhibitörleri

	Dalcetrapib	Torcetrapib	Anacetrapib	Evacetrapib
Kimyasal sınıf	Benzenethiol	3,5-bis (CF ₃)phenyl	3,5-bis (CF ₃)phenyl	3,5-bis (CF ₃)phenyl
CETP'ye etkisi	Seçici inhibisyon	Tamamen inhibisyon	Tamamen inhibisyon	Veri yok
Heterotipik CE transfer	Engel	Engel	Engel	Veri yok
Homotipik CE transfer	Etkisi yok	Engel	Engel	Veri yok
RCT	Artış	Hafif artış	Değişiklik yok	Veri yok
Klinik veriler				
HDL yükseltme	% 31	% 72	% 138	% 132
LDL düşürme	Değişiklik yok	% 25	% 36	% 40
Aldesteron seviyesi	Değişiklik yok	Artış	Değişiklik yok	Değişiklik yok
Vasküler inflamasyon	Azalma (PET/CT)	Veri yok	Veri yok	Veri yok
Plak oluşumu	Azalma (MRI)	Veri yok	Veri yok	Veri yok
Güvenlik	Güvenli	Kardiyovasküler hastalıklarda ve ölüm oranlarında artış	Güvenli	Güvenli

Kısaltmalar: CF₃, trifluorometil; CETP, kolesterol ester transfer protein; CE, kolesterol ester; RCT, reverse cholesterol transport; HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; PET, positron emission tomography; CT, computed tomography; MRI, magnetic resonance imaging



Şekil 2.6. Anacetrapib'in CETP aracılı kolesterol transportu üzerine etkileri ⁶³

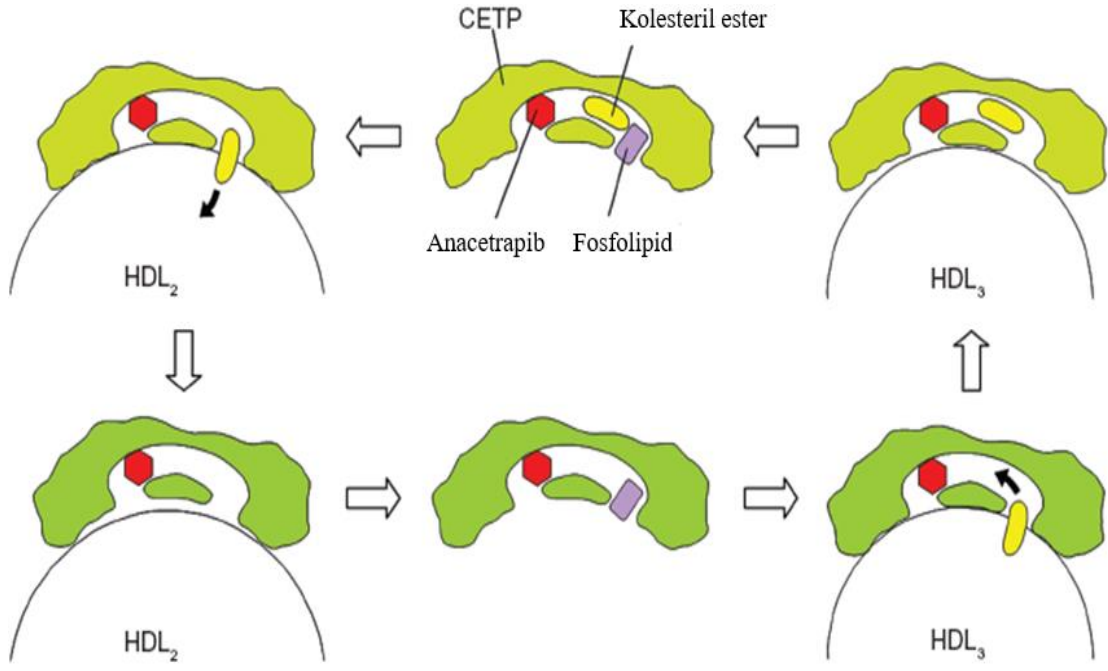
Kısaltmalar: CETP, kolesterol ester transfer protein; HDL, yüksek dansiteli lipoprotein; LDL düşük dansiteli lipoprotein; VLDL, çok düşük dansiteli lipoprotein

Tablo 2.4'te CETP inhibitörlerinin gelişimsel durumları verilmiştir.

Tablo 2.4. CETP inhibitörlerinin gelişimsel durumları

CETP İnhibitörü	İlaç Firması	Gelişim Evresi	Durum
Torcetrapib	Pfizer	Faz 3	Etki yetersizliği ve yan etkiler sebebiyle 2.12.2006'da çalışmalar sonlandırıldı.
Dalcetrapib	Roche/DalCor	Faz 3	Etki yetersizliği sebebiyle Eylül 2012'de çalışmalar sonlandırıldı.
Evacetrapib	Eli Lilly	Faz 3	Etki yetersizliği tespit edildi.
Anacetrapib	Merck	Faz 3	Etkinlik analizinden sonra, denemeler 2019 sonuna kadar devam edecek.

Anacetrapib, CETP aktivitesini % 50'ye kadar azaltarak LDL kolesterol seviyelerini düşürürken, HDL kolesterol seviyelerini % 31 oranında arttırmıştır.⁶³

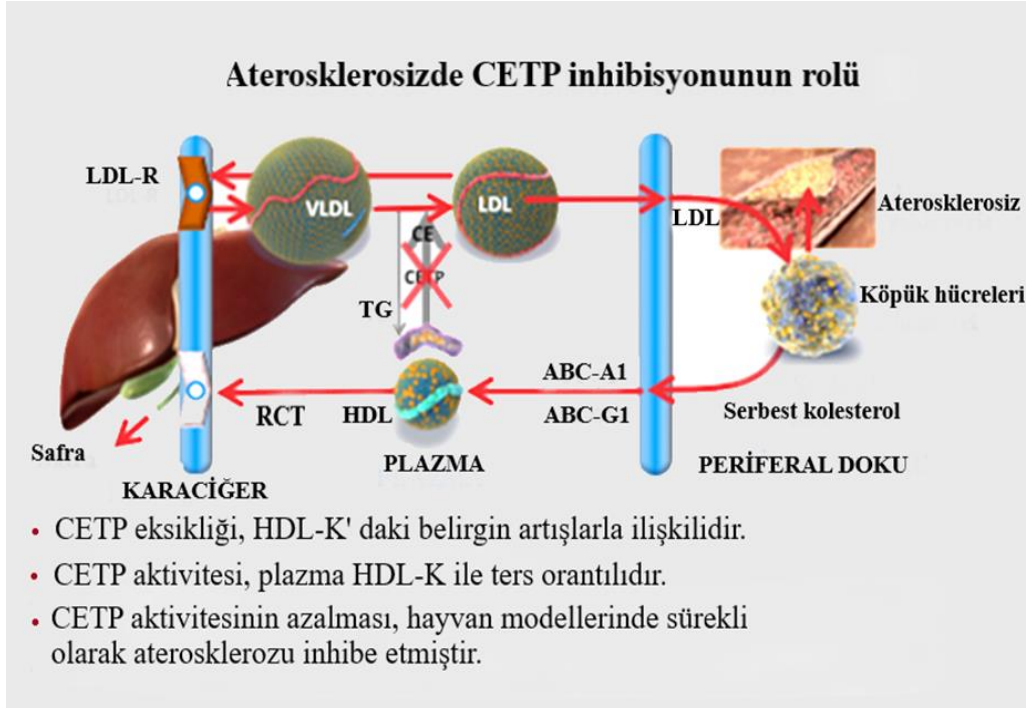


Şekil 2.7. Anacetrapib-bağlı CETP'nin aracılık ettiği homotipik transfer ⁶³

Kısaltmalar: CETP, kolesterol ester transfer protein; HDL, yüksek- dansiteli lipoprotein

Şekil 2.7’de anacetrapib bağı CETP enziminin aracılık ettiği bir transfer modeli şematize edilmiştir. Bu modelde plazmada LDL kolesterol seviyesi azalırken HDL kolesterol seviyelerinde artış gözlenir.

CETP inhibisyonunun ateroskleroz üzerine etkisi şekil 2.8’ de gösterilmiştir. CETP eksikliği sonucu, HDL-K düzeylerinde belirgin bir artış görülürken TG ve LDL seviyelerinde ise önemli oranlarda azalışlar meydana gelir. Böylece periferik dokularda köpük hücre oluşumu ve aterosklerozda önemli ölçüde bir azalış söz konusu olacaktır.



Şekil 2.8. Aterosklerozde CETP inhibisyonunun rolü

2.1.7.2. Açıl-CoA kolesterol açıl transferaz inhibitörleri (ACAT)

Açıl-CoA kolesterol açıl transferaz (ACAT), hücre içi kolesterolün kolesterol esterlere dönüşmesini katalize eden enzimdir. ACAT'ın ACAT1 ve ACAT2 olarak adlandırılan iki izomeri vardır. ACAT1, hücre içi kolesterol homeostazında rol oynarak arter duvarında köpük hücre oluşumuna ve dolayısıyla ateroskleroz gelişimine katkıda bulunur. Bu nedenle ACAT-1 inhibitörleri antiaterojenik etki gösterebilirler. Bağırsak ve karaciğerde bulunan ACAT-2 ise kolesterol emiliminde ve lipoprotein üretimi için gerekli olan kolesterol ester oluşturulmasında etkin olduğundan ACAT-2 inhibitörleri, bağırsakta kolesterol emiliminin azaltılmasında önemli bir rol oynayabilir. Avasimibe ve Eflucimibe'nin, ACAT'ı inhibe ederek plazma kolesterol seviyelerini düşürdükleri ve böylece ateroskleroz gelişimini yavaşlattıkları rapor edilmiştir.^{64,65}

2.1.7.3. Mikrozomal trigliserit transfer protein inhibitörleri

Mikrozomal trigliserit transfer proteini (MTP), kolesterol ester biyosentezinin düzenlenmesinin yanı sıra membran vezikülleri arasında nötral lipidlerin aktarılması,

CD1 (yüzey farklılaşma antijenleri-1) biyosentezi, antijen sunan moleküllerin düzenlenmesi gibi birçok fonksiyona sahiptir. Bu nedenle MTP'nin inhibe edilmesi, plazma trigliseritleri, LDL ve VLDL kolesterolünde önemli bir azalmaya neden olur. Bu bulgular, MTP inhibitörlerinin, aterojenik lipoprotein düzeylerini azaltmak için yararlı olabileceğini düşündürmektedir.³¹ Bir dizi yeni sentezlenmiş fosfonat esterlerinin, MTP aktivitesi üzerindeki etkileri açısından değerlendirildiğinde bunların hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak güçlü bir inhibisyon sergiledikleri bildirilmiştir. Veriler ayrıca hiperkolesterolemi için yeni bir ilaç olan lomitapide (AEGR-733, eski BMS- 201038) gücünü de ortaya koymaktadır.⁶⁶

2.1.7.4. Skualen sentaz inhibitörleri

Skualen sentaz (SqS), farnesil pirofosfattan skualen oluşumunu kataliz eder. Oluşan skualenden de kolesterol sentezlenmektedir. Farmakologlar, SqS inhibitörlerini, hiperlipoproteinemi tedavi etmek için potansiyel ajanların geliştirilmesinde umut veren başlıca bileşikler olarak görürler.⁶⁷ Deneysel sıçanlarda potansiyel bir SqS inhibitörü olan BMS-188494'ün oral uygulamasından sonra plazma kolesterol düzeylerinin azaldığı bildirilmiştir.⁶⁸ Aynı zamanda, SqS'nin başka bir inhibitörü olan YM-53601, plazma kolesterol ve trigliserit seviyelerini azalttığı da rapor edilmiştir.⁶⁹

2.1.7. 5. Hidroksimetilglutaril-CoA sentaz inhibitörleri

HMG sentaz, asetil-CoA ve asetoasetil-CoA'yı 3-hidroksi-3-metilglutaril-CoA'ya dönüştüren kimyasal reaksiyonu katalize eder. L-659,699, potansiyel bir HMG sentaz inhibitör aktivitesi gösteren bileşiklerden birisidir.⁶⁹

2.1.7.6. ATP sitrat liyaz inhibitörleri

ATP sitrat liyaz (ACL) sitozolik asetil-CoA ve oksaloasetat sentezinden sorumlu birincil enzimdir. Sitozolik asetil-CoA ve oksaloasetat sentezi, yağ asitleri ve kolesterol sentezinde önemli bir adımdır. Bu nedenle, ACL'nin inhibisyonu dislipideminin

tedavisinde umut verici bir stratejidir.⁷⁰ ACL enziminin önde gelen inhibitörü olan BMS-303141'in yüksek yağlı beslenen farelerde kronik uygulamasının kilo alımını, plazma kolesterolü, trigliseritler ve glikozu azalttığı açıklanmıştır.⁷¹

2.1.7.7. Açıl koenzim A: Diaçilgliserol açıltransferaz (DGAT)

DGAT, trigliserit biyosentezinde son adımda Açıl CoA'ya 1,2-diaçilgliserol katan bir mikrozomal enzimdir. İki çeşit DGAT (DGAT-1 ve 2) tanımlanmıştır. Birçok çalışma, hiperlipideminin tedavisinde DGAT1'in inhibisyonunun önemli olduğunu göstermiştir. T863 bileşiği *in vitro* olarak DGAT1 için güçlü bir inhibitördür. Farelerde, T863 bileşiği ile iki haftalık bir tedavinin serum ve karaciğer trigliseritlerini azalttığı, ayrıca serum kolesterol düzeylerini de önemli ölçüde düşürdüğü gösterilmiştir.⁷²

2.1.7.8. Skualen epoksidaz inhibitörleri

Skualen epoksidaz, sterol biyosentezinde ilk oksijenasyon adımı için hız sınırlayıcı enzimlerden biridir. NB-598 skualen epoksidazı yarışmalı olarak inhibe eder ve böylece kolesterol sentezini engeller.⁷³

2.1.7.9. Lanosterol sentaz inhibitörleri

Lanosterol sentaz (LSS), (S)-2,3 oksidoskualenin, kolesterol sentezi yolağındaki başlangıç sterol ara maddesi olan lanosterole siklizasyonunu katalize eder. U18666A ve Ro 48-8071 gibi LSS inhibitörlerinin plazma LDL kolesterol seviyelerini düşürme potansiyeli vardır.⁷⁴

2.2. Valerianaceae familyası ve *Centranthus longiflorus* türü

Centranthus longiflorus bitkisi Plantae Aleminde, Tracheophyta Şubesinde, Magnoliopsida Sınıfında, Dipsacales takımında ve Valerianaceae Familyasında yer almaktadır. Bitkiler aleminde Valerianaceae familyasının 350 türü yayılış göstermektedir. Türlerin çoğu yüksek rakımlı dağ bölgelerinde yetişmektedir.⁷⁵ Yüzyıllardır bu familyanın üyeleri geleneksel tıpta tedavi amaçlı kullanılmaktadır.

Yapılan literatür taramaları neticesinde; daha çok sakinleştirici ajan olarak kullanılan üyelerin bulunduğu, bununla birlikte sitotoksik etkilerinden dolayı da DNA sentezini inhibe etme yoluyla otoimmün hastalıkların ve kanserin tedavisine yönelik araştırmalar olduğu tespit edilmiştir.⁷⁶ Tek yıllık ve çok yıllık bitkileri bünyesinde bulunduran Valerianaceae familyası 4 cins içerir. Bunlar; *Centranthus*, *Plectritis*, *Valeriana* ve *Valerianella*'dır.⁷⁷ Bu cinsler arasında yaygın bir şekilde çalışılmış olan cins *Valeriana* cinsidir ve özellikle anksiyolitik özellikleri üzerine odaklanılmıştır. *Centranthus*, familyanın bir başka cinsidir.⁷⁸ Bu cinse ait *C. longiflorus* türü, Türkiye'de kırmızı kediotu olarak bilinmektedir. Bitki dünyada Akdeniz bölgesine (Türkiye, Suriye, İtalya, Filistin ve Lübnan) endemiktir.⁷⁹ Çok yıllık (perennial) bir bitki olan *C. longiflorus* türü genellikle 200 cm uzunluğa sahip dik bir gövdeye sahiptir.⁸⁰ Literatür bilgisinin çok az olduğu bu bitki türü ile yapılan çalışmalar arasında bu bitkinin antioksidan ve enzim inhibitör özelliklerine sahip olduğu bildirilmiştir. *C. longiflorus*'un etanol ekstraktının, konsantrasyona bağlı olarak süperoksit anyon radikalini süpürücü aktivite gösterdiği rapor edilmiştir.⁸¹ Yapılan bir başka çalışmada, *C. longiflorus*'un, enzim inhibitör aktivitesi, toplam fenol ve flavonoid içeriği ve antioksidan aktivitesi değerlendirilmiştir.⁸² Yine *C. longiflorus*'un farklı bitki kısımlarından elde edilen etanol ekstraktları *Staphylococcus epidermis*'e karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir.⁷⁹ Son bir çalışmada ise *C. longiflorus* bitkisinde α -amyrin ve β -sitosterol'ün aynı anda belirlenmesi sağlanmıştır. Çalışma kalitatif sonuçların yanı sıra kantitatif bulgularada yer vermektedir. Ayrıca bu çalışmada bu bitkilerin özellikle şeker hastalığının tedavisi için ilaç geliştirilmesine yönelik tavsiyeler bulunmaktadır.⁸²

2.3. Beta-sitosterol (BS)

Beta-sitosterol, bitkiler aleminde bolca bulunan ve hücre zarlarının stabilizasyonunda rol oynadığı bilinen bir bitkisel steroldür. BS, kolesterolün kimyasal

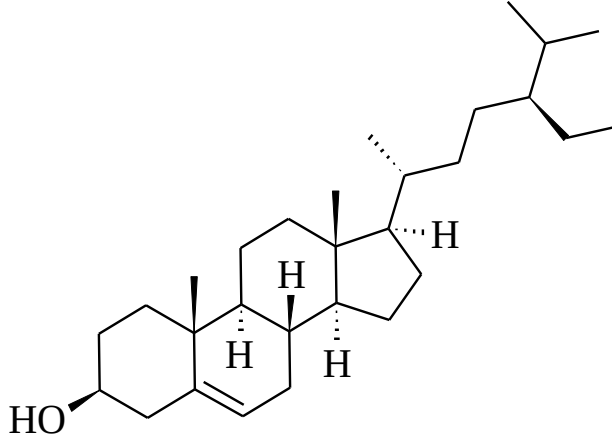
yapısına benzer bir yapıya sahip birkaç bitkisel sterolden birisidir.⁸³ Yüksek bitkilerde doğal bir mikro besin maddesidir ve sağlıklı bireylerin serum ve dokularında endojen kolesterolün 800-1000 katı kadar düşük bir konsantrasyonda bulunur.⁸⁴ Bitkilerde sentezlenen bu moleküllere insanlar ve hayvanlar diyet yoluyla ulaşırlar. BS genel olarak güvenli, doğal ve etkili bir besin takviyesi olarak kabul edilir ve birçok potansiyel faydaya sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca sıçanlarda BS uygulamasının genotoksisite ve sitotoksisiteye neden olmadığı tespit edilmiştir.⁸⁵ BS, büyük bir toksisiteye yol açmaksızın anti-oksidan, anti-mikrobiyal, anjiyogenik, immüno-modülatör, anti-diyabetik, anti-enflamatuar ve anti-kanser aktivitelere sahip olduğu bildirilmiştir. Piyasada BS içeren bazı nutrasötik preparatlar bulunmaktadır. Bitkisel sterollerin sağlığa etkileri ile ilgili ve özellikle belirli bir hastalık üzerindeki yararlı etkileri üzerine bazı yayınlar vardır,⁸⁶ fakat BS hakkında sahip olduğumuz bilgiler günümüzde dahi yeterli değildir. Kısacası, BS ile yapılacak gelecek araştırmalar gerekliliğini korumaktadır.

2.3.1. Beta-sitosterol Kaynakları

BS'nin çeşitli diyet ve diyet dışı bitkilerin yapraklarında, ribozomlarında ve meyvelerinde bulunduğu gösterilmiştir.⁸⁷ Hücre zarı üzerinde membran stabilize edici etkisi ile ilgili çalışmalar bildirilmiştir, ancak sitoplazma ve kloroplasttaki rolü henüz incelenmemiştir.

2.3.2. Beta-sitosterolün Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

BS karakteristik bir kokuya sahip beyaz, mumsu bir tozdur. Moleküler formülü $C_{29}H_{50}O$, erime noktası 139–142 °C ve PubChem CID 222284'tür (PubChem, 2015) (Şekil 2.9). Termal olarak dengesizdir ve oksitlenmiş ürünlere dönüştürülür. Hidrofobiktir ve alkollerde çözünür.⁸⁸



Şekil 2.9. β -sitosterolün yapısal formülü.

2.3.3. Beta-sitosterolün Tedavi Edici Potansiyeli

BS'nin, antioksidan aktiviteye, anjiyogenik etkiye, antihiperlipidemik ve anti-ateroskleroz etkilere, antipiretik (ateş düşürücü) etkinliğe, anti-enflamatuar aktiviteye ve anti-diyabetik etkiye sahip olduğu günümüze kadar yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir.^{85,89-96}

2.3.3.1. Antioksidan aktivite

Bazı bulgular BS'nin antioksidan özelliği olduğunu düşündürmektedir.⁸⁵ Ayrıca antioksidan enzimleri ve insan estrogen reseptörlerini modüle ettiği gösterilmiştir.⁹⁶ Phorbol myristate asetat (PMA) ile indüklenmiş RAW 264.7 (lösemi hücre hattı) hücrelerinde BS'nin oksijen serbest radikallerini ve hidrojen peroksit seviyelerini azalttığı ancak radikal süpürücü olarak işlev görmediği bildirilmiştir. Glutasyon peroksidaz (GPx) ve Mn süperoksit dismutaz (MnSOD) aktiviteleri BS tedavisi ile önemli ölçüde azalmıştır.⁹⁸

2.3.3.2. Anjiyogenik etki

BS, kan damarı oluşumunda rol oynadığı için yara iyileşmesinde faydalı olabileceği bildirilmiştir.⁸⁹ Bununla birlikte, şu ana kadar BS'nin kullanıldığı yara iyileşmesi mekanizması üzerinde deneysel bir çalışma yapılmamıştır.

2.3.3.3. Antihiperlipidemik ve anti-ateroskleroz etkileri

BS farklı kardiyovasküler hastalıkların önlenmesi için tavsiye edilir. Food and Drug Administration (FDA) hiperlipidemisinin tedavisi için BS'ye onay vermiştir.⁹⁰ BS, misellerde kolesterol yerine geçerek kolesterol emilimini önler⁹¹ ve böylece kolesterolün plazmadaki miktarını azaltır.⁹⁹ Diğer statinler ile kombinasyonu halinde, bu statinlerin gücünü artırır.¹⁰⁰ Ancak, hiperkolesteroleminin tedavisindeki rolüyle ilgili mevcut tartışmayı çözmek için daha ileri çalışmalar gerçekleştirmek gerekmektedir.¹⁰¹

2.3.3.4. Antipiretik etkinlik

Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, BS'nin antipiretik etkisinin, aspirin ile karşılaştırılabilir olduğu gösterilmiştir ancak ayrıntılı mekanizma henüz incelenmemiştir.⁹² Sadece, BS içeren bitkilerin ekstraktları ve preparatların antipiretik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir.⁹³

2.3.3.5. Anti-enflamatuar aktivite

BS, sıçanlarda olduğu gibi insan aortik hücrelerinde de anti-enflamatuar aktiviteye sahiptir.⁹⁴ Hayvanlarda yapılan birkaç çalışmada, BS'nin pro-enflamatuar sitokinlerin (özellikle TNF α 'nın) salgılanmasını azalttığı, anti-enflamatuar sitokinlerin salgılanmasını ise arttırdığını gösterilmiştir.⁹⁵ BS'nin kronik olarak uygulandığı durumlarda ise BS'nin anti-enflamatuar potansiyelini azalttığı, histamin salınımında mast hücrelerini ve arasıdonik asit yolunu etkilemediği tespit edilmiştir.¹⁰²

2.3.3.6. Anti-diyabetik etki

BS ile oral tedavi açlık plazma insülin seviyelerini artırır. BS oral yoldan verildiğinde açlık glisemisinde uyumlu bir azalma meydana gelir. Buna ilaveten, glukozla indüklenmiş insülin sekresyonundaki bir artış ile oral glukoz tolerans testine katkı sağlar.⁹⁶ Bu etkisi anti-hiperglisemik ilaç olarak kullanılan Glibenklamid ile

karşılaştırılabilir. Bununla birlikte, BS'nin dolaşımdaki insülin seviyelerini arttırması ile ortaya çıkan hipoglisemik etki ve bu artışın mekanizması üzerine daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir. Bir çalışma, diyabetik sıçanların BS ile tedavisinin, diyabetin gelişmesini önlediğini göstermiştir. Aynı çalışma, BS'nin adipositlerdeki glukoz alımını artırdığını ve preadipositleri ayırt etmede adipogenezi uyardığını göstermiştir.¹⁰³ Ancak, BS'nin insülin duyarlılığında ve glukagon sekresyonunda herhangi bir rolünün olup olmadığı üzerine çok daha fazla çalışma yapılması gereklidir.

2.3.4. Beta-Sitosterolün Toksisitesi

Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Toksikoloji Programı, 22 yıl önce BS'nin toksikolojik etkilerini değerlendirmiş olsa da (NTP, 1997), bu tarihten sonra gerçekleştirilen birçok çalışmanın sonucu geçmişte elde edilen verilerin yeniden değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymuştur. Kandaki yüksek BS konsantrasyonları, daha önce kalp krizi geçirmiş erkeklerde şiddetli kalp hastalığını arttırmasıyla ilişkilendirilmiştir.¹⁰⁴ Ezetimibe ve atorvastatin, pravastatin, simvastatin ve lovastatin ile BS'nin ilaç etkileşimleri vardır.¹⁰⁵ Sıçanlarda BS'nin kısa süreli tekrarlanan uygulamasının karaciğer veya böbreklerde büyük veya mikroskobik lezyonlar üretmediği bildirilmiştir,¹⁰⁶ fakat BS hakkında insanlar üzerinde böyle bir çalışma yapılmamıştır. Kapsamlı bir toksikolojik çalışma, sıçanlarda (>2 mg/kg) yüksek LD50 göstermiştir.⁸⁷ BS'nin mutajeniteyi inhibe ettiği,¹⁰⁷ kromozomal kırıkları önlediği¹⁰⁸ ve genotoksik etki göstermediği¹⁰⁹ farklı çalışmalar ile ortaya konmuştur. Üreme sistemi üzerindeki potansiyel zararlı etkilerini ortaya çıkaran bir çalışma¹¹⁰ olsa da, daha sonra yapılan başka bir çalışma, BS'nin üreme sistemi üzerinde bir etkisi olmadığını savunmuştur.¹¹¹ Bununla birlikte, BS'nin insan üreme sistemindeki uzun süreli etkisine dair bir çalışma bulunmamaktadır. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, BS'nin diyabetik sıçanlarda yüksek maruziyetinin bozulmuş karaciğer ve bağırsak ATP

bağlayıcı kaset taşıyıcıları G5/8 ile ilişkili olduğu ve kan-beyin bariyeri bütünlüğünün potansiyel risklerine sahip olduğu gösterilmiştir.¹¹²



3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi etik kurulunun 14.08.2017 tarih ve 42190979-000-E.1700224647 sayılı onay kararı ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada Atatürk Üniversitesi Deney Hayvanları ünitesinden alınan toplam 48 tane Wistar ratları (250 - 350 g) kullanıldı. Ratlar deney başlangıcına kadar yiyecek ve suya serbest erişim ile oda sıcaklığında (22 ± 2 °C) 12 saat aydınlık/karanlık döngüde ve polikarbonatlı kafeslerin içerisinde altışarlı gruplar halinde muhafaza edildi. Hayvanların ağırlıklarına göre 8 grup (A-H) oluşturuldu (n=6). Hayvan deneyleri ve prosedürleri, laboratuvar hayvanlarının kullanımı ve bakımı ulusal kılavuzlarda belirtilen kurallara uygun olarak gerçekleştirildi.¹¹³ Tüm uygulamalar 12 saat aç bırakılan hayvanlara yapıldı. Uygulamalar yapıldıktan 24 saat sonra hayvanlara uygulama sırasına göre anestezi yapıldı. İntrakardiyak kan numuneleri alındı. Akabinde karaciğer ve kalp dokuları alınarak ilk önce -20 derecede bir süre bekletildikten sonra diğer işlemler gerçekleştirilinceye kadar -80 dereceye kaldırıldı.

3.1.2. Uygulama Grupları

Denek hayvanları benzer ağırlık değerlerine göre sekiz gruba ayrıldı (n= 6).

Grup A: Sağlıklı rat grubu; Fizyolojik su [2,5 mL/kg, intra peritonel (i.p)] uygulanan grup.

Grup B: *C. longiflorus* grubu; Fizyolojik su (2,5 mL/kg, i.p) uygulamasından 30 dakika önce bitki özütü [150 mg/kg, oral doz (o.d)] alan grup.

Grup C: β - Sitosterol grubu; Fizyolojik su (2,5 mL/kg, i.p) uygulamasından 30 dakika önce β - Sitosterol (% 0,4, o.d) alan grup.

Grup D: Anacetrapib (pozitif kontrol) grubu; Fizyolojik su (2,5 mL/kg, i.p) uygulamasından 30 dakika önce anacetrapib (0,2 mg/mL, 2,5 mL/kg, o.d) alan grup.

Grup E: Triton WR-1339 (pozitif kontrol) grubu; Triton WR 1339 (400 mg/kg, 2,5 mL/kg, i.p) uygulamasından 30 dakika önce fizyolojik su alan grup.

Grup F: *C. longiflorus* + Triton WR-1339 grubu; Triton WR 1339 (400 mg/kg, 2,5 mL/kg, i.p) uygulamasından 30 dakika önce bitki özütü (150 mg/kg, o.d) alan grup.

Grup G: β - Sitosterol + Triton WR-1339 grubu; Triton WR 1339 (400 mg/kg, 2,5 mL/kg, i.p) uygulamasından 30 dakika önce β - Sitosterol (% 0,4, o.d) alan grup.

Grup H: Anacetrapib + Triton WR-1339 grubu; Triton WR 1339 (400 mg/kg, 2,5 mL/kg, i.p) uygulamasından 30 dakika önce anacetrapib (0,2 mg/mL, 2,5 mL/kg, o.d) alan grup. Tablo 3.1’de uygulama grupları gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan gruplar

Grup	Fizyolojik su	<i>C. longiflorus</i>	β -Sitosterol	Anacetrapib	Triton WR-1339
A	+	-	-	-	-
B	+	+	-	-	-
C	+	-	+	-	-
D	+	-	-	+	-
E	+	-	-	-	+
F	-	+	-	-	+
G	-	-	+	-	+
H	-	-	-	+	+

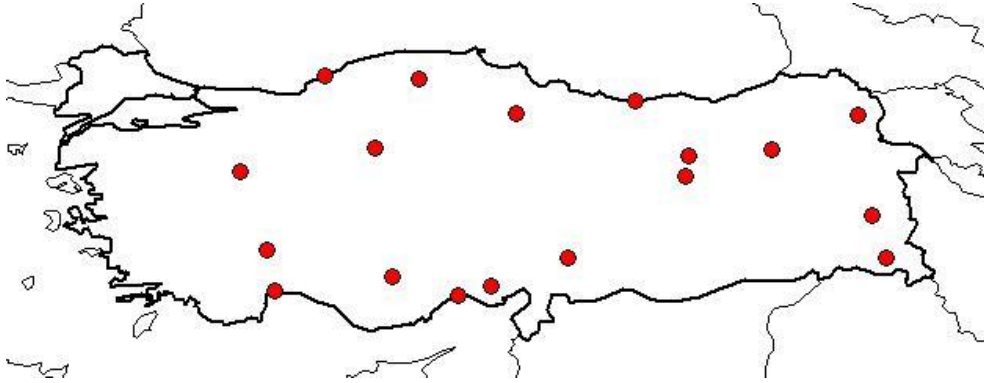
3.1.3. Bitki materyali *C. longiflorus*un β -sitosterol içeriğinin belirlenmesi

Centranthus longiflorus bitkisi Nisan ve Haziran 2017 tarihlerinde Erzurum’un Tortum ilçesin’den toplandı (Şekil 3.1). Türün taksonomik tanımlaması Richardson ⁷⁸,a göre yapıldı. Bitkiyi kurutma işlemleri Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Genetik Laboratuvarında gerçekleştirildi. Şekil 3.2’de *C. longiflorus* bitkisinin ülkemizdeki

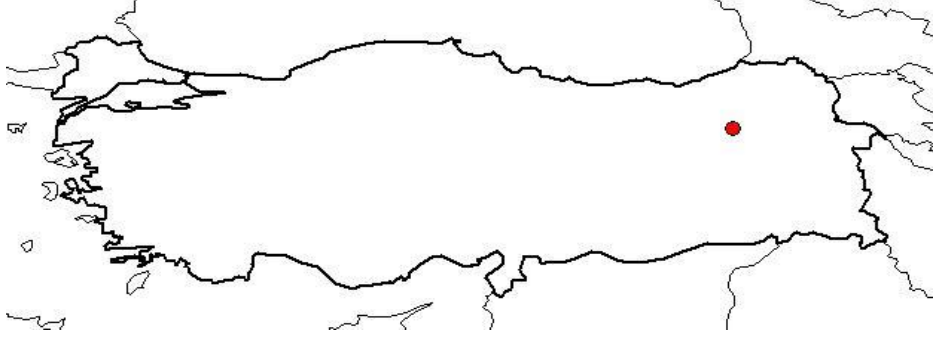
dağılışı alanları görülmektedir. Bitkinin toplandığı mevki ise şekil 3.3’de gösterilmiştir. Bitkimizden etanol ekstraksiyonu Kotan, et al. ¹¹⁴’a göre yapıldı. Bu metotta, kuru bitkiden 100 g alınıp cam kavanoz içerisinde üzerine 200 mL etanol eklendi ve oda sıcaklığında 72 saat çalkalamaya bırakıldı. Sürenin sonunda numune bir filtre kâğıdı kullanılarak süzüldü. Süzüntüden, döner evaporatör kullanılarak etanol uzaklaştırıldı. Etanol uzaklaştırıldıktan sonra tüm kuru ekstrakt kazındı. Ratlara uygulama için 150 mg/kg’lık dozlarda uygulama çözeltisi hazırlandı ve uygulama gruplarında her bir hayvana 1 mL gavaj yoluyla verildi.⁸⁰



Şekil 3.1. *C. longiflorus* bitkisi



Şekil 3.2. *Centranthus longiflorus* bitkisinin ülkemizdeki dağılışı alanları



Şekil 3.3. *Centranthus longiflorus* bitkisinin toplandığı mevki

Kromatografik analiz, 5977 seri kütle seçici detektör, 7673 seri otomatik numune alma cihazı ve chemstation (Agilent Technologies, Palo Alto, CA) ile donatılmış bir Agilent 7820A gaz kromatografi sistemi kullanılarak yapıldı. Geliştirilen Gaz Kromatografisi- Kütle Spektroskopisi (GC-MS) yöntemi, *Centranthus longiflorus*'un tüm bitki ekstraktında β -sitosterolün belirlenmesi için kullanıldı. Örnek çalışma çözeltisi (1 μ L) enjekte edildi ve β -sitosterol pikinin yüksekliği hesaplandı. Kalibrasyon eğrisinden, *Centranthus longiflorus*'un kuru tozundaki β -sitosterol miktarı hesaplandı.

Ayırma için 0.25 μ m film kalınlığında HP-5 MS kolon (30 m x 0.25 mm İ.D. ABD) kullanıldı. Giriş, transfer hattı ve dedektörün sıcaklıkları sırasıyla 250 ve 300 °C idi. GC-MS yöntemi için farklı sıcaklık programları araştırıldı. Bu araştırmanın sonunda, GC-MS'nin sıcaklık programı şu şekilde belirlendi: başlangıç sıcaklığı 150 °C, 2 dakika tutuldu, 30 °C / dakika hızında 220 °C'ye çıkarıldı, 2 dakika süreyle bu sıcaklıkta tutuldu ve son olarak 20 °C / dakika hızında 300 °C'ye çıkarıldı ve 9 dakika bu sıcaklıkta tutuldu. Elde edilen kromatogramlardaki her bir bileşiğe ait piklerin kütle spektrumları cihazın kütüphanesindeki değerler ile karşılaştırıldı ve benzerlik indisi değerlerinden yararlanarak bileşikler tanımlandı.

3.1.4. Beta-Sitosterol Uygulaması

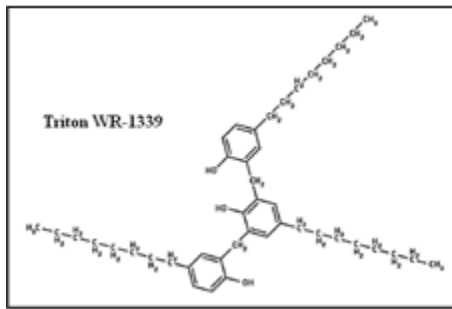
BS etken maddesi Santa Cruz Biotechnology (ABD) firmasından satın alındı. Yapılan literatür taraması neticesinde BS'nin farklı uygulama şekilleri tespit edildi.

Bunlardan en uygunu olarak Lauer and Fontanarosa ¹¹⁵'nin kullandıkları doz uygun görüldü. FDA (Food and Drug Administration), kardiyovasküler riski azaltmak ve LDL yi düşürmek için günlük 2 g kadar bitkisel sterol alımının gerekli olduğunu tavsiye etmiştir. Bir kişi kuru ağırlığa göre 500 g gıda tüketir (2000 ila 2500 kcal). Bu da 2g / 500g = % 0,4 sterol alması gerektiğini gösterir. Bu nedenle, bu çalışmada ratların diyetinde % 0,4 oranında fitosterol kullanıldı. *In vivo* çalışma da BS'nin sulu süspansiyonunu hazırlamak için % 0,5 (w/v) CMC (Carbonylmethylcelulose) kullanıldı. Örnek 30 dakika 40 °C'de sonikasyona tabi tutuldu.

3.1.5. Hiperkolesteroleminin deneysel indüksiyonu

Hiperkolesterolemi, Zarzecki, et al. ¹¹⁶ tarafından tavsiye edildiği gibi, 12 saat aç bırakılmış sıçanlarda Triton WR-1339'un (2.5 mL/kg) intraperitoneal enjeksiyonuyla deneysel olarak indüklendi. Yaklaşık 24 saat sonra hayvanlar hiperkolesterolemik olarak kabul edildi.

Triton WR-1339 (Tyloxapol, şekil 3.4), Santa Cruz Biotechnology (ABD) firmasından satın alındı.

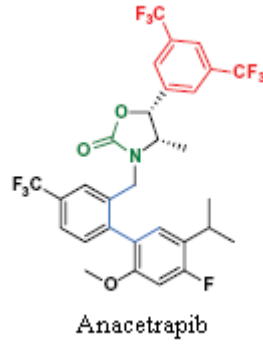


Şekil 3.4. Triton WR-1339'un kimyasal yapısı

3.1.6. Anacetrapib Uygulaması

Anacetrapib uygulaması Tan, et al. ¹¹⁷ tarafından tavsiye edildiği gibi, 12 saat aç bırakılmış sıçanlarda anacetrapibin (0,2 mg/mL, 2,5 mL/kg, o.d) gavaj yolu ile verilmesiyle gerçekleştirildi. Yaklaşık 24 saat sonunda hayvanlardan kan numuneleri ve doku örnekleri toplandı.

Anacetrapib, MedChem Express (ABD) firmasından satın alındı.



Şekil 3.5. Anacetrapib'in kimyasal yapısı

3.2. Yöntem

3.2.1. Anti-hiperlipidemik Çalışma

Anti-hiperlipidemik çalışmalar için kontrol grupları ve çalışma gruplarında uygulamalar yapıldıktan 24 saat sonra kan numuneleri alınarak buz üzerine konuldu. 4000 rpm ve +4 °C'de 10 dakika süreyle santrifüj edilerek plazmalar elde edildi. Elde edilen plazmalar analiz yapılncaya kadar -80 °C' de saklandı. Çalışmada TK, TG, LDL-K, HDL-K, ALT, AST ve CETP değerleri ölçüldü. Hayvanların plazmasındaki TK, TG, LDL-kolesterolün ve HDL-kolesterolün Beckman Coulter AU analiz cihazlarında nicel olarak belirlenmesi için enzimatik renk testi, ALT ve AST nin nicel olarak belirlenmesi için kinetik UV testi, CETP'nin nicel olarak belirlenmesi için ise CETP Activity Assay Kit (Sigma, Katalog No: RBG3148V) kullanıldı.

3.2.2. Dokuların Toplanması ve Homojenizasyon İşlemleri

Her bir ratın göğsü, toraks orta hattından dikey insizyonla açıldı. Uzman bir ekip hayvanların kalp ve karaciğerlerini titizlikle çıkartıp örnekler gruplar halinde paketlenerek diğer işlemler gerçekleştirilinceye kadar ilk önce sıvı azot ile muamele edilerek -80 °C'de muhafaza edildi. Homojenizasyon işlemi, ayrı grupların dokularının bir gün öncesinden -80 °C'den çıkarılıp, +4 °C'ye kaldırılması ile başladı. Her grup bireylerinden karaciğer ve kalp alınarak petri kabı içerisinde makroparçalama yapıldı.

Böylece dokuların homojenik olarak karışması sağlandı. Bu işlemden sonra analitik terazi ile 0,2 g doku tartılıp ependorf tüplerine alınarak üzerine homojenat boncukları konuldu. Üzerine 1000 mL'lik homojenizasyon tamponu (Fosfat tamponu; pH=7.2, 50 mM) eklendi. Bead Blaster homojenizasyon cihazında 4000 rpm de 4 döngü, 1 dk çalkalama, 10 sn bekleme olacak şekilde bir işlem izlendi. Son olarak 13.000 rpm de +4 °C'de 30 dk boyunca santrifüj yapıldı. Santrifüj işleminden sonra süpernatant alınarak iki gruba bölündü. İki grupta bir sonraki çalışmaya kadar -80 °C'de saklandı. Wistar ratlarının deneylere hazırlanması, tartılması, kan numunelerinin alınması ve diseksiyonu Şekil 3.6'da gösterilmiştir.





Şekil 3.6. Wistar ratlarının deneylere hazırlanması, tartılması, kan numunelerinin alınması ve diseksiyonu

3.2.3. Oksidatif Stres Değişkenleri

Oksidatif stres değişkenleri arasında; malondialdehit (MDA) miktar tayini, toplam oksidan durum (TOD) tayini, toplam antioksidan kapasite (TAK) tayini, protein karbonil oksidatif hasarın (PKI) belirlenmesi ve oksidatif DNA hasar analizi (8-OH-dG) parametreleri değerlendirildi.

3.2.3.1. Malondialdehit (MDA) miktar tayini

MDA ölçümü, Tiyobarbütirik Asit (TBA) ve MDA ile oluşan renkli kompleksin (pembe renkli) spektrofotometrik tayinine dayalı metodla yapıldı. Bu yöntemde ilk olarak standart hazırlanır. Tüpün içerisine %8,1 SDS'den 200 µL, %20'lik asetik asitten 1500 µL, %0,9'luk TBA'dan 1500 µL, 1,1,3,3 tetraetoksipropan dan 100 µL ve 700 distile su konuldu. Körün hazırlanmasında 100 µL 1,1,3,3 tetraethoxypropan yerine 100 µL distile su konuldu. Örnek numunelerin hazırlanmasında ependorf tüplerin içerisine %8,1 SDS'den 200 µL, %20'lik asetik asitten 1500 µL, %0,9'luk TBA'den 1500 µL, 100 µL örnek ve 700 µL distile su konuldu. Tüplerin hepsi vortekslendi. 95 °C'de 1 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra tüpler buz tankına konularak soğutuldu. Süpernatantdan 600 µL alınarak ependorf tüplere konuldu. Sonra üzerine (örneklerin, standart ve kör'ün) otomatik pipet yardımıyla 150 µL distile su ve 750 µL n-Butanol/piridin konuldu ve tekrar vortekslenendikten sonra 4000 rpm'de 10 dk santrifüj yapıldı. Mikroplate kuyucuklarına 200 µL konularak 532 nm'de okutuldu ve absorbans değerleri kaydedildi.¹¹⁸

ELISA cihazının yazılım programı (KC Junior) kullanılarak standart grafiğe göre doku MDA konsantrasyonu µmol/L olarak hesaplandı. Bradford yöntemine dayalı dokuda protein tayini yapıldı, sonuçlar buna göre nmol/g protein olarak ifade edildi.¹¹⁹

3.2.3.2. Toplam oksidan durum tayini

TOD testi Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye, (Katalog No: AK181020) üreticinin protokolüne göre yapıldı. Bu testte, incelenen örnekteki oksidanlar demir iyonu-şelatör kompleksini oluşturur. Demir iyonu, asitli ortamda kromojen ile renkli bir kompleks meydana getirir. Spektrofotometrik olarak 530 dalga boyunda ölçülerek, numunedeki toplam oksidan molekül seviyesi hesaplanır. Analiz, hidrojen peroksit ile

kalibre edilerek sonuçlar, litre başına mikromol hidrojen peroksit ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq / L}$) cinsinden belirlendi.

3.2.3.3. Toplam antioksidan kapasite tayini

TAK testi Rel Assay Diagnostics® (Katalog No: SR16067A) kit protokolüne göre çalışıldı. Bu metod, antioksidan kapasitenin ve 2-2'-azinobis 3-ethylbenzothiazoline 6-sülfonat (ABTS+) katyonunun oluşumunu inhibe ederek tespit etmede kullanılır. Kit bileşenlerini, Reaktif 1 Solüsyonu (Buffer solüsyon) 0,4 mol/L pH:5,8 (Asetat buffer), Reaktif 2 Solüsyonu: (Prokromojen solüsyonu), (ABTS) 30 mmol/L, Standart 1 Solüsyonu: Trolox 1 mmol/L oluşturur.

2 mL'lik ependorf tüpüne 30 μL CAL standart ve 500 μL Reaktif 1 konularak 30 saniye (sn) beklendi. 660 nm'de ilk absorbans değeri okundu ve not edildi. Daha sonra aynı ependorf tüpüne 75 μL 'lik reaktif 2 konularak 37 °C'de 5 dk bekletildi. Bekleme süresi sonunda 660 nm'de ikinci absorbans değeri okunarak not edildi. Elde edilen absorbans değerleri aşağıdaki formülde uygun şekilde yerlerine konularak mmol Trolox Eq/L cinsinden TAK düzeyleri tespit edildi.

Hesaplama:

$\Delta\text{Abs} = A_2 - A_1$ (absorbans değerleri arasındaki fark)

$$\text{Sonuç} = \frac{[(\Delta\text{AbsH}_2\text{O}) - (\Delta\text{Abs Örnek})]}{[(\Delta\text{AbsH}_2\text{O}) - (\Delta\text{Abs Standart})]}$$

3.2.3.4. Protein Karbonil oksidatif hasarın belirlenmesi

Doku örneklerinde protein hasarının tespiti için Protein Carbonyl Colorimetric Assay Kit (Cayman Chemical, Katalog No: 10005020) kullanıldı. Bu kit kalp ve karaciğer dokularında meydana gelen hasar sonucu ortaya çıkan 3' nitrotirozin seviyesini ölçmek için kullanıldı.

Protein karbonil kit içeriği;

- Protein karbonil hidroklorik asit; 12 M lık HCl vialine 40 mL distile su eklenerek 2,5 M HCl elde edildi.

- Protein karbonil DNPH; 2,5M HCl den 10mL alındı, 2,4 dinitrophenylhydrazine içeren vialde eklenerek DNPH çözeltisi hazırlandı.

-Triklorasetik asit (TCA) solüsyonu; bir vialde bulunan 12 mL TCA solüsyonu, 48 mL distile su ile dilüe edilerek %20 lik TCA solüsyonu elde edildi. %20 lik TCA solüsyonundan 20 mL alınıp 20 mL distile su eklenerek %10 luk TCA solüsyonu hazırlandı.

- Guanidin hidroklorid ve Etanol kit içeriğinde hazır olarak kullanıldı.

- Etil Asetat; bir vialde bulunan 30mL etil asetat 1:1 oranında etanol ile karıştırılarak etil-asetat hazırlandı.

Deney Prosedürü:

- İki tane 2 mL lik ependof tüp alındı ve birine 200 µL numune, 800 µL 2,5M HCl konularak kontrol tüpü, diğetine 200 µL numune 800 µL DNPH konularak numune tüpü oluşturuldu ve 48 numune için bu işlem tekrarlandı.

- Numune ve kontrol tüpleri karanlık oda sıcaklığında bir saat inkübe edildi. İnkübasyon boyunca her 15 dakikada bir herbir tüp vortekslendi.

- 5 dk buz üzerinde tutulan tüplere 1mL % 20 lik TCA eklenip 4 °C de, 10000 x g de 10 dk santrifüj edildi.

- Santrifüj sonrası süpernatant atılıp 5 dk buz üzerinde tutulan tüplere 1mL % 10 luk TCA eklenip 4 °C de, 10000 x g de 10 dk santrifüj edildi.

- Süpernatant uzaklaştırılıp, pelet 1mL (1:1) Etanol/ Etil asetat ile sulandırılıp vortekslendi ve 4 °C de, 10000 x g de 10 dk santrifüj edildi. Bu basamak 2 kez tekrarlandı.

- Tüplerdeki protein pelet üzerine 500 µL guanidin hidroklorid eklenip vortekslendi ve 4 °C de 10000 x g de 10 dk santrifüj edildi.

- Numune ve kontrol tüplerindeki süpernatantdan 220 µL alındı 96 kuyucuklu mikropleyte aktarılıp 360-385 nm de ELISA cihazında okutuldu.

Hesaplama:

Numune absorbanslarının ortalamasından kontrol absorbanslarının ortalaması çıkarılarak doğrulanmış absorbans (DA) değeri bulunup aşağıdaki formülden hesaplama yapıldı.

$$\text{Protein karbonil(nmol/mL)} = [(DA)/(0.011 \mu\text{M}^{-1})] (500 \mu\text{L}/200 \mu\text{L})$$

Protein içeriğinin belirlenmesi:

1mL kuartz küvete 100 µL numune veya kontrol alındı, 900 µL guanidin hidroklorid ile dilüe edildi (1:10). Her bir dilüe kontrol ve numunenin spektrofotometre cihazında 280 nm de absorbansı alındı.

Hesaplama:

Protein miktarı Bovine Serum Albümin (BSA) standart grafiğinden hesaplandı. Protein konsantrasyonu (mg/mL) = $[(A_{280} - y\text{-intercept}) / \text{slope}] \times 2.5 \times 10$ (dilüsyon faktörü), karbonil miktarı (nmol/mg) = (karbonil nmol/mL)/(protein mg/mL) formülünden hesaplandı.

3.2.3.5. Oksidatif DNA hasar analizi (8-OH-dG)

Oksidatif DNA hasar analizi, DNA/RNA Oksidatif Hasar Kiti (Cayman Chemical Company, Katalog No; 589320) kullanılarak yapıldı. Bu kit hiperlimidemi ile de ilişkili bulunmuş olan nükleik asitlerin oksidatif hasarını tespit etmek için kullanıldı. Guanin bazı oksidasyona en yatkın baz çeşididir ve guanin bazı okside olduğunda 8-hydroxy-2'-deoxyguanosin (DNA'dan), 8-hydroxyguanosine (RNA'dan) ve 8-hydroxyguanine (hem DNA hem de RNA'dan) formları oluşur. Bu okside formların

miktar tayini yapılarak DNA/RNA oksidatif hasar tayini yapılabilir. Serum örnekleri alındıktan sonra kullanılıncaya kadar -80 °C'ye kaldırıldı. Örnekler 10 dak. 1000xg santrifüj edildi ve süpernatant mevcut DNA ekstraksiyon kiti kullanılarak ekstrakte edildi. Nükleaz P1 (Sigma N8630) kullanılarak üreticinin talimatları doğrultusunda DNA parçalandı. 1 M Tris kullanarak 7.5 -8.5 PH ayarlandı. DNA'nın her 100 µg ı için 1 birim alkalın fosfataz eklendi ve 37 derecede 30 dakika inkübe edildi. 10 dakika kaynatıldı ve kullanmadan önce buz üzerine bırakıldı.

Kit Bileşenleri: DNA/RNA Oksidatif Hasar Enzim İmmün Testi (EIA) Monoklonal Antikoru, DNA/RNA Oksidatif Hasar Asetilkolinesteraz (AChE) İzleyici, DNA/RNA Oksidatif Hasar EIA Standardı, EIA Tampon Konsantresi, Su Tampon Konsantresi, Polisorbat 20 Ellman Reaktifi (5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit)), EIA İzleyici Boyası, EIA Antiserum Boyası

Uygulama: Kit içerisinde verilen 96'lık mikropate kuyucuklarına eklemeler, kit formatına göre gerçekleştirildi. Kuyucuk tanımlamaları; Blk (Kör), TA (Toplam Aktivite), NSB (Spesifik Olmayan Tespit) ve B0 (Maksimum Tespit) şeklinde yapıldı. NSB kuyucuklarına 50 µL EIA tamponu ve 50 µL DNA/RNA oksidatif hasar AChE izleyici eklendi. B0 kuyucuklarına 50 µL DNA/RNA oksidatif hasar AChE izleyici ve 50 µL DNA/RNA oksidatif hasar EIA monoklonal antikoru eklendi. Standart kuyucuklarına 50 µL önceden hazırlanan ve ilgili seyreltmeler gerçekleştirilerek oluşturulan DNA/RNA oksidatif hasar EIA standartları, 50 µL DNA/RNA oksidatif hasar AChE izleyici ve 50 µL DNA/RNA oksidatif hasar EIA monoklonal antikoru eklendi. Örnek kuyucuklarına 50 µL uygulama gruplarından elde edilen serumlar, 50 µL DNA/RNA oksidatif hasar AChE izleyici ve 50 µL DNA/RNA oksidatif hasar EIA monoklonal antikoru eklendi. Hazırlanan 96'lık plaka, kit ile beraber verilen plastik film ile kaplanarak 4 °C'de 18 saat süre ile inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından

plakadaki kuyucuklarda bulunan sıvılar boşaltıldı ve beş kez yıkama tamponu ile yıkandı. Her kuyucuğa 200 µL Ellman reaktifi eklendi. TA kuyucuğuna 50 µL "DNA/RNA oksidatif hasar AChE izleyici" eklendi. Plaka plastik film ile kaplanarak karanlık ortamda orbital çalkalayıcı aracılığı ile 90-120 dakika çalkalama işlemine tabi tutuldu. Plakadaki B0 kuyucuğundaki örneklerin ortalama absorbens değeri 0,3-1 arasında olana kadar 405-420 nm dalga boyu aralığında ölçümler gerçekleştirildi. En iyi absorbens değerinin 405 nm dalga boyunda olduğu görüldü. Elde edilen absorbens değerleri ile kitin uygulama prosedürü baz alınarak yapılan hesaplamalar sonucu her kuyucukta bulunan 8-OH-dG konsantrasyonu hesaplandı.

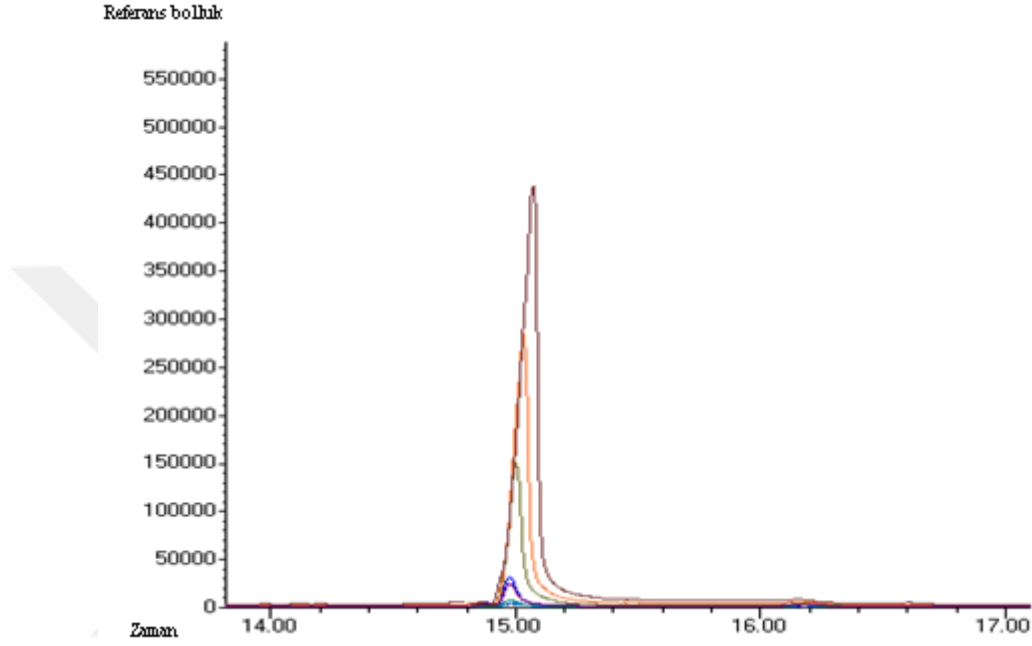
3.3. İstatistiksel analizler

Verilerin istatistiksel değerlendirmesinde SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 20.0 paket programından yararlanıldı. Önce tanımlayıcı istatistikler hesaplandı. Verilerin normalliği Kolmogorov-Smirnov testi, gruplar arasındaki ilişki One way Anova ile analiz edilmiştir. Gruplardan elde edilen verilere göre Varyans Analizi uygulandı. Yapılan analiz sonrasında varyansların homojen dağıldığı durumda Çoklu Karşılaştırma Testlerinden Tukey testi, homojen dağılmadığı durumda ise Tamhane testi uygulanmıştır. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edildi. Grup ortalamaları arasındaki istatistiksel olarak en düşük anlamlılık düzeyi için $p < 0.05$ değeri kabul edildi.

4. BULGULAR

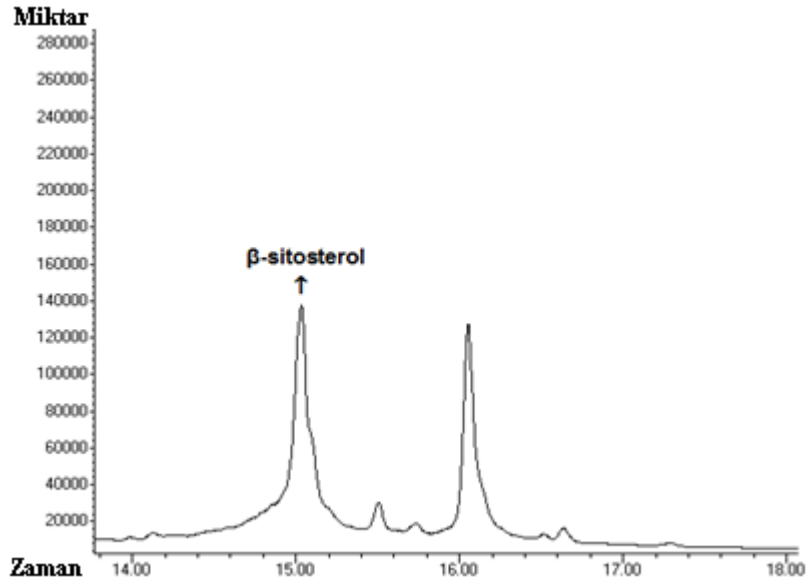
4.1. *C. longiflorus*'un bitki ekstraktındaki β -sitosterol miktarı

GC-MS yönteminde, numune çözeltilerinde β -sitosterolün tutulma süresi 15.1 idi ve standart çözeltide 15.1 olarak bulundu (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2).



Şekil 4.1. β -sitosterolün GC-MS kromatogramları (5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 ve 750 $\mu\text{g} / \text{mL}$)

Centranthus longiflorus'u 10 mg/mL bitki tozunda bulunan ortalama β -sitosterol miktarı $226.603 \pm 9.412 \mu\text{g}$, geri kazanım oranı ise % 2.26 olarak belirlendi.



Şekil 4.2. *Centranthus longiflorus*'un tipik bir kromatogramı (10 mg / mL)

4.2. Biyokimyasal Analizler

4.2.1. Total Kolesterol, Triglicerid, HDL-K ve LDL-K

Uygulama yapılan sekiz gruba ait bulgular Tablo 4.1 de verildi. Ayrıca uygulamalar sonrası elde edilen değerler şekil 4.3 - şekil 4.6'da ayrı ayrı gösterildi.

4.2.1.1. Total Kolesterol

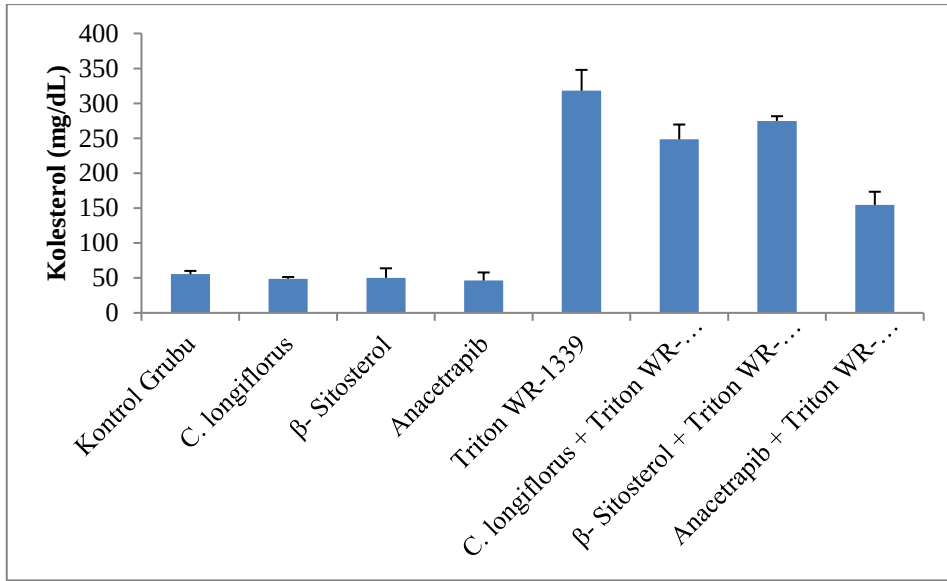
Uygulama gruplarından elde edilen bulgulara göre sağlıklı kontrol grubunda (grup A) kolesterol seviyeleri 55.60 ± 4.45 mg/dL olarak ölçüldü. Grup D (yalnız anacetrapib uygulanan grup) bireylerinden elde edilen değer 46.33 ± 11.53 mg/dL ile en düşük seviye elde edildi. Grup B (yalnız *C. longiflorus* uygulanan grup) ve grup C (yalnız β -sitosterol uygulanan grup)'de elde edilen veriler incelendiğinde ise bu iki grubun kolesterol seviyesini kontrole göre azalttıkları ancak anacetrapibin ulaştığı seviyeye ulaşamadığı görüldü. Ancak üç grupta istatistiksel olarak kontrolden farklı değildi ($p>0.05$).

Tablo 4.1. Toplam kolesterol (TK), trigliserid (TG), HDL-K ve LDL-K'nın düzeyleri Ortalama $\pm$ SD, n= 6) ile Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Gruplar	Kolesterol (mg/dL)	Trigliserid (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)
A (Kontrol)	55.60 $\pm$ 4.45 ^{d*}	47.60 $\pm$ 10.31 ^{d*}	42.60 $\pm$ 6.69 ^{b*}	17.00 $\pm$ 3.08 ^{cd*}
B (<i>C. longiflorus</i>)	48.83 $\pm$ 2.48 ^d	42.66 $\pm$ 6.68 ^d	47.50 $\pm$ 4.96 ^b	15.33 $\pm$ 1.96 ^{cd}
C (β -sitosterol)	50.16 $\pm$ 13.64 ^d	44.00 $\pm$ 9.81 ^d	48.83 $\pm$ 7.93 ^b	15.33 $\pm$ 3.14 ^{cd}
D (Anacetrapib)	46.33 $\pm$ 11.53 ^d	40.66 $\pm$ 5.68 ^d	51.00 $\pm$ 4.56 ^b	12.16 $\pm$ 1.47 ^c
E (Triton)	318.16 $\pm$ 29.71 ^a	1390.00 $\pm$ 181.93 ^a	119.83 $\pm$ 53.89 ^a	52.50 $\pm$ 32.72 ^a
F (<i>C. longiflorus</i> + Triton)	248.50 $\pm$ 21.13 ^b	1160.33 $\pm$ 177.54 ^b	113.50 $\pm$ 33.02 ^a	40.66 $\pm$ 28.86 ^{abc}
G (β -sitosterol + Triton)	274.83 $\pm$ 6.73 ^b	1211.33 $\pm$ 143.31 ^{ab}	119.00 $\pm$ 26.55 ^a	27.83 $\pm$ 17.85 ^{abc}
H (Anacetrapib + Triton)	154.50 $\pm$ 18.87 ^c	947.16 $\pm$ 63.27 ^c	106.16 $\pm$ 27.20 ^a	42.50 $\pm$ 37.95 ^{ab}

*Aynı harfle gösterilen grup ortalamaları arasındaki farklılık anlamlı değilken ($p > 0.05$), Farklı harflerle gösterilen grup ortalamaları arasındaki farklılık anlamlıdır ($p < 0.05$).

Triton WR-1339 ile indüklenen grupta (grup E) kolesterol seviyesi 318.16 $\pm$ 29.71 mg/dL seviyesine ulaştığı görüldü. Çalışmamızın ikinci kısmında Triton WR-1339 ile indüklenen hiperkolesterolemik sıçanların *C. longiflorus*, β - sitosterol ve ilacımız anacetrapibin toplam kolesterol seviyesi üzerine olan anti-hiperkolesterolemik etkileri belirlendi. Anacetrapib + Triton uygulama grubunda (grup H) toplam kolesterol düzeyi 154.50 $\pm$ 18.87 oldu ve istatistiksel olarak önemli ölçüde düşürdüğü görüldü ($p < 0.05$). Gruplar arasındaki en fazla düşüş bu gruba aitti. Grup F (*C. longiflorus* + Triton) ve grup G (β -sitosterol + Triton) de grup E'ye göre toplam kolesterol seviyesini istatistiksel olarak önemli derecede düşürdü ($p < 0.05$).

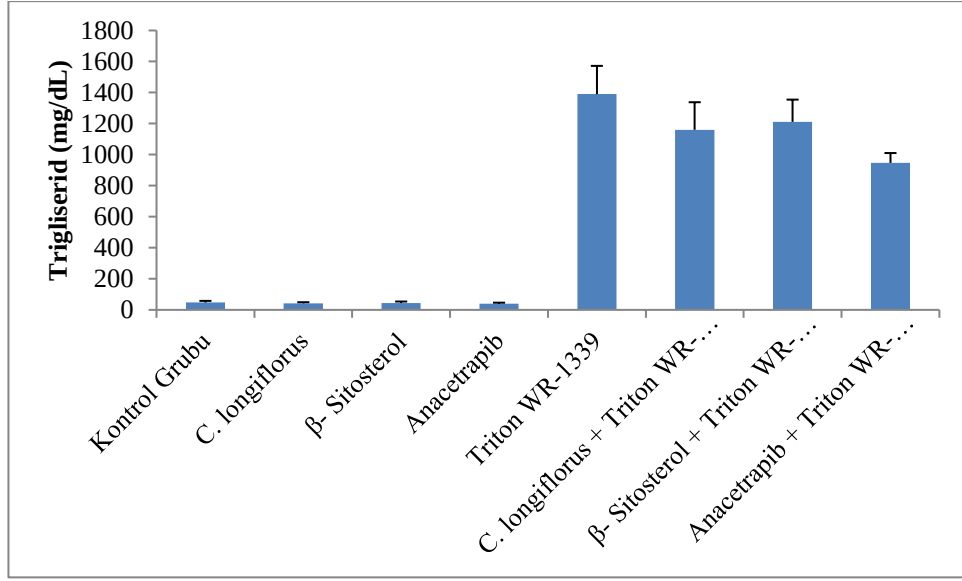


Şekil 4.3. Uygulama gruplarında TK sütun grafiği

4.2.1.2. Trigliserid

Triton WR-1339 ile indüklenen sıçanlarda TG bulguları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında TG'nin yaklaşık 30 kat arttığı görüldü. Sıçanlardan elde edilen TG verileri kontrol grubunda 47.60 ± 10.31 mg/dL iken Triton WR-1339'un tek başına uygulandığı grup E'de elde edilen değer 1390.00 ± 181.93 mg/dL olarak tespit edildi. Diğer uygulama grupları incelendiğinde ise TG değerlerinde grup B, grup C ve grup D'de istatistiksel olarak önemli olmayan düşüşler gözlemlendi ($p > 0.05$).

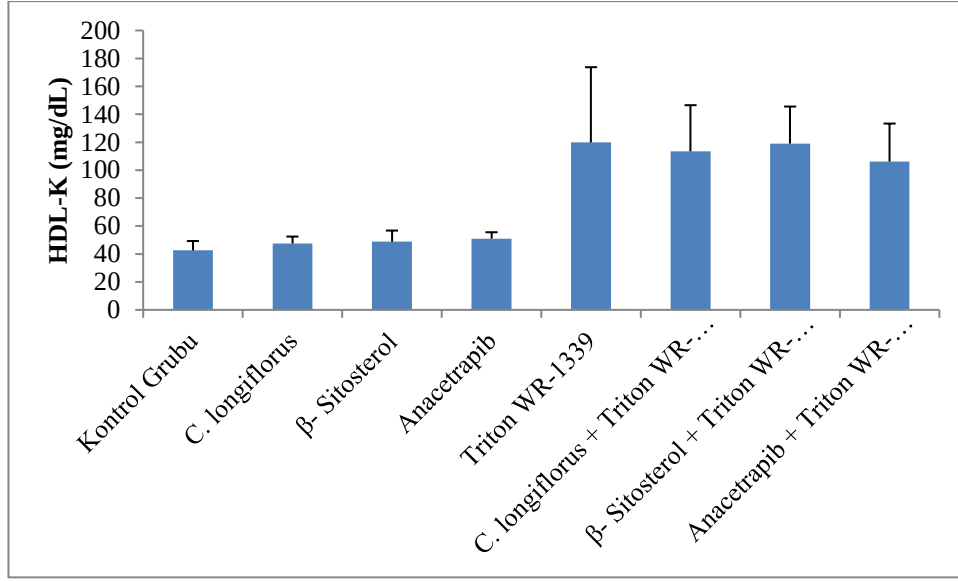
Çalışmamızın ikinci aşamasında ise Triton WR-1339 ile indüklenen sıçanlara *C. longiflorus*, β-sitosterol ve anacetrapibin uygulanmasıyla elde edilen bulgular incelendiğinde TG düzeyinde en etkili düşüşü anacetrapib grubu (grup H) gerçekleştirirken bunu sırasıyla *C. longiflorus* grubu (grup F) ve β-sitosterol grubu (grup G) takip etti. Her üç uygulama grubundaki değerler grup A'dan yüksek olsada Triton WR-1339'un tek başına uygulandığı gruptan (grup E) istatistiksel olarak önemli ölçüde düşüş sergiledi ($p < 0,05$). TG'yi azaltma potansiyelleri karşılaştırıldığında grup H > grup F > grup G olarak sıralandı (Tablo 4.1; şekil 4.4).



Şekil 4.4. Uygulama gruplarında TG sütun grafiği

4.2.1.3. HDL-Kolesterol

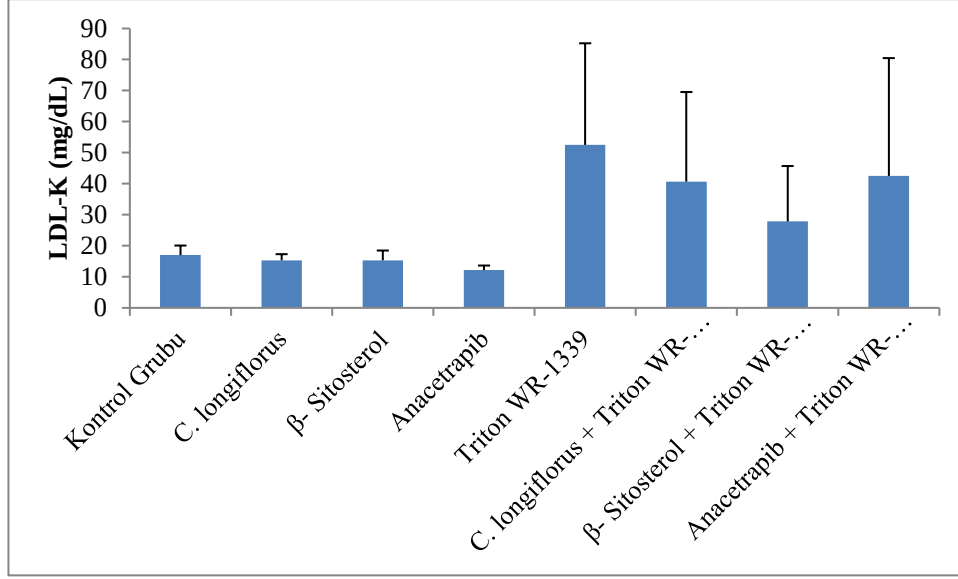
Tüm uygulama gruplarında HDL-K düzeylerinde meydana gelen değişiklikler Tablo 4.1 ve şekil 4.5'te gösterildi. Sağlıklı kontrol grubu olan grup A'da HDL-K düzeyi 42.60 ± 6.69 mg/dL olarak ölçüldü. Diğer tüm gruplar bu değerin üzerinde tespit edildi. Çalışmanın ilk aşamasındaki HDL-K artış sıralaması grup B < grup C < grup D olarak gerçekleşirken ikinci aşamasındaki sıralama grup H < grup F < grup G < grup E olarak gerçekleşti. Grup E' den sonra HDL-K miktarını en fazla artıran grup olan β-sitosterol + Triton WR-1339 grubunda HDL-K'nin ulaştığı değer 119.00 ± 26.55 mg/dL olarak ölçüldü. Özellikle grup E, grup F, grup G ve grup H grupları sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli bir artış bulunmaktaydı ($p < 0.05$).



Şekil 4.5. Uygulama gruplarında HDL-K sütun grafiği

4.2.1.4. LDL-Kolesterol

Tüm uygulama gruplarında LDL-K düzeylerinde meydana gelen değişiklikler Tablo 4.1 ve şekil 4.6’da gösterildi. Uygulama gruplarından elde edilen veriler incelendiğinde *C. longiflorus*, β-sitosterol ve anacetrapibin tek başına uygulandığı gruplarda LDL-K düzeylerinde istatistiksel olarak önemsiz ($p>0.05$) azalışlar görülürken, Triton WR-1339 ile indüklenen sıçanlarda LDL-K düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir artış gözlemlendi ($p<0.05$). Özellikle β-sitosterol + Triton WR-1339 grubu (grup G) ve *C. longiflorus* + Triton WR-1339 grubu (grup F) LDL-K düzeyini istatistiksel olarak önemli ölçüde düşürdü ($p<0.05$). Öyleki bu düşüş, anacetrapib + Triton WR-1339 grubunun (grup H) LDL-K üzerindeki negatif etkisinden dahi daha etkiliydi. Sonuç olarak LDL-K seviyesini düşürme sırası grup G > grup F > grup H olarak belirlendi (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Uygulama gruplarında LDL-K sütun grafiği

Alanin aminotransferaz (ALT) ın ve aspartat aminotransferaz (AST) ın tüm uygulama grupları için elde edilen sonuçlar Tablo 4.2, şekil 4.7 ve şekil 4.8’de gösterildi.

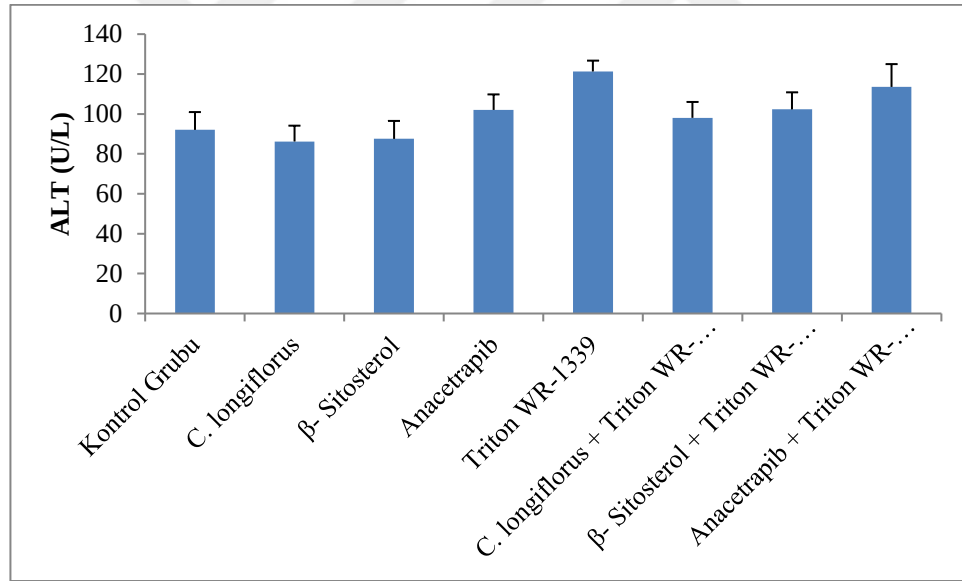
4.2.1.5. Alanin aminotransferaz

Uygulama gruplarından elde edilen ALT sonuçları incelendiğinde grup B ve grup C’nin bu değeri kontrole (92.01 ± 8.93 U/L) göre azalttığı grup D’nin ise bu değeri arttırdığı görüldü. Sadece Triton WR-1339’un kullanıldığı grup E’de ise ALT değerinin istatistiksel olarak önemli ölçüde arttığı (121.30 ± 5.42 U/L) belirlendi ($p < 0.05$). Artan bu değeri grup F, grup G ve grup H azalttı. En önemli azalışı grup F (98.05 ± 7.96 U/L) gösterdi.

Tablo 4.2. ALT ve AST düzeyleri (Ortalama $\pm$ SD, n= 6) ile grup ortalama verilerine ait Çoklu Karşılaştırılma Test sonuçları

Gruplar	ALT(U/L)	AST(U/L)
A (Kontrol)	92.01 $\pm$ 8.93 ^{cd*}	66.32 $\pm$ 8.52 ^{b*}
B (<i>C. longiflorus</i>)	86.21 $\pm$ 7.91 ^d	63.28 $\pm$ 6.54 ^b
C (β-sitosterol)	87.51 $\pm$ 8.98 ^{cd}	62.66 $\pm$ 5.95 ^b
D (Anacetrapib)	102.02 $\pm$ 7.78 ^{bcd}	69.22 $\pm$ 7.16 ^b
E (Triton)	121.30 $\pm$ 5.42 ^a	85.54 $\pm$ 8.48 ^a
F (<i>C. longiflorus</i> + Triton)	98.05 $\pm$ 7.96 ^{bcd}	75.22 $\pm$ 6.62 ^{ab}
G (β-sitosterol + Triton)	102.28 $\pm$ 8.55 ^{bc}	73.39 $\pm$ 6.15 ^{ab}
H (Anacetrapib + Triton)	113.55 $\pm$ 11.42 ^{ab}	71.24 $\pm$ 6.13 ^b

*Aynı harfle gösterilen grup ortalamaları arasındaki farklılık anlamlı değilken ($p>0.05$), Farklı harflerle gösterilen grup ortalamaları arasındaki farklılık anlamlıdır ($p< 0.05$).

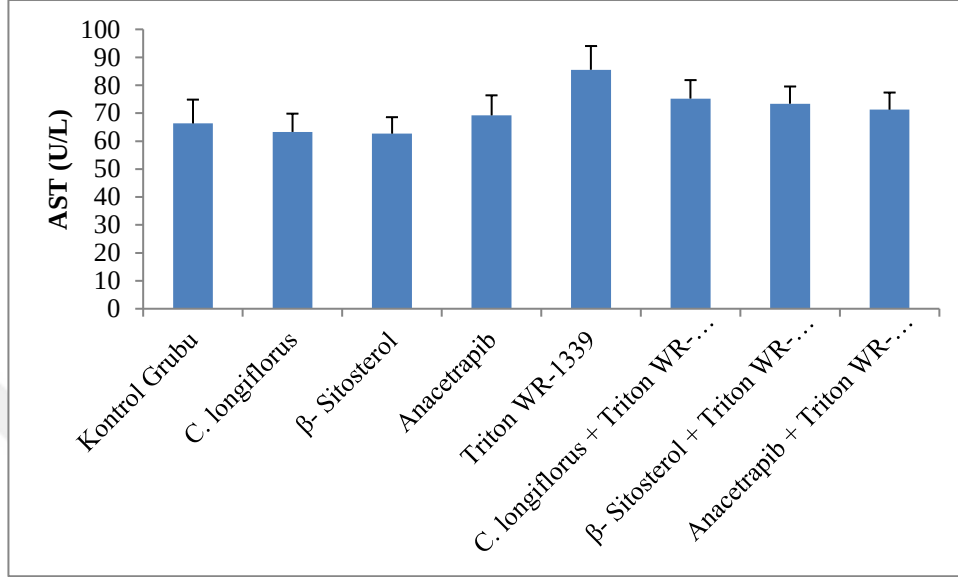


Şekil 4.7. Uygulama gruplarında ALT sütun grafiği

4.2.1.6. Aspartat aminotransferaz

Uygulama gruplarından elde edilen AST sonuçları incelendiğinde sağlıklı kontrol grubundan elde edilen değer (66.32 $\pm$ 8.52 U/L) grup B ve grup C’de sırasıyla 63.28 $\pm$ 6.54 U/L ve 62.66 $\pm$ 5.95 U/L olarak azaldığı diğer gruplarda ise kontrol grubunun üzerinde gerçekleştiği tespit edildi. AST değerini en fazla yükselten grup

Triton WR-1339'un tek başına uygulandığı grup E olurken; grup F, grup G ve grup H' da grup E'ye göre istatistiksel olarak önemli olmayan düşüşler görüldü ($p>0.05$), Grup H' daki bu düşüş istatistiksel olarak önemliydi ($p<0.05$).



Şekil 4.8. Uygulama gruplarında AST sütun grafiği

4.2.1.7. Kolesterol ester transfer protein

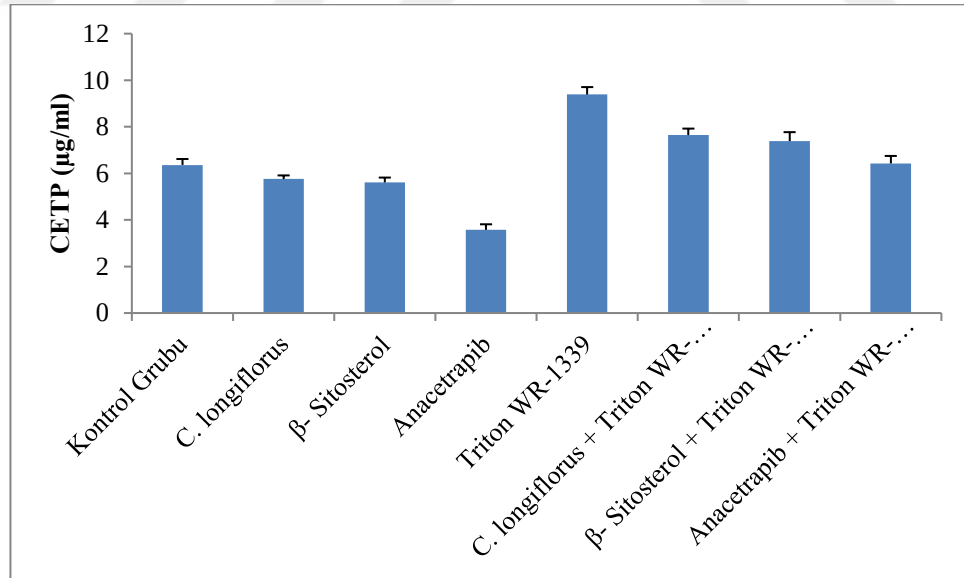
Kolesterol ester transfer proteini için tüm uygulama gruplarından elde edilen sonuçlar Tablo 4.3 ve şekil 4.9'da verildi. Tablo 4.3 incelendiğinde uygulama gruplarından *C. longiflorus*, β -sitosterol ve anacetrapibin tek başına uygulandığı gruplarda CETP değerinin istatistiksel olarak önemli ölçüde inhibisyona uğratıldığı tespit edildi ($p<0.05$). Kontrol grubunda CETP değeri 6.36 ± 0.25 $\mu\text{g/mL}$ iken grup D'de bu değer 3.57 ± 0.23 $\mu\text{g/mL}$ olarak ölçüldü. CETP değeri Triton WR-1339 grubunda en yüksek seviyesine ulaşarak 9.38 ± 0.31 $\mu\text{g/mL}$ olarak gerçekleşti.

Tablo 4.3. CETP düzeyi değerleri (Ortalama $\pm$ SD, n= 6) ile grup ortalama verilerine ait Çoklu Karşılaştırma Test sonuçları

Gruplar	CETP ($\mu\text{g/mL}$)
A (Kontrol)	$6.36 \pm 0.25^{c*}$
B (<i>C. longiflorus</i>)	5.75 ± 0.15^d
C (β -sitosterol)	5.61 ± 0.20^d
D (Anacetrapib)	3.57 ± 0.23^e
E (Triton)	9.38 ± 0.31^a
F (<i>C. longiflorus</i> + Triton)	7.64 ± 0.27^b
G (β -sitosterol + Triton)	7.38 ± 0.38^b
H (Anacetrapib + Triton)	6.42 ± 0.32^c

*Aynı harfle gösterilen grup ortalamaları arasındaki farklılık anlamlı değilken ($p>0.05$), Farklı harflerle gösterilen grup ortalamaları arasındaki farklılık anlamlıdır ($p< 0.05$).

Triton WR-1339 ile indüklenmiş gruplarda Anacetrapib grubu en etkili inhibisyonu gerçekleştirirken ulaştığı $6.42 \pm 0.32 \mu\text{g/mL}$ değeri ile neredeyse sağlıklı kontrol grubunun değerine ulaştı. *C. longiflorus* (grup F) ve β -sitosterol (grup G)'ün inhibisyon değerleri ise gene kontrol değerine yakındı. (Tablo 4.3).



Şekil 4.9. Uygulama gruplarında CETP sütun grafiği

4.2.2. Oksidatif stres parametreleri

Çalışmamızın bu kısmında kalp ve karaciğer dokularında lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA tayini, protein hasarını gösteren protein

karbonil içeriğini (PKI), toplam oksidan miktarının tayini için TOD testini ve toplam antioksidan kapasiteyi belirlemek için de TAK testini gerçekleştirdik. Son olarakta serumda DNA hasarını gösteren 8-OH-dG düzeylerini belirleyerek çalışmamızı tamamladık.

4.2.2.1. Malondialdehit

Kalp ve karaciğer dokularında tüm uygulama gruplarına ait lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA sonuçları Tablo 4.4, şekil 4.10 ve şekil 4.11’de verildi.

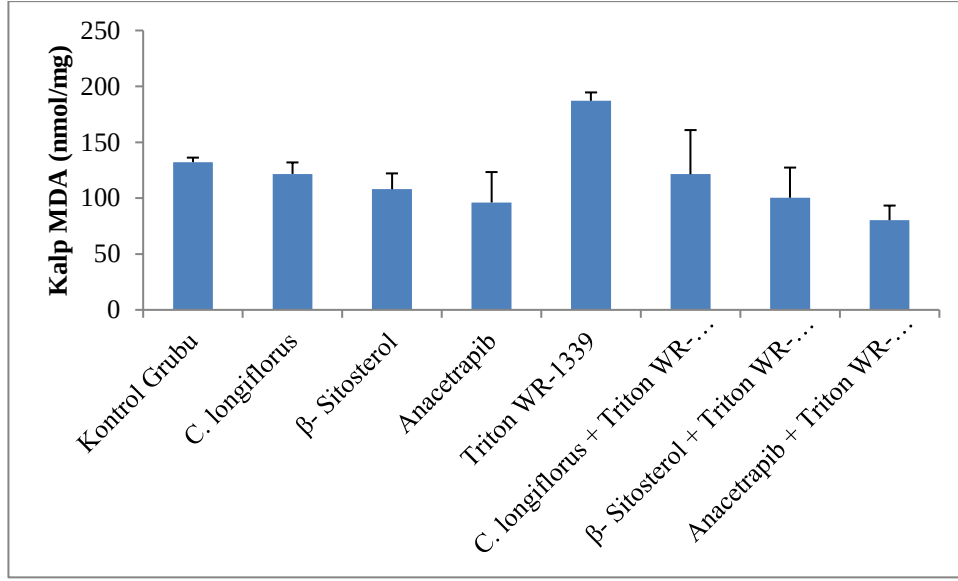
Kalp dokusu için elde edilen MDA verileri incelendiğinde grup A (132.17 ± 4.06 nmol/mg protein) ile karşılaştırıldığında grup E’deki (187.12 ± 7.43 nmol/mg protein) MDA artışı istatistiksel olarak önemliydi ($p < 0.05$). Grup B, grup C ve grup D’de ise MDA seviyesinde istatistiksel olarak önemli olmayan bir azalma vardı ($p > 0.05$). Triton WR-1339 ile indüklenen sıçanlara uygulanan *C. longiflorus*, β -sitosterol ve anacetrapibin birlikte uygulandığı gruplarda ise istatistiksel olarak önemli derecede düşüşler tespit edildi ($p < 0.05$). Bu düşüşler grup H (80.25 ± 13.08 nmol/mg protein) , grup G (100.33 ± 26.97 nmol/mg protein) ve grup F (121.38 ± 39.50)’de kontrol grubunun değerinden bile düşük değerlere ulaştı.

Tablo 4.4. MDA düzeyi değerleri (Ortalama $\pm$ SD, n= 6) ile grup ortalama verilerine ait Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

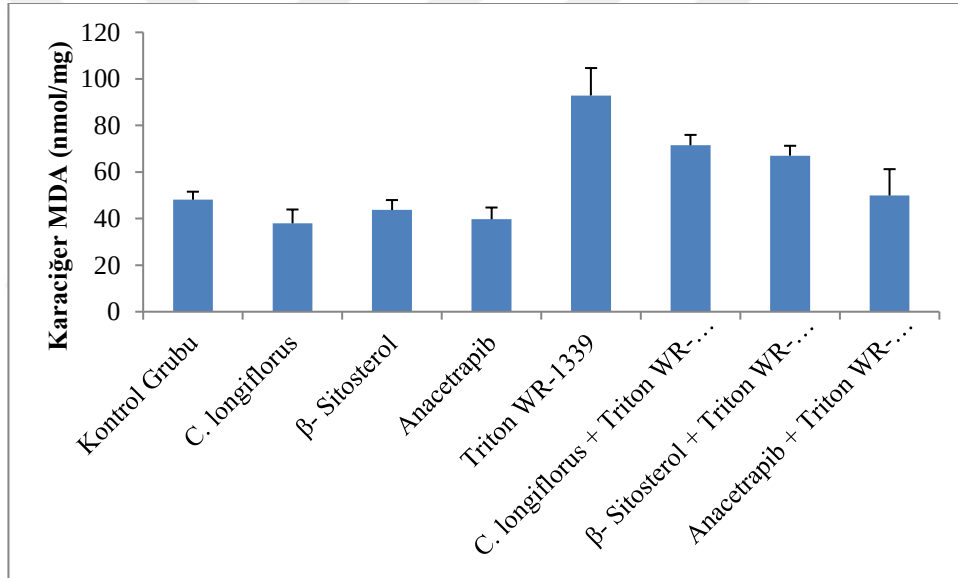
Gruplar	MDA (nmol/mg protein)	
	Kalp	Karaciğer
A (Kontrol)	132.17 $\pm$ 4.06 ^{b*}	48.13 $\pm$ 3.42 ^{c*}
B (<i>C. longiflorus</i>)	121.65 $\pm$ 10.27 ^b	37.99 $\pm$ 5.92 ^c
C (β-sitosterol)	108.01 $\pm$ 14.11 ^{bc}	43.72 $\pm$ 4.24 ^c
D (Anacetrapib)	96.13 $\pm$ 27.18 ^{bc}	39.74 $\pm$ 5.01 ^c
E (Triton)	187.12 $\pm$ 7.43 ^a	92.89 $\pm$ 11.76 ^a
F (<i>C. longiflorus</i> + Triton)	121.38 $\pm$ 39.50 ^b	71.49 $\pm$ 4.45 ^b
G (β-sitosterol + Triton)	100.33 $\pm$ 26.97 ^{bc}	67.04 $\pm$ 4.23 ^b
H (Anacetrapib + Triton)	80.25 $\pm$ 13.08 ^c	49.93 $\pm$ 11.30 ^c

*Aynı harfle gösterilen grup ortalamaları arasındaki farklılık anlamlı değilken ($p>0.05$), Farklı harflerle gösterilen grup ortalamaları arasındaki farklılık anlamlıdır ($p< 0.05$).

Karaciğer dokusu MDA sonuçları için ilk söylenebilecek bulgu, MDA düzeylerinin kalp dokusundan daha düşük düzeyde olmasıydı. Karaciğer dokusu için elde edilen MDA verileri incelendiğinde yalnızca *C. longiflorus*, β -sitosterol ve anacetrapibin uygulandığı gruplarda MDA değerlerinin kontrol grubunun gerisinde kaldığı görüldü. En etkili düşüş *C. longiflorus* grubuna (grup B) aitti ancak bu düşüş istatistiksel olarak önemsizdi ($p>0.05$). Triton WR-1339 ile indüklendikten sonra *C. longiflorus*, β -sitosterol ve anacetrapibin birlikte uygulandığı sıçanlardan elde edilen veriler incelendiğinde ise üç grupta da MDA değerlerinde istatistiksel olarak önemli düşüşler görüldü ($p<0.05$). En etkili düşüş kalp dokusunda olduğu gibi grup H (49.93 $\pm$ 11.30 nmol/mg protein)'de kaydedildi.



Şekil 4.10. Kalp dokuda MDA sütun grafiği



Şekil 4.11. Karaciğer dokuda MDA sütun grafiği

4.2.2.2. Protein karbonil içeriği

Kalp ve karaciğer dokularında tüm uygulama gruplarına ait protein hasarının göstergesi olan PKI sonuçları Tablo 4.5, şekil 4.12 ve şekil 4.13’de verildi.

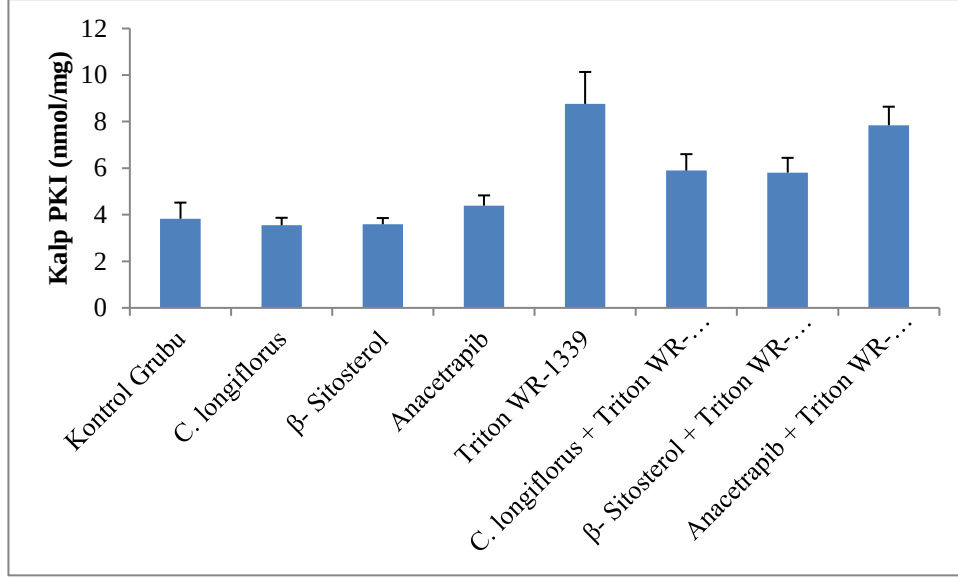
Kalp dokusu için elde edilen PKI verileri incelendiğinde kontrol grubuna (3.83 ± 0.69 nmol/mg protein) göre grup B ve grup C, istatistiksel olarak önemsiz bir düşüş sergiledi ($p > 0.05$). Grup D’ de ise kontrol grubundan daha yüksek bir değer gözlemlendi.

Fakat bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmadı ($p>0.05$). Triton WR-1339 ile indüklenmiş grup E'in bireylerinden elde edilen PKI sonuçları, MDA sonuçlarında olduğu gibi en yüksek değere ulaşmıştı (8.76 ± 1.37 nmol/mg protein). Triton WR-1339 ile indüklendikten sonra *C. longiflorus* ve β -sitosterolün birlikte uygulandığı gruplarda ise PKI düzeylerinde istatistiksel olarak önemli oranda düşüşler tespit edildi ($p<0.05$). En belirgin düşüş grup G'de (5.81 ± 0.63 nmol/mg protein) gözlenirken onu grup F (5.89 ± 0.70 nmol/mg protein) takip etti. Grup H (7.84 ± 0.79 nmol/mg protein)'daki azalış ise istatistiksel olarak önemli bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. PKI düzeyi değerleri (Ortalama $\pm$ SD, n= 6) ile grup ortalama verilerine ait Çoklu Karşılaştırma Test sonuçları

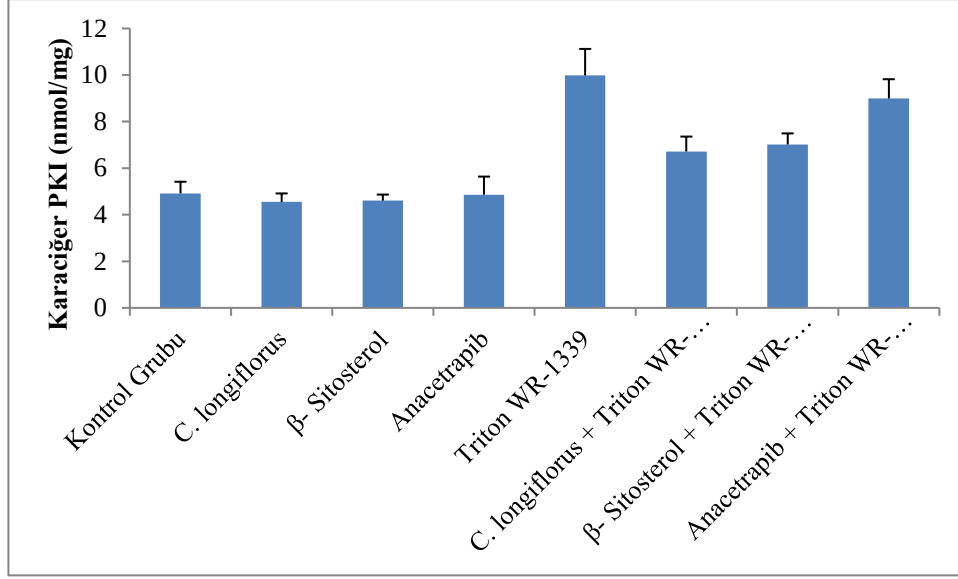
Gruplar	PKI (nmol/mg protein)	
	Kalp	Karaciğer
A (Kontrol)	$3.83 \pm 0.69^{c*}$	$4.91 \pm 0.50^{c*}$
B (<i>C. longiflorus</i>)	3.55 ± 0.31^c	4.55 ± 0.36^c
C (β-sitosterol)	3.59 ± 0.26^c	4.60 ± 0.26^c
D (Anacetrapib)	4.39 ± 0.43^c	4.86 ± 0.77^c
E (Triton)	8.76 ± 1.37^a	9.98 ± 1.13^a
F(<i>C. longiflorus</i> + Triton)	5.89 ± 0.70^b	6.71 ± 0.63^b
G (β-sitosterol + Triton)	5.81 ± 0.63^b	7.01 ± 0.47^b
H (Anacetrapib + Triton)	7.84 ± 0.79^a	8.99 ± 0.82^a

*Aynı harfle gösterilen grup ortalamaları arasındaki farklılık anlamlı değilken ($p>0.05$), Farklı harflerle gösterilen grup ortalamaları arasındaki farklılık anlamlıdır ($p<0.05$).



Şekil 4.12. Kalp dokuda PKI sütun grafiği

Karaciğer dokusundan elde edilen PKI seviyeleri kalp dokusuna nazaran daha yüksekti. Uygulama gruplarından elde edilen PKI verileri incelendiğinde kontrol grubu ile *C. Longiflorus*, β -sitosterol ve Anacetrapibin tek başlarına uygulandığı gruplarda düşüş gözlemlense dahi istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Triton WR-1339'un tek başına uygulandığı grupta PKI seviyesi yine en yüksekti (9.98 ± 1.13 nmol/mg protein) ve Triton WR-1339 ile indüklendikten sonra *C. longiflorus*, β -sitosterol ve anacetrapibin birlikte uygulandığı gruplarda ise grup H hariç istatistiksel olarak önemli düşüşler tespit edildi ($p<0.05$). En etkili PKI düşüşü grup F (6.71 ± 0.63 nmol/mg protein)'de görülürken onu grup G (7.01 ± 0.47 nmol/mg protein) ve grup H (8.99 ± 0.82 nmol/mg protein) takip etti.



Şekil 4.13. Karaciğer dokuda PKI sütun grafiği

4.2.2.3. Toplam oksidan durum

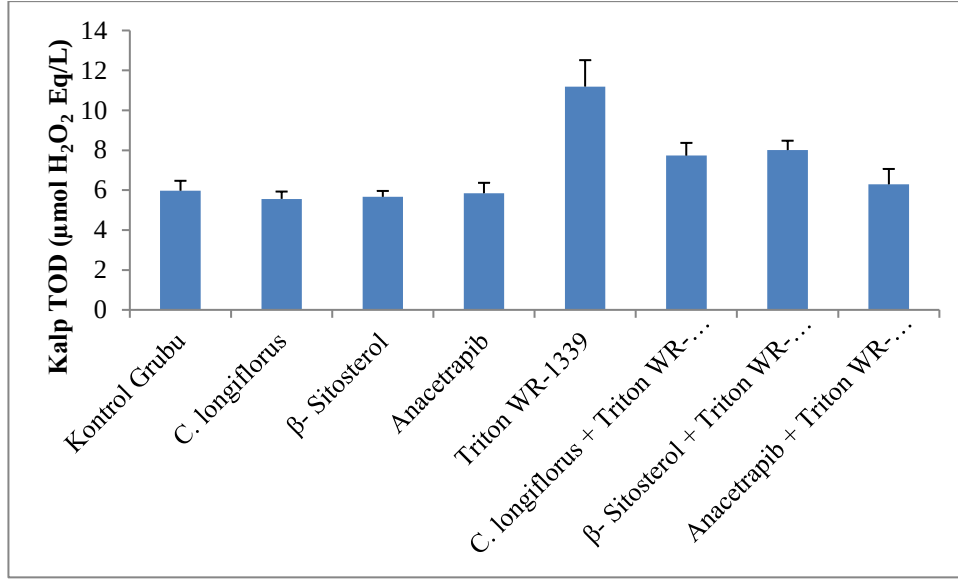
Tüm uygulama gruplarına ait toplam oksidan durumun göstergesi olan TOD sonuçları kalp ve karaciğer dokularında Tablo 4.6, şekil 4.14 ve şekil 4.15’de verildi. Karaciğer dokusundan elde edilen TOD seviyeleri kalp dokusuna nazaran çok daha yüksekti. Uygulama gruplarından elde edilen kalp dokusuna ait veriler kontrol grubu ($5.97 \pm 0.49 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}$) ile karşılaştırıldığında grup B, grup C ve grup D TOD değerleri kontrole göre düşüşler gösterse dahi hemen hemen kontrole yakın seviyedeydiler. Kontrol grubuna kıyasla en fazla TOD seviyesini düşüren grup B ($5.56 \pm 0.36 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}$) oldu. Triton WR-1339 ile indüklenen grupta ise TOD değeri $11.18 \pm 1.32 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}$ olarak ölçüldü. Triton WR-1339 ile indüklendikten sonra *C. longiflorus*, β -sitosterol ve anacetrapibin birlikte uygulandığı gruplarda ise TOD değerlerinde istatistiksel olarak önemli düşüşler görüldü ($p < 0.05$). TOD değerlerindeki düşüş sırası grup G < grup F < grup H şeklinde oluştu. En etkili düşüşü sergileyen grup H (Anacetrapib + Triton) TOD değeri $6.29 \pm 0.76 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}$ olarak tespit edildi (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. TOD düzeyi değerleri (Ortalama $\pm$ SD, n= 6) ile grup ortalama verilerine ait Çoklu Karşılaştırma Test sonuçları

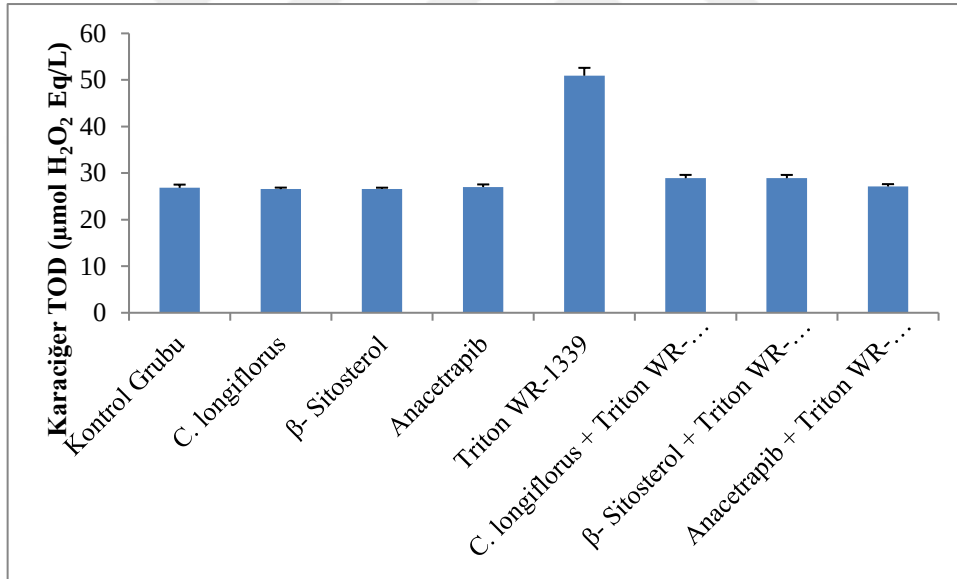
Gruplar	TOD ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eq /L)	
	Kalp	Karaciğer
A (Kontrol)	5.97 $\pm$ 0.49 ^{c*}	26.83 $\pm$ 0.68 ^{c*}
B (<i>C. longiflorus</i>)	5.56 $\pm$ 0.36 ^c	26.56 $\pm$ 0.31 ^c
C (β-sitosterol)	5.66 $\pm$ 0.29 ^c	26.59 $\pm$ 0.26 ^c
D (Anacetrapib)	5.84 $\pm$ 0.52 ^c	27.00 $\pm$ 0.55 ^c
E (Triton)	11.18 $\pm$ 1.32 ^a	50.92 $\pm$ 1.67 ^a
F (<i>C. longiflorus</i> + Triton)	7.72 $\pm$ 0.63 ^b	28.90 $\pm$ 0.70 ^b
G (β-sitosterol + Triton)	8.01 $\pm$ 0.46 ^b	28.90 $\pm$ 0.69 ^b
H (Anacetrapib + Triton)	6.29 $\pm$ 0.76 ^c	27.13 $\pm$ 0.49 ^c

*Aynı harfle gösterilen grup ortalamaları arasındaki farklılık anlamlı değilken ($p>0.05$), Farklı harflerle gösterilen grup ortalamaları arasındaki farklılık anlamlıdır ($p< 0.05$).

Karaciğer dokusundan elde edilen TOD seviyeleri kalp dokusuna göre yaklaşık 5 kat daha yüksekti. Karaciğer dokusuna ait veriler incelendiğinde *C. longiflorus*, β -sitosterol ve anacetrapibin tek başlarına uygulandığı grupların TOD değerleri hemen hemen kontrol grubu ile aynıydı. Triton WR-1339 ile indüklendikten sonra *C. longiflorus*, β -sitosterol ve anacetrapibin uygulandığı gruplarda elde edilen TOD değerleri de yine sağlıklı kontrol grubuna yakındı. Kısacası Triton WR-1339 ile indüklenen grupta (grup E, 50.92 $\pm$ 1.67 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eq/L) ortaya çıkan oksidanların *C. longiflorus*, β -sitosterol ve anacetrapib tarafından giderildiği gözlemlendi. Triton WR-1339'un arttırdığı oksidan miktarını en fazla gideren grup ise grup H (anacetrapib + Triton, 27.13 $\pm$ 0.49 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eq/L) oldu (Tablo 4.6).



Şekil 4.14. Kalp dokuda TOD sütun grafiği



Şekil 4.15. Karaciğer dokuda TOD sütun grafiği

4.2.2.4. Toplam antioksidan kapasite

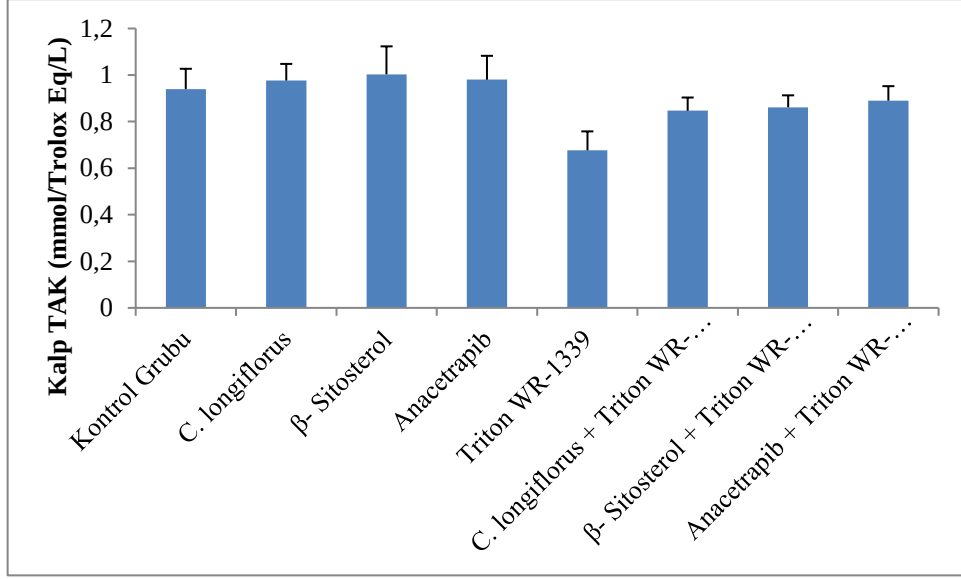
Tüm uygulama gruplarına ait toplam antioksidan kapasitenin göstergesi olan TAK sonuçları kalp ve karaciğer dokularında Tablo 4.7, şekil 4.16 ve şekil 4.17’de verildi. Karaciğer dokusundan elde edilen TAK seviyeleri kalp dokusuna nazaran daha

yüksekti. Kalp dokusuna ait verilerde *C. longiflorus*, β -sitosterol ve anacetrapibin tek başına uygulandığında ki TAK değerleri kontrolden yüksekti. Bu üç uygulama grubu arasında TAK düzeyini en fazla arttıran grup C (1.00 ± 0.11 mmol/Trolox Eq/L) idi. Grup E’de ki TAK seviyesi ise 0.67 ± 0.08 mmol/Trolox Eq/L seviyesine kadar geriledi. Triton WR-1339 ile indüklendikten sonra *C. longiflorus*, β -sitosterol ve anacetrapibin uygulandığı gruplarda TAK değerleri grup A kontrol grubuna yaklaştı ve grup E kontrol grubu ilede istatistiksel olarak aralarında önemli bir fark oluştu ($p < 0.05$). TAK değerlerindeki artış sırası grup F < grup G < grup H şeklinde oluştu. (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. TAK düzeyi değerleri (Ortalama $\pm$ SD, n= 6) ile grup ortalama verilerine ait Çoklu Karşılaştırma Test sonuçları

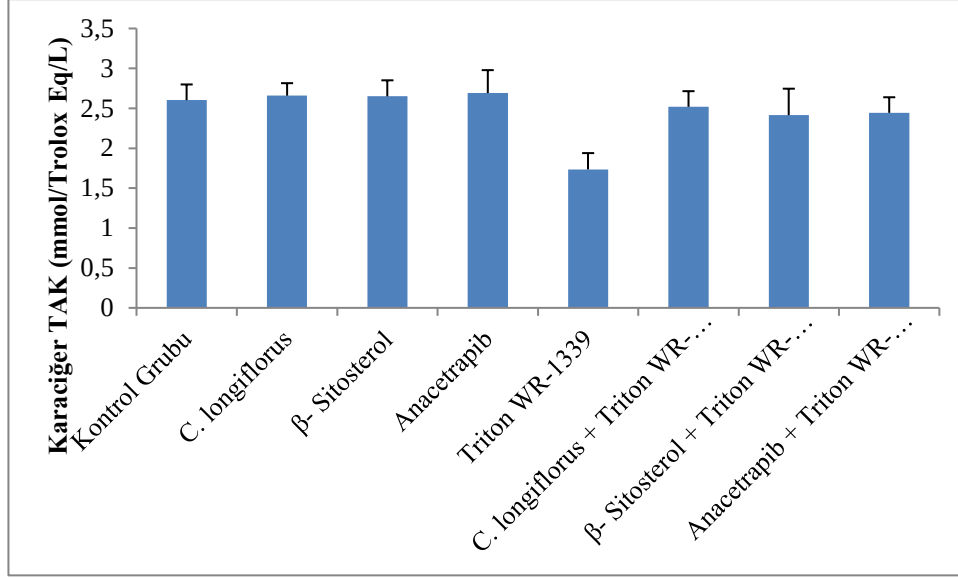
Gruplar	TAK (mmol/Trolox Eq/L)	
	Kalp	Karaciğer
A (Kontrol)	$0.94 \pm 0.08^{ab*}$	2.60 ± 0.19^a
B (<i>C. longiflorus</i>)	0.97 ± 0.07^{ab}	2.65 ± 0.15^a
C (β-sitosterol)	1.00 ± 0.11^a	2.65 ± 0.20^a
D (Anacetrapib)	0.98 ± 0.10^{ab}	2.69 ± 0.28^a
E (Triton)	0.67 ± 0.08^c	1.73 ± 0.20^b
F (<i>C. longiflorus</i> + Triton)	0.84 ± 0.05^b	2.51 ± 0.19^a
G (β-sitosterol + Triton)	0.86 ± 0.05^{ab}	2.41 ± 0.33^a
H (Anacetrapib + Triton)	0.89 ± 0.06^{ab}	2.44 ± 0.19^a

*Aynı harfle gösterilen grup ortalamaları arasındaki farklılık anlamlı değilken ($p > 0.05$), Farklı harflerle gösterilen grup ortalamaları arasındaki farklılık anlamlıdır ($p < 0.05$).



Şekil 4.16. Kalp dokuda TAK sütun grafiği

Uygulama gruplarından elde edilen karaciğer dokusuna ait veriler incelendiğinde *C.longiflorus*, β-sitosterol ve anacetrapibin tek başlarına uygulandığı grupların TAK değerleri kontrol grubunun TAK değerlerinden (2.60 ± 0.19 mmol/Trolox Eq/L) fazla idi. En fazla artış grup D (2.69 ± 0.28 mmol/Trolox Eq/L)'de olmasına rağmen kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak farklı bulunmadı ($p>0.05$). Triton WR-1339 ile indüklendikten sonra düşen TAK değeri (grup E, 1.73 ± 0.20 mmol/Trolox Eq/L) *C. longiflorus*, β-sitosterol ve anacetrapibin uygulanmasıyla tekrar artış gösterdi. En fazla artış grup F (2.51 ± 0.19 mmol/Trolox Eq/L)'de görülürken onu grup H ve grup G izledi (Tablo 4.7).



Şekil 4.17. Karaciğer dokuda TAK sütun grafiği

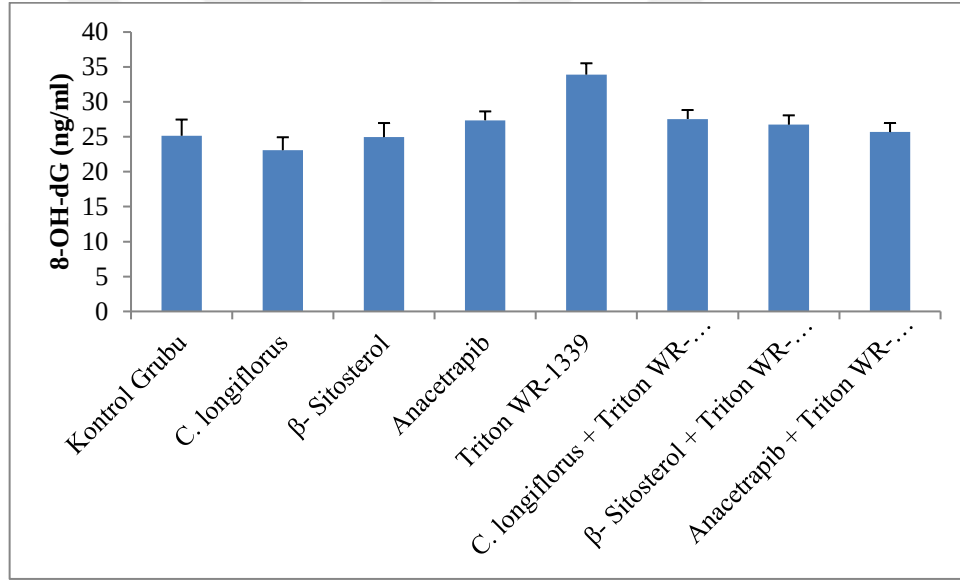
4.2.2.5. 8-OH-deoksiguanozin

Tüm uygulama gruplarına ait serumda oksidatif DNA hasarının göstergesi olan 8-OH-dG sonuçları Tablo 4.8 ve şekil 4.18’ de verildi. Tablo 4.8 incelendiğinde, sıçanlarda sağlıklı kontrole (25.15 ± 2.31 ng/mL) göre en etkili düşüşü *C. longiflorus* grubu sağlarken, grup D (27.37 ± 1.26 ng/mL)’de ise 8-OH-dG miktarı kontrolden yüksekti. Grup E (33.90 ± 1.62 ng/mL) en fazla 8-OH-dG miktarına sahip grup oldu. Triton WR-1339 ile arttırılmış olan oksidatif DNA hasarının en az görüldüğü grup ise grup H (Anacetrapib + Triton 25.68 ± 1.29 ng/mL) oldu (Tablo 4.8). Ancak diğer iki grubunda (grup F ve grup G) Triton WR-1339 tarafından indüklenmiş oksidatif DNA hasarını grup H ye göre daha az düşürdüğü görüldü (şekil 4.18).

Tablo 4.8. 8-OH-dG düzeyi değerleri (Ortalama $\pm$ SD, n= 6) ile grup ortalama verilerine ait Çoklu Karşılaştırma Test sonuçları

Gruplar	8-OH-dG (ng/mL)
A (Kontrol)	25.15 $\pm$ 2.31 ^{bc*}
B (<i>C. longiflorus</i>)	23.09 $\pm$ 1.84 ^c
C (β-sitosterol)	24.96 $\pm$ 2.0 ^{bc}
D (Anacetrapib)	27.37 $\pm$ 1.26 ^b
E (Triton)	33.90 $\pm$ 1.62 ^a
F (<i>C. longiflorus</i> + Triton)	27.55 $\pm$ 1.28 ^b
G (β-sitosterol + Triton)	26.73 $\pm$ 1.33 ^b
H (Anacetrapib + Triton)	25.68 $\pm$ 1.29 ^{bc}

*Aynı harfle gösterilen grup ortalamaları arasındaki farklılık anlamlı değilken ($p > 0.05$), Farklı harflerle gösterilen grup ortalamaları arasındaki farklılık anlamlıdır ($p < 0.05$).



Şekil 4.18. Uygulama gruplarında 8-OH-dG sütun grafiği

5. TARTIŞMA

Bu çalışmanın amacı, Triton WR-1339 ile indüklenen hiperlipidemik sıçanlarda *C. longiflorus* (CL) ve β -sitosterol (BS) ün hipolipidemik etkisinin olup olmadığını, çeşitli oksidatif stres ve enzim inhibisyonuna dayalı parametreler kullanarak göstermekti. Genel olarak, Triton WR-1339 uygulamasının neden olduğu TK, TG ve LDL-K'ün kontrol gruplarına göre arttığı; CL ve BS'nin koruyucu amaçlı uygulandığı gruplarda ise bu değerlerin istatistiksel olarak önemli oranda azaldığı gözlemlendi ($p<0.05$). Ayrıca CL ve BS karaciğer hasarını gösteren ALT ve AST değerlerindeki artışta azalmaya yol açmıştır. Bunlara ilaveten, CL ve BS'nin, Triton WR-1339 tarafından indüklenen sıçanlarda lipit peroksidasyon seviyeleri, protein karbonil içeriği, toplam oksidan durum, toplam antioksidan kapasite ve DNA hasarı değişikliği gibi oksidatif stres parametreleri üzerinde pozitif etkisinin olduğunu gözlemledik.

Sentetik antioksidanlar, toksisiteyi nedeniyle ciddi eleştirilere maruz kaldıklarından, hipolipidemik ve antioksidan özelliklere sahip doğal bileşikler, hastalıkları önlemek ve onları tedavi etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır.^{120,121} Çalışmamız sonucu elde ettiğimiz bulgular, CL ve BS'nin CETP aktivitesini inhibe ederek, TK, TG ve LDL kolesterol düzeylerini, hiperkolesterolemik kontrol grubuna (grup E) göre azalttıklarını gösterdi. Bu CL ve BS'nin hipolipidemik aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir.

Yaptığımız literatür taramaları, β -caryophyllene, chrysin ve *Marrubium vulgare* gibi diğer doğal bileşiklerde, Triton WR-1339 tarafından indüklenen sıçanlarda hiperlipidemi üzerindeki benzer bulguları göstermiştir.^{116,122}

Bunlara ilaveten, CL ve BS'nin ROT ve MDA seviyelerinin yükselmesini önleyip, primer hepatik antioksidan savunma sistemini güçlendirerek hepatik oksidatif stres değişkenlerine karşı koruyucu etkileri olduğunu bulduk. Çalışmamızda, Zarzecki

MS ve ark.'ın¹¹⁶ bildirdikleri sonuçlarla uyumlu olarak, Triton WR-1339 enjeksiyonundan 24 saat sonra elde edilen sıçan plazmalarında TK, TG ve LDL kolesterolünün arttığını gözlemledik. Oral yolla verilen 150 mg/kg dozunda CL (grup F)'nin ve % 0.4 dozunda BS (grup G)'nin, Triton WR-1339'un neden olduğu toplam kolesterol, trigliseritler ve LDL kolesterol artışını önleyerek sıçanlarda hipolipidemik etkiye neden oldukları tespit edildi (Tablo 4.1).

HDL kolesterol değerlerinde ise bireylerden elde edilen verilere göre, HDL-K'ün sadece CL, BS ve anacetrapib uygulanan gruplarda kontrole göre istatistiksel olarak önemsiz artış gösterdiği ($p>0.05$), buna karşılık Triton WR-1339'un uygulandığı grup E ile grup F, grup G ve grup H'nin karşılaştırılması neticesinde her üç grubunda HDL-K düzeylerini azalttığını ancak bu azalışların istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlendi ($p>0.05$) (Tablo 4.1).

İyonik olmayan deterjan Triton WR-1339, özellikle doğal veya kimyasal hipolipidemik ilaçları taramak için hayvan modellerinde akut hiperlipidemi oluşturmak için sıklıkla kullanılmıştır. Triton WR-1339, periferik dokular tarafından plazmadan kolesterol bakımından zengin lipoproteinlerin alımını bloke ederek işlevini yerine getirir.¹²⁴ Deneysel kanıtlar, Triton WR-1339'un fiziksel olarak VLDL yi değiştirdiğini, kan ve dokudaki lipolitik enzimlerin etkinliğinde sapmalara yol açtığını desteklemektedir. Bu, birincil olarak lipitlerin kandan dokuya geçişi önler veya geciktirir. İkincil olarak ise hepatik kolesterol biyosentezini uyararak hiperlipidemi artırır.¹²⁴

Çalışmamızda sıçanlara tek bir Triton WR-1339 enjeksiyonundan 24 saat sonra total kolesterol (kontrol grubundan 6 kat daha yüksek), LDL-kolesterol (kontrol grubundan 5 kat daha yüksek) ve trigliserit (kontrol grubundan 30 kat daha yüksek) seviyelerinde artış gözlemlendi. Burada gösterilen sonuçlar başka bilim adamları tarafından

yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar ile paralellik göstermektedir.^{123,125} Aç bırakılmış fare ve sıçanlarda, Triton WR-1339'un sistemik uygulamasının, plazmada lipit seviyesinin artmasına neden olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir.^{123,125}

Çalışmamızda sıçanlarda toplam TK, TG, LDL-K ve HDL-K verileri incelendiğinde Triton WR-1339 ile indüklenen hayvanlarda CL ve BS'nin etkileri TK ve TG parametrelerinde CL bitki ekstraktının, BS'nin etkisinden daha iyi olduğunu söyleyebiliriz. Ancak istatistiksel olarak her iki grup arasında bir fark gözlenmedi ($p>0,05$). LDL-K için ise BS'nin CL' ye göre daha etkin bir şekilde LDL-K'yi düşürdüğü görüldü. Ancak bu düşüş istatistiksel olarak önemli değildi ($p>0,05$). HDL-K artışı kıyaslandığında ise yine BS'nin CL bitki ekstraktına göre daha etkili olduğu görüldü. Ancak istatistiksel olarak her iki grup arasında bir fark gözlenmedi ($p>0,05$).

Sonuç olarak, elde ettiğimiz bulgular ışığında hiperlipidemi tedavisinde CL ve BS'nin etkili bir şekilde kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda değerlendirdiğimiz bir diğer parametre ALT/AST düzeyleri idi. ALT ve AST, karaciğer hastalıklarının belirlenmesinde kullanılan enzimlerdir.¹²⁶ Serumdaki ALT ve AST seviyelerinin yükselmesi karaciğerin nekrotize olduğunu gösterir.¹²⁷ Hiperkolesterolemik gruplarda grup E, ALT ve AST düzeyleri kontrol gruplarıyla grup A karşılaştırıldığında bu iki değerde de istatistiksel olarak önemli düzeyde artışlar gözlemlendi ($p< 0,05$). Grup A ile grup B, grup C ve grup D arasında ALT ve AST açısından istatistiksel olarak önemli fark görülmemiştir ($p>0,05$). (ALT de grup D hariç) Grup E ile grup F ve grup G ALT değerleri arasında istatistiksel olarak önemli fark gözlenirken ($p<0,05$) grup H ile istatistiksel olarak önemli fark görülmemiştir ($p>0,05$). Triton WR-1339'un arttırdığı ALT değerlerini CL ve BS istatistiksel olarak önemli ölçüde düşürerek hemen hemen sağlıklı kontrol grubunun seviyesine indirmişlerdir ($p<0,05$).

AST düzeylerinde ise grup F ve G de grup E ye göre istatistiksel olarak önemli düşüş görülmezken ($p>0.05$), grup H ile arasında istatistiksel olarak önemli fark gözlenmiştir. ($p<0.05$) (Tablo 4.2).

Bulduğumuz bu veriler CL'nin ve BS'nin hiperkolesterolemisi sırasında oluşan karaciğer hasarına karşı önleyici etkisini göstermektedir.

Oksidatif stres, temel olarak ROT üretiminin artmasına neden olarak hiperkolesteroleminin hastalık patogenezinde önemli bir rol oynar.¹²⁸ Çalışmamızda, Triton WR-1339 ile indüklenmiş hiperlipidemi durumunda, aşırı ROT üretimi, lipid peroksidasyonu, protein ve DNA hasarı gözlemlendi. Ayrıca aşırı ROT üretimini önlemek veya asgariye indirmek için gerekli olan önemli antioksidan sistemlerin aktivitelerinde azalma tespit edildi. TAK aktivitelerindeki bir azalma, yüksek ROT seviyelerinin birikmesi ile ilişkili olabilir, bu da hücre membranlarının fonksiyonunun ve bütünlüğünün kaybı gibi zararlı etkilere yol açabilir. TAK aktivitelerinin inhibisyonu, antioksidan savunma sistemine zarar verebilir ve bu da hastalığın gelişimine katkıda bulunan ROT'un aşırı üretimine neden olabilir.¹¹⁶ Son zamanlarda yapılan çalışmalar, oksidatif stres ile ilişkili hastalık patogenezinin etkili bir şekilde değiştiren antioksidan stratejilerinin aynı zamanda hipolipidemik etkide de rol oynayabileceklerini ortaya koymuştur.¹¹⁶ Bu anlamda CL bitki ekstraktının ve BS tedavisinin, ROT ve MDA seviyelerini önemli ölçüde azaltıp ve enzimatik antioksidan savunmasını artırarak, oksidatif stres belirteçlerindeki değişiklikleri önlediğini gözlemledik ($p<0.05$). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda CL'nin sulu ekstraktlarının antioksidan, enzim inhibitör etkisi ve antibakteriyel etkisi gösterilmiştir.

Coban T. ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, CL ekstraktının özellikle süperoksit anyon radikalini süpürücü aktivite gösterdiği bildirilmiştir.⁸¹ Yapılan bir başka çalışmada, CL'nin sulu ekstraktları kolinesteraz enzimini inhibe etmiştir.⁸⁰ Yine Makki

R. ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada, CL'nin farklı bitki kısımlarından elde edilen etanol ekstraktları *Staphylococcus epidermis*'e karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir.⁷⁹ Başka bir çalışmada ise CL bitkisinin şeker hastalığının tedavisi için kullanılabileceği bildirilmiştir.⁸² Yaptığımız literatür çalışmaları göz önüne alındığında CL ile çalışmaların çok sınırlı olduğu görüldü. Bu yüzden yürüttüğümüz bu çalışma diğer araştırmacılar için önemli bir kaynak niteliğinde olacaktır. CL ile tedavi hiperkolesterolemi sırasında kalp ve karaciğer dokularını oksidatif strese karşı koruyabildiğini söyleyebiliriz.

Çalışmamızda ayrıca, Triton WR-1339 ile indüklenmiş sıçanlarda CL ve BS tedavisinin uygulandığı gruplar incelendiğinde kalp ve karaciğer dokularında oksidatif stres parametrelerinde hipotezimizi destekleyen sonuçlar elde edilmiştir. Bu parametrelerden MDA verileri incelendiğinde Triton WR-1339 (grup E)'un arttırdığı MDA düzeylerini, BS grupları (grup G), CL gruplarına (grup F) göre hem kalp hem de karaciğer dokularında daha iyi düşürmüştür (Tablo 4.4). Fakat kalp ve karaciğer dokularında MDA seviyelerindeki düşüşlerde bu gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdi ($p>0.05$).

Diğer parametreler olan PKI ve TOD verileri incelendiğinde ise kalp dokuda BS grupları (grup G), CL gruplarına (grup F) karaciğer dokuda ise CL grupları, (grup F) BS gruplarına (grup G) göre PKI düzeylerini daha iyi düşürmüş olmakla birlikte bu iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdi ($p>0.05$). Kalp dokuda TOD düzeylerine bakıldığında CL grupları, (grup F) BS gruplarına (grup G) göre daha iyi düşüş göstermiştir ancak aralarındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir ($p>0.05$). Karaciğer dokularında ise CL grupları,(grup F) ve BS gruplarının (grup G) TOD düzeylerini eşit oranda düşürdüğü gözlenmiştir (Tablo 4.5; Tablo 4.6).

TAK verileri incelendiğinde ise diğer parametrelerde gözlenmeyen bir durum ile karşılaşıldı. Triton WR-1339'un azalttığı TAK düzeylerini kalp dokusunda, BS grupları (grup G), CL gruplarına (grup F) göre daha çok arttırırken karaciğer dokusunda CL grupları (grup F), BS gruplarına (grup G) göre daha çok arttırmıştır. Ancak bu artışlar istatistiksel olarak önemsizdi ($p>0.05$), (Tablo 4.7).

Uygulama gruplarının serumlarından elde ettiğimiz son oksidatif stres parametremiz olan 8-OH-dG sonuçları incelendiğinde ise yine birbirine yakın sonuçlar elde edilmiş olsa da BS grupları (grup G), CL gruplarına (grup F) göre Triton WR-1339'un arttırdığı 8-OH-dG düzeylerini daha fazla düşürmüş olmakla birlikte bu düşüş istatistiksel olarak önemsizdi ($p>0.05$), (Tablo 4.8).

CL ve BS'nin hipolipidemik özelliklerinde yer alan olası bir etki mekanizmasını değerlendirmek için CETP aktivitesini değerlendirmeye karar verdik. CL ve BS ile tedavi edilen hiperkolesterolemik sıçanlarda CETP aktivitesinde, anacetrapibe benzer şekilde istatistiksel olarak önemli bir azalma gözlemlendi ($p<0.05$). Son zamanlarda yapılan birkaç çalışma, niasinin ve majör bileşik olarak seskiterpen içeren *Campomanesia xanthocarpa*'nın sulu özütlerinin hipolipidemik etkilerini, CETP enziminin inhibe edilmesine bağlamıştır.¹²⁹ CETP aktivitesi üzerindeki inhibisyonun, CL ve BS'nin hipolipidemik özelliklerinde rol oynayan bir etki mekanizması olarak kabul edilebileceği sonucuna varabiliriz. Bunlara ilaveten VLDL ve şilomikron katabolizmasını yükselterek veya diğer doğal bitkilerle yapılan muamelede gözlemlendiği gibi lipoprotein lipaz aktivitesini artırarak trigliseritlerin azaltılmasına neden olmuştur.¹³⁰

Son zamanlarda BS ile ilgili de önemli çalışmalar yapılmıştır. Sıçanlarda BS uygulamasının genotoksisite ve sitotoksisiteye neden olmadığı tespit edilmiştir.⁸⁵ BS, büyük bir toksisiteye yol açmaksızın anti-oksidan, anti-mikrobiyal, anjiyojenik,

immüno-modölatör, anti-diyabetik, anti-enflamatuar ve anti-kanser aktivitelere sahip olduğu bildirilmiştir. Bitkisel sterollerin belirli bir hastalık üzerindeki yararlı etkileri üzerine bazı yayınlar vardır.⁸⁶ BS'nin antioksidan enzimleri ve insan estrojen reseptörlerini modüle ettiği gösterilmiştir.⁹⁷ Phorbol myristate asetat (PMA) ile indüklenmiş RAW 264.7 (lösemi hücre hattı) hücrelerinde BS'nin oksijen serbest radikallerini ve hidrojen peroksit seviyelerini azalttığı ancak radikal süpürücü olarak işlev görmediği bildirilmiştir. Glutasyon peroksidaz (GPx) ve Mn süperoksit dismutaz (MnSOD) aktiviteleri BS tedavisi ile önemli ölçüde azalmıştır.⁹⁸ BS hakkında sahip olduğumuz bilgiler günümüzde dahi yeterli değildir. Kısacası, BS ile gelecekte yapılacak daha ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Özetle, bulgularımız Triton WR-1339 tarafından indüklenen hiperlipidemili sıçanlarda *Centranthus longiflorus* bitki ekstraktının ve β -sitosterol'ün, TK, TG, LDL-K, artışıını düşürdüğünden hipolipidemik etkisinin olduğunu, bunun yanısıra ALT ve AST artışıını engeleyerek hiperlipidemik sıçanlarda oluşan karaciğer hasarına karşı koruyucu etkisinin olabileceğini göstermiştir. Bu etkilerini anacetrapib ilacında gözlemlendiği gibi hepatik CETP aktivitesinin inhibisyonu yoluyla gösterdiklerini düşünmekteyiz. Ayrıca CL ve BS, anacetrapib kullanıldığında gözlenmeyen lipidik oksidatif hasarı önleyen ve hepatik antioksidan sistemi iyileştiren antioksidan özelliklere sahiptirler. Bu nedenle, sonuçlarımız CL ve BS'nin, hepatik antioksidan savunma sistemini iyileştirdikleri, karaciğeri lipit hasarına karşı korudukları ve referans ilaç ile benzer bir etki gösterdikleri için hiperlipidemi ile ilişkili hastalıklarda kullanılabileceklerini göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Douglas G, Channon KM. The pathogenesis of atherosclerosis. *Medicine*, 2014, 42: 480-484.
2. Chavez-Sanchez L, Espinosa-Luna JE, Chavez-Rueda K, Legorreta-Haquet MV, Montoya-Diaz E, Blanco-Favela F. Innate Immune System Cells in Atherosclerosis. *Archives of Medical Research*, 2014, 45: 1-14.
3. Pineda A, Cubeddu LX. Statin Rebound or Withdrawal Syndrome: Does It Exist? *Current Atherosclerosis Reports*, 2011, 13: 23-30.
4. Anandhi R, Thomas PA, Geraldine P. Evaluation of the anti-atherogenic potential of chrysin in Wistar rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2014, 385: 103-113.
5. Mohammadpour AH, Akhlaghi F. Future of Cholesteryl Ester Transfer Protein (CETP) Inhibitors: A Pharmacological Perspective. *Clinical Pharmacokinetics*, 2013, 52: 615-626.
6. Goldberg AS, Hegele RA. Cholesteryl ester transfer protein inhibitors for dyslipidemia: focus on dalcetrapib. *Drug Design Development and Therapy*, 2012, 6: 251-259.
7. Duarte MMMF, Rocha JBT, Moresco RN, Duarte T, Da Cruz IBM, Loro VL, Schetinger MRC. Association between ischemia-modified albumin, lipids and inflammation biomarkers in patients with hypercholesterolemia. *Clinical Biochemistry*, 2009, 42: 666-671.
8. Somacal S, Figueiredo CG, Quatrin A, Ruviaro AR, Conte L, Augusti PR, Roehrs M, Denardin IT, Kasten J, da Veiga ML, Duarte MMF, Emanuelli T. The antiatherogenic effect of bixin in hypercholesterolemic rabbits is associated to the

- improvement of lipid profile and to its antioxidant and anti-inflammatory effects. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2015, 403: 243-253.
9. Askin S, Askin H, Bakirci S, Ayar A, Erdogan MK, Yildiz M. Chemical constituents of endemic species grow in Turkey: *Centranthus longiflorus* and its new cholesterol-lowering plant sterol ester: beta-sitosterol. *Febs Journal*, 2016, 283: 342-342.
 10. Goyal AK, Middha SK, Usha T, Sen A. Analysis of toxic, antidiabetic and antioxidant potential of *Bambusa balcooa* Roxb. leaf extracts in alloxan-induced diabetic rats. *3 Biotech*, 2017, 7.
 11. Wang XB, Huang WH, Lei L, Liu YW, Ma KY, Li YM, Wang LJ, Huang Y, Chen ZY. Blockage of hydroxyl group partially abolishes the cholesterol-lowering activity of beta-sitosterol. *Journal of Functional Foods*, 2015, 12: 199-207.
 12. De Smet E, Mensink RP, Plat J. Effects of plant sterols and stanols on intestinal cholesterol metabolism: Suggested mechanisms from past to present. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2012, 56: 1058-1072.
 13. Marshall WJ, Lapsley M, Day AP, Ayling RM. *Clinical biochemistry: metabolic and clinical aspects*. Third Baskı. London, Elsevier Health Science, 2014.
 14. King MW. *Integrative Medical Biochemistry Examination and Board Review* 1.Baskı. China Translation & Printing Services, Ltd, 2014: 978-183.
 15. Jorgensen T, Capewell S, Prescott E, Allender S, Sans S, Zdrojewski T, De Bacquer D, de Sutter J, Franco OH, Logstrup S, Volpe M, Malyutina S, Marques-Vidal P, Reiner Z, Tell GS, Verschuren WMM, Vanuzzo D, Eacpr. Population-level changes to promote cardiovascular health. *European Journal of Preventive Cardiology*, 2013, 20: 409-421.

16. Brouwers MCGJ, van Greevenbroek MMJ, Stehouwer CDA, de Graaf J, Stalenhoef AFH. The genetics of familial combined hyperlipidaemia. *Nature Reviews Endocrinology*, 2012, 8: 352-362.
17. Kumar D, Parcha V, Maithani A, Dhulia I. Effect and evaluation of antihyperlipidemic activity guided isolated fraction from total methanol extract of *Bauhinia variegata* (linn.) in Triton WR-1339 induced hyperlipidemic rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2012, 2: 909-913.
18. Wells GB, Dipiro J, Schwinghammer T, Hamilton C. *Pharmacotherapy Handbook*. 7 Baskı. USA, The McGraw Hill Companies, 2007: 98-108.
19. Mishra PR, Panda PK, Apanna KC, Panigrahi S. Evaluation of acute hypolipidemic activity of different plant extracts in Triton WR-1339 induced hyperlipidemia in albino rats. *Pharmacologyonline*, 2011, 3: 925-934.
20. Shattat GF. A Review Article on Hyperlipidemia: Types, Treatments and New Drug Targets. *Biomedical & Pharmacology Journal*, 2014, 7: 399-409.
21. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper's illustrated biochemistry*. Çeviri:Akdogan GG, Ersöz B, Turgan N. Harper'in Biyokimyası. 29. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri Tic. Ltd. Şti., 2015.
22. Scapa EF, Kanno K, Cohen DE. Lipoprotein metabolism İçinde:Rodés J, Benhamou JP, Blei AT, JürgReichen J, Mario Rizzetto M (editörler). *Hepatology: From Basic Science to Clinical Practice*, 3 Baskı. UK, Blackwell Publishing Ltd, 2007: 133-134.
23. Jonas A. Lipoprotein structure İçinde:Vance DE, Vance JE (editörler). *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*, 4 Baskı. Amsterdam, Elsevier, 2002: 483-504.

24. Harvey RA, Ferrier DR. Cholesterol and steroid metabolism. İçinde: Rhyner S (editör). *Biochemistry*, 5 Baskı. USA, Lippincott Williams & Wilkins, 2011: 227-237.
25. McLaren JE, Michael DR, Ashlin TG, Ramji DP. Cytokines, macrophage lipid metabolism and foam cells: Implications for cardiovascular disease therapy. *Progress in Lipid Research*, 2011, 50: 331-347.
26. Hegele RA. Plasma lipoproteins: genetic influences and clinical implications. *Nature Reviews Genetics*, 2009, 10: 109-121.
27. Wang H, Eckel RH. Lipoprotein lipase: from gene to obesity. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 2009, 297: 271-288.
28. Santamarina-Fojo S, Gonzalez-Navarro H, Freeman L, Wagner E, Nong ZX. Hepatic lipase, lipoprotein metabolism, and atherogenesis. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 2004, 24: 1750-1754.
29. Nakhjavani M, Morteza A, Karimi R, Banihashmi Z, Esteghamati A. Diabetes induces gender gap on LCAT levels and activity. *Life Sciences*, 2013, 92: 51-54.
30. Durrington PN. Cholesteryl ester transfer protein (CETP) inhibitors. *The British Journal of Cardiology*, 2012, 19: 126-133.
31. Hussain MM, Rava P, Walsh M, Rana M, Iqbal J. Multiple functions of microsomal triglyceride transfer protein. *Nutrition & Metabolism*, 2012, 9: 14.
32. Chang TY, Li BL, Chang CCY, Urano Y. Acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferases. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 2009, 297: 1-9.
33. Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz fundamentals of clinical chemistry*. Çeviri: Aslan D. Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler. 5. Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık, 2005.

34. Tripathi KD. *Essentials of Medical Pharmacology*. 6 Baskı. India, JP brothers medical publishers, 2008: 613-614.
35. Joseph D. *Pharmacotherapy, A pathophysiological approach*. 8 Baskı. USA, The McGraw Hill companies, Inc, 2011: 370.
36. Wouters K, Shiri-Sverdlov R, van Gorp PJ, van Bilsen M, Hofker MH. Understanding hyperlipidemia and atherosclerosis: lessons from genetically modified apoe and ldlr mice. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 2005, 43: 470-479.
37. Shi WB, Haberland ME, Jien ML, Shih DM, Lusis AJ. Endothelial responses to oxidized lipoproteins determine genetic susceptibility to atherosclerosis in mice. *Circulation*, 2000, 102: 75-81.
38. Hort MA, Straliootto MR, de Oliveira J, Amoedo ND, da Rocha JBT, Galina A, Ribeiro-do-Valle RM, de Bem AF. Diphenyl diselenide protects endothelial cells against oxidized low density lipoprotein-induced injury: Involvement of mitochondrial function. *Biochimie*, 2014, 105: 172-181.
39. Gao W, He HW, Wang ZM, Zhao H, Lian XQ, Wang YS, Zhu J, Yan JJ, Zhang DG, Yang ZJ, Wang LS. Plasma levels of lipometabolism-related miR-122 and miR-370 are increased in patients with hyperlipidemia and associated with coronary artery disease. *Lipids in Health and Disease*, 2012, 11: 55.
40. Nickolas TL, Radhakrishnan J, Appel GB. Hyperlipidemia and thrombotic complications in patients with membranous nephropathy. *Seminars in Nephrology*, 2003, 23: 406-411.
41. Hiraiwa H, Morimoto R, Okumura T, Arao Y, Oishi H, Kato H, Yamaguchi S, Kuwayama T, Haga T, Yokoi T, Kondo T, Watanabe N, Mitsuda T, Fukaya K, Sawamura A, Tanaka A, Ishii H, Morishima I, Tsuboi H, Murohara T. A survival

- case of a young adult patient with ST-elevated myocardial infarction with high levels of lipoprotein(a). *J Cardiol Cases*, 2019, 19: 207-210.
42. Amarenco P, Labreuche J. Lipid management in the prevention of stroke: review and updated meta-analysis of statins for stroke prevention. *Lancet Neurology*, 2009, 8: 453-463.
 43. Gungor L, Polat M, Ozberk MB, Avci B, Abur U. Which Ischemic Stroke Subtype Is Associated with Hyperhomocysteinemia? *Journal of Stroke & Cerebrovascular Diseases*, 2018, 27: 1921-1929.
 44. Belay B, Belamarich PF, Tom-Revzon C. The use of statins in pediatrics: Knowledge base, limitations, and future directions. *Pediatrics*, 2007, 119: 370-380.
 45. Eiland LS, Luttrell PL. Use of statins for dyslipidemia in the pediatric population. *The Journal of Pediatric Pharmacology and Therapeutics*, 2010, 15: 160-172.
 46. Sharma M, Tiwari M, Chandra R. Bis[3-(4'-substituted phenyl)prop-2-ene]disulfides as a new class of antihyperlipidemic compounds. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2004, 14: 5347-5350.
 47. Mahley RW, Bersot TP. Drug therapy for hypercholesterolemia and dyslipidemia. İçinde: Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG (editörler). *Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics.*, New York, McGraw Hill, 2001: 971-1002.
 48. Belloc S, Paoletti R, Corsini A. Atherosclerosis: Evolving vascular biology and clinical implications, safety of statins: focus on clinical pharmacokinetics and drug interactions. *Circulation*, 2004, 109: 50-57.
 49. Mills EJ, Wu P, Chong G, Ghement I, Singh S, Akl EA, Eyawo O, Guyatt G, Berwanger O, Briel M. Efficacy and safety of statin treatment for cardiovascular

- disease: a network meta-analysis of 170 255 patients from 76 randomized trials. *Qjm-an International Journal of Medicine*, 2011, 104: 109-124.
50. Russell DW. The enzymes, regulation, and genetics of bile acid synthesis. *Annual Review of Biochemistry*, 2003, 72: 137-174.
 51. Arnold MA, Swanson BJ, Crowder CD, Frankel WL, Lam-Himlin D, Singhi AD, Stanich PP, Arnold CA. Colesevelam and colestipol: novel medication resins in the gastrointestinal tract. *The American journal of surgical pathology*, 2014, 38: 1530-1537.
 52. Jain KS, Kathiravan MK, Somani RS, Shishoo CJ. The biology and chemistry of hyperlipidemia. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2007, 15: 4674-4699.
 53. Safeer RS, Lacivita CL. Choosing drug therapy for patients with hyperlipidemia. *American family physician*, 2000, 61: 3371-3382.
 54. Staels B, Dallongeville J, Auwerx J, Schoonjans K, Leitersdorf E, Fruchart JG. Mechanism of action of fibrates on lipid and lipoprotein metabolism. *Circulation*, 1998, 98: 2088-2093.
 55. Martin G, Schoonjans K, Lefebvre AM, Staels B, Auwerx J. Coordinate regulation of the expression of the fatty acid transport protein and acyl-CoA synthetase genes by PPARalpha and PPARGgamma activators. *Journal of Biological Chemistry*, 1997, 272: 28210-28217.
 56. Caslake MJ, Packard CJ, Gaw A, Murray E, Griffin BA, Vallance BD, Shepherd J. Fenofibrate and Ldl Metabolic Heterogeneity in Hypercholesterolemia. *Arteriosclerosis and Thrombosis*, 1993, 13: 702-711.
 57. Berthou L, Duverger N, Emmanuel F, Langouet S, Auwerx J, Guillouzo A, Fruchart JC, Rubin E, Deneffe P, Staels B, Branellec D. Opposite regulation of

- human versus mouse apolipoprotein A-I by fibrates in human apolipoprotein A-I transgenic mice. *Journal of Clinical Investigation*, 1996, 97: 2408-2416.
58. Carlson LA. Nicotinic acid: the broad-spectrum lipid drug. A 50th anniversary review. *Journal of Internal Medicine*, 2005, 258: 94-114.
59. Nutescu EA, Shapiro NL. Ezetimibe: A selective cholesterol absorption inhibitor. *Pharmacotherapy*, 2003, 23: 1463-1474.
60. Denke M, Pearson T, McBride P, Gazzara RA, Brady WE, Tershakovec AM. Ezetimibe added to ongoing statin therapy improves LDL-C goal attainment and lipid profile in patients with diabetes or metabolic syndrome. *Diabetes and Vascular Disease Research*, 2006, 3: 93-102.
61. Altmann SW, Davis HR, Zhu LJ, Yao XR, Hoos LM, Tetzloff G, Iyer SPN, Maguire M, Golovko A, Zeng M, Wang LQ, Murgolo N, Graziano MP. Niemann-Pick C1 like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. *Science*, 2004, 303: 1201-1204.
62. Pattis P, Wiedermann CJ. Ezetimibe-associated immune thrombocytopenia. *Annals of Pharmacotherapy*, 2008, 42: 430-433.
63. Shinkai H. Cholesteryl ester transfer-protein modulator and inhibitors and their potential for the treatment of cardiovascular diseases. *Vascular health and risk management*, 2012, 8: 323-331.
64. Llaverias G, Laguna JC, Alegret M. Pharmacology of the ACAT inhibitor avasimibe (CI-1011). *Cardiovascular Drug Reviews*, 2003, 21: 33-50.
65. Lopez-Farre AJ, Sacristan D, Zamorano-Leon JJ, San-Martin N, Macaya C. Inhibition of Acyl-CoA cholesterol acyltransferase by F12511 (Eflucimibe): Could it be a new antiatherosclerotic therapeutic ? *Cardiovascular Therapeutics*, 2008, 26: 65-74.

66. Magnin DR, Biller SA, Wetterau J, Robl JA, Dickson JK, Taunk P, Harrity TW, Lawrence RM, Sun CQ, Wang T, Logan J, Fryszman O, Connolly F, Jolibois K, Kunselman L. Microsomal triglyceride transfer protein inhibitors: Discovery and synthesis of alkyl phosphonates as potent MTP inhibitors and cholesterol lowering agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2003, 13: 1337-1340.
67. Liu CI, Jeng WY, Chang WJ, Ko TP, Wang AHJ. Binding Modes of Zaragozic Acid A to Human Squalene Synthase and Staphylococcal Dehydroisqualene Synthase. *Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287: 18750-18757.
68. Sharma A, Slugg PH, Hammett JL, Jusko WJ. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of a new squalene synthase inhibitor, BMS-188494, in healthy volunteers. *Journal of Clinical Pharmacology*, 1998, 38: 1116-1121.
69. Ugawa T, Kakuta H, Moritani H, Matsuda K, Ishihara T, Yamaguchi M, Naganuma S, Iizumi Y, Shikama H. YM-53601, a novel squalene synthase inhibitor, reduces plasma cholesterol and triglyceride levels in several animal species. *British Journal of Pharmacology*, 2000, 131: 63-70.
70. Ma ZP, Chu CH, Cheng D. A novel direct homogeneous assay for ATP citrate lyase. *Journal of Lipid Research*, 2009, 50: 2131-2135.
71. Li JJ, Wang HX, Tino JA, Robl JA, Herpin TF, Lawrence RM, Biller S, Jamil H, Ponticiello R, Chen LP, Chu C, Flynn N, Cheng D, Zhao RL, Chen BC, Schnur D, Obermeier MT, Sasseville V, Padmanabha R, Pike K, Harrity T. 2-Hydroxy-N-arylbzenesulfonamides as ATP-citrate lyase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2007, 17: 3208-3211.
72. Cao JS, Zhou YJ, Peng HB, Huang XY, Stahler S, Suri V, Qadri A, Gareski T, Jones J, Hahm S, Perreault M, Mckew J, Shi MX, Xu X, Tobin JF, Gimeno RE. Targeting Acyl-CoA:Diacylglycerol Acyltransferase 1 (DGAT1) with Small

- Molecule Inhibitors for the Treatment of Metabolic Diseases. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286: 41838-41851.
73. Horie M, Sawasaki Y, Fukuzumi H, Watanabe K, Iizuka Y, Tsuchiya Y, Kamei T. Hypolipidemic Effects of Nb-598 in Dogs. *Atherosclerosis*, 1991, 88: 183-192.
 74. Rozman D, Monostory K. Perspectives of the non-statin hypolipidemic agents. *Pharmacology & Therapeutics*, 2010, 127: 19-40.
 75. Bell CD, Donoghue MJ. Phylogeny and biogeography of Valerianaceae (Dipsacales) with special reference to the South American valerians. *Organisms Diversity & Evolution*, 2005, 5: 147-159.
 76. Backlund A, Moritz T. Phylogenetic implications of an expanded valepotriate distribution in the Valerianaceae. *Biochemical Systematics and Ecology*, 1998, 26: 309-335.
 77. Aronson JK. *Meyler's side effects of drugs: the international encyclopedia of adverse drug reactions and interactions*. Baskı. Elsevier, 2016.
 78. Richardson IBK. A revision of the genus *Centranthus* DC.(Valerianaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 1975, 71: 211-234.
 79. Makki R, Dirani ZE, Rammal H, Sweidan A, Al Bazzal A, Chokr A. Antibacterial activity of two Lebanese plants: *Eryngium creticum* and *Centranthus longiflorus*. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, 2015, 6: 1-5.
 80. Zengin G, Nithiyanantham S, Locatelli M, Ceylan R, Uysal S, Aktumsek A, Selvi PK, Maskovic P. Screening of in vitro antioxidant and enzyme inhibitory activities of different extracts from two uninvestigated wild plants: *Centranthus longiflorus* subsp *longiflorus* and *Cerinthe minor* subsp *auriculata*. *European Journal of Integrative Medicine*, 2016, 8: 286-292.

81. Coban T, Citoglu GS, Sever B, Iscan M. Antioxidant activities of plants used in traditional medicine in Turkey. *Pharmaceutical Biology*, 2003, 41: 608-613.
82. Askin H, Yilmaz B, Bakirci S, Ayar A. imultaneous determination of α -amyrin and β -sitosterol in *Centranthus longiflorus* Stev. Subsp. *longiflorus* Stev and *Iris taochia* Woronow ex Grossh by GC-MS method. *Progress in Nutrition*, 2018, 20: 209-217.
83. Bouic PJD, Clark A, Lamprecht J, Freestone M, Pool EJ, Liebenberg RW, Kotze D, van Jaarsveld PP. The effects of B-sitosterol (BSS) and B-sitosterol glucoside (BSSG) mixture on selected immune parameters of marathon runners: Inhibition of post marathon immune suppression and inflammation. *International Journal of Sports Medicine*, 1999, 20: 258-262.
84. Pegel KH. The importance of sitosterol and sitosterolin in human and animal nutrition. *South African Journal of Science*, 1997, 93: 263-268.
85. Paniagua-Perez R, Madrigal-Bujaidar E, Reyes-Cadena S, Molina-Jasso D, Gallaga JP, Silva-Miranda A, Velazco O, Hernandez N, Chamorro G. Genotoxic and cytotoxic studies of beta-sitosterol and pteropodine in mouse. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2005: 242-247.
86. Alernany L, Barbera R, Alegria A, Laparra JM. Plant sterols from foods in inflammation and risk of cardiovascular disease: A real threat? *Food and Chemical Toxicology*, 2014, 69: 140-149.
87. Ulbricht CE. An Evidence-Based Systematic Review of Beta-Sitosterol, Sitosterol (22,23- dihydrostigmasterol, 24-ethylcholesterol) by the Natural Standard Research Collaboration. *Journal of dietary supplements*, 2016, 13: 35-92.

88. Xu GH, Guan L, Sun JL, Chen ZY. Oxidation of Cholesterol and beta-Sitosterol and Prevention by Natural Antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57: 9284-9292.
89. Moon EJ, Lee YM, Lee OH, Lee MJ, Lee SK, Chung MH, Park YI, Sung CK, Choi JS, Kim KW. A novel angiogenic factor derived from Aloe vera gel: beta-sitosterol, a plant sterol. *Angiogenesis*, 1999, 3: 117-123.
90. Yeshurun D, Gotto AM. Drug-Treatment of Hyperlipidemia. *American Journal of Medicine*, 1976, 60: 379-396.
91. Jesch ED, Carr TP. Sitosterol reduces micellar cholesterol solubility in model bile. *Nutrition Research*, 2006, 26: 579-584.
92. Gupta MB, Nath R, Srivastava N, Shanker K, Kishor K, Bhargava KP. Anti-inflammatory and antipyretic activities of beta-sitosterol. *Planta medica*, 1980, 39: 157-163.
93. Begum TN, Ilyas MHM, Anand AV. Antipyretic activity of Azima tetracantha in experimental animals. *International Journal of Current Biomedical and Pharmaceutical Research*, 2011, 1: 41-44.
94. Loizou S, Lekakis I, Chrousos GP, Moutsatsou P. Beta-sitosterol exhibits anti-inflammatory activity in human aortic endothelial cells. *Molecular nutrition & food research*, 2010, 54: 551-558.
95. Valerio M, Awad AB. beta-Sitosterol down-regulates some pro-inflammatory signal transduction pathways by increasing the activity of tyrosine phosphatase SHP-1 in J774A.1 murine macrophages. *International immunopharmacology*, 2011, 11: 1012-1017.
96. Ivorra MD, D'Ocon MP, Paya M, Villar A. Antihyperglycemic and insulin-releasing effects of beta-sitosterol 3-beta-D-glucoside and its aglycone, beta-

- sitosterol. *Archives internationales de pharmacodynamie et de thérapie*, 1988, 296: 224-231.
97. Song YS, Jin C, Park EH. Identification of metabolites of phytosterols in rat feces using GC/MS. *Archives of Pharmacal Research*, 2000, 23: 599-604.
 98. Vivancos M, Moreno JJ. beta-sitosterol modulates antioxidant enzyme response in RAW 264.7 macrophages. *Free Radical Biology and Medicine*, 2005, 39: 91-97.
 99. Plat J, Mensink RP. Plant stanol and sterol esters in the control of blood cholesterol levels: Mechanism and safety aspects. *The American Journal of Cardiology*, 2005, 96: 15-22.
 100. Richter WO, Geiss HC, Sonnichsen AC, Schwandt P. Treatment of severe hypercholesterolemia with a combination of beta-sitosterol and lovastatin. *Current Therapeutic Research-Clinical and Experimental*, 1996, 57: 497-505.
 101. Weingartner O, Bohm M, Laufs U. Controversial role of plant sterol esters in the management of hypercholesterolaemia. *European Heart Journal*, 2009, 30: 404-409.
 102. Breu W, Hagenlocher M, Redl K, Tittel G, Stadler F, Wagner H. Anti-inflammatory activity of sabal fruit extracts prepared with supercritical carbon dioxide. In vitro antagonists of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase metabolism. *Arzneimittel-forschung*, 1992, 42: 547-551.
 103. Gupta R, Sharma AK, Dobhal MP, Sharma MC, Gupta RS. Antidiabetic and antioxidant potential of beta-sitosterol in streptozotocin-induced experimental hyperglycemia. *Journal of diabetes*, 2011, 3: 29-37.
 104. Assmann G, Cullen P, Erbey J, Ramey DR, Kannenberg F, Schulte H. Plasma sitosterol elevations are associated with an increased incidence of coronary events in men: results of a nested case-control analysis of the Prospective Cardiovascular

- Munster (PROCAM) study. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases*, 2006, 16: 13-21.
105. Thongtang N, Lin J, Schaefer EJ, Lowe RS, Tomassini JE, Shah AK, Tershakovec AM. Effects of ezetimibe added to statin therapy on markers of cholesterol absorption and synthesis and LDL-C lowering in hyperlipidemic patients. *Atherosclerosis*, 2012, 225: 388-396.
106. Malini T, Vanithakumari G. Rat toxicity studies with beta-sitosterol. *Journal of ethnopharmacology*, 1990, 28: 221-234.
107. Villasenor IM, Angelada J, Canlas AP, Echegoyen D. Bioactivity studies on beta-sitosterol and its glucoside. *Phytotherapy research*, 2002, 16: 417-421.
108. Raj AS, Katz M. Corn oil and its minor constituents as inhibitors of DMBA-induced chromosomal breaks in vivo. *Mutation research*, 1984, 136: 247-253.
109. Maguire L, Konoplyannikov M, Ford A, Maguire AR, O'Brien NM. Comparison of the cytotoxic effects of beta-sitosterol oxides and a cholesterol oxide, 7beta-hydroxycholesterol, in cultured mammalian cells. *The British journal of nutrition*, 2003, 90: 767-775.
110. MacLatchy D, Peters L, Nickle J, van Der Kraak G. Exposure to β -sitosterol alters the endocrine status of goldfish differently than 17 β -estradiol. *Environmental toxicology and chemistry*, 1997, 16: 1895-1904.
111. Nieminen P, Polonen I, Ikonen K, Maattanen M, Mustonen AM. Evaluation of reproductive safety of beta-sitosterol on the American mink (*Neovison vison*). *Chemosphere*, 2008, 71: 493-499.
112. Li J, Wang X, Liu H, Guo H, Zhang M, Mei D, Liu C, He L, Liu L, Liu X. Impaired hepatic and intestinal ATP-binding cassette transporter G5/8 was associated with high exposure of beta-sitosterol and the potential risks to blood-

- brain barrier integrity in diabetic rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2014, 66: 428-436.
113. Cinar I, Sirin B, Aydin P, Toktay E, Cadirci E, Halici I, Halici Z. Ameliorative effect of gossypin against acute lung injury in experimental sepsis model of rats. *Life Sciences*, 2019, 221: 327-334.
114. Kotan R, Cakir A, Dadasoglu F, Aydin T, Cakmakci R, Ozer H, Kordali S, Mete E, Dikbas N. Antibacterial activities of essential oils and extracts of Turkish Achillea, Satureja and Thymus species against plant pathogenic bacteria. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2010, 90: 145-160.
115. Lauer MS, Fontanarosa PB. Updated guidelines for cholesterol management. *Jama-Journal of the American Medical Association*, 2001, 285: 2508-2509.
116. Zarzecki MS, Araujo SM, Bortolotto VC, de Paula MT, Jesse CR, Prigol M. Hypolipidemic action of chrysin on Triton WR-1339-induced hyperlipidemia in female C57BL/6 mice. *Toxicology reports* 2014, 1: 200-208.
117. Tan EY, Hartmann G, Chen Q, Pereira A, Bradley S, Doss G, Zhang AS, Ho JZ, Braun MP, Dean DC, Tang W, Kumar S. Pharmacokinetics, Metabolism, and Excretion of Anacetrapib, a Novel Inhibitor of the Cholesteryl Ester Transfer Protein, in Rats and Rhesus Monkeys. *Drug Metabolism and Disposition*, 2010, 38: 459-473.
118. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 1979, 95: 351-358.
119. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72: 248-254.

120. Walton K, Walker R, van de Sandt JJM, Castell JV, Knapp AGAA, Kozianowski G, Roberfroid M, Schilter B. The application of in vitro data in the derivation of the acceptable daily intake of food additives. *Food and Chemical Toxicology*, 1999, 37: 1175-1197.
121. Ahmad S, Beg ZH. Evaluation of therapeutic effect of omega-6 linoleic acid and thymoquinone enriched extracts from *Nigella sativa* oil in the mitigation of lipidemic oxidative stress in rats. *Nutrition*, 2016, 32: 649-655.
122. Baldissera MD, Souza CF, Grando TH, Doleski PH, Boligon AA, Stefani LM, Monteiro SG. Hypolipidemic effect of beta-caryophyllene to treat hyperlipidemic rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2017, 390: 215-223.
123. Harnafi H, Caid HS, Bouanani NE, Aziz M, Amrani S. Hypolipemic activity of polyphenol-rich extracts from *Ocimum basilicum* in Triton WR-1339-induced hyperlipidemic mice. *Food Chemistry*, 2008, 108: 205-212.
124. Goldfarb S. Rapid increase in hepatic HMG CoA reductase activity and in vivo cholesterol synthesis after Triton WR 1339 injection. *Journal of Lipid Research*, 1978, 19: 489-494.
125. da Rocha JT, Speranca A, Nogueira CW, Zeni G. Hypolipidaemic activity of orally administered diphenyl diselenide in Triton WR-1339-induced hyperlipidaemia in mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2009, 61: 1673-1679.
126. Kasetti RB, Rajasekhar MD, Kondeti VK, Fatima SS, Kumar EGT, Swapna S, Ramesh B, Rao CA. Antihyperglycemic and antihyperlipidemic activities of methanol:water (4:1) fraction isolated from aqueous extract of *Syzygium alternifolium* seeds in streptozotocin induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*, 2010, 48: 1078-1084.

127. Jasmine R, Daisy P. Hypoglycemic and Hepatoprotective Activity of *Eugenia jambolana* in Streptozotocin-Diabetic Rats. *International Journal of Biological Chemistry*, 2007, 1: 117–121.
128. Pallottini V, Martini C, Cavallini G, Bergamini E, Mustard KJ, Hardie DG, Trentalance A. Age-related HMG-CoA reductase deregulation depends on ROS-induced p38 activation. *Mechanisms of Ageing and Development*, 2007, 128: 688-695.
129. Li ZS, Wang YN, van der Sluis RJ, van der Hoorn JWA, Princen HMG, Van Eck M, Van Berkel TJC, Rensen PCN, Hoekstra M. Niacin reduces plasma CETP levels by diminishing liver macrophage content in CETP transgenic mice. *Biochemical Pharmacology*, 2012, 84: 821-829.
130. Espindola PPD, da Rocha PD, Carollo CA, Schmitz WO, Pereira ZV, Vieira MD, dos Santos EL, Souza KD. Antioxidant and Antihyperlipidemic Effects of *Campomanesia adamantium* O. Berg Root. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı: Seda AŞKIN Doğum tarihi: 26.04.1982 Doğum yeri: Erzurum Medeni hali: Evli Uyruğu: T.C. Adres: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı, 25240 ERZURUM Tel: 0442 234 6612 Faks: 0442 234 1050 E-mail: seda.askin@atauni.edu.tr
Eğitim
Lise: Atatürk Süper Lisesi (1996- 2000) Lisans: Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü (2002-2006) Yüksek lisans: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı (2007-2010) Doktora: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı (20012-2019)
Yabancı Dil Bilgisi
İngilizce: İyi (ÜDS: 76.250, Mart 2012)

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 75296309-050.01.04-E.1700238622
Konu : HADYEK Kararı.

25.08.2017

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 14.08.2017 tarihli ve 42190979-000-E.1700224647 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 24.08.2017 tarih ve 7 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 106 no'lu kararı ile sözkonusu tez çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğuna mevcut oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinize arz ederim.

Toplantı Tarihi: 24.08.2017

Toplantı Sayısı : 7

KARAR N0 106: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Fatma Zühal UMUDUM'un yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülecek olan **"Hiperkolesterolemi Ratlarda *Centranthus longiflorus* Bitkisinin Anacetrapib İle Kombinasyonunun Oksidatif Stres Üzerine Etkisinin Biyokimyasal ve Moleküler Olarak Araştırılması"** başlıklı tez çalışması ile ilgili Tıp Fakültesi Dekanlığının 14.08.2017 tarih ve 42190979-000-E.1700224647 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen tez çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Prof.Dr. Fikret ÇELEBİ
Kurul Başkanı

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum
Tel: +90 442 2317222
Elektronik Ağ: <http://www.atauni.edu.tr/#!birim=veteriner-fakultesi>

Kep Adresi: atauni@hs01.kep.tr

Bilgi: Mehmet KOCA
Faks: +90 442 2317244
E-Posta: vetfak@atauni.edu.tr



Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
www.atauni.edu.tr adresinden doğrulama yapabilirsiniz. Doğrulama Kodu=0681B09

EK-3. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Doktora Tezi olarak Prof. Dr. Fatma Zühal UMUDUM danışmanlığında sunulan Hiperkolesterolemi Ratlarda *Centranthus longiflorus* Bitkisinin Anacetrapi ile Kombinasyonunun Oksidatif Stres Üzerine Etkisinin Biyokimyasal ve Moleküler Olarak Araştırılması” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Sağlık Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	% 0	15
Genel Bilgiler	% 4	30
Materyal ve Metod	% 8	35
Bulgular	% 10	10
Tartışma	% 0	15

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz. 02 / 07/ 2019

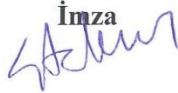
Öğr. Gör. Seda AŞKIN

Prof. Dr. Fatma Zühal UMUDUM

Öğrenci Adı-Soyadı

Danışman Adı-Soyadı

İmza



İmza



* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

EK-4. DOKTORA TEZ SAVUNMA SINAVI TUTANAĞI



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



DOKTORA TEZ SAVUNMA SINAVI TUTANAĞI (Tez başlığı değişiklik önerisi olanlar için) (FORM: 22)

ÖĞRENCİ BİLGİLERİ

Adı ve Soyadı : Seda AŞKIN
Programı (Fakülte/Y.Okul) : Tıp Fakültesi
Anabilim Dalı : Tıbbi Biyokimya

Danışmanı : Prof. Dr. Fatma Zühal UMUDUM
Ortak Danışman :

Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 02.07.2019 ve 1900194640 sayılı kararıyla oluşturulan tez savunma sınavı jürisi, **Hiperkolesterolemili Ratlarda Centranthus longiflorus Bitkisinin Anacetrapib ile Kombinasyonunun Oksidatif Stres Üzerine Etkisinin Biyokimyasal ve Moleküler Olarak Araştırılması.....** başlıklı doktora tezini incelemiş ve adayı 29.07.2019 tarihinde, saat 10 : 00'da tez savunma sınavına tabi tutmuştur.

DEĞERLENDİRME VE SONUÇ:

- ☐ Jüri raporlarının tartışılması sonucunda **başarıyla** savunulan tezin **KABUL EDİLMESİNE**,
- ☐ Jüri raporlarının tartışılması sonucunda, ... ay ek süre verilerek tezin **DÜZELTİLMESİNE**,
- ☐ Jüri raporlarının tartışılması sonucunda tezin **REDDEDİLMESİNE**,
- ☒ ancak konu ve içeriği değişmeksizin tez başlığının **Hiperkolesterolemi oluşturulmuş ratlarda Centranthus longiflorus ve β -Sitosterolün Oksidatif Stres ve Lipid Profili Üzerine Etkilerinin Biyokimyasal İncelenmesi** olarak düzenlenmesine,

☒ OY BİRLİĞİ

☐ OY ÇOKLUĞU ile karar verilmiştir.

Tez Sınav Jürisi	Unvanı, Adı Soyadı	İmza
Başkan	: Prof. Dr. Nuri BAKAN	
Üye	: Prof. Dr. Fatma Zühal UMUDUM	
Üye	: Prof. Dr. Taha Abdulkadir ÇOBAN	
Üye	: Doç. Dr. Hamit Hakan ALP	
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Zafer BAYRAKTUTAN	
Üye	:	
Üye	:	