

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**DENEYSEL HİPERKOLESTEROLEMİ
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA LİKOPENİN
KOLESTEROL DÜZEYLERİ ve OKSİDATİF STRES
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Dilek ATEŞŞAHİN

Doktora Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Orhan ERMAN

EYLÜL-2016

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DENEYSEL HİPERKOLESTEROLEMİ OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA LİKOPENİN KOLESTEROL DÜZEYLERİ ve OKSİDATİF STRES
ÜZERİNE ETKİLERİ

DOKTORA TEZİ

Dilek ATEŞŞAHİN
(101110203)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 12 Ağustos 2016

Tezin Savunulduğu Tarih: 23 Eylül 2016

Tez Danışmanı:
İkinci Danışman:
Diğer Jüri Üyeleri:

Prof. Dr. Orhan ERMAN (F.Ü.)

Prof. Dr. Kadir SERVİ (F.Ü.)

Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ (F.Ü.)

Prof. Dr. Gürdal DAĞOĞLU (F.Ü.)

Prof. Dr. Ümit İNCEKARA (ATATÜRK ÜNİ.)

Prof. Dr. Engin ŞAHNA (F.Ü.)

Doç. Dr. Hasan TÜRKEZ (E.T.Ü.)

EYLÜL-2016

ÖNSÖZ

Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında doktora eğitimimin yürütülmesini sağlayan, her zaman desteğini yanımda hissettiğim, kendisinden çok şey öğrendiğim danışman hocam Prof. Dr. Orhan ERMAN ve ikinci danışman hocam Prof. Dr. Kadir Servi'ye teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında bana sağladıkları yardım ve desteklerden, laboratuvar imkanlarından dolayı Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine ve Prof. Dr. Gürdal DAĞOĞLU'na teşekkürü borç bilirim. Ayrıca tezime sağladıkları katkılardan dolayı Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Engin ŞAHNA'ya, hiperkolesterolemik yemin yapımında bana yardımcı olan İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. İsmet YILMAZ'a teşekkür ederim. Deneylerim sırasında bana yardımcı olan Yüksek Ecz. Dilşad SEZGİN ve Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde araştırma görevlisi olan Dr. İ.Ozan TEKELİ ile Fırat Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezi çalışanlarına teşekkürü borç bilirim.

Tez konunun belirlenmesi, projelendirilmesi ve sonuçlandırılmasında en fazla emek ve katkısı olan Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Ahmet ATEŞŞAHİN'e teşekkür ederim.

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi (FÜBAP) tarafından FF.13.25 no'lu proje olarak desteklemiştir. Çalışmaya sağladıkları maddi destekten dolayı FÜBAP'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET	VI
SUMMARY	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ	VII
TABLolar LİSTESİ	X
KISALTMALAR LİSTESİ	XI
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Kolesterolün Keşfi.....	2
1.2. Kolesterolün Biyosentezi.....	2
1.3. Kolesterolün kanda taşınması.....	5
1.3.1. Plazma Lipoproteinleri	6
1.3.1.1. Şilomikronlar	6
1.3.1.2. Çok düşük dansiteli lipoproteinler (Very Low Density Lipoprotein, VLDL).....	6
1.3.1.3. Düşük yoğunluklu lipoprotein (Low Density Lipoprotein, LDL).....	7
1.3.1.4. Yüksek yoğunluklu lipoproteinler (High Density Lipoprotein, HDL).....	8
1.4. Kolesterol Metabolizmasının Bozulmasıyla Ortaya Çıkan Bazı Hastalıklar	10
1.4.1. Ateroskleroz	13
1.4.1.1. Aterosklerotik lezyonlar	13
1.4.2. Kardiyovasküler Hastalıklar	14
1.4.3. Böbrek Hastalıkları.....	15
1.4.4. Kanser	16
1.5. Hipolipidemik (lipid düşürücü) İlaçlar	17
1.5.1. HMG-KoA Redüktaz Sentezini Azaltan İlaçlar (Statinler)	17
1.5.2. Statinlerin Yan Etkileri.....	19
1.6. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar.....	23
1.7. Karotenoidler	23
1.7.1. Likopen.....	24
1.7.2. Likopenin Fiziksel ve Kimyasal Yapısı	25
1.7.3. Likopenin Alınımı, Metabolizması ve Doku Dağılımı.....	26
1.7.4. Likopenin Metabolizması ve Etki Mekanizması	27
1.7.5. Likopenin Biyokimyasal Etkileri.....	28
1.7.5.1. Oksidatif Etkileri	28

1.7.5.2. Oksidatif olmayan etkileri	29
1.7.6. Likopenin Bazı Hastalıklar Üzerine Etkileri	30
1.7.6.1. Kanser.....	30
1.7.6.2. Kardiyovasküler Hastalıklar	30
1.7.6.3. Osteoporoz.....	31
1.7.6.4. Diğer hastalıklar	32
1.8. Likopenin Kolesterol Metabolizması Üzerine Etkisi	33
1.9. Likopenin Günlük Alım Miktarı.....	35
1.10. Amaç.....	36
2. MATERYAL VE METOT	36
2.1. Materyal.....	37
2.1.1. Kullanılan Alet ve Cihazlar	37
2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	37
2.1.3. Deney Hayvanları	37
2.1.4. Deney Grupları	38
2.1.5. Hiperkolesterolemik Yemin Hazırlanışı.....	39
2.1.6. Örneklerin Alınması ve Hazırlanması	39
2.1.7. Homojenatların Hazırlanması.....	39
2.2. Metot.....	40
2.2.1. Doku MDA Düzeylerinin Ölçümü	40
2.2.2. Doku GSH Düzeylerinin Ölçümü.....	42
2.2.3. Doku Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi Ölçümü.....	43
2.2.4. Doku Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesi Ölçümü.....	44
2.2.5. Doku Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesinin Ölçümü	46
2.2.6. Doku Protein Ölçümü.....	46
2.2.7. Lipit Parametreleri ve Karaciğer Fonksiyon Testlerinin Ölçümü	47
2.2.8. Dokuların Histopatolojik İncelenmesi.....	48
2.2.9. İstatistiksel Analizler	48
3. BULGULAR	48
3.1. Canlı Ağırlık Değişimleri	48
3.2. Biyokimyasal Parametreler.....	49
3.2.1. Doku MDA Düzeyleri	49
3.2.2. Doku GSH Düzeyleri.....	52
3.2.3. Doku SOD Aktiviteleri.....	55
3.2.4. Doku CAT Aktiviteleri.....	57
3.2.5. Doku GSH-Px Aktiviteleri	60

3.2.6. Serum Lipit Parametreleri	62
3.2.7. Karaciğer Fonksiyon Testleri	65
3.2.8. Histopatolojik Bulgular	65
3.2.8.1. Karaciğerde Mikroskopik Bulgular	65
3.2.8.2. Böbrekte Mikroskopik Bulgular	68
3.2.8.3. Aortta Mikroskopik Bulgular	71
4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA	73
KAYNAKLAR.....	84
ÖZGEÇMİŞ	96



ÖZET

Bu çalışmada, hiperkolesterolemi oluşturulmuş sıçanlarda oksidatif stres parametreleri ve serum kolesterol düzeyleri üzerine likopenin muhtemel koruyuculuğunun araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada Sprague-Dawley ırkı 28 adet erkek sıçan, her grupta 7 hayvan olacak şekilde toplam 4 gruba ayrıldı. Çalışma süresi 8 hafta olarak belirlendi. Gruplar Kontrol, Likopen (10 mg/kg likopen), Hiperkolesterolemi (HK, %2 kolesterol+%0,5 kolik asit içeren yem) ve HK+Likopen olarak belirlendi. Çalışmanın sonunda sıçanlar dekapite edilerek karaciğer, böbrek, kalp ve beyin dokuları biyokimyasal parametreler için; karaciğer, böbrek ve aort dokuları ayrıca histopatolojik incelemeler için alındı. Lipit parametreleri ve karaciğer fonksiyon testleri için kan örnekleri toplandı.

HK grubu sıçanlar Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, karaciğer dokusu MDA, GSH düzeyleri ve CAT aktivitelerinde azalma görüldü ($p<0,05$). HK+Likopen grubunda MDA düzeyinde herhangi bir değişiklik sağlamazken, GSH düzeyinde anlamlı ($p<0,05$) artışlar sağlamıştır. HK grubu sıçanlarda Kontrole göre, böbrek dokusu MDA ve GSH düzeyleri ile SOD, GSH-Px ve CAT aktivitelerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmadı. HK grubu kalp dokusu GSH düzeylerinde anlamlı azalmalar ($p<0,05$) olduğu, eş zamanlı likopen uygulamaları artışa neden olmuştur ($p>0,05$). HK grubunda beyin dokusu MDA düzeylerinde artışlar olurken($p<0,05$), diğer oksidatif stres parametrelerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0,05$).

Hiperkolesterolemik diyetin lipit parametrelerinde (total kolesterol, trigliserit, LDL, VLDL) artışa ($p<0,001$), eş zamanlı likopen uygulamasının ise bu parametrelerde kısmen iyileşmelere neden olduğu görüldü. HK grubunda AST, ALT ve GGT düzeylerinde artışlara ($p<0,05$), eş zamanlı likopen uygulamalarının ise bu parametrelerde azalmaya ($p>0,05$) neden olduğu gözlemlendi. Ayrıca hiperkolesterolemik diyetin HK grubunda karaciğer ve böbrek dokusunda histopatolojik değişimlere yol açtığı, HK+Likopen grubunda bu değişimlerin daha hafif olduğu görüldü.

Sonuç olarak kolesterolden zengin diyetle beslenmenin oksidatif stres parametrelerinde ve serum kolesterol düzeylerinde kısmen yükselmelere neden olduğu, buna karşılık likopenin bu parametrelerde iyileşmeler sağladığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Hiperkolesterolemi, likopen, oksidatif stres, kolesterol düzeyleri, sıçan.

SUMMARY

The Effects of Lycopene on Cholesterol Levels and Oxidative Stress on Experimentally Induced Hypercholesterolemia in Rats

The aim of the present study was to investigate the possible protective effects of lycopene on oxidative stress and lipid parameters in rats induced hypercholesterolemia experimentally. A total of 28 adult Sprague-Dawley rats were divided equally into 4 groups and each group has 7 rats. The period of experiment was 8 weeks. Groups were identified as Control, Lycopene (10 mg/kg lycopene), Hypercholesterolemia (HK, %2 cholesterol+ %0,5 cholic-acid contained diet) and HK+Lycopene. At the end of the study, the rats were decapitated and liver, kidney, heart, and brain tissues were isolated for the biochemical parameters; also liver, kidney and aort tissues were taken for the histopathological studies. Blood samples were collected for the lipid parameters and liver function tests.

MDA and GSH levels and CAT activities of liver tissues in the HK group rats were decreased as compared to control group. MDA levels of HK+Lycopene group no such differences were observed, but significant increases were produced in the GSH levels. In the rats of HK group, MDA and GSH levels as well as SOD, GSH-Px and CAT activities of kidney tissue did not show any significant changes when compared to control. GSH levels of heart tissue of HK group were significantly decreased, these levels were seen to increase by the simultaneous lycopene applications. MDA levels of brain tissue in HK group were increased, the other oxidative stress parameters were not observed to change significantly. Hypercholesterolemic diet were found to be increased in the lipid parameters (total cholesterol, triglyceride, LDL, VLDL) simultaneous lycopene administration caused partial ameliorations in these parameters. AST, ALT and GGT levels of HK group were found to be increased, simultaneous lycopene administration caused decreases in these parameters. Furthermore, hypercholesterolemic diet caused histopathological changes in the liver and kidney tissues of HK group, while these modifications were seen milder in the HK+Lycopene group.

Consequently, cholesterol-rich diet was found to increase the oxidative stress parameters and serum cholesterol levels, while lycopene caused to amelioration of these parameters.

Key Words: Hypercholesterolemia, lycopene, oxidative stress, cholesterol levels, rat.

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Kolesterolün kimyasal yapısı	2
Şekil 2. Kolesterolün biyosentezi	5
Şekil 3. Ters kolesterol taşınması	9
Şekil 4. (A) Lipoprotein bileşenlerinin yapısı ve (B) Lipoprotein bileşenlerinin yoğunluk ve çap ilişkisi	10
Şekil 5. Aterosklerozun gelişimi	14
Şekil 6. Statinlerin mevalonat yolağına etkileri	19
Şekil 7. Likopenin kimyasal yapısı	25
Şekil 8. MDA standart eğri grafiği	41
Şekil 9. GSH standart eğri grafiği	42
Şekil 10. Karaciğer dokusu MDA düzeyleri	50
Şekil 11. Böbrek dokusu MDA düzeyleri	50
Şekil 12. Kalp dokusu MDA düzeyleri	51
Şekil 13. Beyin dokusu MDA düzeyleri	52
Şekil 14. Karaciğer dokusu GSH düzeyleri	52
Şekil 15. Böbrek dokusu GSH düzeyleri	53
Şekil 16. Kalp dokusu GSH düzeyleri	54
Şekil 17. Beyin dokusu GSH düzeyleri	54
Şekil 18. Karaciğer dokusu SOD aktiviteleri	55
Şekil 19. Böbrek dokusu SOD aktiviteleri	56
Şekil 20. Kalp dokusu SOD aktiviteleri	56
Şekil 21. Beyin dokusu SOD aktiviteleri	57
Şekil 22. Karaciğer dokusu CAT aktiviteleri	58
Şekil 23. Böbrek dokusu CAT aktiviteleri	58
Şekil 24. Kalp dokusu CAT aktiviteleri	59
Şekil 25. Beyin dokusu CAT aktiviteleri	59
Şekil 26. Karaciğer dokusu GSH-Px aktiviteleri	60
Şekil 27. Böbrek dokusu GSH-Px aktiviteleri	61
Şekil 28. Kalp dokusu GSH-Px aktiviteleri	61
Şekil 29. Beyin dokusu GSH-Px aktiviteleri	62
Şekil 30. Gruplara ait karaciğerin histopatolojik görünümü.	67

Şekil 31. Gruplara ait karaciğerin histopatolojik görünümü.	68
Şekil 32. Gruplara ait böbreğin histopatolojik görünümü.	70
Şekil 33. Gruplara ait böbreğin histopatolojik görünümü.	71
Şekil 34. Gruplara ait aortun histopatolojik görünümü.	72



TABLÖLAR LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. İnsan plazmasındaki lipoproteinlerin ana sınıfları.....	10
Tablo 2. Yetişkinlerde lipit parametrelerin referans değerleri.....	12
Tablo 3. Bazı meyve ve sebzelerin likopen içeriği	24
Tablo 4. Bazı domates ürünlerinin likopen içeriği	25
Tablo 5. Dokulardaki likopen seviyeleri.....	28
Tablo 6. Çalışmada kullanılan sıçanlara verilen standart yemin besin madde bileşimi	38
Tablo 7. Araştırmaya alınan sıçanların canlı ağırlıkları.....	49
Tablo 8. Araştırmaya alınan sıçanların serum lipit profili	64
Tablo 9. Araştırmaya alınan sıçanların karaciğer fonksiyon testleri	64
Tablo 10. Karaciğerlerde tespit edilen lezyonların gruplara göre şiddeti	66
Tablo 11. Böbreklerde tespit edilen lezyonların gruplara göre şiddeti	69

KISALTMALAR LİSTESİ

ACAT	: Ail-koenzim A:kolesterol ailtransferaz
ALT	: Alanin aminotransferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
BSA	: Bovin serum albümin
CAT	: Katalaz
CK	: Kreatin kinaz
DTNB	: 5,5'-ditiyo-bis-2-nitrobenzoik asit
eNOS	: Endotelyal nitrik oksit sentaz
FDA	: Besin ve ilaç yönetimi (Food and Drug Administration)
GGT	: Gama glutamil transferaz
GSH	: İndirgenmiş glutatyon
GSH-Px	: Glutatyon peroksidaz
H&E	: Hematoksilin&Eosin
HMG-KoA	: β -hidroksi- β -metilglutaril-KoA
HDL	: Yüksek yoğunluklu lipoproteinler (High Density Lipoprotein)
HK	: Hiperkolesterolemi
KCl	: Potasyum klorür
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein (Low Density Lipoprotein)
ox-LDL	: Okside LDL
MDA	: Malondialdehit
NBT	: Nitroblue tetrazolium
NCEP	: Ulusal Kolesterol Eğitim Programı (National Cholesterol Education Program)
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
sAMP	: Siklik Adenozin Mono Fosfat
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBA	: Tiyoarbitürik asit
TCA	: Trikloroasetik asit
LCAT	: Lesitin kolesterol ail transferaz
VLDL	: Çok düşük dansiteli lipoproteinler (Very Low Density Lipoprotein)

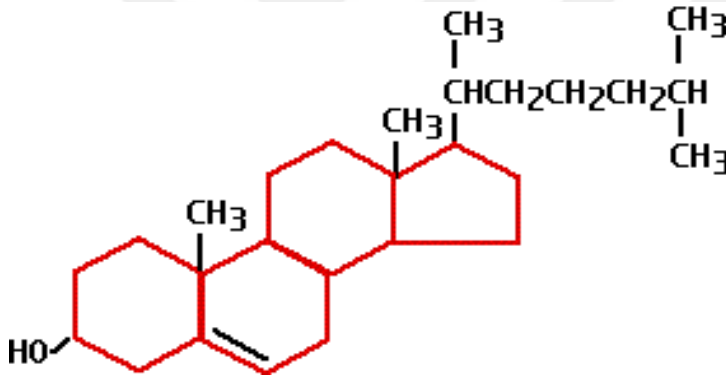
1. GİRİŞ

Kolesterol en iyi bilinen lipidlerden biridir ancak insanlarda özellikle kalp damar hastalıklarının oluşumunda, kandaki yüksek kolesterol seviyelerinin önemli roller üstlenmesinden dolayı, halk arasında kötü olarak bilinmektedir. Kolesterolün safra asitleri, steroid hormonlar ile D vitamini sentezinde öncül madde olarak kullanılması ve hücre membranlarının yapısal bileşeni olması daha az bilinmektedir. Kolesterol, insan ve hayvanlarda temel bir molekül olmasına karşın bu canlıların diyetlerinde bulunması gerekmez. Çünkü hemen tüm hücreler kolesterolü kolayca sentezleyebilirler (Nelson ve Cox, 2013). Vücuttaki tüm hücrelere sürekli olarak kolesterol sağlanması hayati bir önem taşır. Hücrelerde bu gereksinim için kompleks taşıma sistemleri, biyosentez ve diğer düzenleyici mekanizmalar mevcuttur. Karaciğer vücudun kolesterol homeostazının düzenlenmesinde temel bir işlev yürütür. Karaciğerdeki kolesterolün önemli bir kısmı gıdalarla alınan kolesterolden oluşurken, karaciğer ve diğer dokularda *de novo* olarak sentezlenen kolesterol de önemli bir yer tutmaktadır. Kolesterol karaciğer tarafından ya değişmemiş olarak ya da safra tuzlarına dönüştürülerek safra yoluyla bağırsaklara salıverilir. Aynı zamanda kolesterol plazma lipoproteinlerinin bir bileşeni olarak periferik dokulara taşınmaktadır. Plazmada yüksek kolesterol düzeyleri ile ateroskleroz arasındaki ilişkiyi ortaya koyan çok sayıda epidemiyolojik çalışmalar mevcuttur. Dokularda, özellikle de damarların endotel tabakasında kademeli olarak kolesterol birikimi, plak oluşumuna bağlı daralma (ateroskleroz) ve koroner arter hastalıkları gibi yaşamı tehdit edebilecek bozukluklar ortaya çıkarabilir (Champe vd., 2007).

Dünyada her yıl yaklaşık 17,5 milyon insan ateroskleroz ve bununla ilişkili kardiyovasküler hastalıklarından ölmektedir (Leopold ve Loscalzo, 2009). Ateroskleroz ve buna bağlı kardiyovasküler hastalıkların gelişmesi ve ilerlemesindeki en önemli risk faktörlerinden biri hiperkolesterolemidir. Hiperkolesterolemi; serumda Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (Low Density Lipoprotein, LDL) ve kanda kolesterolün yükselmesiyle tanımlanan bir lipoprotein metabolik hastalığıdır. Aşırı serbest oksijen radikalleri ve azalan nitrik oksit ürünlerinin bir sonucu olarak artan oksidatif stres, hiperkolesterolemi ve aterosklerozun kronik inflamatuvar cevaplarında önemli bir rol oynamaktadır (Mildner-Szkudlarz ve Bajerska, 2013).

1.1. Kolesterolün Keşfi

Kolesterol ilk kez Fransız kimyacı M.E. Chevreul tarafından 1815 yılında insan safra taşındaki bir bileşen olarak bulunmuş ve kolesterin olarak adlandırılmıştır. Kolesterolün moleküler formülü 1888 yılında F. Reinitzer tarafından $C_{27}H_{46}O$ olarak belirlenmiştir. Heinrich Wieland 1927 yılında kolesterol ve kolik asidin yapısı üzerine yaptığı çalışma ile kimya dalında Nobel ödülü kazanmıştır. 1928 yayınlanan kolesterolün dört halkalı ilk yapısının aslında pek de doğru olmadığı ortaya çıkmış ve 1932 yılında X-ray çalışmalarıyla gerçekleştirilen çeşitli revizyonlar sonucu kolesterolün gerçek yapısı tam olarak ortaya konulmuştur. Kolesterolün biyosentezini ise 1952 yılında Kondrad Bloch özetlemiş ve 1964'te bu çalışmasından dolayı Nobel ödülü almıştır (Vance ve Van den Bosch, 2000).



Şekil 1. Kolesterolün kimyasal yapısı

1.2. Kolesterolün Biyosentezi

Karaciğer, bağırsak, adrenal korteks ile yumurtalık, testis ve plesanta gibi üreme ile ilgili dokular vücudun kolesterol havuzuna en geniş ölçekte katkıyı yapsalar da kolesterol vücuttaki tüm dokularda sentezlenmektedir. Yağ asitlerinde olduğu gibi kolesterolde de tüm karbonlar asetat tarafından sağlanır ve nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) indirgeyici eşdeğerleri temin eder. Sentez yolağı asetil KoA'nın yüksek enerjili tiyoester bağının ve ATP'nin terminal fosfat bağının hidrolizi ile sürdürülür. Sentez sitozoldeki ve endoplazmik retikulum membranındaki enzimlerle beraber sitoplazmada gerçekleşir. Sentez

yolağı kolesterol konsantrasyonundaki değişimlere duyarlıdır, vücutta kolesterol sentezi hızını kolesterol atılım hızına göre dengeleyecek düzenleyici mekanizmalar mevcuttur. Bu düzenleyici sistemde herhangi bir dengesizlik dolaşımdaki kolesterol düzeyinin artışına ve koroner arter hastalığı olasılığına yol açabilir (Champe vd., 2007).

Kolesterol biyosentezi dört aşamada gerçekleşir;

1- Mevalonatın asetattan sentezi: Kolesterol biyosentezindeki birinci evre mevalonat ara ürününün oluşumudur. İki molekül asetil-KoA birleşerek asetoasetil- KoA'yı oluşturur, bu da üçüncü bir asetil-KoA molekülü ile birleşerek altı karbonlu bir bileşik olan β -hidroksi- β -metilglutaril-KoA (HMG-KoA)'yı oluşturur. Buradaki ilk iki tepkime sırasıyla *tiyolaz* ve *HMG-KoA sentaz* tarafından katalizlenir. Bu yolakta aktivite gösteren sitozolik *HMG-KoA sentaz* keton cisimlerinin oluşumunu sentezleyen mitokondriyel *HMG-KoA sentaz* izoenziminden farklıdır.

Üçüncü tepkime iki NADPH molekülünün her biri tarafından sağlanan iki elektronla HMG-KoA'nın mevalonata indirgendiğı tepkimedir ve bu durum aynı zamanda hız sınırlayıcı basamağı oluşturur. Düz endoplazmik retikulumun integral zar proteini olan *HMG-KoA redüktaz* kolesterol biyosentez yolundaki önemli bir düzenleme noktasıdır.

2- Mevalonatın iki adet aktif izopren birimine dönüşmesi: Kolesterol sentezinin sonraki evresinde üç ATP'den üç fosfat grubu mevalonata transfer edilir. Fosfat, mevalonatın C-3 hidroksil grubuna bağlanarak 3-fosfo-5-pirofosfomevalonat ara ürünü oluşturur. Daha sonraki basamakta hem fosfat grubu hem de yakınındaki karboksil grubu ayrılarak çift bağ içeren beş karbonlu Δ^3 -izopentilpirofosfatı meydana getirir. Bu kolesterol oluşumundaki aktif iki izoprenden ilkidir. Δ^3 -izopentilpirofosfatın ikinci aktifleşmiş izoprenle izomerleşmesi ise dimetilallil pirofosfatı oluşturur. İzopentil pirofosfatın bitki hücrelerinin sitoplazmasındaki sentezi burada tarif edildiğı şekilde gerçekleşmektedir. Bununla beraber, birçok bakteride ve bitki hücrelerinin kloroplastlarında mevalonata bağlı bu yolak kullanılır. Bu alternatif yolak hayvanlarda olmadığından, özellikle yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi için ilgi çekici bir hedef olarak görülmektedir.

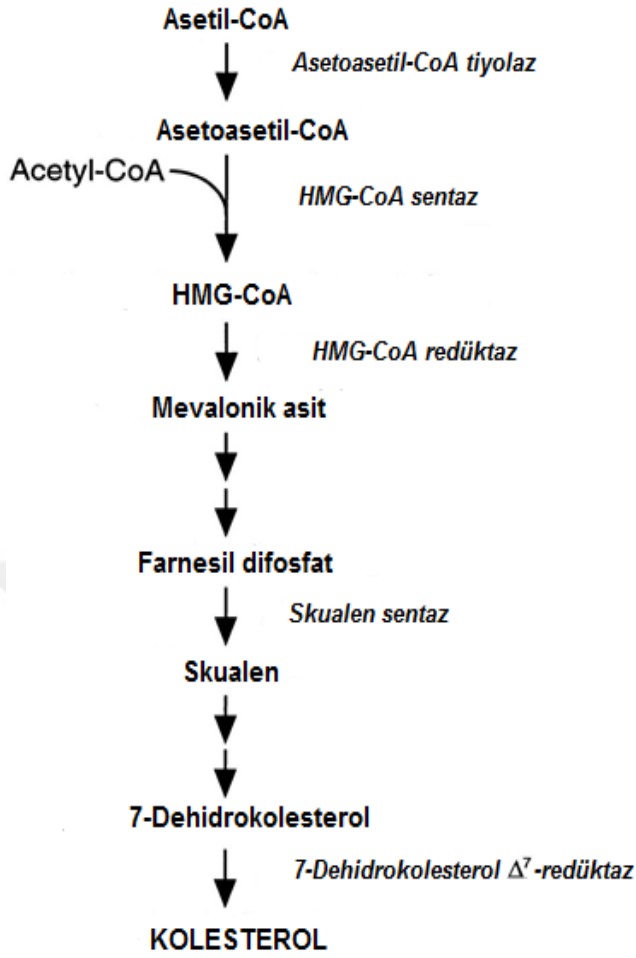
3- Altı adet aktifleşmiş izopren biriminin skualeni oluşturmak üzere kondensasyonu: İzopentil pirofosfat ve dimetilallil pirofosfat baş-kuyruk birleşmesine uğrar. Bu olayda bir pirofosfat grubu molekülden ayrılır ve 10 karbonlu geranil pirofosfat oluşur. Geranil pirofosfatın başka bir izopentil pirofosfatla baş-kuyruk kondensasyonu sonucu 15 karbonlu ara ürün olan farnesil pirofosfat oluşur. Son olarak iki molekül farnesil

pirofosfat molekülünün baş-başa kondensasyonu sonucu her iki pirofosfat grubu da ayrılır ve **skualen** yapısı oluşur.

4- Skualenin dört halkalı steroid çekirdeğine dönüşmesi: Sterollerin hepsi dört kaynaşmış halkaya sahiptir (steroid çekirdeği) ve tümünde C-3'te alkol grubu bulunur ve bu nedenle **sterol** olarak adlandırılırlar. *Skualen monooksijenaz*'ın etkisi ile O₂'den alınan bir oksijen atomu epoksit oluşturmak üzere skualen zincirinin ucuna eklenir. O₂ molekülünün diğer oksijen atomunu NADPH, H₂O'ya indirger. Skualen 2,3-epoksit ürününün çift bağları doğrusal skualen epoksidi halka yapısına çevirebilecek şekilde konumlanmıştır. Hayvan hücrelerinde bu halkalaşma steroid çekirdeğin dört karakteristik halkasını taşıyan **lanosterol**ün oluşumuyla sonuçlanır. Lanosterolde de dört halkalı karakteristik steroid çekirdeği vardır. Sonuç olarak lanosterol, bazı metil gruplarının taşınmasını ve bazılarının uzaklaştırılmasını içeren 20 tepkimeden oluşan bir dizi olayların sonunda **kolesterole** dönüşür.

Kolesterol hayvan hücrelerine özgü bir steroldür; bitkiler, mantarlar ve protistler başka sterollerini kullanırlar. Skualen 2,3-epoksidi kadar tüm canlılar aynı sentez yolunu kullanarak, kolesterol yerine diğer sterollerini yaparlar. Sentez yolu bu noktada, birçok bitkide stigmasterolü ve mantarlarda ergosterol gibi diğer sterollerini oluşturmak üzere değişiklik gösterir.

Omurgalılarda kolesterol sentezinin çoğu karaciğerde meydana gelir. Kolesterolün küçük bir bölümü hepatosit zarlarının içinde gerçekleştirilir. Üretilen kolesterolün çoğu safra kolesterolü, safra asitleri veya kolesterol esterleri şeklinde dışarı atılır (Nelson ve Cox, 2013; Russell, 1992).



Şekil 2. Kolesterolün biyosentezi

1.3. Kolesterolün kanda taşınması

Kolesterol ve kolesterol esterleri de triaçilgliseroller ve fosfolipitler gibi suda çözünmezler. Bu nedenle sentezlendikleri dokudan ya depolanacakları hedef dokuya taşınmaları ya da tüketilmeleri gerekmektedir. Plazma lipoproteinleri kanda özgül taşıyıcı proteinlerin makromoleküler kompleksleri ve apolipoproteinler şeklinde taşınırlar. Apolipoproteinler triaçilgliserol, fosfolipit, kolesterol ve kolesterol esterlerinin farklı oranlarda biraraya gelmesinden oluşmaktadır.

Apolipoproteinler ("apo" ön eki proteinin lipitsiz olduğunu gösterir) lipoprotein parçalarının lipidlerle birleşmesi sonucu oluşur. Hidrofobik lipidler küresel komplekslerin iç kısmına, hidrofilik yan zincirli aminoasitler ise komplekslerin yüzeyine yönelir. Proteinlerin ve lipidlerin farklı bileşimleri şilomikronlar ve çok düşük yoğunluklu proteinlerden yüksek

yoğunluklu lipoproteinlere kadar farklı yoğunluklarda lipoprotein partikülleri üretir (Nelson ve Cox, 2013).

1.3.1. Plazma Lipoproteinleri

Plazma lipoproteinleri; trigliserit, kolesterol ve fosfolipit gibi lipitler ile bir ya da birden fazla spesifik proteinden (apolipoprotein) oluşan suda çözünebilir makromoleküllerdir. Lipoproteinler ağırlıklarına göre farklı sınıflara ayrılırlar ve ultrasantrifüj yöntemleri ile birbirlerinden ayrılabilirler. İnsanlardaki plazma lipoproteinleri yaygın olarak dört sınıfta incelenirler (Mahley vd., 1984).

1.3.1.1. Şilomikronlar

En büyük lipoproteinler şilomikronlardır. Şilomikronlar besin kaynaklı trigliseritleri taşıyan, en büyük molekül (molekül ağırlığı 10^6 - 10^7 kilodalton) ve en düşük yoğunluklu lipoproteinlerdir. Kitesinin %85 kadarını trigliseritler, %5 kadarını ise kolesterol oluşturur. İnce barsak epitel hücrelerinde sentezlendikten sonra lenf sistemi tarafından taşınırlar ve kan dolaşımına girerler. Şilomikronların apolipoproteinleri apoB-48 (bu lipoprotein sınıfına özgüdür), apoE ve apoC-II'dir. ApoC-II lipoprotein *lipaz* aktivitesine sahiptir ve adipoz doku, kalp, iskelet kası ve süt salgılayan meme dokularında bu dokulara serbest yağ asitlerinin salgılanmasını sağlar. Şilomikronlar diyetle alınan yağ asitlerini ya kullanılabacakları ya da yakıt olarak depolanacakları dokulara taşırlar. Daha sonra şilomikron kalıntıları kan dolaşımıyla karaciğere taşınırlar. Bu kalıntıların içinde hemen hiç triaçilgliserol kalmamıştır, ancak hala kolesterol, apoE, apoB-48 bulunmaktadır. Karaciğerdeki reseptörler şilomikron kalıntılarındaki apoE'ye bağlanırlar ve onları endositozla hücre içine alırlar. Karaciğere girdikten sonra kalıntılarda bulunan kolesterol serbest kalır ve lizozomlarda parçalanır (Mahley vd., 1984; Nelson ve Cox, 2013).

1.3.1.2. Çok düşük dansiteli lipoproteinler (Very Low Density Lipoprotein, VLDL)

Daha küçük molekülü lipoproteinler olup, yaklaşık %50 oranında endojen trigliserit ve %24 oranında kolesterol içerir. VLDL partikülleri karaciğerde serbest yağ asitleri ile gliserolün esterleşmesi sonucu oluşan trigliserit moleküllerinin, apoB-100 molekülleri ile

birleştirilmesi sonucu oluşur. Birleştirmeyi mikrozomal trigliserit transfer molekülleri sağlar. Diyetle, yüksek miktarda yağ asidi bulunduğunda, karaciğerde triağılglicerollere dönüştürülürler ve özgül apolipoproteinlerle VLDL'ye paketlenirler. Diyetteki karbonhidrat fazlası da karaciğerde triağılglicerollere dönüştürülebilir ve VLDL olarak dolaşıma verilir. VLDL'ler triağılglicerollere ek olarak, bir miktar kolesterol ile apoB-100, apoC-1, apoC-2, apoC-3 ve apoE gibi kolesterol esterlerini de içerir. Bu lipoproteinler kan yoluyla karaciğerden kaslara ve adipoz dokuya taşınır. Bu dokularda apoC-2 tarafından *lipoproteinlipaz*'ın aktifleşmesiyle VLDL triağılkolesterolde serbest yağ asitlerinin salınımına sebep olur. Adipositler bu yağ asitlerini alıp triağılkolesterolde dönüştürürler ve hücre içi yağ damlacıklarında depolarlar. Buna karşılık miyositler yağ asitlerini oksitleyerek enerji kaynağı olarak kullanılırlar. VLDL kalıntılarının çoğu dolaşımdan hepatositler tarafından uzaklaştırılır. Bu kalıntıların endositozu da şilomikronlarda olduğu gibi reseptör desteklidir ve VLDL kalıntılarında apoE olup olmadığına bağlıdır. Triağılglicerolün kaybı VLDL'nin bir miktarını orta yoğunluklu lipoprotein olarak da isimlendirilen VLDL kalıntısına dönüştürür (Kayaalp, 2009; Nelson ve Cox, 2013).

1.3.1.3. Düşük yoğunluklu lipoprotein (Low Density Lipoprotein, LDL)

VLDL'den triağılglicerol kaybı devam ederse LDL'ye dönüşür. Bir başka değışle LDL, VLDL katabolizmasının son ürününü temsil eder ve plazmada başlıca kolesterol taşıyan lipoproteindir (Mahley vd., 1984). LDL parçacığı yaklaşık 22 nm çapında, merkezinde 170 trigliserit ve 1600 kolesterol ester molekülü bulundurmaktadır. Yüzeyinde ise tek sıra halinde 700 civarında fosfolipit molekülü ile bir adet apoB-100 bulunur. Bunların dışında 600 civarında esterleşmemiş kolesterol molekülü içerir. Az oranda trigliserit ve kolesterol esterlerinin hücre yüzeyine doğru penetre olduğu unutulmamalıdır. Başlıca fosfolipit bileşenleri fosfatidilkolin ve sfingomiyelin molekülleri (Hevonoja vd., 2000).

Kolesterol ve kolesterol esterleri açısından çok zengin olan ve ana apolipoprotein olarak da apoB-100'ü içeren LDL'ler karaciğer dışındaki dokulara kolesterol taşır. Bu dokuların apoB-100'ü tanıyan özgül plazma zar reseptörleri vardır. Bu reseptörler aşağıda açıklanacağı üzere kolesterol ve kolesterol esterlerinin hücre içine alınmasını sağlarlar (Nelson ve Cox, 2013).

Kan dolaşımındaki her bir LDL parçacığı apoB-100 içerir. ApoB-100 LDL reseptörleri olarak bilinen özgül yüzey reseptörleri tarafından tanınır ve hücreler kolesterolü içeriye

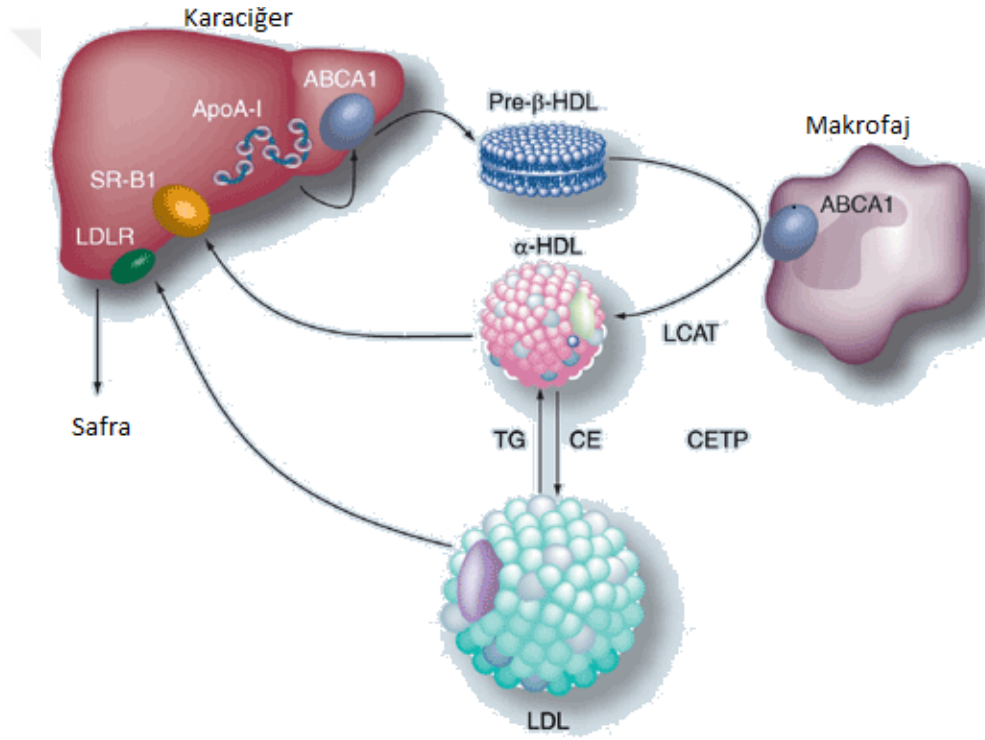
almak için bu reseptörlere ihtiyaç duyarlar. Kolesterol esterlerini hidrolizleyen enzimler genellikle lizozomda bulunur. Lizozom sayesinde kolesterol esterleri hidrolizlenir ve kolesterol ile yağ asitleri sitozole bırakılır. LDL’de bulunan apoB-100 kendisini oluşturan aminoasitlere kadar parçalanır ve sitozole salınır; fakat LDL reseptörü yıkımdan kurtulur, hücre yüzeyine geri döner ve LDL yakalama işlevine devam eder. VLDL’de apoB-100 bulunmasına rağmen, onun reseptör bağlanma bölgesi LDL reseptörüne bağlanmak için uygun değildir. VLDL’deki apoB-100’ün reseptör bağlanma bölgesi VLDL’nin LDL’ye dönüşmesine sebep olur. Kolesterolün kandaki taşınması ve hedef dokular tarafından **reseptör destekli endositozu** uzun yıllardan beri ortaya konmuştur. Bu yolla hücrelerin içine giren kolesterol zar yapısına katılabilir veya sitozolik lipid damlacıkları içerisinde depolanmak için *açıl-koenzim A:kolesterol açıltransferaz (ACAT)* tarafından tekrar esterleştirilebilir. Kandaki LDL’den yeterli kolesterol alındığı zaman, hücre içerisinde aşırı kolesterolün birikmesini önlemek için kolesterol sentez hızı düşürülür (Brown ve Goldstein, 1986; Nelson ve Cox, 2013).

1.3.1.4. Yüksek yoğunluklu lipoproteinler (High Density Lipoprotein, HDL)

Büyük çoğunluğu karaciğerde olmak üzere ince bağırsakta da üretilirler. Proteince zengin parçacıklarının içerisinde az miktarda kolesterol bulunurken, kolesterol esterleri hiç bulunmaz. HDL’ler apoA-I, apoC-I ve apoC-II ve diğer apolipoproteinleri ve bunlara eş miktarda da *lesitin kolesterol açıl transferaz (LCAT)* içerirler. *LCAT* lesitin (fosfatidil kolin) ve kolesterolden kolesterol esterlerinin oluşumunu katalizler. Yeni oluşmaya başlayan HDL parçacığının yüzeyindeki *LCAT* şilomikron ve VLDL kalıntılarındaki kolesterol ve fosfatidil kolini, kolesterol esterlerine dönüştürür ve bir çekirdek yapı oluşmaya başlar. Yeni oluşan disk şeklindeki HDL olgunlaşırken değişir ve küresel HDL parçacığı oluşur. Kolesterolce zengin lipoprotein daha sonra karaciğere döner, kolesterol burada lipoproteinden ayrılır ve bir bölümü safra tuzlarına dönüşür (Nelson ve Cox, 2013).

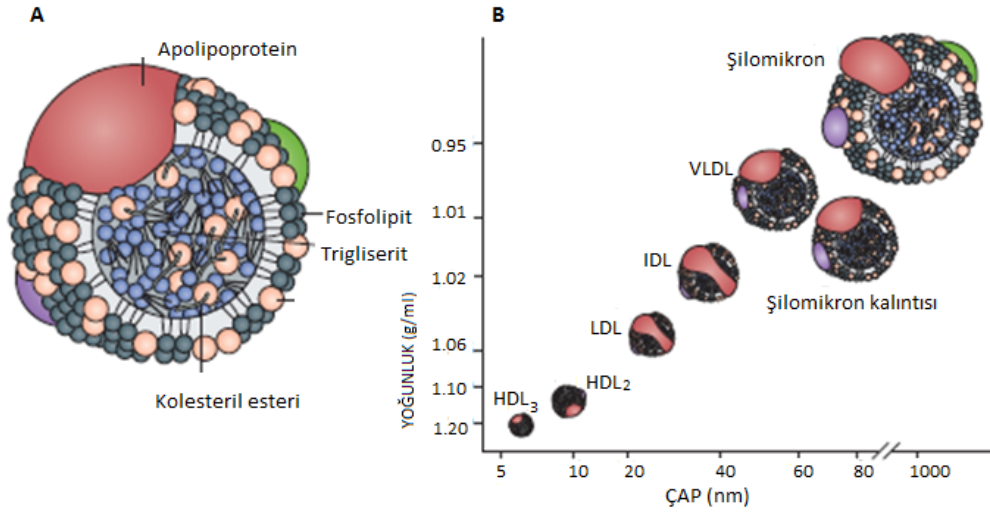
HDL reseptör destekli endositozla karaciğere alınabilir ama HDL’deki kolesterolün en azından bir bölümü farklı olarak diğer dokulara taşınır. HDL, adrenal salgı bezlerindeki steroidik ve hepatik dokularda bulunan ve SR-BI olarak isimlendirilen plazma zarı reseptör proteinine bağlanabilir. Bu reseptörler endositoza yardım etmez, ancak seçici olarak ve kısmen kolesterolün ve diğer lipidlerin hücre içine taşınmasını sağlar. Tükenmiş olan HDL daha sonra kan dolaşımından ayrıldığında ortaya şilomikronlardan ve VLDL kalıntılarından

daha çok lipit ortaya çıkar. Tükenmiş olan HDL karaciğer dışındaki dokularda kolesterolü depolar ve onu tekrar karaciğere taşır. Bu yola **ters kolesterol taşınması** denir. Ters taşıma yolunun birincisinde, yeni oluşmaya başlayan HDL'nin kolesterolce zengin hücrelerdeki SR-BI reseptörleriyle etkileşmesi kolesterolün hücre yüzeyinden HDL'nin içerisine pasif taşınmasını uyarır. Bu şekilde HDL içine giren kolesterol daha sonra karaciğere geri taşınır. İkinci yolda boşalmış HDL'deki apoA-1 kolesterolce zengin hücrelerdeki bir aktif taşıyıcı ile (ABCA1 proteiniyle) etkileşir. ApoA-1 (ve muhtemelen HDL) endositozla alınır, kolesterolün yüklenmesinden sonra yeniden kan dolaşımına döner ve aldığı kolesterolü karaciğere taşır (Champe vd., 2007).



Şekil 3. Ters kolesterol taşınması

HDL partikülleri sadece ters kolesterol taşınmasıyla değil, aynı zamanda anti-enflamatuar ve antioksidatif özellikleri ile önemlidir. Proteomik çalışmalar HDL üzerinde apoA-1 ve apoA-2'ye ilave olarak 100'den fazla proteinin olduğunu göstermiştir. Bazı HDL partikülleri çok özel biyolojik rollere sahip bazı protein komplekslerinin oluşumunda görev almaktadırlar (Schaefer vd., 2014).



Şekil 4. (A) Lipoprotein bileşenlerinin yapısı ve (B) Lipoprotein bileşenlerinin yoğunluk ve çap ilişkisi (Ridker, 2014).

Tablo 1. İnsan plazmasındaki lipoproteinlerin ana sınıfları

Lipoprotein	Yoğunluk	Protein (kütlece)	Fosfolipit (kütlece)	Serbest Kolesterol (kütlece %)	Kolesterol Esterleri (kütlece %)	Triaçil Gliseroller (kütlece %)
Şilomikron	<1,006	2	9	1	3	85
VLDL	0,95-1,006	10	18	7	12	50
LDL	1,006-1,063	23	20	8	37	10
HDL	1,063-1,210	55	24	2	15	4

1.4. Kolesterol Metabolizmasının Bozulmasıyla Ortaya Çıkan Bazı Hastalıklar

Sağlıklı bir yaşam için kolesterol homeostazının korunması hayati önem taşımaktadır. Bu denge kolesterolün sentezi, emilimi, metabolizması ve atılımı ilgili genlerin düzenleyici iletişimi ile sağlanır. Kolesterol düzeyindeki artışlar hiperkolesterolemiye neden olur. Hiperkolesterolemi, ateroskleroz ile ilişkili koroner ve serebrovasküler hastalıklar için önemli risk faktörlerinden biridir. Kolesterol reseptör aracılı endositoz yoluyla plazma LDL'den ve novo hücre sel sentez yollarıyla elde edilir. Hücrelerde fazla miktarda kolesterol birikiminin önlenmesi, iç ve dış kolesterol kaynakları arasındaki dengenin korunması ile sağlanmaktadır. Bu denge üç farklı yolla korunur. Bunlardan ilki hücre içinde HMG-KoA'nın mevalonata indirgeyici deaçilasyonunu düzenleyen *HMG-KoA redüktaz*

aktivitesinin inhibisyonu ile kolesterol sentezinin baskılanmasıdır. İkinci yol ise fazla kolesterolün esterleştirmesi ve depolamasını sağlayan ACAT'ın kolesterol aktivasyonunu içerir. Üçüncü yol ise LDL reseptörü sentezinin kolesterolü baskılamasını ve böylece hücreleri fazla kolesterol birikiminden korumasını içermektedir (Paloza vd., 2012).

Kolesterolden zengin diyetler serbest radikal oluşumuna yol açarak oksidatif strese ve hiperkolesterolemiye neden olabilmektedir. Diğer bir deyişle oksidatif stres, hiperkolesterolemi ve ateroskleroz ile ilişkili faktörlerden biridir (Ismail vd., 2009). Oksidatif stres lipit yüklü makrofajların oluşumu ve inflamasyonun gelişimine neden olarak aterosklerozun patogeneğinde kritik rol oynar (Byon vd., 2008). Kalıcı hiperkolesterolemi; oksidatif stresi artıran ve LDL'nin okside LDL (ox-LDL)'ye oksidatif modifikasyonuna neden olan, LDL üretimi ve sekresyonundaki artışla, LDL sirkülasyon periyodunun uzaması sonucu oluşur (Vazquez-Castilla vd., 2013).

Deneyisel modellerde, ateroskleroz gelişimi esnasında, türler arasında önemli farklılıklar gözlenirse de, serum ve doku kolesterol seviyelerini yükseltmek için kolesterolle beslemek sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Hiperkolesterolemide prooksidan ve antioksidan dengenin prooksidanlara doğru kaydığı bildirilmiştir. Deneyisel olarak yüksek kolesterol diyetiyle beslenen hayvanlarla yapılmış birçok çalışmada plazma, plazma lipoproteinleri, eritrosit ve birçok dokuda oksidatif stres parametrelerinde artışın olduğu gözlenmiştir. Benzer artışlar hiperkolesterolemik insanlarda da bulunmuştur. Bu gözlemlere dayanarak çeşitli antioksidanların ve kolesterolü düşüren ajanların hiperkolesterolemi üzerine potansiyel rolleri araştırılmıştır (Küçükgergin vd., 2010).

Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Kolesterol Eğitim Programı (National Cholesterol Education Program, NCEP) katılımcıları, III. Yetişkin tedavi panelinde (Adult treatment panel, ATP III) yetişkinlerdeki lipit parametrelerinin referans aralığını şöyle belirlemişlerdir;

Tablo 2. Yetişkinlerde lipit parametrelerin referans değerleri (NCEP, 2001)

Parametre	Değerler (mg/dL)
Total Kolesterol	<200; Kabul edilebilir
	200-239; Sınırdaki yüksek
	≥240; Yüksek
LDL	<100; Optimal
	100-129; Kabul edilebilir
	130-159; Sınırdaki yüksek
	≥190; Çok yüksek
HDL	<40; Düşük
	≥60; Yüksek
Trigliserit	<150; Normal
	150-199; Yüksek sınırdaki
	200-499; Yüksek
	≥500; Çok yüksek

Ailesel hiperkolesterolemi ise plazma LDL kolesterol konsantrasyonlarını düzenleyen dört gende oluşan kusurlardan kaynaklanan, otozomal dominant bir hastalık olarak tanımlanır. Bu genler LDL reseptör (LDLR), apolipoprotein B, proprotein konvertaz subtilisin/keksin tip 9 (PCSK9), adaptör protein ((LDLRAP) ya da otozomal resesif hiperkolesterolemi (ARH) protein)'dir. Çoğu zaman ailesel hiperkolesterolemi plazmadaki yüksek LDL düzeyi, erken koroner kalp hastalığı ve dislipidemi aile öyküsü, ksantom varlığı ve bu dört gendeki mutasyon varlığı ile teşhis edilir. Ailesel hiperkolesterolemi doğumdan itibaren yüksek LDL düzeyi ile karakterizedir ve erken başlayan koroner kalp hastalıkları ile ilişkilidir (Santos ve Maranhao, 2014).

Ateroskleroz kronik inflamatuvar bir hastalık olup, arter duvarı içinde meydana gelir. Miyokardiyal enfarktüs, felç ve periferik damarlar gibi damarsal komplikasyonların temelini oluşturan nedenlerden biridir. Aterogenez; uzun yıllar boyunca, başlangıç fazı apolipoprotein B içeren lipoproteinlerin subendotelial birikimi olan bir süreçtir. Bu partiküller endotel hücrelerinin aktivasyonuna neden olan oksidasyon ve hidrolizin de dahil olduğu çeşitli modifikasyonlara uğrayabilirler (Jonathan ve Feig, 2014). Aterosklerozun gelişimi multifaktöriyel bir olaydır. Serum kolesterol seviyesi, sigara, yaşam tarzı, HDL/LDL oranı, enfeksiyonlar ve aterosklerozu indükleyen transplantasyonlar gibi immün mekanizmalarla arasında ilişki kurulmuştur (Mehta vd., 1997).

1.4.1. Ateroskleroz

Ateroskleroz; endotel disfonksiyonu, hücre dışı lipit birikimi ve LDL'nin oksidasyonu, lökositlerin bir araya toplanması, hücre içi lipit birikimi ve köpük hücre oluşumu ile aterosklerotik lezyonların oluşumunu kapsayan uzun bir süreçtir (Zengin, 2012).

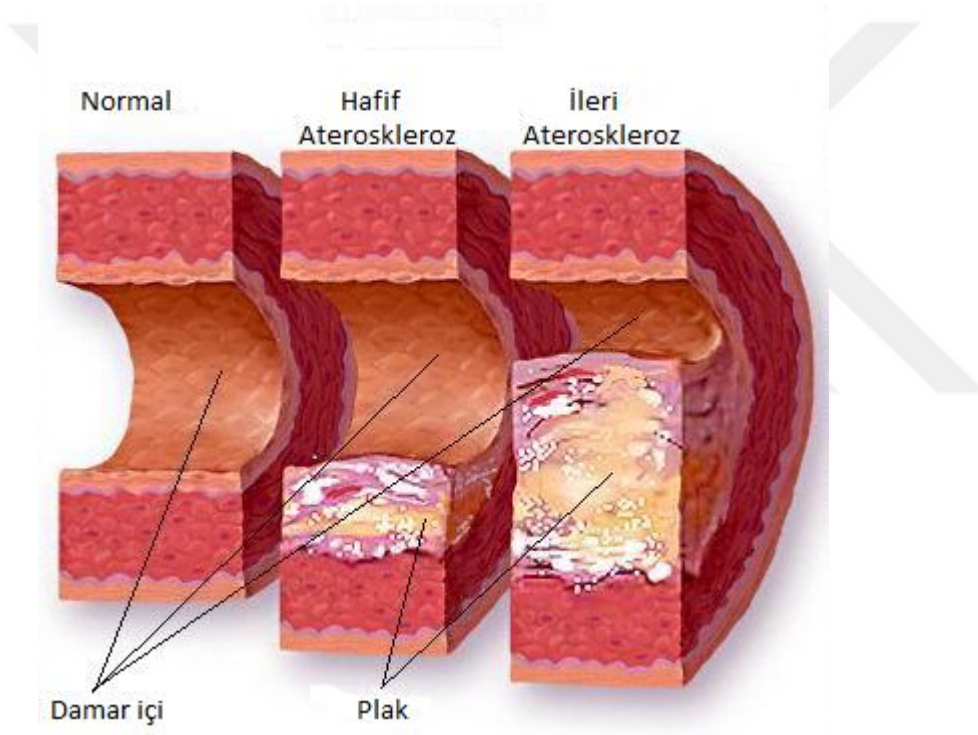
Aterosklerozun başlangıç basamağını damar endotelinin disfonksiyonu oluşturmaktadır. LDL'nin yükselmesi veya modifiye olması; sigara tüketimi, hipertansiyon ve diyabet sonucu oluşan serbest radikaller; genetik farklılaşmalar, yükselmiş plazma homosistein konsantrasyonu, enfeksiyonlar ya da diğer birçok faktör ateroskleroza yol açan endotel disfonksiyonun muhtemel sebepleridir (Ross, 1999).

Oksidasyon, glikasyon (diyabetlerde) ve agregasyon ile modifiye olan LDL endotel ve altındaki düz kas hasarının başlıca nedenleri arasındadır. LDL partikülleri bir arterde tutulduklarında öncelikle oksidasyona uğrar ve makrofajlar tarafından kendi bünyelerine alınırlar. Bu alım lipit peroksidasyonun meydana gelmesine ve köpük hücre oluşumuyla sonuçlanan kolesterol esterlerinin birikimine yol açar. LDL'nin modifiye olma derecesi büyük ölçüde değişebilir. LDL ilk olarak modifiye edilir, makrofajlar tarafından alınır ve köpük hücreleri aktive eder. Modifiye LDL'nin ayrılıp uzaklaştırılması, makrofajların inflamatuvar cevap ile endotelial ve düz kas hücrelerindeki etkilerini azaltmada önemli bir adımdır. E vitamini gibi antioksidanlar modifiye LDL tarafından oluşturulan serbest radikalleri azaltırlar (Ross, 1999). Fagosit olan LDL'ler parçalanır ve kolesterol esterleri şeklinde depo edilirler. Kolesterol esterleri hücre içinde yağ damlacıkları oluştururlar ve makrofaj lipit yüklü köpük hücresine dönüşür. Depo işlemi köpük hücrelerinin apoptozisine kadar devam eder (Zengin, 2012).

1.4.1.1. Aterosklerotik lezyonlar

Yağlı çizgilenme; aterosklerozun ilk lezyonudur ve lümende darlığa yol açmaz. Çok sayıda köpük hücresinin intimada birikmesiyle oluşur ve makroskobik olarak damar lümeninde sarı çizgiler olarak görülür. Lezyonun ilerlemesi kandaki LDL düzeyinin artmasıyla gerçekleşir. Fibröz plak; makroskobik olarak bakıldığında genellikle lümene doğru büyüyen beyaz renkli lezyonlar olarak görülür. Mikroskobik olarak incelendiğinde ise lipit çekirdek, çok miktarda düz kas hücreleri, makrofajlar, köpük hücreleri, T lenfositler ve ekstraselüler matriks bulunur. Lezyon ilerledikçe hücre dışı lipit ilerlemeye başlar çünkü

köpük hücrelerinin apoptozisi sonucu depo kolesterol açığa çıkar. Lümeninden geçen lipoproteinler az kısmını oluşturur. Olgunlaşan aterom plağında lipit çekirdeğinin üzeri fibröz başlık ile örtülüdür. Komplike lezyonlar ise enflamatuvar hücre ve fibröz dokuya ek olarak hematoma ya da trombüs içeren plaklardır. Lipit çekirdeğin etrafındaki makrofajlarca salınan enzimler fibröz kapsülün matriksini parçalar. Ayrıca aktive olmuş makrofajlarca salınan IL-1 β , TNF α ve T lenfositlerden salınan INF- γ düz kas hücre ölümüne ve matriks azalmasına neden olur. Yıkımın artması ve yapımın azalmasıyla da fibröz kapsül zayıflar ve çatlar. Fibröz başlığı hasarlanmış plakta prokoagulan maddeler kan elemanları ve pıhtılaşma faktörleri ile karşılaşır trombüs oluşumu tetiklenir. Böylece akut koroner sendromlar denen klinik olaylar başlamış olur (Zengin, 2012).



Şekil 5. Aterosklerozun gelişimi

1.4.2. Kardiyovasküler Hastalıklar

Hiperkolesterolemi kardiyovasküler hastalık riskini artıran önemli bir sağlık problemidir. Total kolesterol ve LDL kolesterolün yüksek seviyede olması koroner kalp hastalığında en iyi bilinen risk faktörleri olup, damarlarda plak oluşumu, endotel disfonksiyon ve oksidatif strese bağlı olarak bu hastalığın ilerlemesine neden olurlar.

Koroner kalp hastalığında terapötik anjiogenez olarak adlandırılan fonksiyonel kolleteral oluşumu ciddi iskemilerde hücre ölümünü azaltan önemli bir stratejidir. Son yıllarda yapılan çalışmalar LDL kolesterol ve total kolesterolü düşürmenin koroner kalp hastalığı riskini azalttığını göstermişlerdir. HMG-KoA inhibitörü olarak bilinen statin tedavisi, kolesterolü düşüren en etkili yöntemdir ve dolayısıyla ateroskleroz oluşumunu önleme ve koroner kalp hastalığı görülme sıklığını azaltmada etkili bir yaklaşımdır (Penumathsa vd., 2007). Kolesterol düşürme etkisinin yanı sıra statinlerin; endotelial gevşemeyi iyileştirerek ve kalp fonksiyonunda antihipertansif etki gibi faydalı rollerinin olduğu gösterilmiştir (Futerman ve Lemberg, 2004). Statinlerin kolesterol düzeyleri normal sıçanlarda bir endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) aracılığı ile iskemik reperfüzyonlu miyokardı koruduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte hiperkolesterolemili hastalarda statinlerle yapılan monoterapinin, koroner kalp hastalığının tekrarlamasıyla ilgili daha az etki gösterdiği belirtilmiştir. Penumathsa vd., (2007)'nin yaptığı çalışmada yüksek kolesterol diyetinin sıçanlarda iskemik alan boyutu, apoptozis genişliği, bozulan anjiogenezde artış gibi miyokardiyal komplikasyonları artırdığı, diyetle resveratrol takviyesiyle de bunları kontrol altına aldığı, resveratrol-statin kombinasyonunun tek başına resveratrol veya tek başına statine göre hiperkolesterolemik miyokardiyumda daha etkili olduğu ve resveratrol-statin kombinasyonunun total kolesterol, trigliserit, LDL kolesterolü statine göre daha çok düşürdüğü gösterilmiştir.

1.4.3. Böbrek Hastalıkları

Lipit metabolizmasındaki anormalliklere sıklıkla renal rahatsızlıklar eşlik eder ve bu anormallikler ilerleyen böbrek hasarı patogenezinde önemli rol oynarlar. Böbrekte hasarın çıkış sebebi belirgin olmasa da, önemli bir hasar oluştuğunda sıklıkla fonksiyon bozukluğu meydana gelir. Araştırmalarda renal hasarın patogenezinde bir veya daha fazla immun olmayan mekanizmanın önemli olabileceği gösterilmiştir. Sıçan modellerinde cerrahi müdahale sonucu fonksiyonel böbrek kütesinin azaltılması ile oluşturulan kronik böbrek yetmezliği telafi edilebilen glomerular basınç ve akıştaki artışlar böbrek hasarının gelişip ilerlemesiyle ilişkilidir (Anderson vd., 1985). Lipit metabolizmasındaki değişikliklerin renal hasarın gelişmesinde önemli olduğunu vurgulayan çalışmalar bulunmaktadır (Kasiske vd., 1988; Diamond ve Karnovsky, 1987). Lipit düşürücü ajanlar sıçanlarda renal hasar ile renal kütle kaybını düzeltmiştir. Ayrıca antilipidemik ajanlar endojen hiperlipidemi sıçan modeli olan obez sıçanlarda renal hasarı azaltmaktadır. Tek böbreği çıkarılan sıçanlarla sürdürülen

çalışmalarda renal hasarla birlikte kortikal lipitlerde büyük ölçüde değişiklikler gözlenmiştir. Özellikle kortikal kolesterol esterlerinde ve temel yağ asidi eksikliğiyle ilişkili renal yağ asidi profilinde bir azalma görülmüş ve bunlara glomerüler ve tubulointerstiyal hasar eşlik etmiştir. Çalışmalarda diyetle indüklenmiş hiperkolesteroleminin sıçan, tavşan ve kobaylarda böbrek hasarına yol aıtığı gösterilmiştir. Ancak kolesterolün neden olduğu bu hasarın mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır (Kasiske vd., 1990).

Kasiske vd. (1990)'nin yaptığı bir çalışmada sıçanlar 19 hafta boyunca standart yemle ya da standart yeme kolesterol ilavesiyle beslenmiş, azalan böbrek kütlelerinin böbrek hasarına yol aıp açmadığı, beraberinde oluşan lipit anormalliklerinden etkilenmiş olabileceği, ayrıca diyetle oluşturulan hiperkolesterolemide tek taraflı nefrektominin etkileri araştırılmıştır. 19 haftanın sonunda kolesterol ile beslenmenin serum total kolesterolü 4-5 kat artırdığı, nefrektominin total kolesterolü etkilemediği görülmüştür. Ayrıca kolesterolü diyetle beslenen sıçanlardaki glomeruloskleroz alanı ve tubulointerstiyal hasarın standart diyetle beslenen sıçanlara göre daha fazla olduğu gözlenmiştir. Kolesterolü diyetle beslenmenin kortikal kolesterol esterlerinde artışa neden olduğu ve glomeruloskleroz alanı ve tubulointerstiyel hasarla korelasyon gösterdiği gözlenmiştir. Hem kolesterolü diyet hem de nefrektominin doku temel yağ asitlerinde değişikliklere ve renal hasarı ile kortikal lipit değişimini gösteren özel monoklonal antikor panelinde artışa neden olduğu görülmüştür.

Eddy vd. (1996)'nin çalışmasında diyetle oluşturulan hiperkolesteroleminin birkaç hafta içinde sıçanlarda böbrek interstiyel fibrozisi geliştirebileceği ve tubulointerstiyel hücreler içinde lipidlerin birikmesinin ardından ise interstiyel nefritisin gelişebileceğini bildirmiştir.

1.4.4. Kanser

Serum kolesterol seviyesi ile kanser arasındaki ilişki henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. Ancak yapılan çalışmalarda yüksek yağlı diyetle beslenme ya da hiperkolesterolemi ile göğüs kanseri arasında bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. Ayrıca yüksek yağlı diyetin gelişmekte olan kolon ve prostat kanseri riskini artırdığı öne sürülmüştür. Bunun yanı sıra prostat kanseri ve löseminin gelişimi ile hipokolesterolemi arasında da bir ilişki olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur. Lösemide hipokolesterolemi, kronik hastalığın metabolik bir sonucu olabilir ancak, tümör hücreleri tarafından artırılan kolesterol metabolizması da burada rol oynar. Hipokolesterolemi ile bazı

tümör gelişimleri ilişkili olmasına rağmen önceden varolan hiperkolesteroleminin tümör gelişim hızı üzerine etkisi yeterli derecede belirlenememiştir (Mehta vd., 1997).

1.5. Hipolipidemik (lipid düşürücü) İlaçlar

Geçen yüzyılda kolesterol ile yapılan çalışmalar oldukça merak uyandırmış ve kolesterolün birçok hastalık ile olan bağlantısı çalışmaların en ilgi çekici noktası olmuştur. Yüzyılın sonuna doğru yapılan çalışmalardan elde edilen verilerle, serum kolesterolünü düşüren ve sonuçta kardiyovasküler hastalıkları azaltan farmasötik bileşiklerin bulunması, araştırmacılara kolesterol ile ilgili bir takım tatmin edici bilgiler sağlamıştır. Bu bileşikler *HMG-KoA redüktaz*ın güçlü inhibitörleri olup statinler olarak isimlendirilirler (Vance ve Van den Bosch, 2000).

Hipolipidemik ilaçlar genel olarak şöyle sınıflandırılabilirler (Kayaalp, 2009);

1. Lipoprotein Sentezini Azaltan İlaçlar

- HMG-KoA Redüktaz Sentezini Azaltan İlaçlar (**Statinler**)
- Fibratlar
- Nikotinik asit (Niasin)

2. Lipoprotein Katabolizmasını Artıran İlaçlar

- Safra asidi reçineleri
- Kolesterol absorpsiyonunu azaltan ilaçlar

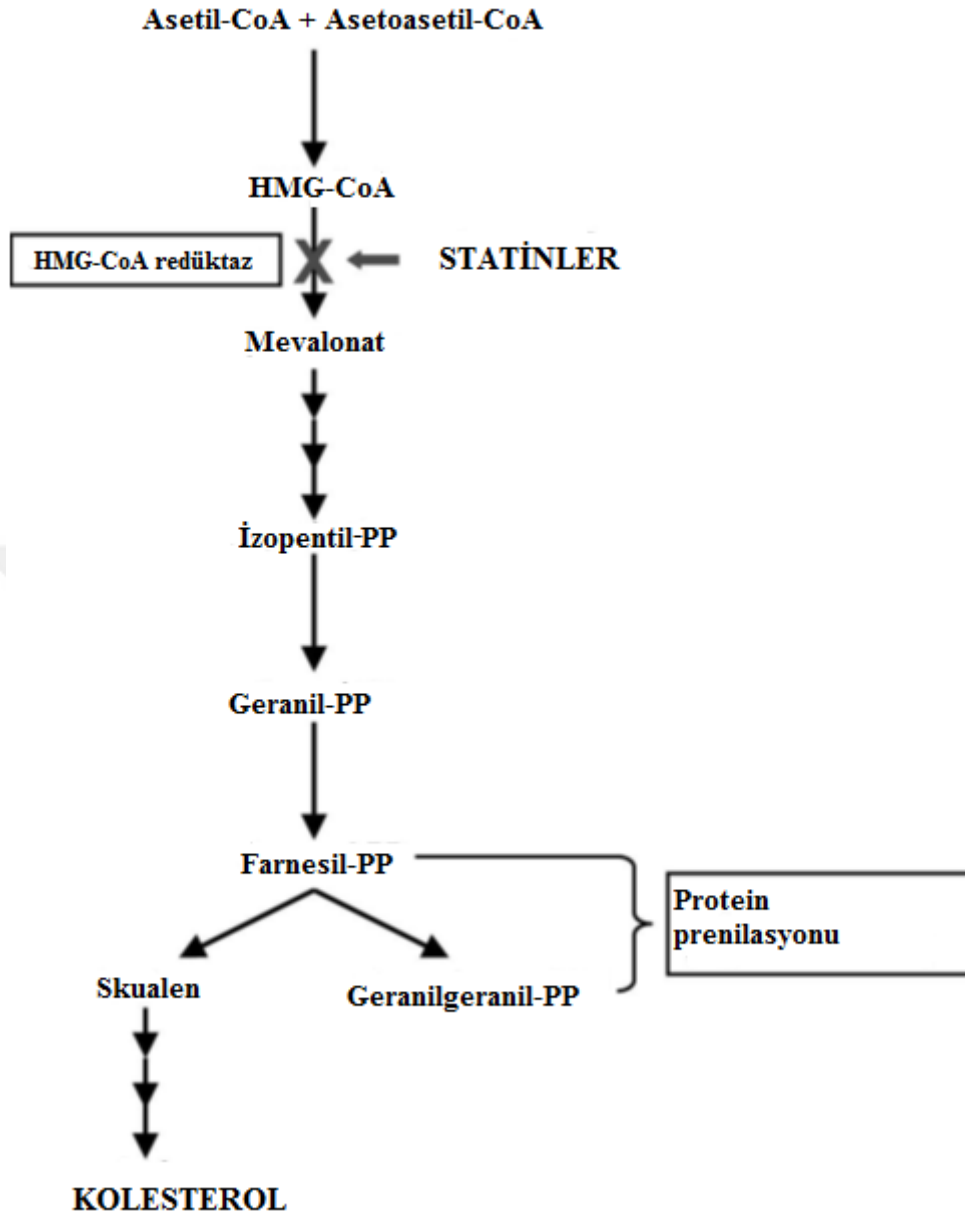
1.5.1. *HMG-KoA Redüktaz Sentezini Azaltan İlaçlar (Statinler)*

HMG-KoA redüktaz inhibitörlerinin 1980'li yıllardaki keşfi ve klinikte terapötik ajan olarak kullanılması, hiperlipidemi ve koroner arter hastalığında yaygın kullanımına neden olmuştur. *HMG-KoA redüktaz* inhibitörlerinin genel adıyla statinlerin (simvastatin, lovastatin, pravastatin ...) en önemli mekanizması, karaciğerde kolesterol sentezinde hız sınırlayıcı basamak olan HMG-KoA'nın mevalonata dönüşmesini bloke etmesidir. Klinik denemelerde *HMG-KoA redüktaz* inhibitörlerinin kolesterol düzeyini düşürmesiyle koroner arter hastalarının hayatta kalma oranı arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir. Yüksek kolesterolü hastalarda kolesterol seviyesinin düşürülmesi koroner ve serebrovasküler hastalık riskini de azaltmaktadır. Ayrıca ortalama kolesterol seviyesine sahip koroner arter

hastalarında *HMG-KoA redüktaz* inhibitörlerinin kardiyovasküler ve serebrovasküler olaylar açısından belirgin fayda sağladığı gözlenmiştir (Pruefer vd., 1999). Kimura vd. (1997), tarafından *HMG-KoA redüktaz* inhibitörü olan fluvastatinin hiperkolesterolemik sıçanlarda serum kolesterol seviyesini değiştirmeden inflamatuvar cevabı indükleyen trombosit aktive edici faktör lökoeritrin B4'ü azalttığı gösterilmiştir. Bununla birlikte koroner ve serebrovasküler olayların statinlerin kolesterol düşürücü etkileri ile mi yoksa başka etkileriyle mi önlendiği tam olarak netlik kazanmamıştır. Bu bağlamda son zamanlarda *HMG-KoA redüktaz* inhibitörlerine kolesterol düşürücü etkilerinin dışında da başvurulduğu gözlenmiştir (Pruefer vd., 1999).

Statinlerin kolesterol düşürücü etkilerinin yanı sıra birçok etkileri bulunmaktadır. Bir genin birden fazla fenotipik özelliği etkilemesi olarak bilinen pleiotropik etkiler doğrudan damarlar, böbrek, kemik ve glikoz metabolizmasını etkilemektedir. Klinik denemeler ile hayvan çalışmaları (*in vivo* ve *in vitro*) bu ajanların lipit düşürücü etkilerinin yanı sıra kardiyovasküler hastalık riskini, nefropati ilerlemesini, diyabet gelişimini ve kemiklerde kırılma oranlarını azaltmada etkili olduklarını göstermektedir. Potansiyel olarak yararlı etkileri, vasküler ve glomerüler NO üretimi ile vasküler inflamasyonun iyileştirilmesindeki olumlu etkilerden kaynaklanmaktadır. Kemiklerdeki kırılma oranları üzerine etkilerini doğrudan kemik oluşumunu sağlayarak gösterdiği düşünülmektedir. Ayrıca yapılan çalışmalarda diyabet gelişimini azaltıcı etkisinin, insülin duyarlılığının gelişmesiyle ilgili olabileceği vurgulanmıştır (McFarlane vd., 2002).

Bunların yanı sıra statinlerin klinik etkilerinin fazla oluşu ve diğer ilaçlara göre yan etkilerinin daha az olması bu ilaçlara üstünlük kazandıran özelliklerdir. Aterosklerotik lezyonların gelişmesini yavaşlattıkları ve hatta oluşan lezyonları geriletebildikleri koroner anjiyografisiyle de doğrulanmaktadır (Kayaalp, 2009).



Şekil 6. Statinlerin mevalonat yolağına etkileri (Bonetti vd.,2003)

1.5.2. Statinlerin Yan Etkileri

Statinlerin yan etkileri beş ana başlık altında toplanabilir. Bunlar;

1. Statinlerin Metabolizma Üzerine Etkileri

Son yıllarda yapılan randomize kontrollü çalışmalarda diyabet risk faktörlerine duyarlı hastalarda, statinlerin hemoglobin A1c seviyesini yükselttiği, ayrıca diyabet hastalığının ilerlemesine neden olduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalara göre statinlerin yeni başlayan (New onset) diyabet riskini de artırdığı söylenebilir. Çalışmalarda New onset diyabet riskinin 1000 hasta içinde 1'den az olduğu güçlü bir statinle bu riskin arttığı (1000 hasta içinde 2-3 olduğu) gösterilmiştir. Ayrıca çalışmalarda bu risk faktörlerinin diyabet için başlıca risk olduğu, ciddi kardiyovasküler hastalıkları engellemesindeki faydalarının diyabetin yeni teşhisinden daha fazla önemsendiği, diyabet gelişiminin statinsiz de mümkün olduğu (statinlerin sadece diyabetin ilerlemesini hızlandırdığı) ortaya konmuştur (Katz vd., 2014).

2. Statinlerin Kaslar Üzerine Etkileri

Statinlerin kaslar üzerine yan etkileri 1980'lerin başlarında lavostatinle tanışıldıktan sonra *kreatin kinaz* seviyesinde artışların görülmesiyle başlanmıştır. Kaslara ait şikayetler çok sayıda formda gözlenmekte olup, son zamanlarda bu yan etkilerin çeşitli tanımlamaları yapılmaktadır (Katz vd., 2014). Miyopati; kaslarda ağrı, hassasiyet ve güçsüzlük gibi semptomlar olarak tanımlanır ve plazma *kreatin kinaz* düzeyleri normalden 10 kat fazladır. Rabdomyoliz ise kas yıkımlanması ve dolaşıma miyoglobinin salıverilmesini kapsayan ciddi bir miyopatidir. Rabdomyoliz genellikle kreatin kinaz konsantrasyonunun yaklaşık 40 katına çıkması ya da uzak organ hasarı (akut renal yetmezlik ya da renal fonksiyonda bozulma) ya da her ikisiyle birlikte teşhis edilir. Miyalji ise kas ağrısı olarak tanımlanır ve kreatin kinaz konsantrasyonu normalden 10 kattan fazla yükselmez. Tüm statinler miyopati ve rabdomyolize yol açar. Risk koşulları statinler arasında çeşitlilik gösterse de, hemen hepsinde yan etki riski yüksek dozda daha çok olabilmektedir. Bu risk açıkça LDL düşürücü etkisiyle ilişkili olmayabilir, örneğin serivastatin özellikle çok etkili bir statin değildir ancak diğer statinlerden daha fazla rabdomyolize neden olur. Diğer kolesterol düşürücü ajanlardan özellikle fibratlar nadiren miyopatiye neden olur ancak statinlerle kombinasyon riskini artırır. Miyopati riski olan tüm statinlerin sitokrom P450 sistemi aracılığıyla ilaç etkileşimlerinden etkilendikleri görülmüştür. Bazı hastalar (örneğin böbrek yetmezliği, hipotiroidi, ciddi halsizliği olanlar ya da 80 yaşından büyükler) miyopatiye karşı daha hassastırlar (Armitage, 2007).

Statinlerin miyopatiye neden olmasına rağmen, miyaljiye yol açtığına dair randomize çalışmalardan elde edilen net bilgiler yoktur. Örneğin bir çalışmada, hastalara her 4-6 aylık takipte yeni oluşan ya da nedeni bilinmeyen kas ağrılarının veya güçsüzlüğünün olup olmadığı sorulmuş, şayet semptom gözlenmiş ise hastaların kreatin kinaz seviyeleri ölçülmüştür. Randomizasyon sonrası her kontrol sırasında %6-7 katılımcıda benzer semptomların gözleendiği ve ayrılmış aktif simvastatinin plasebo ile karşılaştırıldığında hiçbir anlamlı değişikliğin gözlenmediği tespit edilmiştir. Çalışmanın sonunda simvastatin kullananların %32,9'u, plasebo kullananların %33,2'sinin kas ağrısı yaşadığı bildirilmiştir. Pravastatin ve atorvastatin denemeleri ile lovastatin ve fluvastatin denemelerinden toplanan bilgiler, bu statinleri kullananların miyaljiyaların artışın olmadığını göstermektedir. Benzer şekilde kas kramplarının da statin alımı ile artmadığı rapor edilmiştir. Kreatin kinazın asemptomatik yükselmesi bazen statin terapisiyle meydana gelmektedir ancak klinik olarak ilişkisi bilinmemektedir. Tüm statinler sıklıkla rabdomyolize doğru ilerleyen miyopatiye neden olmaktadır. Günümüzde önerilen dozlarda nadiren görülmekte ancak yüksek dozlarda ise risk artmaktadır. Miyopati veya rabdomyolizin genellikle çoklu ilaç kullanımına bağlı olarak ilaç etkileşimleri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (özellikle fibratlar) (Armitage, 2007).

3. Statinlerin İlaç Etkileşimleri Üzerine Etkileri

Statinlerin yan etkileriyle ilgili ilk raporlar yüksek düzeylerde ilaç etkileşimleri ile ilgilidir. Rabdomyoliz vakalarının %58'inin statin metabolizmasını etkileyen ilaçların kullanımı ile ilgili olduğu görülmüştür. İlaç etkileşimi riski temelde her statinin kendine özgü farmakokinetiği ile ilişkilidir (Katz vd., 2014).

Simvastatin, lovastatin ve atorvastatin gibi ilaçlar sitokrom enzim sistemlerinden CYP3A4 tarafından metabolize edilirler. Son yıllarda Amerika'da Besin ve İlaç Yönetimi - FDA (Food and Drug Administration) özellikle verapamil, diltiazem, amlodipine, ranolazin ve amiodaron gibi yaygın olarak kullanılan kardiyovasküler ilaçlarla birlikte kullanılan simvastatin ve lovastatin için dozaj sınırlamaları getirmiştir. Özellikle organ nakli hastalarının, siklosporin gibi CYP3A4 sisteminin inhibitörleri ve membran taşıyıcıları ile birlikte statinleri kullanırken oldukça dikkatli olmaları gerekmektedir (Leung vd., 2012). Bazı proteaz inhibitörlerinin özellikle CYP450 3A4'ün güçlü inhibitörlerinin lovastatin ve simvastatin gibi statinlerle alınmaması gerekir. Proteaz inhibitörleri kendileri dislipidemiye neden olduklarından pravastatin ve rosuvastatinler genellikle ilk tercihler olmasına rağmen, düşük dozda atorvastatin iyi tolere edilebilir (Neuvonen vd., 2006). Yeni ilaç tedavileri tanımlandığı zaman hastalara anlatılmalı ve ilaç-ilaç etkileşimi için gereken kontroller

yapılmalıdır. Özellikle azol grubu antifungallar ile klaritromisin ve eritromisin gibi makrolid antibiyotik kullanan ayakta tedavi gören hastalarda statin kullanımı kaygı verici bir durumdur. Çünkü bu tür ilaçlar statin seviyesini artırabilir ve yan etkilere neden olabilir (Katz vd., 2014).

CYP-3A4 sistemi tarafından metabolize edilmeyen statinler daha az etkileşime sahiptir. Ancak ağırlıklı olarak CYP-2C9 sistemi tarafından metabolize edilen fluvastatinin azol antifungal tedavisinde kullanılan flukonazol ile birlikte verildiği durumlarda kullanımının bir süre durdurulması tavsiye edilir. OATp1B1 sistemi tarafından metabolize edilen pravastatin, rosuvastatin ve pitavastatin en uygun etkileşim profiline sahiptir (Katz vd., 2014).

4. Statinlerin Hafıza Üzerine Etkileri

Statinlerin bilişsel bozukluğa neden olduğuna dair endişe, statinlerin değiştirilmesi ya da kullanımının kesilmesiyle ilişkili bilişsel azalma olgu raporları ile başladı. Statin potansiyel seviyesindeki azalma ile bağlantılı olarak kendisindeki bilişsel gerilemeyi rapor eden 171 hastalı küçük vaka serilerine rağmen, randomize kontrollü çalışmalarda statin kullananlarda bilişsel azalmanın olduğunu gösteren bilgi yoktur. Özellikle yapılan çalışmalarda statin kullananlar ile plasebo arasında bilişsel gerileme açısından belirgin bir fark bulunamamıştır (Katz vd., 2014).

5. Statinlerin Önemli Bazı Organlar Üzerine Etkileri

HMG-KoA'nın karaciğerde statinler tarafından güçlü bir şekilde inhibe edilmesi, statin tedavisinin karaciğer hasarına neden olabileceğine dair büyük bir endişe uyandırmıştır. Statinlerle yapılan ilk çalışmalarda karaciğer transaminazlarının statin kullanımıyla yükseldiği bildirilmiştir (Tobert vd., 1982). Daha sonra yapılan birçok randomize kontrollü çalışmalar sonucunda statinlerin karaciğer üzerine etkisiyle ilgili önemli bilgiler ortaya konmuştur (Calderon vd., 2010). İlk olarak transaminaz düzeylerindeki artışların nadir görüldüğü (<%3) ve tedavi ile plasebo grupları arasında belirgin farkın olmadığı gösterilmiştir. İkinci olarak ise statin dozu ile transaminitis oluşumu (transaminazların yükselmesi) arasında bir bağlantının olduğu bildirilmiş, düşük ve orta dozlarda statin kullanımında %1 oranında, yüksek doz statin kullanımında ise %2 ve %3'ten fazla görülmüştür. Son olarak, transaminaz düzeyleri genellikle statin kullanımını durdurmak zorunda kalmadan kendi başlarına normalleşmiştir (Katz vd., 2014).

Son zamanlarda statin kullanımının böbrek hasarına neden olduğu ile ilgili endişe giderek artmaktadır. Yapılan bir çalışmada güçlü statin kullanan miyokard enfarktüs

hastalarında böbrek hasarı riskinin artmadığı görülmüştür. Bir başka çalışmada ise 20 mg rosuvastatin kullanımının akut böbrek hasarı riskini artırdığı rapor edilmiş olmasına rağmen farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirtilmiştir (Roberts, 2013).

Statinlerin organ sistemleri üzerine yan etkilerinin olduğu endişesi yapılan randomize çalışmalarla desteklenmemiştir. Doza bağlı bir biçimde ve transaminazların yükselmesi sonucu gelişen karaciğer hasarı statin toksisitesinden çok, ilaçların birbirleriyle olan etkileşiminden kaynaklanmaktadır. Bunun sonucu olarak FDA klinik olarak gerekmesi bile karaciğer fonksiyon testleri için karaciğer transaminazlarının rutin ölçülmesini tavsiye etmektedir. Benzer biçimde statinlerin akut böbrek hasarına yol açtığına dair endişe randomize kontrollü çalışmalarla desteklenmemiştir. Hatta atorvastatinin kısmen böbrek koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir. Akut böbrek hasarı doğrudan statinler yüzünden oluşsa bile, bu durumun ortaya çıkması oldukça yavaş bir durumdur ve statinlerin kardiyovasküler yararının risklerinden ağır gelmesinden dolayı da klinik önemi de tam aydınlatılmamıştır (Katz vd., 2014).

1.6. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar

Kronik hastalıklar ile diyet arasındaki ilişki bilimsel olarak tam aydınlatılmamış olsa da, dünya çapında kanser, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve osteoporoz gibi kronik hastalıkların önlenmesi için çeşitli beslenme kuralları belirlenmiştir. Özellikle bu diyetlerde karotenoid ve biyolojik olarak aktif fitokimyasal içerikli meyve ve sebzelerin fazla tüketilmesi tavsiye edilmektedir. Meyve ve sebzeler yararlı etkilerini metabolizma, immun sistem modülasyonu ve hormonal indüksiyon gibi bazı mekanizmalarla göstermektedir. Bununla birlikte, son yıllarda, normal metabolik aktivitenin yanı sıra sigara, egzersiz ve diyet gibi faktörler tarafından üretilen reaktif oksijen türleri (ROS) ile indüklenen oksidatif stres, çeşitli kronik hastalıkların görülmesinde ve ilerlemesinde rol oynamaktadır. Antioksidanlar, ROS'un zararlı etkilerini azaltabildiğinden, son yıllarda araştırma odağı olmuştur. Karotenoidlerin antioksidan özellikleri açısından araştırmacılar, sağlıkçılar ve onay verici kurumlar tarafından büyük ilgi gösterildiği bir gerçektir (Rao ve Rao, 2007).

1.7. Karotenoidler

Karotenoidler bitki ve mikroorganizmalar tarafından sentezlenen, pigment içeren bir bileşik ailesidir. Hayvanlar tarafından sentezlenmedikleri için diyetle alınmaları gerekmektedir. Karotenoidler bitkilere fotosentetik olaylarda yardımcı olur ve onları foto hasara karşı korurlar. İnsan diyetindeki karotenoidlerin temel kaynağını meyve ve sebzeler oluştururlar. Meyve ve sebzelerde karotenoidler mikro bileşen olarak bulunup, onlara sarı, turuncu ve kırmızı gibi renkler verirler. Kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve bazı diğer kronik hastalıklara karşı faydalı etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Son yıllarda karotenoidlerin antioksidan özellikleri, araştırmaların odak noktası haline gelmiştir. Doğada 600'den fazla karotenoid tanımlanmış olmasına rağmen bunların sadece 40 tanesi insan diyetinde bulunmaktadır. Bu 40 karotenoidin de 20'si insan kan ve dokusunda gösterilmiştir. İnsan vücudu ve diyetindeki karotenoidlerin yaklaşık %90 kadarını alfa ve beta karoten, likopen, lutein ve kriptoksantin oluşturmaktadır (Rao ve Rao, 2007).

1.7.1. Likopen

Likopen diğer karotenoidler gibi bitki ve mikroorganizmalar tarafından sentezlenen doğal bir pigmenttir. Genel olarak kırmızı renkli meyve ve sebzeler likopen kaynağıdır. Domates, domates ürünleri, karpuz, pembe greyfurt ve guava, kayısı, papaya gibi besinler yüksek oranda likopen içerirler (Rao ve Agarwal, 1999; Martínez and Melendez-Martínez, 2016).

Tablo 3. Bazı meyve ve sebzelerin likopen içeriği

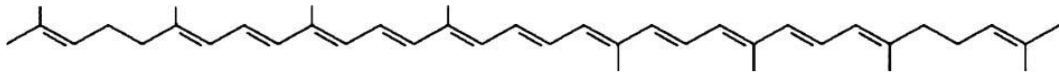
Meyve ve Sebzeler	Likopen (µg/g yaş ağırlık)
Domates	8,8-42,0
Karpuz	23,0-72,0
Pembe guava	54,0
Pembe greyfurt	33,6
Papaya	20,0-53,0
Kayısı	<0,1

Tablo 4. Bazı domates ürünlerinin likopen içeriği

Domates Ürünü	Likopen (µg/g yaş ağırlık)
Taze domates	8,8-42,0
Piştirilmiş domates	37,0
Domates sosu	62,0
Domates salçası	54,0- 1500,0
Domates çorbası (kondanse)	79,9
Domates tozu	1126,3-1264,9
Domates suyu	50,0-116,0
Pizza sosu	127,1
Ketçap	99,0-134,4

1.7.2. Likopenin Fiziksel ve Kimyasal Yapısı

Likopen fitokimyasallara ait bir karotenoid ailesi üyesidir. 40 karbon atomlu, 11 konjuge ve 2 konjuge olmayan çift bağ içeren, açık hidrokarbon zincirinden oluşmaktadır. Molekül formülü $C_{40}H_{56}$ ve molekül ağırlığı 536,85 daltonudur. Lipofilik bir bileşik olup suda çözünmez. Diyet likopenin absorpsiyonunu ve biyoyararlanımını birçok faktör etkilemektedir (Rao ve Agarwal, 1999).



Şekil 7. Likopenin kimyasal yapısı

Bazı karotenoidlerin aksine likopenin yapısında terminal iyonik halka yoktur ve provitamin A etkinliği bulunmaz. Yapısındaki çift bağlardan dolayı likopen hem *cis* hem de *trans* izomerik formlarda bulunabilir. Likopen doğada temel olarak tüm izomerik formlarda bulunabilir. Bununla birlikte likopenin *cis*-izomerik formu ışık, termal enerji ve kimyasal reaksiyonlar tarafından mono ya da poli izomerizasyona uğrayabilir. Likopen oldukça stabil bir molekül olmasına rağmen oksidatif, termal ve fotodegradasyona uğrayabilir (Rao ve Rao,

2007). Besin kaynaklı likopenin %85'ten fazlası domates ve domates kaynaklı besinlerden sağlanmaktadır (Rao ve Agarwal, 1999).

1.7.3. Likopenin Alınımı, Metabolizması ve Doku Dağılımı

Besinlerden alınan likopenin emilimi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişim göstermektedir. Bu faktörler; likopen içeren besin matriksinin dağılması, pişirme ısısı, yağların ve bazı karotenoidler gibi yağda çözünebilen bileşiklerin bulunması olarak sayılabilir. Likopenin emilimi diğer yağda çözünen bileşikler gibi şilomikron aracılı bir mekanizma ile gastrointestinal alanda gerçekleşmektedir (Rao ve Rao, 2007).

Likopen lipid miselleriyle içiçe girip, intestinal mukozada pasif difüzyon ile absorbe edilir. Şilomikronlarla içiçe girer ve karaciğere taşınmak için lenfatik sisteme salınır. Çeşitli organlara gönderilmek üzere de lipoproteinler aracılığı ile plazmaya iletilir. Genellikle besinlerle alınan likopenin %10-30 kadarı emilebilmektedir (Rao ve Agarwal, 1999).

Likopen domates sosu, domates suyu ve domates oleoreçinesi kapsülleri gibi farklı kaynaklardan eşit derecede verimli bir şekilde emilir. İşlenmiş domates ürünlerinden likopenin, çiğ domatese göre daha fazla absorbe edildiği, fazla emiliminin *cis* izomer varlığından olduğu gösterilmiştir (Stahl ve Sies, 1992). Veriler *cis* izomerik formundan biyoyararlanımının *trans* formdan daha fazla olduğu göstermektedir. Ayrıca domates salçasının biyoyararlanımının taze domatesten daha fazla olduğu, emiliminin düşük dozlarda daha verimli olduğu gösterilmiştir. Kan likopen seviyesinde kadın ve erkekler arasında belirgin bir fark yoktur. Bayanlarda menstrual dönemde kan likopen seviyesi orta luteal dönemde pik yapmaktadır (Rao vd., 2006).

Likopen insan plazmasındaki en baskın karotenoidtir ve 2-3 gün kadar yarılanma ömrüne sahiptir. Likopen doğal lipofilik özelliğinden dolayı serumda LDL ve VLDL fraksiyonlarında konsantre olarak bulunurken, HDL fraksiyonunda bulunmaz (Rao ve Agarwal, 1999).

Emilen likopen dolaşım sistemi vasıtasıyla tüm vücuda dağılmaktadır. Bitkilerde likopenin en belirgin geometrik izomeri tüm-*trans* izomeri olmasına rağmen insan plazmasındaki likopenin %50'sini *cis*-izomerler oluşturmaktadır (Rao ve Rao, 2007). Bir çalışmada yüksek oranda likopenin tüm-*trans* izomer formlarını içeren diyetle beslenen hayvanların serum ve doku likopenleri incelendiğinde *cis* likopen olduğu gösterilmiştir. Benzer sonuçlar insan serumunda da gösterilmiştir. Ayrıca insanda en yüksek likopen

seviyesinin testis, adrenal bezler, prostat, göğüs ve karaciğerde olduğu gösterilmiştir (Rao vd., 2006; Jain vd., 1999). Likopen dokularda oksidasyon ve metabolizmaya uğrar. Son yıllarda likopenin çeşitli okside formları ve polar metabolitleri izole edilmiş ve tanımlanmıştır (Rao ve Rao, 2007).

1.7.4. Likopenin Metabolizması ve Etki Mekanizması

Likopenin *in vivo* metabolizması hakkında oldukça az bilgi bulunmaktadır. Sıçanların barsak mukozasının post mitokondriyal fraksiyonu kullanılarak yapılan bir çalışmada likopenin parçalanma ve oksidasyon ürünleri olmak üzere iki tip metabolik ürünü tanımlanmıştır. 3-keto-apo-13-likopenon ve 3,4-dehidro-5,6-dihidro-15-apo-likopenal parçalanma ürünlerini oluşturmaktadır. Oksidasyon ürünleri ise 2-ene-5,8-likopenal-furanoksit (I), likopen- 5,8 epoksit izomer (II) ve 3-keto-likopen-5',8'-furanoksittir. Bir başka çalışmada ise likopenin enzimatik olmayan bir şekilde asikloretinal, asikloretinoik asit ve apolikopenallere parçalandığı gösterilmiştir. İnsan plazmasında ise sadece 5,6-dihidroksi-5,6-dihidro likopen gibi metabolite rastlanılmıştır (Khachik vd., 1995; 1997; 2002). Likopen metabolik indirgenmeyle sonradan polar 5,6-dihidroksi-5,6 dihidrolikopene dönüşebilen epoksit formlarının oluşması için *in vivo* oksidasyona uğrar (Rao ve Rao, 2007).

Likopenin insan dokularında biriktiği bilinmektedir. Likopenin uzun süreli ve aşırı tüketimi sonucunda deri ve karaciğer renklenmesiyle sonuçlanmış ve bu durum likopenemi olarak adlandırılmıştır. Likopenin doku dağılımı homojen değildir. Bazı karotenoidlerin spesifik doku dağılımı karotenoidin o organa özgü biyolojik etkisinin olabileceğini düşündürmektedir. Farklı araştırmacılar tarafından saptanan insan dokularındaki likopen seviyeleri Tablo 5'te gösterilmiştir (Rao ve Rao, 2007).

Likopenin etkileri oldukça fazladır. Bu etkileri biyokimyasal etkiler ve insan sağlığı üzerine olan etkiler olmak üzere iki ana başlıkta incelemek kolaylık sağlayacaktır.

Tablo 5. Dokulardaki likopen seviyeleri

Doku	Likopen (nmol/g yaş ağırlık)
Testis	4,34-21,36
Adrenal	1,9-21,60
Prostat	0,8
Karaciğer	1,28-5,72
Göğüs	0,78
Pankreas	0,7
Akciğer	0,22-0,57
Böbrek	0,15-0,62
Kolon	0,31
Deri	0,42
Ovaryum	0,3
Mide	0,2
Beyin sapı	Saptanmamış

1.7.5. Likopenin Biyokimyasal Etkileri

1.7.5.1. Oksidatif Etkileri

Endojen ve eksojen kaynaklı ROS türlerinin birçok hastalığın patogeneğinde rol oynadığı bilinmektedir. Karotenoitten zengin diyetle beslenmenin sağlık açısından birçok yararının bulunduğu ve bu yararlarını oksidatif hasara karşı korumakla sağladığı belirtilmiştir. *In vitro* çalışmalar likopenin güçlü bir antioksidan ve radikal süpürücü olduğunu göstermiştir. Likopen yüksek oranda konjuge çift bağ içerdiğinden doğal karotenoitler arasında singlet oksijeni giderici etkisi en yüksek olandır. Singlet oksijeni süpürürken enerji $^1\text{O}_2$ den likopene transfer edilir ve enerji zengin üçlü bir duruma dönüştürülür. Yine ROS, OH, NO_2 veya peroksinitriti yakalamak, likopen molekülünün oksidatif olarak bozulmasına yol açar. Bu şekilde *in vivo* lipid, protein ve DNA'yı oksidasyona karşı likopen koruyabilmektedir (Rao ve Agarwal, 1999).

Ayrıca likopenin hidrojen peroksidi ve nitrojen dioksidi inaktive ettiği bildirilmiştir. Nabız radyoliz tekniği kullanarak Mortesen ve Skibsted (1997)'in yaptıkları bir çalışmada karotenoidlerin nitrojen dioksit ($\text{NO}_2^{\cdot}$), tiyil ($\text{RS}^{\cdot}$) ve sülfonil ($\text{RSO}_2^{\cdot}$) radikallerini süpürdükleri gösterilmiştir. Bir başka çalışmada ise likopenin lenfositleri $\text{NO}_2^{\cdot}$ radikallerine karşı korumada β -karotenden en az iki kat daha güçlü bir biçimde temizlediği bildirilmiştir (Mortensen vd., 1997). ROS ile likopenin etkileşiminin lipofilik ortamda daha fazla olması beklenmektedir. Likopen insan LDL'sini ışığa duyarlı oksidatif hasara karşı korur (Rao ve Agarwal, 1999).

1.7.5.2. Oksidatif olmayan etkileri

Likopenin oksidatif olmayan etkileri arasında antikarsinojenik etkisi önemli yer tutmaktadır. Antikarsinojenik etkinin fare embriyo fibroblast hücrelerinde gap junction iletişimini düzenlediği ileri sürülmüştür. Likopenin hücreler arası iletişimi artırıcı etkisinin olduğu ancak bu etki β -karoten ya da kantaksantinden daha az belirgin olduğu gösterilmiştir (Rao ve Agarwal, 1999). Krutovskikh vd. (1997)'nin çalışmasında sıçan karaciğerinde likopen ve β -karotenin gap junction iletişiminde doza bağlı etkilerini çalışmış, düşük dozda (0,5 mg/kg) hiç etki göstermedikleri, ortalama dozda (5 mg/kg) gap junction iletişimini artırdıkları ve yüksek dozda (50 mg/kg) ise inhibe ettiklerini göstermiştir. Bu bulgular bizlere karotenoidlerin gap junctional iletişim yetenekleri ile singlet oksijeni yoketme veya antioksidan yeteneklerinin birbirlerinden bağımsız olduklarını göstermektedir. Astorg vd. (1997), sitokrom P450E1 gibi karaciğer metabolize enziminin likopen tarafından düzenlenmesinin, sıçan karaciğerinde karsinojenden dolayı oluşan preneoplastik lezyonlara karşı korumanın altında yatan mekanizma olduğunu söylemişlerdir. Hayvan modelleri likopenin *in-vivo* biyokimyasal fonksiyonlarının daha iyi açıklanması açısından mükemmel sistemler olması ve ayrıca kirletici faktörlerin minimum olduğu kontrollü ortamlar oluşturur. Doku kültürü çalışmalarında ise likopenin p53 ve Rb antionkogenleri gibi karsinojen nedenli fosforilasyonu düzenleyici proteinleri baskıladığı ve hücre döngüsünün G0-G1 safhasında hücre bölünmesini durdurduğu hipotezi ileri sürülmüştür. Likopenin, çeşitli kanser hücre hatlarında güçlü mitojen olan ve insülin benzeri büyüme faktörlerince uyarılan hücrel proliferasyonunu azalttığı ileri sürülmüştür. Ayrıca likopenin insan lösemi hücre hatlarında hücre büyümesini %40 oranında inhibe ettiği ve dahası retinoik asit ile birlikte verildiğinde ise hücrel farklılaşmaya neden olan bu etkiyi

güçlendirdiği gözlenmiştir (Rao ve Agarwal, 1999). Likopenin oksidatif olmayan bir diğer etkisi de hipokolesterolemik etkisidir. Likopen ve β - karotenin birlikte uygulandığı çalışmada J-774 A.1 makrofaj hücre hattı kullanarak kolesterol sentezinin %60-70 oranında baskılandığı ve kolesterol sentezinde hız kısıtlayıcı enzim olan *HMG-KoA redüktazı* inhibe ederek hipokolesterolemik ajan olarak rol oynadığı gösterilmiştir (Fuhramn vd., 1997).

1.7.6. Likopenin Bazı Hastalıklar Üzerine Etkileri

1.7.6.1. Kanser

Prostat kanseri likopenin koruma sağladığı en çok çalışılan kanser çeşididir. Domates tüketimi ile prostat kanseri arasındaki zıt ilişki ilk defa 1995 yılında çalışılmıştır (Giovannucci vd., 1995). Özellikle domateste bulunan likopenin faydalı bir bileşik olduğu söylenmiştir. Takiben 1999 yılında yapılan 72 farklı çalışma serum likopen seviyesinin prostat, göğüs, rahim ağzı, yumurtalık, karaciğer ve diğer organlar da dahil olmak birçok kanser türüyle zıt ilişkili olduğunu göstermiştir (Giovannucci, 1999). Likopen tüketiminin artması, serum likopen seviyesini artırmış ve kanser riskini belirgin bir biçimde azaltmıştır. Prostat kanserli hastalarda oksidatif stresin ve antioksidanların durumunu incelemek amacıyla yapılan bir çalışmada, serum karotenoit seviyelerinde, oksidasyon belirteçlerinin ve Prostat Spesifik Antijen (PSA) seviyelerinde belirgin farklılıklar olduğu gözlenmiştir. Kanserli hastalarda ve kontrol grubunda β -karoten, lutein, kriptoksantin, E ve A vitamini seviyelerinde herhangi bir değişiklik olmazken, likopen seviyesinde kanserli hastalarda belirgin bir azalma olmuştur. Beklendiği gibi PSA seviyesi lipid ve protein oksidasyonu kanserli hastalarda belirgin bir şekilde artmıştır. Ancak PSA seviyesinin serum likopen seviyesi ile zıt ilişkili olduğu görülmüştür. Diğer karotenoitlerle böyle ters bir ilişki gözlenmemiştir (Rao vd., 1999; Rao ve Rao, 2007).

1.7.6.2. Kardiyovasküler Hastalıklar

Likopenin kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu olduğunu gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (Arab ve Steck, 2000; Rissanen vd., 2000). Popülasyon temelli çok merkezli bir vaka kontrol çalışmasında adipoz dokunun antioksidan durumu ile akut miyokardiyal bozulma arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Çalışmada on farklı Avrupa

ülkesinden 662 vaka ve 717 kontrolde adipoz dokusundaki likopen düzeyleri ile miyokardiyal bozulma riski arasında bir doz-etki ilişkisinin olduğu gösterilmiştir (Kohlmeier vd.,1997). Kristenson vd. (1997)'nin çalışmasında ise Litvanya ve İsveç popülasyonları kıyaslanmış ve düşük likopen seviyesinin koroner kalp rahatsızlığına yakalanma riskini ve mortaliteyi artırdığı gözlenmiştir Serum kolesterol düzeyi bilindiği üzere koroner kalp rahatsızlıklarının biyolojik belirteci olarak kullanılmaktadır. LDL'nin oksidasyonunun, kalp krizlerine ve iskemik felçlere neden olan aterosklerozun patogenezinde bir anahtar rol oynadığı düşünülmektedir. Likopenin önemli ölçüde okside LDL düzeyini düşürdüğü likopen kaynağı olarak domates sosu, domates suyu, likopen oleoreçin kapsülleri tüketen insanlarda gösterilmiştir (Agarwal ve Rao, 1998). Yine bir başka çalışmada likopenin serum total kolesterol seviyesini düşürdüğü ve böylelikle kardiyovasküler hastalık riskini azalttığı ileri sürülmüştür (Fuhrman vd., 1997).

1.7.6.3. Osteoporoz

Oksidatif stres ve antioksidanlar özellikle osteoporoz gibi yaygın metabolik kemik hastalığının ve genel olarak iskelet sistemi hastalıklarının patogenezinde önemli rol oynamaktadır. Oksidatif stres osteoklastların ve osteoblastların fonksiyonlarını kontrol etmektedir. Endojen ve sentetik antioksidanlar bu hücrelerde oksidatif strese karşı yok edici etkiye sahiptir. Çalışmalar likopenin hücre proliferasyonu ve osteoblastların farklılaşması üzerinde uyarıcı, osteoklast formasyonu ve rezorpsiyonu üzerinde ise inhibe edici etkisinin olduğunu göstermektedir. Bu çalışmaların tümü likopenin kemik sağlığı üzerine olumlu etkilerinin olduğunu göstermektedir. Ayrıca epidemiyolojik çalışmalar oksidatif stresin beraberinde osteoporozu getirdiği ve antioksidanların ise osteoporoz ile savaştıklarını göstermektedir. E ve C vitamini ile β -karotenin osteoporoz riskini azalttığı yönünde bulgular mevcuttur. Ayrıca bu antioksidanların yorucu egzersiz ve sigara kullanımı sonucu oluşan oksidatif stresin kötü etkisini yokettiği yönünde çalışmalar yapılmıştır. Osteoporozlu kadınlarda antioksidan vitamin ve enzim seviyelerinin düştüğü, antioksidan savunma sistemlerinde bir azalma yaşandığı gözlenmiştir. Postmenopozal dönemdeki kadınlarla yapılan çalışmada ise serum likopen seviyesi ile osteoporoz riski arasında bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. Sonuçta likopen tüketiminin serum likopen seviyesini artırdığı ve serum likopen seviyesindeki artışın ise protein oksidasyonunda ve tip-1 kollojen N-telopeptit değerinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Rao vd., 2007). Tüm bu sonuçlara

dayanarak likopenin antioksidan özelliğinden dolayı osteoporoz riskini azaltığını söylemek mümkündür (Rao ve Rao, 2007).

1.7.6.4. Diğer hastalıklar

Likopenin antioksidan özelliği ve kronik hastalıklarla oluşturulan oksidatif strese karşı koruyuculuğu keşfedildikten sonra araştırmacılar diğer hastalıklar üzerindeki etkilerini de araştırmaya başlamışlardır. Hipertansiyon; semptomları ileri seviyeye gelmeden veya ölümcül evreye kadar gelmeden farkedilmeyen, genel olarak ‘sessiz öldürücü’ olarak nitelendirilen bir hastalıktır. Oksidatif stres ile hipertansiyonun görülme sıklığı arasındaki ilişki yakın zamanlarda farkedilmeye başlanan bir durumdur. Likopenin antioksidan özelliği, araştırmacıların hipertansiyonda koruyucu olup olamayacağı konusunda ilgisini çekmiştir. Bir çalışmada 8 hafta boyunca 15 mg/gün likopen takviyesinin sistolik kan basıncını 144 mmHg’den 134 mmHg’ye düşürdüğü gözlenmiştir (Paran ve Engelhard, 2001). Moriel vd. (2002), hipertansif hastaların plazma likopen düzeyinin normal hastalara oranla oldukça düşük olduğunu bildirmiştir.

Erkekteki infertilite yaygın bir üreme sorunu olup, spermanın oksidatif hasar görmesi kalite ve fonksiyonelliğinde azalmaya neden olur. Fertil erkeklerde semende ROS’a rastlanmazken, infertil erkeklerde semende %25 oranında ROS bulunmaktadır (Iwasaki ve Gagnon, 1992). Antioksidanların sperm kalitesini artırdığına dair birçok çalışma yapılmıştır. Özellikle likopenin, infertiliteye sebep olan oksidatif hasara karşı spermayı koruyucu etkileri birçok çalışma ile gösterilmiştir. Bir çalışmada infertil erkeklere günlük 8 mg likopen kapsül olarak verilmiştir. 12 haftanın sonunda serum likopen konsantrasyonunun anlamlı bir biçimde yükseldiği, sperm fonksiyon, motilite ve morfolojisinde düzeltilmeler olduğu gözlenmiştir. Likopen uygulanmasından sonra gebelikteki başarı oranı %36 artmıştır (Rao ve Rao, 2007).

Likopenin Alzheimer hastalığı dahil olmak üzere nörodejeneratif hastalıklar üzerindeki olası rolü detaylı biçimde ele alınmıştır (Rao ve Balachandran, 2003). Yüksek miktarda oksijen alımı ve kullanımı, yüksek lipid ve düşük antioksidan içeriği nedeniyle insan beyni oksidatif hasara karşı oldukça hassas bir organdır. Literatürde antioksidanların nörodejeneratif hastalıklardaki rolü araştırılmış olsa da çok azı likopenle ilgilidir. Likopenin kan beyin bariyerini geçtiği ve merkezi sinir sisteminde düşük konsantrasyonda bulunduğu, Parkinson ve vasküler demans hastalarında likopen seviyesinin anlamlı derecede düşük

bulduğu gözlenmiştir (Foy vd., 1999). Avusturya’da yapılan bir felç önleme çalışmasında serumdaki düşük likopen ve α -tokoferol seviyesinin mikroanjiopati riskini artırdığı ileri sürülmüştür (Schmidt vd., 1997).

1.8. Likopenin Kolesterol Metabolizması Üzerine Etkisi

Kolesterol seviyesinin terapötik ilaçlarla kontrol edilmesi, ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalık riskini azaltmıştır. Özellikle de kolesterol düşürücü olduğu iyi bilinen statinler, yaygın olarak hiperkolesterolemi ve kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Ancak bu gibi terapötik ilaçların miyopati, karaciğer hasarı ve ilaç-ilâç etkileşimi gibi birçok yan etkisinin olduğu rapor edilmiştir. Bu yüzden kolesterolün kontrol edilebilmesi için farklı terapilere gereksinim duyulmuş, hipokolesterolemik etkisi bilinen besinler tüketilmesi yoluna girilmiştir. Kanda likopen ağırlıklı olarak LDL ile taşınmaktadır. Likopenin antiaterojenik rolü, güçlü bir antioksidan olmasıyla ve LDL’yi oksidasyondan korumasıyla ilişkilendirilmiştir. Son zamanlarda karotenoidlerin, kolesterol metabolizmasını düzenlemesiyle ilgili yeni bir mekanizma ortaya atılmıştır. Likopenin kolesterolle benzer yolakları paylaştığı kabul gören gözlemlerdir. Ayrıca klinik denemeler likopen tüketmenin LDL kolesterolü düşürmede etkili olduğunu göstermiştir (Paloza vd., 2012).

Hücre içi kolesterolün likopen tarafından düşürülmesi, *HMG-KoA redüktaz* aktivitesinin, LDL reseptörünün ve *ACAT* aktivitesinin inhibe olmasıyla sağlanır. Likopenin insan makrofajında *HMG-KoA redüktaz* aktivitesini ve ekspresyonunu inhibe ederek kolesterol sentezini önlediği gösterilmiştir. Paloza vd. (2011), likopenin insan THP-1 makrofajlarında kolesterol seviyesini düşürebileceğini göstermişlerdir. Bu etkiye *HMG-KoA redüktaz* ekspresyonundaki azalma ve kolesterolün dışarıya akışı eşlik etmektedir.

Memeli hücrelerinde *HMG-KoA redüktaz* aktivitesinin aşırı kolesterol birikimi sonucu inhibisyonuna, LDL reseptör aktivitesinin azalması ve LDL reseptör gen transkripsiyonunun inhibisyonu eşlik eder. Diğer yandan karotenoidlerle zenginleştirilmiş hücrelerde LDL reseptör sentezi inhibe edilmediği gösterilmiştir (Paloza vd., 2012). Fuhrman vd. (1997), likopen ya da β karotenle zenginleştirilmiş makrofajlarda LDL alımının arttığını, aksine kolesterolle zenginleştirilmiş makrofajlarda ise LDL alımının azaldığını tespit etmişlerdir. Kolesterol biyosentezi inhibitörlerinin taşınan serum LDL’yi daha sonra da LDL reseptörü aktivasyonunu artırarak serum kolesterol konsantrasyonunu azalttığı bilinmektedir. Böylece

HMG-KoA redüktaz aktivitesinin statinlere benzer şekilde bazı karotenoitlerle inhibe edilmesi, muhtemelen LDL reseptör gen ekspresyonundaki artışı tetiklemektedir (Palozza vd., 2012).

Hu vd. (2008), yüksek yağlı diyetle beslenmiş tavşanlarda likopenin antiaterojenik etkisini çalışmışlardır. Likopen 4 ve 8 hafta boyunca 4-12 mg/kg dozunda gavaj ile uygulanmıştır. Çalışmada likopenin aortta aterosklerotik plakları belirgin bir biçimde azalttığı gözlenmiştir. Bu etkinin yanı sıra total kolesterol, malondialdehit (MDA), okside LDL ve interlökin-1 seviyelerinde azalma ve total antioksidan kapasitesi ile nitrik oksitte artış görülmüştür. Çalışmanın ilgi çekici noktası ise likopenin 10 mg/kg dozunda uygulanan fluvastatinden daha etkili olmasıdır.

Aynı hayvan modelinde likopenin üç farklı dozunun katılarak hazırlandığı yemler 12 hafta boyunca sıçanlara verilmiştir. Sonuçta serum total kolesterol ve LDL seviyelerinde azalma, HDL kolesterol seviyesinde ise artış gözlenmiştir (Vergheze, 2008). Frederiksen vd. (2007)'nin çalışmasında ise domates ekstraktı (15 mg/kg/günlük) ile zenginleştirilmiş diyet, kalıtsal hiperlipidemik tavşanlara 16 hafta boyunca uygulandıktan sonra plazma kolesterol seviyesinde hiçbir değişiklik gözlenmemiştir. Bu durum likopenin tavşanlarda defektli LDL reseptörlerine etkili olamaması ile açıklanmıştır. Likopen esas olarak LDL partikülleri içinde taşındığı için fonksiyonel bir LDL reseptörü likopenin taşınması için gereklidir (Palozza vd., 2012).

Lorenz vd. (2012), Yeni Zelanda tavşanlarında, diyetle artırılmış lipit parametreleri ve ateroskleroz üzerine likopenin etkilerini çalışmışlar ve likopeni kapsül halde günlük 5 mg/kg dozunda dört hafta boyunca uygulamışlardır. Yüksek kolesterol diyetiyle beslenen ve plasebo grubu ile karşılaştırıldığında likopen verilen grubun serum total ve LDL kolesterolünde %50 azalma olduğu görülmüştür. Ayrıca aorttaki kolesterol esterlerinin miktarında anlamlı azalmalar olmuştur. Ancak aortik yüzey alanında lipit birikiminde belirgin bir azalma olmadığı gibi damar içi kalınlık gruplar arası farksız bulunmuştur.

Basuny vd.(2009), konsantre (100, 200, 400, ve 800ppm) ve saf (200 ppm) domates likopen ile bütül hidroksitoluenin lipit parametreleri, oksidatif parametreler, karaciğer ve böbrek fonksiyonları üzerine etkilerini araştırmışlardır. Sıçanlar 10 hafta boyunca mide tüpü ile hiperkolesterolemik diyetle beslenmiş, yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlara farklı dozlarda domates oral olarak uygulanmıştır. Likopenin serum total kolesterol, LDL kolesterolü azalttığı gözlemiştir. Likopenin benzer etkisi diabetik farelere likopenin farklı dozlarının (1, 2 ve 4 mg/kg) 4-8 hafta boyunca uygulanmasıyla da gözlenmiştir. Dahası

yüksek yağlı diyetle beslenen gruba likopen verilmesi en yüksek HDL seviyesine sahip olmasına neden olmuştur.

Hassan ve Edrees (2004), okside kızartma yağında kızartılmış patatesle beslenen sıçanlarda, kardiyak rahatsızlıklarına karşı likopenden zengin domates suyunun teröpatik etkileri araştırmıştır. Bunun için 4 hafta boyunca 1 mg/kg dozunda likopen sıçanlara uygulanmıştır. Sonuç olarak okside kızartma yağıyla kızartılmış patateslerin dikkate değer bir şekilde lipid profilini, spesifik kalp enzim değerlerini, *kreatin kinaz* (CK), *alanin aminotransferaz* (ALT), *aspartat aminotransferaz* (AST) enzim aktivitelerini yükselttiği likopenin ise bunlar üzerine biyokimyasal olarak iyileşmeler sağladığını gözlemlemişlerdir. Biyokimyasal parametrelerde likopen uygulanmasıyla iyileşme görülmüştür. Likopenden zengin domates suyu total lipid, total kolesterol, trigliserit, fosfolipit ve LDL kolesterolde azalma sağlarken, HDL kolesterolde artışa neden olmuştur. Bu etkiler likopenin LDL'yi oksidasyondan koruma yeteneği, *HMG-KoA redüktaz* aktivitesini inhibe etmesi, makrofajlarda LDL reseptör aktivitesini düzenlemesi ve serbest radikalleri güçlü biçimde nötralize etmesiyle açıklanabilir (Paloza vd., 2012).

Deneysel çalışmalara paralel yapılan çalışmada (Fuhrman vd., 1997) 6 yetişkin erkeğe 3 ay boyunca günlük 60 mg likopen verilmesi LDL kolesterolde %14'lük bir azalmaya sebep olmuştur. Ayrıca 6 ay boyunca postmenapozal dönemdeki kadınlara günlük 4 mg likopenin kapsül olarak verilmesi total ve LDL kolesterol seviyesinde ciddi azalmalara neden olmuştur (Misra vd., 2006). Bir meta analiz çalışması (Ried ve Fakler, 2011) sonucunda likopenin kolesterolü tutmanın yanı sıra, kan basıncını istenen sınırlarda tuttuğu görülmüştür. Araştırmacılar en az 2 hafta süresince likopen uygulanmış 12 çalışmayı ele almış, likopenin yüksek kolesterol ve kan basıncı üzerine etkisini incelemişlerdir. Sonuç olarak ise günlük en az 25 mg likopenin total kolesterolü ortalama 7,55 mg/dl ($p=0,02$) seviyesinde tutmaya yardımcı olduğunu bulmuşlardır (Paloza vd., 2012).

1.9. Likopenin Günlük Alım Miktarı

Literatürde likopenin günlük alım miktarları ile ilgili veriler, değerlendirme metodlarından dolayı oldukça farklılık göstermektedir. Amerika'da günlük alım miktarı 3,7 ile 16,2 mg arasındadır. Bu miktar Kanada'da 25,2 mg, Almanya'da 1,3 mg, İngiltere'de 1,1 mg, Finlandiya'da 0,7 mg olarak tespit edilmiştir. Kuzey Amerika'da toplumun yarısının günlük likopen alım miktarı 2 mg'den azdır. Bu miktarların likopenin yararlı etkilerini

göstermesi için alınması gereken miktarlardan oldukça az olduğu düşünülmektedir. Çalışmalarda likopenin hastalıklardan koruyucu etkilerine rağmen temel bir besin maddesi olarak kabul edilmediği için günlük alım miktarı belirlenmemiştir. Normal sağlıklı bir insanın oksidatif strese ve kronik hastalıklardan korunmak için alması gereken günlük likopen miktarı 5-7 mg iken, kanser ya da kardiyovasküler hastalıklı kişilerin 35-75 mg arasındadır (Rao ve Rao, 2007).

1.10. Amaç

Birçok hastalığın temel nedenlerinden biri olan hiperkolesterolemide kan lipid parametreleri ve oksidatif stresin önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Likopenin antioksidan ve antikanserojen etkileri uzun yıllardır çalışmaların odak noktası olmuş, son yıllarda hipokolesterolemik etkisi üzerinde çalışılmaya başlanmıştır. Likopenin LDL kolesterolü düşürdüğü ve LDL'yi oksidasyondan koruduğu çalışmalarla ortaya konmuştur.

Kolesterolden zengin diyetle beslenen hayvanlarda çeşitli antioksidanların ve bitki ekstraktlarının etkileri araştırılmıştır. Bilgilerimize göre likopenin hipokolesterolemik etkisi yakın çalışmalarla ortaya konmuş olsa da sıçanlarla oluşturulan hiperkolesterolemik model üzerine etkisi daha önce çalışılmamıştır.

Çalışmanın ilk aşamasında deneysel olarak sıçanlarda yüksek kolesterol diyeti uygulanarak hiperkolesterolemi oluşturulması amaçlanmıştır. Hiperkolesterolemi oluşumundan sonra güçlü antioksidan ve antikanserojen bir karotenoid olan likopenin hiperkolesterolemi üzerine muhtemel etkilerinin belirlenmesi, kolesterol yüksekliğine bağlı olarak dokularda meydana gelebilecek oksidatif hasar, biyokimyasal ve histopatolojik bozukluklara karşı likopenin koruyucu ve tedavi edici etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Ayrıca çalışmada likopenin lipid parametreleri ve karaciğer fonksiyonu üzerine etkisi de araştırılmıştır.

Elde edilen bulgulara göre, tedavisinin hem pahalı hem de birçok yan etkisi olan ilaçlarla yapıldığı, birçok hastalığın temel nedeni olan hiperkolesterolemide likopen gibi doğal bir karotenoidin koruyucu ve tedavi edici olup olmadığının ortaya konması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Spektrofotometre	Techcomp UV 7500
Spektrofotometre küveti (normal ve kuvartz)	
Soğutmalı santrifüj	Hettich Universal 320R
İnkübatör	Nüve FN ₅₀₀
Homojenizatör	B.BRAUN 853022
pH metre	WTW pH 340i
Vorteks	Velp Scientifica 10.0176
Su banyosu	Nüve NB9
Derin dondurucu (-80 °C)	Arçelik 2553 D
Hassas terazi (0,001g - 150g)	Denver instrument Apx-153
Bidistile su cihazı	GFL 2104
Manyetik karıştırıcı	Colara Magnetomix
Balon joje (5, 10, 25, 50 ml)	Isolab
Beher (25, 50, 100 ml)	Isolab
Cam tüp (16x100 mm)	Isolab
Erlen (25, 50, 100, 250 ml)	Isolab
Mikro pipet (10-100,100-1000 µl)	Thermo Labsystems
Mavi ve sarı pipet ucu	Isolab

2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Hiperkolesterolemik yem yapımında kullanılan kolesterol Ambresco (Solon, USA), kolik asit ise Alfa Aesar (Karlsruhe, Germany), deneysel uygulamalarda kullanılan likopen DSM Nutritional Product (Redivivo™ İstanbul, Türkiye) firmasından temin edildi. Analizlerde kullanılan diğer sarf malzemeler ise Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) ve Merck (Darmstadt, Germany) firmalarından temin edildi.

2.1.3. Deney Hayvanları

Araştırmada kullanılan deney hayvanları Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Birimi'nden (FÜDAM) temin edildi. Ortalama ağırlıkları 300-320 g olan 15-16 haftalık 28 adet Sprague-Dawley ırkı erkek sıçan kullanıldı. FÜDAM'da gerçekleştirilen çalışmalarda sıçanlar standart şartlarda (sabit ve ısı havalandırılmalı odalarda; 12 saat gün ışığı ve 12 saat karanlık olmak üzere) bir kafeste en fazla 4 hayvan olacak şekilde barındırıldı. Sıçanlara taze su ve yem *ad libitum* olarak verildi. Sıçanların beslenmesinde Elazığ Yem Fabrikası'ndan temin edilen 8 mm'lik sıçan pellet yemleri kullanıldı. Sıçanların beslenmesinde kullanılan yemin bileşimi Tablo 6'da gösterilmiştir. Hiperkolesterolemik yem ise standart yeme kolesterol ve kolik asit katılarak manuel olarak hazırlandı.

Çalışmanın tüm aşamalarında 1983 Helsinky deklarasyonunda bildirilen “hayvanlarda bilimsel çalışmalar için etik kurallar”a uyuldu. Çalışma için Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan gerekli onay ve izin alındı (Toplantı tarihi: 06.03.2013, Toplantı sayısı: 2013/2).

Sıçanların 8 hafta boyunca haftada bir canlı ağırlık tartımları yapılarak çalışma sonunda canlı ağırlık ortalamaları değerlendirildi.

Tablo 6. Çalışmada kullanılan sıçanlara verilen standart yemin besin madde bileşimi

Yem Bileşimi	Oran
Su (en çok)	%12
Ham protein (en az)	%24
Ham selüloz (en çok)	%7
Ham kül (en çok)	%8
HCL'de çözünmeyen kül (en çok)	%2
NaCl (en çok)	%1
Mineral Karması *	%1,25
Vitamin Karması **	%1,25
Metabolik enerji	2650 kcal/kg

* Mineral Karması: Kalsiyum (% 1,0 -2,8), Fosfor (% 0,9), Sodyum (% 0,5-0,7), Mangan (10 mg/kg), Çinko (4 mg/kg).

** Vitamin Karması: Vitamin A (300 iü/kg), Vitamin D₃ (1000 iü/kg), Vitamin E (60 mg/kg), Vitamin B2 (4 mg/kg).

2.1.4. Deney Grupları

Sıçanlar rastgele 4 gruba ayrıldı:

Grup 1 (Kontrol grubu, n=7); 8 hafta süreyle hayvanlara standart yem ve içme suyu serbest olarak verildi. Ayrıca günlük 0,5 ml mısır yağı gavajla uygulandı.

Grup 2 (Likopen grubu, n=7); 8 hafta süreyle hayvanlara standart yem verildi. Ayrıca bu süre boyunca hayvanlara günlük 10 mg/kg dozunda likopen, mısır yağında çözündürülerek gavaj yoluyla verildi.

Grup 3 (Hiperkolesterolemi grubu, HK, n=7); 8 hafta süreyle hayvanlara kolesterol+kolik asit içeren standart pellet yem diyeti verildi.

Grup 4 (Hiperkolesterolemi+Likopen grubu, HK+Likopen, n=7); 8 hafta süreyle hayvanlara kolesterol+kolik asit içeren standart pellet yem diyeti ile eş zamanlı olarak günlük 10 mg/kg dozunda likopen mısır yağında çözündürülerek gavajla uygulandı

2.1.5. Hiperkolesterolemik Yemin Hazırlanışı

Hiperkolesterolemik yem standart yeme %2 kolesterol+%0,5 kolik asit katılarak 10 kg'lık paketler halinde manuel ve taze olarak hazırlandı. Hazırlanan yemler kullanım süresince +4 °C'de saklandı.

Yemin hazırlanışında kullanılan kolesterol ve kolik asit miktarları önceki çalışmalardan (Story vd., 1974; Penumathsa vd., 2007; Küçükgergin vd., 2010), likopenin dozu Ateşşahin vd., (2005;2006b)'ne göre belirlendi.

2.1.6. Örneklerin Alınması ve Hazırlanması

Sekiz hafta süreyle uygulama yapılan sıçanlar eter anestezisine alınarak dekapite edildi. Kan örnekleri yapılacak analizlere uygun bir biçimde biyokimya tüplerine alındı. Alınan kanlar 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Elde edilen serumlar total kolesterol, HDL, LDL, trigliserit ve VLDL gibi lipit parametreleri ile ALT, AST, gama glutamil transferaz (GGT) ve total bilirubin gibi karaciğer fonksiyon testleri için ependorf tüplerine alınıp -80 °C'de saklandı.

Hayvanlara laparotomi yapılarak karaciğer, böbrek, kalp ve beyin dokuları alındı. Dokuların bir kısmı biyokimyasal analizler için -80 °C'de saklandı. Geri kalan kısmı ise %10'luk formaldehit içerisinde histopatolojik analizler için ayrıldı.

2.1.7. Homojenatların Hazırlanması

Derin dondurucudan alınan dokular tartılıp cam tüplere konuldu. Üzerlerine 1/10 (g/v) oranında dilüsyon olacak şekilde %1,15'lik potasyum klorür (KCl) ilave edildikten sonra soğuklukları muhafaza edilerek cam-teflon homojenizatörde 16.000 devir/dakika hızda 3 dakika homojenize edildi. Hazırlanan homojenatlarda doku MDA tayinleri yapıldı.

Geri kalan homojenat +4 °C'de 45 dakika süreyle 3500 rpm'de santrifüj edilerek süpernatant elde edildi. Süpernatantta SOD aktivitesi ve protein ölçümü için ayrıldı. Diğer süpernatantlarda ise redükte GSH düzeyleri, CAT, GSH-Px aktivite ölçümleri ile protein tayinleri yapıldı.

SOD ölçümü için ayrılan süpernatantlar 1/1 (v/v) oranında kloroform/etanol (3/5) karışımı ile vortekslendikten sonra tekrar soğutmalı santrifüjle 45 dakika 3500 rpm'de santrifüj edildi. Üstte oluşan faz kullanılarak SOD enzim aktivitesi ve protein ölçümü yapıldı.

2.2. Metot

2.2.1. Doku MDA Düzeylerinin Ölçümü

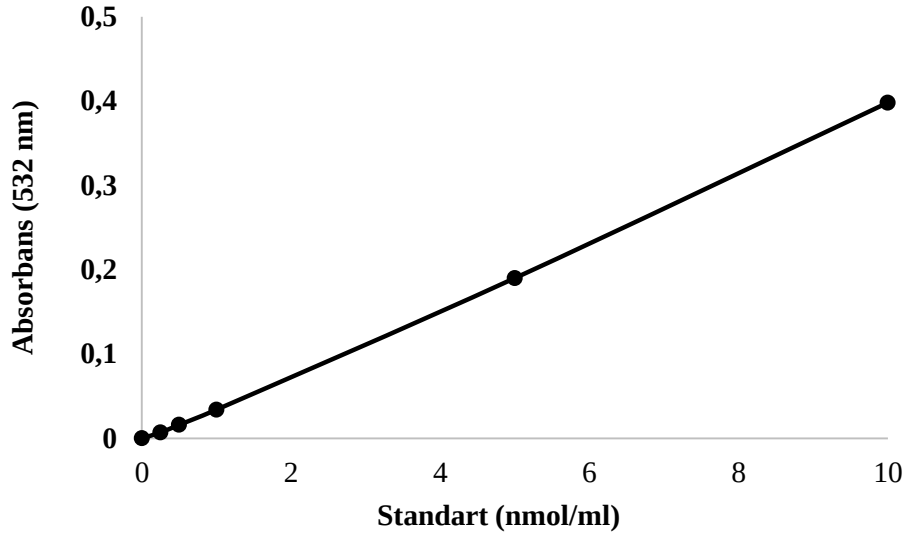
Doku MDA düzeylerinin tayini spektrofotometrik olarak Ohkawa vd., (1979) tarafından önerilen metoda göre yapıldı.

Prensip: Aerobik şartlar altında ve pH 3,5'te, doku homojenatının kaynar su banyosunda bir saat inkübasyonu sonucu, lipid peroksidasyonunun sekonder ürünü olan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile oluşturduğu pembe renkli kompleksin 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanır.

Ayıraçlar

- 1- Tiyobarbitürik asit (TBA) ayıracı: 0,25 N HCl içerisinde %0,65 TBA çözündürüldü.
- 2- Trikloroasetik asit (TCA) ayıracı: 0,25 N HCl içerisinde %10 TCA çözündürüldü.
- 3- Standart (1,1,3,3 tetraetoksipropan): %50 Etanol içerisinde hazırlandı.

Stok standarttan konsantrasyonu 20 nmol/ml olan günlük stok hazırlandı. Bu standarttan belli oranlarda dilüsyonlar yapılarak 0.25, 0.5, 1, 5, 10 nmol/ml konsantrasyonlarda çalışma standartları hazırlandı. Çalışma standartlarından 0,5 ml TCA ve TBA ayıraçlarından 1'er ml alınarak kalibrasyon eğrisi hazırlandı (Şekil 8).



Şekil 8. MDA standart eğri grafiği

Tüpler karıştırıldıktan sonra 95 °C’de 30 dk kaynar su banyosunda tutuldu ve soğutuldu. 3500 rpm’de 10 dk santrifüj edilip üst kısımları pipetlendi. 532 nm’de köre karşı okunup standartlardan eğri çizimi yapıldı. Daha sonra çalışılan tüm örnekler için bu eğri kullanılarak MDA düzeyleri belirlendi. Ölçülen doku MDA düzeyleri nmol/ml olarak ifade edildi.

Yöntem

Örnekler için ayıraçlar tüplere standart eğri oluşturulurken uygulanan şekilde (0,5 ml homojenat, 1 ml TBA, 1 ml TCA) hazırlandı ve aynı uygulamalara tabi tutuldu. Spektrofotometrede 532 nm’de absorbanslar belirlendi ve kalibrasyon eğrisi yardımıyla MDA düzeyleri nmol/ml homojenat olarak hesaplandı.

Hesaplama

532 nm’de okunan örnek absorbansları (OD) standart değerleri kullanılarak aşağıdaki formül yardımıyla değerlendirildi.

$$\text{MDA (nmol/ml)} = (\text{Örnek absorbansı} / \text{Std. absorbansı}) \times \text{Std. Konsantrasyonu}$$

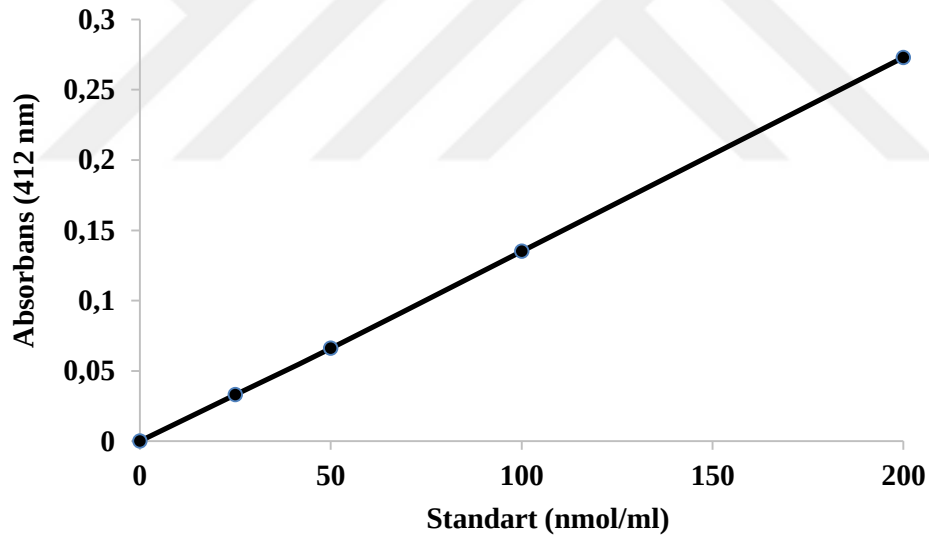
2.2.2. Doku GSH Düzeylerinin Ölçümü

Dokulardaki redükte GSH düzeyleri Ellman (1959) tarafından önerilen ditiyonitrobenzoik asit geri çevirim metodu olarak tanımlanan yöntemle göre tayin edildi.

Prensip: 5,5'-ditiyo-bis-2-nitrobenzoik asit (DTNB), sülfüdril bileşikler tarafından redükte edilerek bir disülfid bileşiği olan sarı renkli kompleks oluşturulur. Daha sonra bu sarı renkli bileşiğin optik dansitesi 412 nm dalga boyunda ölçülerek GSH düzeyleri saptanır.

Ayırıcılar

1. Tris EDTA Tamponu (0,2 mol/ml, pH: 8,9)
2. TCA Ayırıcı (% 10'luk)
3. DTNB (5-5'-ditiyo-bis-2-nitrobenzoik asit) (0,01 mol/L)



Şekil 9. GSH standart eğri grafiği

Konsantrasyonu 1000 nmol/ml olan stok standart hazırlandı. Bu stok standarttan belli oranlarda dilüsyonlar yapılarak 25, 50, 100, 200 nmol konsantrasyonlarda çalışma standartları hazırlandı. Çalışma çözeltilerinden elde edilen GSH kalibrasyon eğrisi Şekil 9'da gösterilmiştir.

Yöntem

Homojenat +4 °C’de 45 dakika süreyle 3500 rpm’de santrifüj edilerek süpernatant elde edildi. 0,5 ml süpernatant ile 0,5 ml TCA ile çöktürüldü ve tekrar 3500 rpm’de 10 dk santrifüj edildi. Santrifüjden sonra üstteki kısımdan 0,5 ml alınıp 2 ml Tris EDTA tamponu ilave edildi. Daha sonra 0,1 ml DTNB ilave edilerek karıştırıldı. 5 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 412 nm’deki absorbanları köre karşı okunarak belirlendi. Elde edilen değerler $\mu\text{mol/mg}$ protein olarak sunuldu.

2.2.3. Doku Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi Ölçümü

SOD oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan toksik süperoksit radikallerinin ($\text{O}_2^{\cdot-}$) hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandırır. Doku SOD aktivitesi Sun vd. (1988)’nin metoduna göre ölçüldü.

Prensip: Bu yöntemde SOD aktivitesi, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksidin nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Oluşan süperoksit radikallerinin NBT’yi indirgemesi sonucu oluşan renkli formazon spektrofotometrik olarak ölçülür. Bu kompleks 560 nm’de maksimum absorban verir. Enzimin olmadığı ortamlarda indirgenme meydana gelerek mavi-mor renk oluşmaktadır. Ortamda SOD bulunduğunda ise mavi-mor renk oluşmaz ve enzim aktivitesine bağlı olarak daha açık bir renk oluşur.

Ayrıçlar

1. Assay reaktifi:

-200 ml 0,3 mM ksantin

-100 ml 150 μM NBT

-100 ml 0,6 mM Na_2EDTA

-30 ML 1 g/L bovin serum albümin (BSA)

-60 ml 400 mmol/L Na_2CO_3

Tüm çözeltiler karıştırılarak son hacim 490 ml olacak şekilde assay reaktifi hazırlanır.

2. Ksantin oksidaz (167 U/L)

3. CuCl_2 (0,8 mM)

Yöntem

SOD ölçümü için ayrılan süpernatantlar 1/1 (v/v) oranında kloroform/etanol (3/5) karışımı ile vorteks yardımıyla karıştırılıp tekrar soğutmalı santrifüjle 45 dakika 3500 rpm’de santrifüj edildikten sonra üstte oluşan faz kullanılarak SOD enzim aktivitesi ölçülür.

	Kör (ml)	Örnek (ml)
Assay reaktifi	2,85	2,85
Örnek	-	0,1
Distile su	0,1	-
Ksantin oksidaz	0,05	0,05

Tüpler vortekslenip 20 dakika oda sıcaklığına inkübe edildikten sonra kör ve örnek tüplerine 1’er ml CuCl₂ eklenerek reaksiyon durduruldu. Spektrofotometrede 560 nm’de assay reaktifi ile sıfırlanarak kör ve örnek tüplerinin absorbensları okundu.

Hesaplama

$$\text{Enzimin \% inhibisyonu} = [\text{Absorbans Kör (K)} - \text{Absorbans Örnek (Ö)}] / K \times 100$$

Bir SOD ünitesi; NBT redüksiyonunu %50 oranında inhibe eden enzim aktivitesidir. Sonuçlar U/mg protein olarak ifade edildi.

2.2.4. Doku Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesi Ölçümü

Dokulardaki GSH-Px aktivitesi Beutler (1975)’e göre ölçüldü.

Prensip: Glutasyon peroksidaz, redükte glutasyonu (GSH) kullanarak H₂O₂’nin suya dönüşümünü katalizleyen bir enzimdir. GSH-Px ise, H₂O₂ varlığında GSH’ın okside glutatyonla dönüşmesini katalizler. H₂O₂’in bulunduğu ortamda GSH-Px’in oluşturduğu GSSG, glutasyon redüktaz ve NADPH yardımıyla tekrar GSH’a dönüştürülür. GSH-Px aktivitesi, deney ortamındaki NADPH’ın NADP⁺’ya çevrilmesi ile optik dansitede meydana gelen absorbens farkının 340 nm’de spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile hesaplanır.

Ayırıcılar

1. EDTA’lı fosfat tamponu (50 nM, pH: 7,5)
2. GSH (150 mM)

3. NADPH (10 mM)
4. GSH Redüktaz (1 U/ µL)
5. NaN₃ (1 M)
6. H₂O₂ (2 mM)

Yöntem

Homojenatların +4 °C soğutmalı santirifüjde 45 dakika süreyle 3500 rpm’de santrifüj edilmeleri sonucu elde edilen süpernatantlar doku GSH-Px enzim aktivitesi ve protein tayini için kullanıldı.

	Kör (ml)	Örnek (ml)
EDTA’lı Fosfat Tamponu	2,67	2,65
GSH	0,1	0,1
NADPH	0,1	0,1
GSH Redüktaz	0,01	0,01
NaN₃	0,01	0,01
Örnek	-	0,02

Tüpler iyice karıştırıldı ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. Sürenin sonunda her tüpe 0,1 ml H₂O₂ çözeltisi ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Dalga boyu 340 nm’ye ayarlı spektrofotometrede numunelerin absorbans azalmaları 3 dakika boyunca 30 saniyede bir kaydedildi. İlk absorbans değerinden son absorbans değeri çıkarılıp 3’e bölünerek dakikadaki absorbans değişimi bulundu.

Hesaplama

$$U/L \text{ (mikromol/min/L)} = \frac{\Delta A/t \times V_t \times 10^6}{E \times V_s \times l}$$

$$E \times V_s \times l$$

E : NADP’nin enstiksiyon sabiti (6.22 x 10³)

V_t : Total reaksiyon hacmi (ml)

V_s : Total hacim içindeki numune hacmi

l : Küvet çapı (1 cm)

ΔA/t : Dakikadaki absorbans değişimi

10⁶ : Molü mikromole çevirim faktörü

Sonuçlar daha sonra U/mg protein olarak hesaplandı.

2.2.5. Doku Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesinin Ölçümü

CAT, katalitik aktivitesiyle H₂O₂'yi dekompoze ederek su ve oksijene dönüştürmektedir. Dokulardaki CAT enzim aktivitesinin tayini Aebi (1984)'e göre ölçüldü.

Prensip: H₂O₂, 240 nm dalga boyunda maksimum absorbands göstermektedir. Deney ortamına ilave edilen H₂O₂'nin CAT enzimi tarafından parçalanması, ultraviyole spektrumda bir absorbands azalması olarak takip edilir. Absorbandtaki bu azalma enzim aktivitesiyle doğru orantılıdır.

Ayırıcılar

1. Fosfat tamponu (50 mM, pH:7)
2. H₂O₂ (%30'luk) : 100 ml tampona optik dansite 0,50 oluncaya kadar her defasında optik dansite okunarak azar azar ilave edilir.

Yöntem

	Kör (ml)	Örnek (ml)
Fosfat Tamponu	3	-
H ₂ O ₂	-	1
Örnek	-	2

Numune ilavesiyle 240 nm dalga boyundaki absorbands azalması her 15 saniyede bir olmak üzere 2 dakika boyunca kaydedildi. Hesaplama 2 dakikalık lineer absorbands azalmasının değerleri esas alındı.

Hesaplama

$$k/sec = k \times sec^{-1} = \frac{2,31 \log OD_1 / OD_2}{30 sn}$$

Sonuçlar daha sonra k/g protein olarak hesaplandı.

2.2.6. Doku Protein Ölçümü

Homojenat ve süpernatantlardaki protein miktarı tayinleri Lowry vd. (1951)' e göre ölçüldü. Alkali bakır ayırıcındaki Cu^{++} peptid bağları ile kompleks yapmaktadır. Her 7 veya 8 aminoasit artığı 1 atom bakır bağlamaktadır. Folin-Fenol ayıracı, bakır ile muamele edilmiş karışıma ilave edildiğinde mor-mavi bir renk oluşur. Oluşan bu renk 650 nm'de okunur.

Ayıraçlar

1. Alkali Bakır Ayıracı
2. Fenol Ayıracı (2N)
3. Protein Standardı (Bovine serum albümin- BSA- ile hazırlandı)
4. Sulandırılarak okuma sınırlarına getirilmiş örnek

Yöntem

	Kör (ml)	Standart (ml)	Örnek (ml)
Alkali Bakır Ayıracı	1	1	1
Günlük Protein Standardı	-	1	-
Örnek	-	-	1
Distile Su	1	-	-

Tüpler iyice karıştırıldı. Hiç oynatmadan 10 dakika oda ısısında bekletildikten sonra tüm tüplere 4'er ml fenol ayıracı ilave edildi. Tekrar karıştırılan tüpler bu defa 55 °C'de 5 dakika bekletildi. İnkübasyon sonucunda hemen soğutulduktan sonra örnek ve standart tüplerinin absorbanları 650 nm'de köre karşı okundu.

Hesaplama

Doku Proteini ($\mu\text{g/ml}$)=(Örnek Absorbansı / Standart Absorbansı) x Standart Konsantrasyonu

2.2.7. Lipit Parametreleri ve Karaciğer Fonksiyon Testlerinin Ölçümü

Serumda Total Kolesterol, HDL Kolesterol, LDL Kolesterol ve Triglicerit düzeyleri ile AST, ALT, GGT ve total bilirubin düzeyleri Fırat Üniversitesi Hastanesinde Siemens

Advia 2400 (Siemens Healthcare Diagnostics Tarrytown, USA) otoanalizöründe Siemens marka ticari kitler kullanılarak ölçüldü. VLDL Kolesterol düzeyleri ise hesaplama ile elde edildi.

Ayrıca aterojenik indeks; (Total Kolesterol-HDL)/HDL, (García Giménez vd., 2012), non-HDL ise; Total Kolesterol-HDL işlemiyle (Frost ve Havel, 1998) hesaplanarak elde edildi.

2.2.8. Dokuların Histopatolojik İncelenmesi

Histopatolojik muayeneler için karaciğer ve böbreklerden alınan doku örnekleri, %10'luk tamponlu nötral formalin solüsyonunda tespit edildikten sonra dokulardan parafin blokları hazırlandı. Bloklar 5 µm kalınlığında kesilerek Hematoksilin&Eosin (H&E) yöntemine göre boyanarak ışık mikroskopunda incelendi (Bancroft ve Stevens, 1990). Karaciğer ve böbrek dokularında tespit edilen değişimler lezyon yok (0), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) lezyon şeklinde skorlandı. Skorlama sonuçları istatistiksel açıdan değerlendirildi.

2.2.9. İstatistiksel Analizler

Çalışmadan elde edilen veriler "SPSS for Windows 15" paket programı kullanılarak değerlendirildi. Gruplar arası parametrelerin karşılaştırılması, normallik testinden sonra parametrik test varsayımlara uyduğu için One-way ANOVA (tek yönlü varyans analizi) ve Post hoc Tukey testi ile yapıldı. Canlı ağırlıklardaki değişimler ise parametrik testlerden Paired Samples "t" Testi (bağımlı örneklem T testi) ile yapıldı.

3. BULGULAR

3.1. Canlı Ağırlık Değişimleri

Çalışmaya alınan sıçanlara ait başlangıç ve bitiş canlı ağırlık değişimleri Tablo 7'de verilmiştir. Araştırmada kullanılan sıçanların başlangıç ağırlıkları homojen olarak oluşturulmuş ve ortalama 280-350 g aralığında olan hayvanlar kullanılmıştır. Kontrol,

Likopen ve Hiperkolesterolemi grubu sıçanlarında başlangıç ağırlıkları ile deneylerin sonunda ölçülen ağırlıklar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış ($p<0,05$) olmasına karşılık Hiperkolesterolemi+Likopen grubunda ise deneylere başlanan ağırlıklarla deney sonu ağırlıkları arasında fark olsa da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Çalışma periyodu boyunca ölen hayvan olmamıştır.

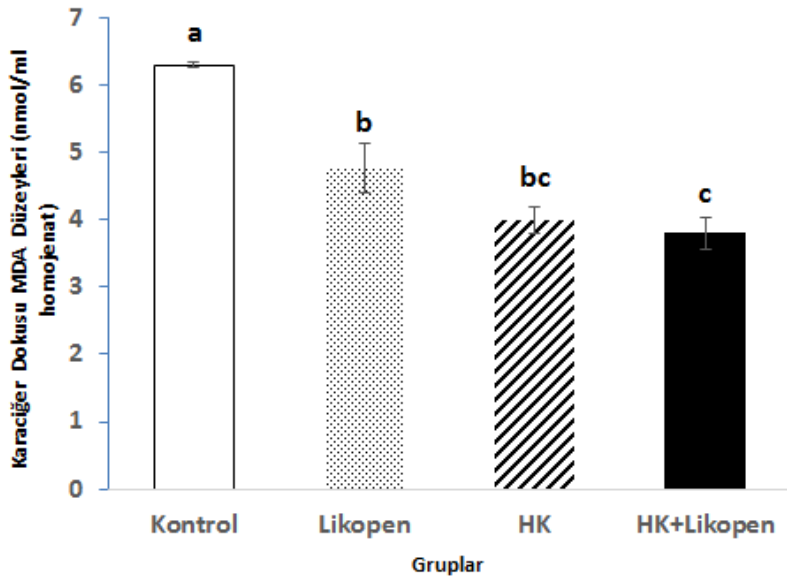
Tablo 7. Araştırmaya alınan sıçanların canlı ağırlıkları

Gruplar	Başlangıç ağırlığı	Bitiş ağırlığı	P değeri
Kontrol	305,28±15,12	363,14±15,46	0,000
Likopen	318,14±9,11	394,14±15,97	0,005
Hiperkolesterolemi	321,42±12,80	384,42±13,47	0,019
Hiperkolesterolemi+Likopen	332,42±10,66	395,71±9,49	0,386

3.2. Biyokimyasal Parametreler

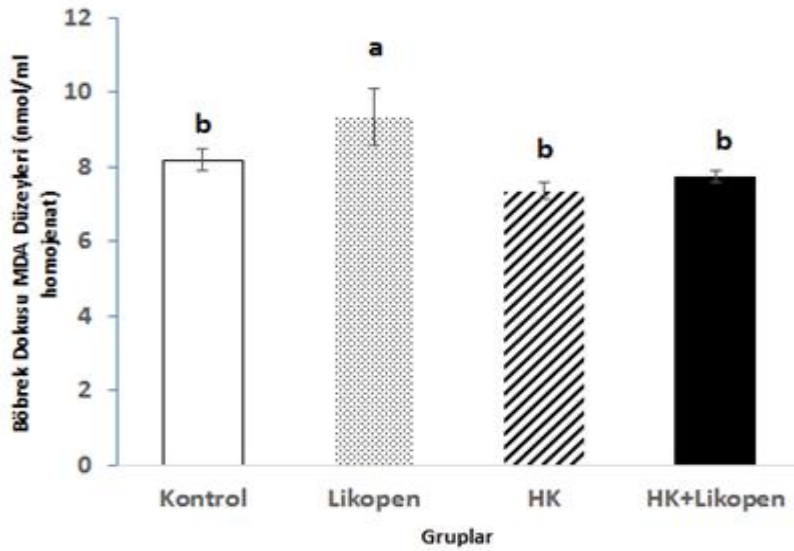
3.2.1. Doku MDA Düzeyleri

Karaciğer: Karaciğer dokusu MDA düzeyleri Şekil 10’da verilmiştir. MDA düzeyleri Kontrol grubunda $6,30\pm0,04$ nmol/ml homojenat olduğu ve HK grubunda ise $3,99\pm0,19$ nmol/ml homojenat düzeyine kadar anlamlı azaldığı tespit edildi ($p<0,05$). Buna karşın HK+Likopen grubunda Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında düşük olduğu ancak HK grubuna göre anlamlı bir değişikliğin olmadığı gözlemlendi ($p>0,05$).



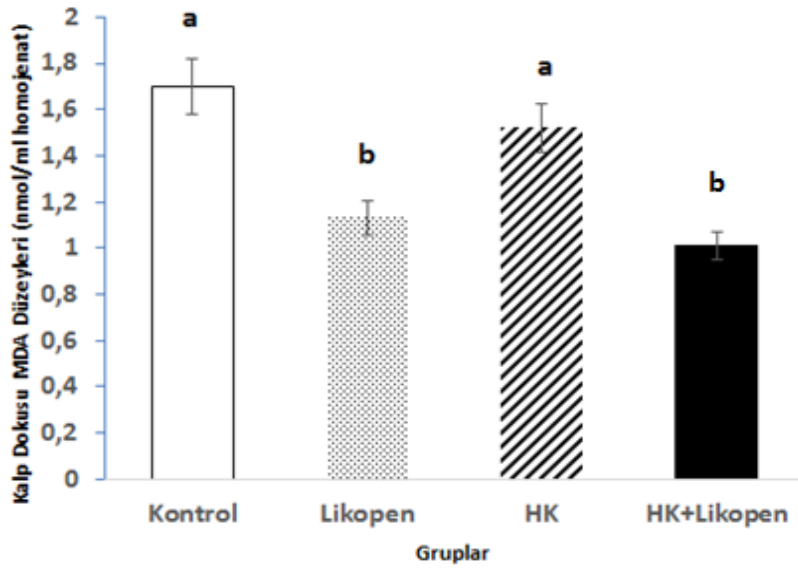
Şekil 10. Karaciğer dokusu MDA düzeyleri

Böbrek: Böbrek dokusu MDA düzeyleri Şekil 11’de verilmiştir. MDA düzeyleri Kontrol grubunda $8,19 \pm 0,29$ nmol/ml iken HK grubunda $7,36 \pm 0,23$ nmol/ml düzeylerine indiği gözlenmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). HK+Likopen grubunda MDA düzeyi, HK ve Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark görülmemiştir ($p > 0,05$).



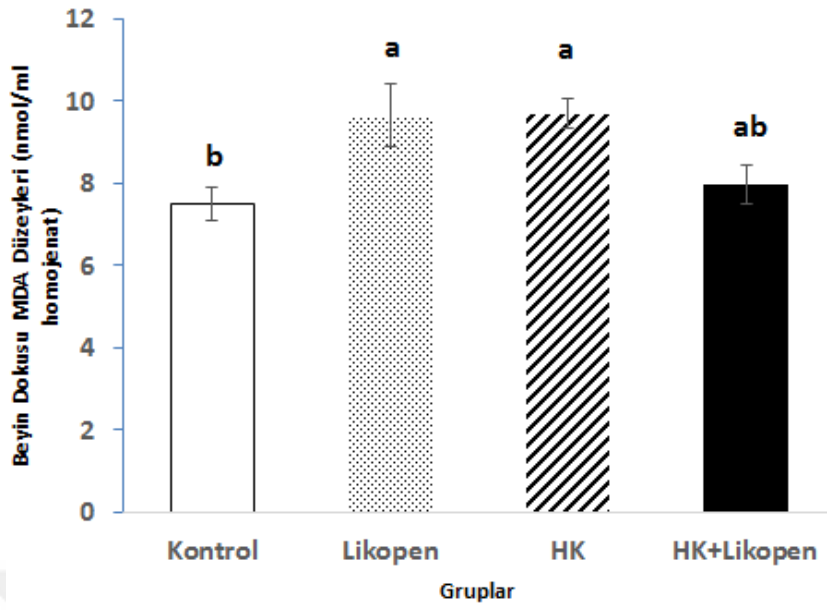
Şekil 11. Böbrek dokusu MDA düzeyleri

Kalp: Kalp dokusu MDA düzeyleri Şekil 12’de verilmiştir. MDA düzeyleri Kontrol grubunda $1,70 \pm 0,12$ nmol/ml olduğu, Likopen grubunda ise $1,13 \pm 0,07$ nmol/ml seviyesine kadar azaldığı tespit edildi ($p < 0,05$). HK grubunun MDA düzeylerinin $1,52 \pm 0,1$ nmol/ml olduğu ve HK+Likopen grubunda ise $1,01 \pm 0,05$ nmol/ml düzeylerine indiği görüldü ($p < 0,05$). Ancak Kontrol ve HK grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ($p > 0,05$).



Şekil 12. Kalp dokusu MDA düzeyleri

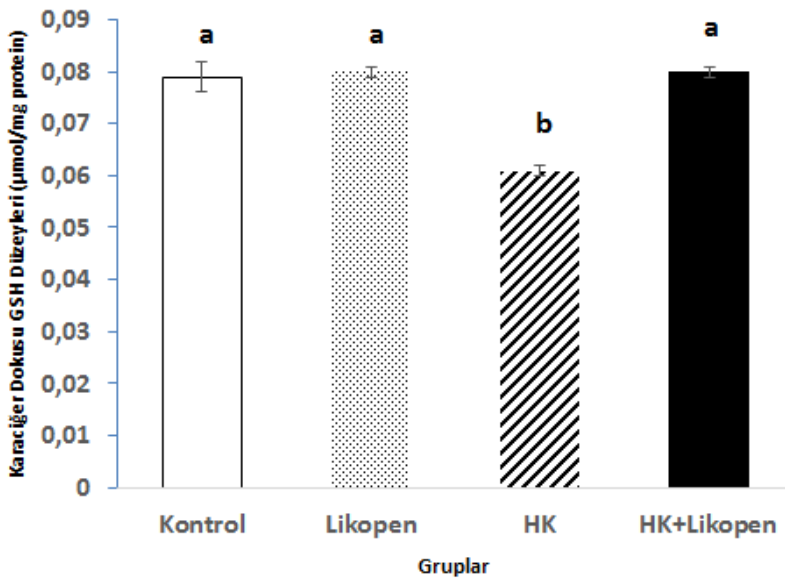
Beyin: Beyin dokusu MDA düzeyleri Şekil 13’te verilmiştir. Kontrol grubunda $7,50 \pm 0,39$ nmol/ml iken, HK grubunda $9,69 \pm 0,35$ nmol/ml olarak anlamlı bir şekilde yükseldiği tespit edildi ($p < 0,05$). HK+Likopen grubu MDA düzeylerinin $7,99 \pm 0,47$ nmol/ml olduğu ve HK grubuna göre bu azalışın anlamlı olmadığı görüldü ($p > 0,05$).



Şekil 13. Beyin dokusu MDA düzeyleri

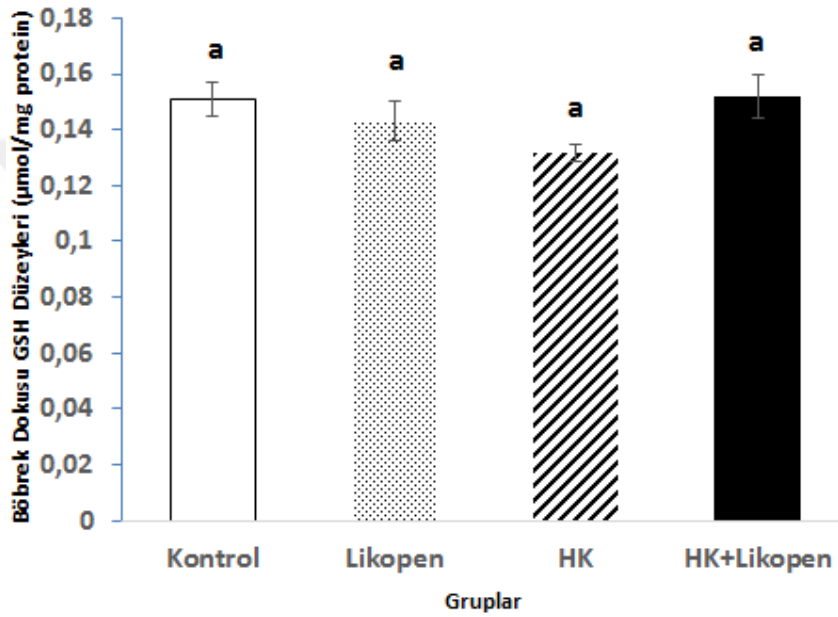
3.2.2. Doku GSH Düzeyleri

Karaciğer: Karaciğer dokusu GSH düzeyleri Şekil 14’te verilmiştir. GSH düzeyleri Kontrol grubunda $0,079 \pm 0,003$ $\mu\text{mol/mg}$ protein iken HK grubunda $0,061 \pm 0,001$ $\mu\text{mol/mg}$ protein olarak tespit edilmiştir ($p < 0,05$). HK+Likopen grubunda ise GSH düzeyinin $0,080 \pm 0,001$ $\mu\text{mol/mg}$ protein düzeylerine çıktığı ve HK grubuna göre anlamlı yüksek olduğu görüldü ($p < 0,05$).



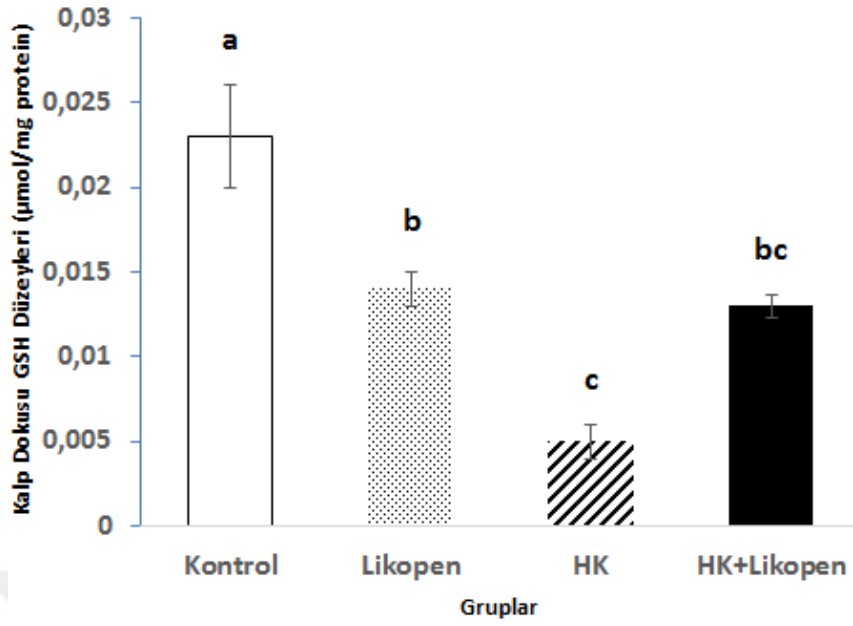
Şekil 14. Karaciğer dokusu GSH düzeyleri

Böbrek: Böbrek dokusu GSH düzeyleri Şekil 15'te verilmiştir. GSH düzeyleri Kontrol grubunda $0,151 \pm 0,006$ $\mu\text{mol/mg}$ protein olduğu, HK grubunda $0,132 \pm 0,003$ $\mu\text{mol/mg}$ protein seviyesine kadar azaldığı görüldü. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$). HK+Likopen grubunda ise GSH düzeyinin HK grubuna kıyasla yükseldiği ancak farkın anlamlı olmadığı görüldü ($p > 0,05$).



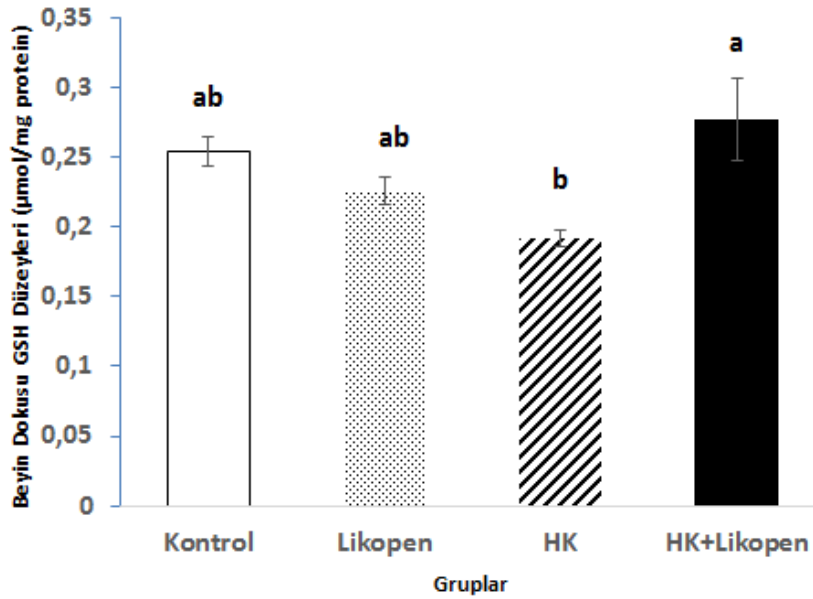
Şekil 15. Böbrek dokusu GSH düzeyleri

Kalp: Kalp dokusu GSH düzeyleri Şekil 16'da verilmiştir. Kontrol grubunda $0,023 \pm 0,003$ $\mu\text{mol/mg}$ protein iken, HK grubunda $0,005 \pm 0,001$ $\mu\text{mol/mg}$ protein olarak belirlendi ($p < 0,05$). HK+Likopen grubunda ise GSH düzeyleri $0,013 \pm 0,00$ $\mu\text{mol/mg}$ protein olarak tespit edildi ancak bu fark HK grubuna göre anlamlı değildi ($p > 0,05$).



Şekil 16. Kalp dokusu GSH düzeyleri

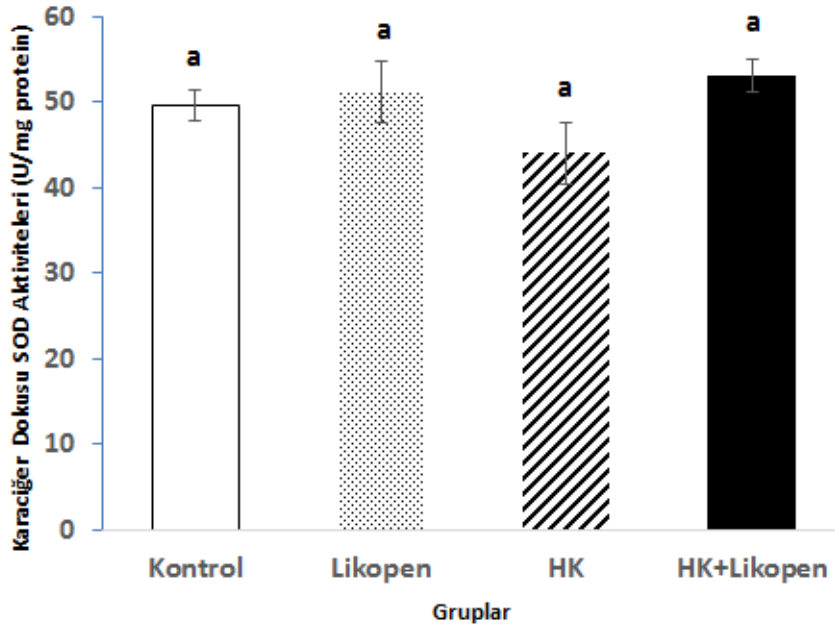
Beyin: Beyin dokusu GSH düzeyleri Şekil 17’de verilmiştir. GSH düzeyleri Kontrol grubunda $0,254 \pm 0,01$ µmol/mg protein iken, HK grubunda $0,192 \pm 0,006$ µmol/mg protein düzeylerinde bulundu ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$). HK+Likopen grubunda ise GSH düzeyleri $0,277 \pm 0,03$ µmol/mg protein düzeyleri ile HK grubuna göre anlamlı şekilde yükseldi ($p < 0,05$).



Şekil 17. Beyin dokusu GSH düzeyleri

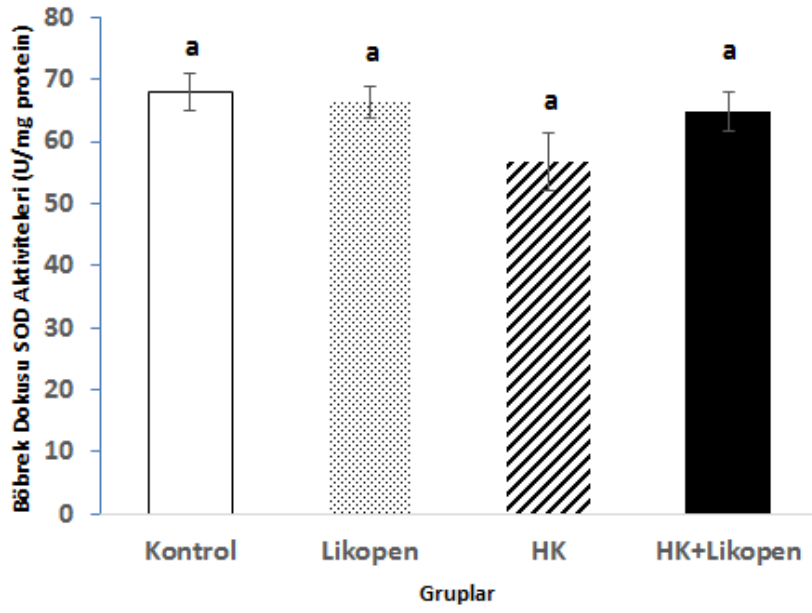
3.2.3. Doku SOD Aktiviteleri

Karaciğer: Karaciğer SOD aktiviteleri Şekil 18’de verilmiştir. SOD aktiviteleri Kontrol grubunda $49,55 \pm 1,55$ U/mg protein, HK grubunda $44,03 \pm 3,65$ U/mg protein ve HK+Likopen grubunda ise $53,14 \pm 1,89$ U/mg protein olarak tespit edilmiştir. Ancak bütün gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$).



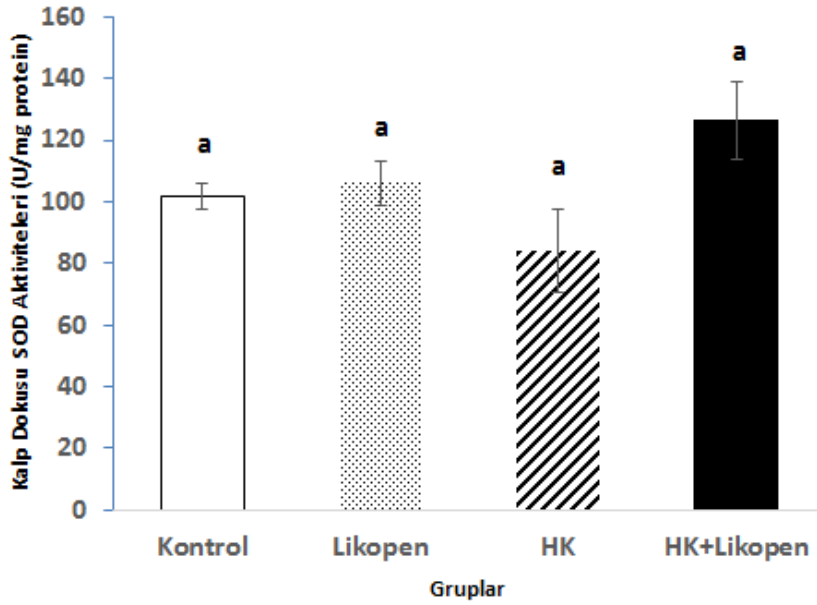
Şekil 18. Karaciğer doku SOD aktiviteleri

Böbrek: Böbrek doku SOD aktiviteleri Şekil 19’da verilmiştir. SOD aktiviteleri Kontrol grubunda $67,96 \pm 2,92$ U/mg protein iken, HK grubunda $56,61 \pm 4,66$ U/mg protein olarak tespit edildi ve HK+Likopen grubunda ise $64,91 \pm 3,17$ U/mg protein seviyelerine yükseldi. Ancak gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$).



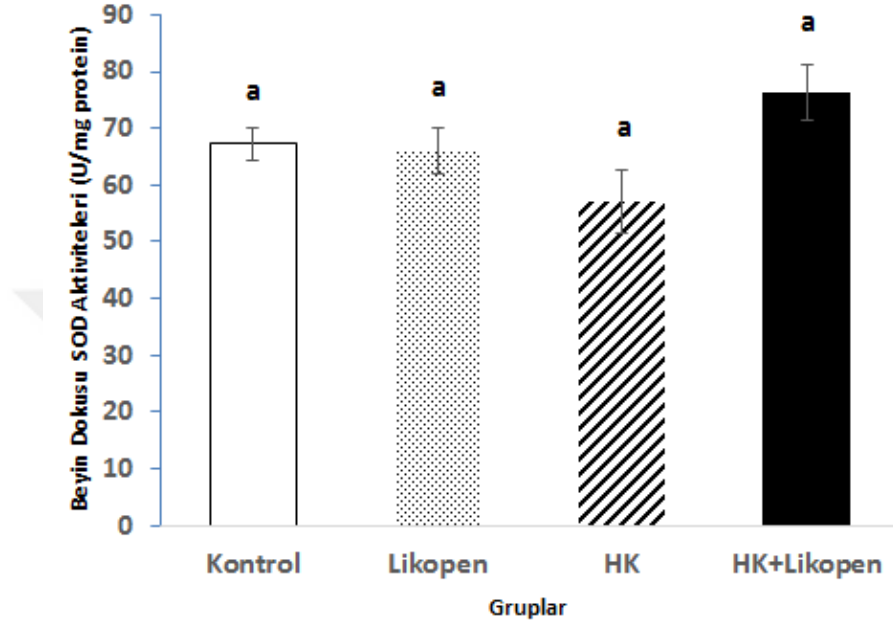
Şekil 19. Böbrek dokusu SOD aktiviteleri

Kalp: Kalp dokusu SOD aktiviteleri Şekil 20’de verilmiştir. SOD aktiviteleri Kontrol grubunda $101,69 \pm 4,0$ U/mg protein iken, HK grubunda $84,06 \pm 13,66$ U/mg protein seviyelerinde tespit edildi. HK+Likopen grubunda ise $126,62 \pm 12,6$ U/mg protein seviyesine yükseldi. Ancak gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$).



Şekil 20. Kalp dokusu SOD aktiviteleri

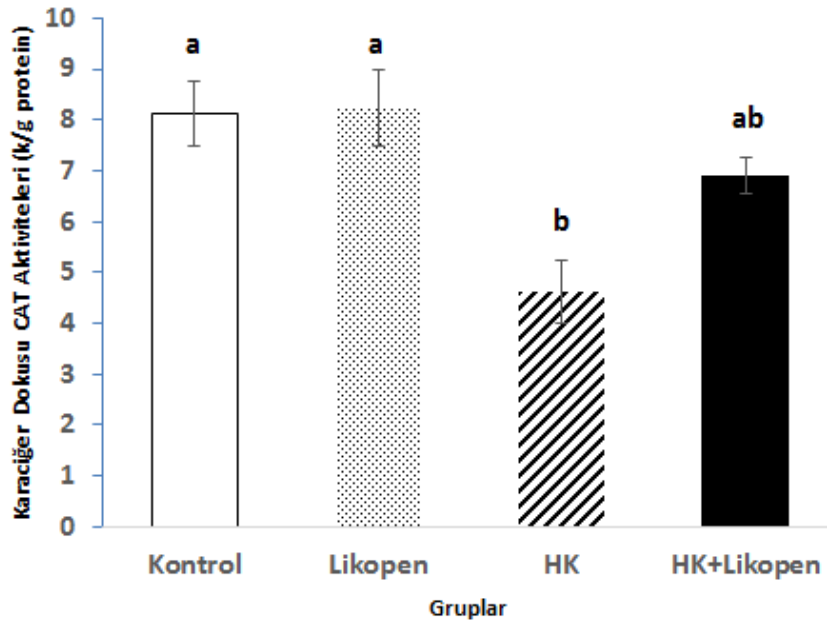
Beyin: Beyin dokusu SOD aktiviteleri Şekil 21’de verilmiştir. SOD aktiviteleri Kontrol grubunda $67,27 \pm 2,89$ U/mg protein, HK grubunda $56,99 \pm 5,56$ U/mg protein ve HK+Likopen grubunda ise $76,28 \pm 4,91$ U/mg protein olarak tespit edildi. Ancak gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$).



Şekil 21. Beyin dokusu SOD aktiviteleri

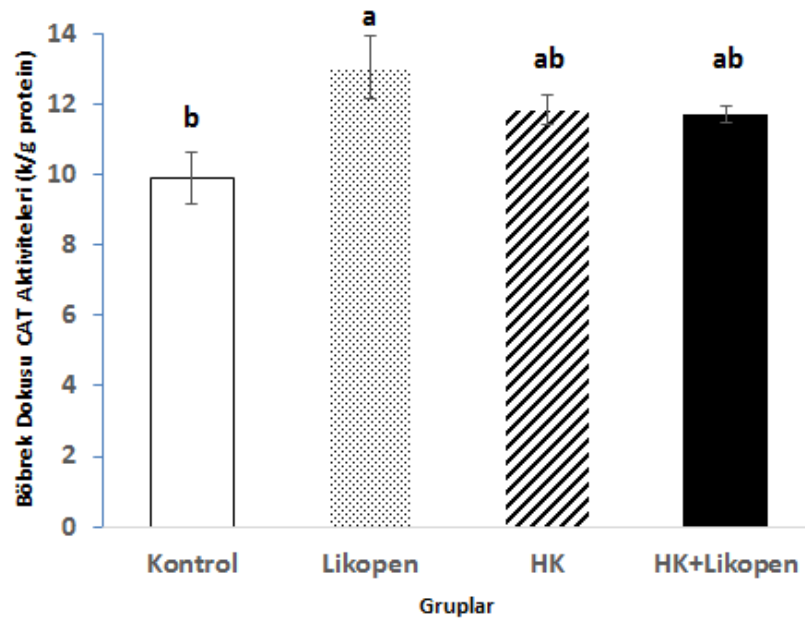
3.2.4. Doku CAT Aktiviteleri

Karaciğer: Karaciğer CAT aktiviteleri Şekil 22’de verilmiştir. CAT aktiviteleri Kontrol grubunda $8,11 \pm 0,64$ k/g protein iken, HK grubunda $4,61 \pm 0,62$ k/g protein seviyesine anlamlı şekilde azaldı ($p < 0,05$). HK+Likopen grubunda ise $6,89 \pm 0,36$ k/g protein düzeylerine yükseldi. Ancak bu fark HK ve Kontrol grubuna göre anlamlı değildi ($p > 0,05$).



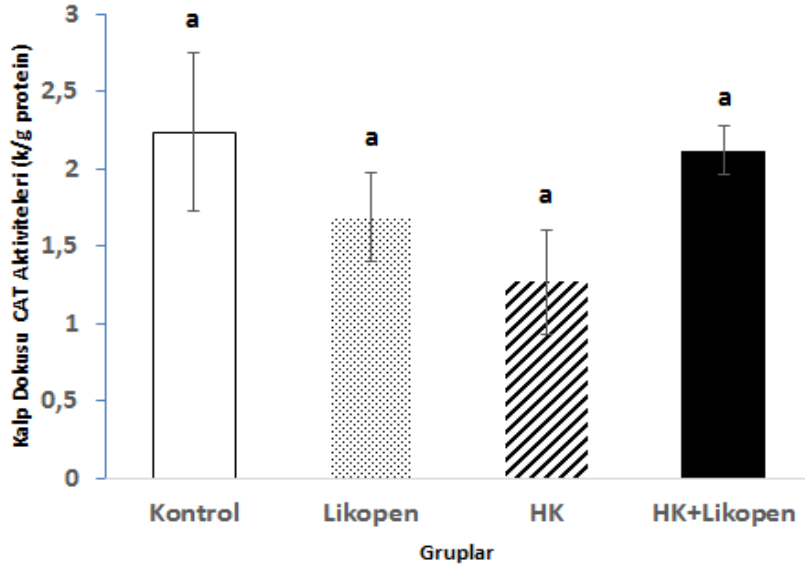
Şekil 22. Karaciğer dokusu CAT aktiviteleri

Böbrek: Böbrek dokusu CAT aktiviteleri Şekil 23’te verilmiştir. CAT aktiviteleri Kontrol grubunda $9,90 \pm 0,74$ k/g protein iken, tek başına likopen verilen grupta $13,04 \pm 0,88$ k/g protein düzeyleri ile kontrol grubuna göre anlamlı yükseldiği tespit edildi ($p < 0,05$). HK ve HK+Likopen gruplarında ise CAT aktiviteleri sırasıyla $11,84 \pm 0,4$ k/g protein, $11,70 \pm 0,23$ k/g protein seviyelerinde olup, Kontrol grubuna kıyasla fark anlamlı değildi ($p > 0,05$).



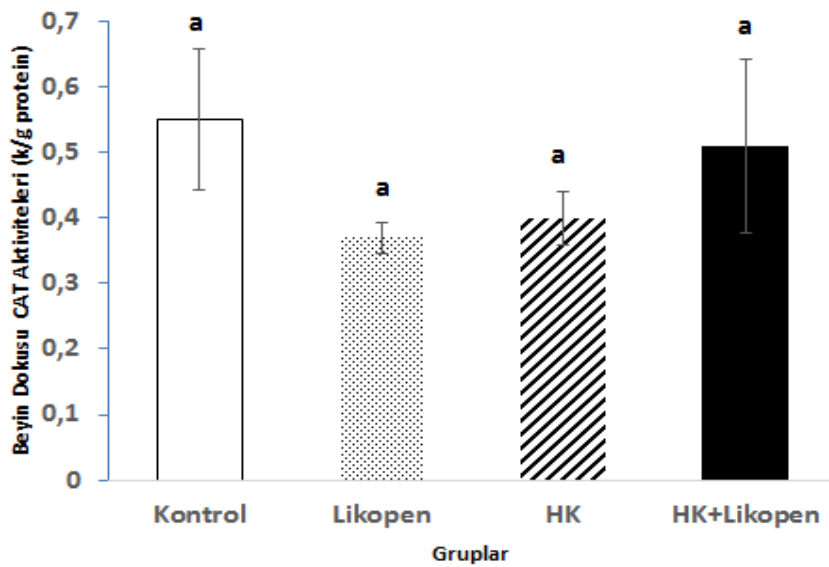
Şekil 23. Böbrek dokusu CAT aktiviteleri

Kalp: Kalp dokusu CAT aktiviteleri Şekil 24’te verilmiştir. CAT aktiviteleri Kontrol grubunda $2,24 \pm 0,51$ k/g protein iken HK grubunda $1,27 \pm 0,34$ k/g protein düzeylerine indiği, HK+Likopen grubunda ise artarak $2,12 \pm 0,16$ k/g protein olduğu görüldü. Ancak gruplar arası fark anlamlı değildi ($p > 0,05$).



Şekil 24. Kalp dokusu CAT aktiviteleri

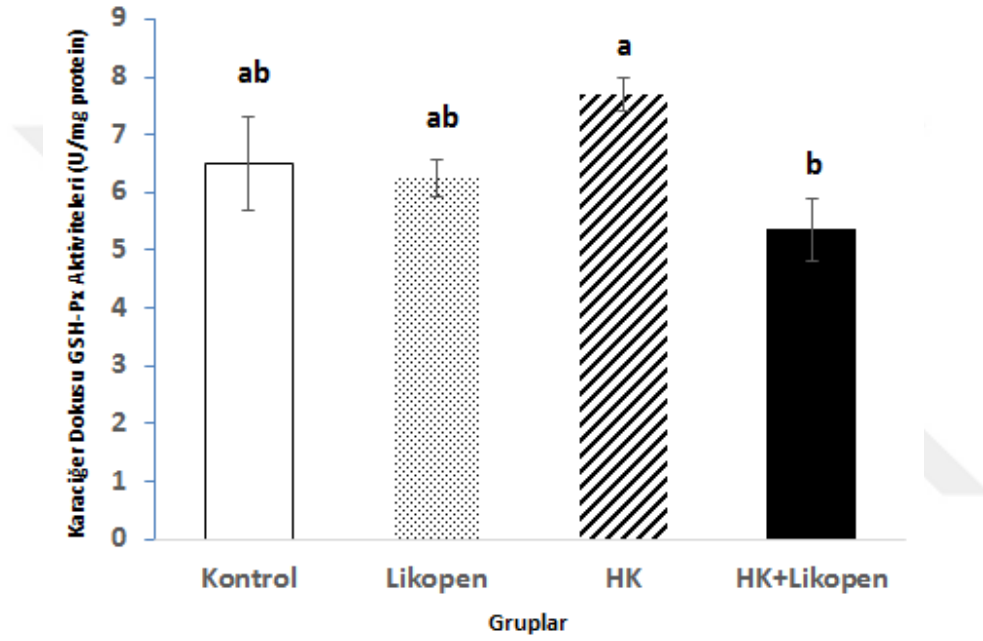
Beyin: Beyin dokusu CAT aktiviteleri Şekil 25’te verilmiştir. CAT aktiviteleri Kontrol grubunda $0,55 \pm 0,10$ k/g protein iken, HK grubunda $0,40 \pm 0,04$ k/g protein ve HK+Likopen grubunda ise $0,51 \pm 0,13$ k/g protein seviyelerinde olduğu görüldü. Gruplar arasında anlamlı fark görülmedi ($p > 0,05$).



Şekil 25. Beyin dokusu CAT aktiviteleri

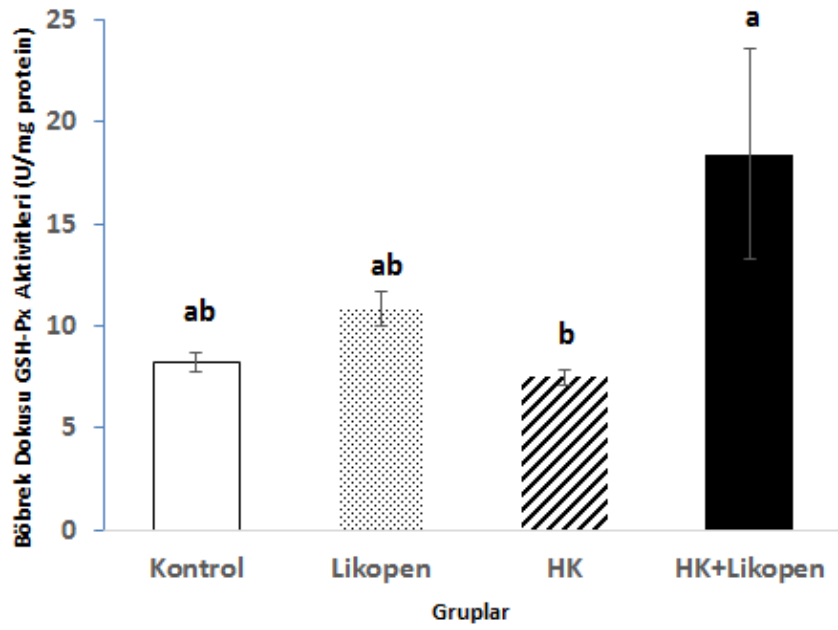
3.2.5. Doku GSH-Px Aktiviteleri

Karaciğer: Karaciğer dokusu GSH-Px aktiviteleri Şekil 26’da verilmiştir. GSH-Px aktiviteleri Kontrol grubunda $6,50 \pm 0,8$ U/mg protein iken HK grubunda $7,69 \pm 0,28$ U/mg protein olarak tespit edildi. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$). HK+Likopen grubunda GSH-Px aktivitesinin $5,36 \pm 0,54$ U/mg protein olduğu HK grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir azalmanın olduğu tespit edildi ($p < 0,05$).



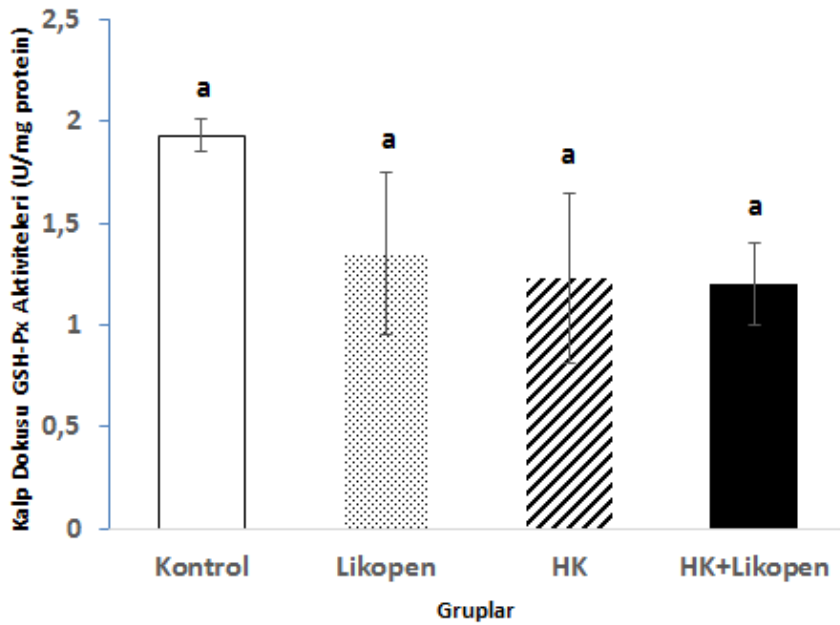
Şekil 26. Karaciğer dokusu GSH-Px aktiviteleri

Böbrek: Böbrek dokusu GSH-Px aktiviteleri Şekil 27’de verilmiştir. GSH-Px aktiviteleri Kontrol grubunda $8,24 \pm 0,49$ U/mg protein iken, HK grubunda $7,47 \pm 0,34$ U/mg protein olarak azaldığı ancak anlamlı olmadığı görüldü ($p > 0,05$). HK+Likopen grubunda ise GSH-Px aktivitelerinin $18,43 \pm 5,16$ U/mg protein olduğu HK grubuna göre anlamlı yükseldiği gözlemlendi ($p < 0,05$).



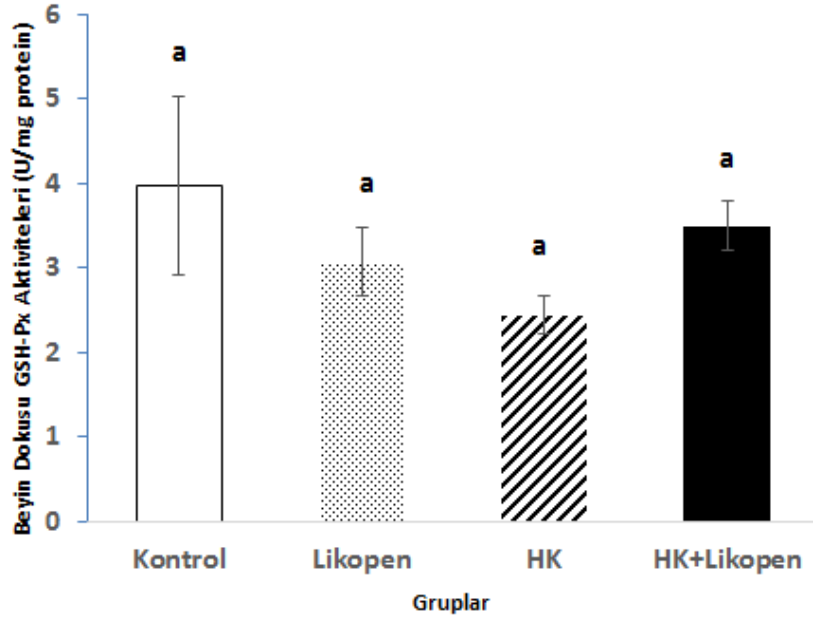
Şekil 27. Böbrek dokusu GSH-Px aktiviteleri

Kalp: Kalp dokusu GSH-Px aktiviteleri Şekil 28’de verilmiştir. GSH-Px aktiviteleri Kontrol grubunda $1,93 \pm 0,08$ U/mg protein, HK grubunda $1,23 \pm 0,42$ U/mg protein ve HK+Likopen grubunda ise $1,20 \pm 0,2$ U/mg protein olduğu gözlemlendi. Gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$).



Şekil 28. Kalp dokusu GSH-Px aktiviteleri

Beyin: Beyin dokusu GSH-Px aktiviteleri Şekil 29’da verilmiştir. GSH-Px aktiviteleri Kontrol grubunda $3,98 \pm 1,06$ U/mg protein, HK grubunda $2,44 \pm 0,22$ U/mg protein ve HK+Likopen grubunda ise $3,50 \pm 0,29$ U/mg protein olduğu gözlemlendi. Gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$).



Şekil 29. Beyin dokusu GSH-Px aktiviteleri

3.2.6. Serum Lipit Parametreleri

Serum lipit parametreleri Tablo 8’de verilmiştir. Total kolesterol düzeylerinin Kontrol ve Likopen gruplarında sırasıyla $41,00 \pm 3,77$ ve $43,80 \pm 3,21$ mg/dL olduğu HK grubunda ise $166,60 \pm 7,81$ mg/dL ile anlamlı yüksek bulunduğu görüldü ($p < 0,05$). HK+Likopen grubunda ise total kolesterol seviyeleri $144,60 \pm 12,12$ mg/dL ile HK grubuna göre önemli ölçüde azaldığı ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p > 0,05$).

Trigliserit düzeylerinin Kontrol ve Likopen gruplarında sırasıyla $40,80 \pm 4,87$ ve $44,40 \pm 2,65$ mg/dL, HK grubunda ise $78,60 \pm 17,05$ mg/dL düzeyleri ile yüksek bulundu ($p < 0,05$). HK+Likopen grubunda ise $50,60 \pm 3,73$ mg/dL değeriyle HK grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma gösterdiği tespit edildi ($p < 0,05$).

İyi kolesterol olarak adlandırılan HDL düzeylerinin Kontrol ve Likopen gruplarında sırasıyla $12,08 \pm 0,64$ ve $11,00 \pm 0,84$ mg/dL olarak tespit edildiği, HK grubunda ise anlamlı bir şekilde azalarak $7,44 \pm 0,62$ mg/dL düzeylerine indiği tespit edilmiştir. HK+Likopen

grubu HDL düzeylerinin $7,58 \pm 1,08$ mg/dL olarak tespit edildiği ancak HK grubu ile karşılaştırıldığında farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p > 0,05$).

LDL düzeylerinin Kontrol ve Likopen gruplarında sırasıyla $7,00 \pm 0,83$ ve $6,80 \pm 0,66$ mg/dL olduğu, HK grubunda $31,80 \pm 4,94$ mg/dL olarak anlamlı bir şekilde yükseldiği gözlemlendi. HK+Likopen grubunda ($23,80 \pm 3,02$) ise HK grubuna kıyasla azalma görülse de istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$).

VLDL düzeylerinin Kontrol ve Likopen gruplarında sırasıyla $8,00 \pm 0,95$ ve $9,44 \pm 0,54$ mg/dL olduğu, HK grubunda ise $15,60 \pm 1,65$ mg/dL ile arttığı belirlendi. Buna karşın HK+Likopen grubunda ise $10,12 \pm 0,74$ mg/dL düzeyleri ile HK grubuna kıyasla anlamlı düşük bulundu ($p < 0,05$).

Aterojenik indeks Kontrol ve Likopen gruplarında sırasıyla $2,46 \pm 0,36$ ve $3,14 \pm 0,59$ olarak tespit edildi. HK grubunda ise $22,05 \pm 3,15$ değeriyle kontrol ve tek başına likopen verilen grupla karşılaştırıldığında anlamlı yüksek bulundu. HK+Likopen grubunda ($19,88 \pm 3,27$) ise HK grubuna kıyasla azalma görülse de, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0,05$).

Non-HDL seviyesi Kontrol ve Likopen gruplarında sırasıyla $29,32 \pm 3,77$ ve $32,08 \pm 3,90$ olduğu tespit edildi. HK grubunda ise $159,16 \pm 17,19$ değeriyle Kontrol ve tek başına Likopen verilen gruplara göre anlamlı yüksek bulundu ($p < 0,05$). Ancak HK+Likopen grubunda ise $137,02 \pm 12,86$ değeriyle HK grubuna kıyasla azalma görülse de istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$).

Tablo 8. Araştırmaya alınan sıçanların serum lipit profili

GRUPLAR	Total Kolesterol (mg/dL)	Trigliserit (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	VLDL (TG/5) (mg/dL)	Aterojenik indeks (TK-HDL)/HDL	Non-HDL (TK-HDL)
Kontrol	41,00±3,77 ^b	40,80±4,87 ^b	12,08±0,64 ^a	7,00±0,83 ^b	8,00±0,95 ^b	2,46±0,36 ^b	29,32±3,77 ^b
Likopen	43,80±3,21 ^b	44,40±2,65 ^b	11,00±0,84 ^a	6,80±0,66 ^b	9,44±0,54 ^{ab}	3,14±0,59 ^b	32,8±3,90 ^b
HK	166,60±17,05 ^a	78,60±7,81 ^a	7,44±0,62 ^b	31,80±4,94 ^a	15,60±1,65 ^a	22,05±3,15 ^a	159,16±17,19 ^a
HK+Likopen	144,60±12,12 ^a	50,60±3,73 ^b	7,58±1,08 ^b	23,80±3,02 ^a	10,12±0,74 ^b	19,88±3,27 ^a	137,02±12,86 ^a
P	0,000	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,000

(a,b) Aynı sütundaki değerler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir ($p<0,05$). HK; Hiperkolesterolemi, TK; Total kolesterol.

Tablo 9. Araştırmaya alınan sıçanların karaciğer fonksiyon testleri

GRUPLAR	AST (U/L)	ALT (U/L)	GGT (U/L)	Total Bilirubin (mg/dL)
Kontrol	274,20±20,38 ^b	91,80±4,40 ^b	1,40 ±0,24 ^b	0,08±0,02
Likopen	315,60±18,81 ^{ab}	96,00±1,87 ^{ab}	2,00±0,00 ^{ab}	0,1±0,00
HK	363,80±18,60 ^a	117,60±11,50 ^a	2,60±0,24 ^a	0,1±0,00
HK+Likopen	283,60±27,44 ^{ab}	94,60±2,63 ^{ab}	1,80±0,20 ^{ab}	0,1±0,00
P	0,040	0,041	0,005	0,418

(a,b) Aynı sütundaki değerler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir ($p<0,05$). HK; Hiperkolesterolemi.

3.2.7. Karaciğer Fonksiyon Testleri

Karaciğer fonksiyon testleri Tablo 9’da verilmiştir. Serum AST düzeyleri, Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında HK grubunda yükselmiştir ($p<0,05$) (sırasıyla $274,20\pm20,38$ ve $363,80\pm18,60$ U/L). HK+Likopen grubunda ise AST düzeylerinin $283,60\pm27,44$ U/L olarak tek başına HK grubuna göre azaldığı ancak farkın anlamlı olmadığı görüldü ($p>0,05$). Serum ALT düzeylerinin Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında HK grubunda önemli derecede arttığı ($p<0,05$) (sırasıyla $117,60\pm11,50$; $91,80\pm4,40$ U/L), HK+Likopen grubunda ise Kontrol grubu değerlerine yakın seyrettiği ($94,60\pm2,63$ U/L) ve farkın anlamlı olmadığı görülmüştür ($p<0,05$). Serum GGT düzeylerinin Kontrol grubunda $1,40\pm0,24$ U/L, HK grubunda $2,60\pm0,24$ U/L değerleriyle anlamlı yükselmeler gözlenmiştir ($p<0,05$). HK+Likopen grubunda GGT düzeyleri belirgin bir şekilde düşmüş ($1,80\pm0,20$ U/L) ancak fark anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Serum total bilirubin düzeyleri Kontrol grubunda $0,08\pm0,02$; Likopen grubunda $0,1\pm0,0$; HK grubunda $0,1\pm0,0$; HK+Likopen grubunda $0,1\pm0,0$ olup, tüm gruplar arasında fark gözlenmedi ($p>0,05$).

3.2.8. Histopatolojik Bulgular

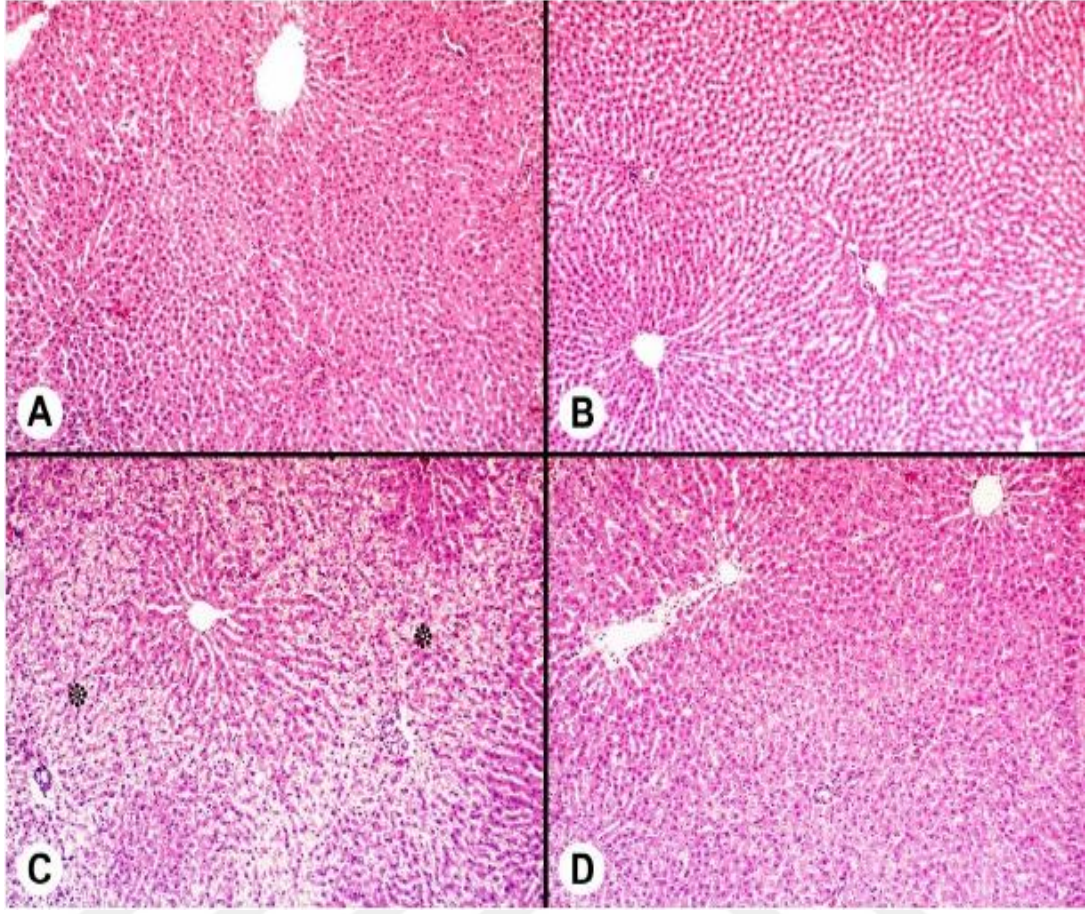
3.2.8.1. Karaciğerde Mikroskopik Bulgular

Gruplara ait karaciğer histopatolojik lezyonlarının şiddeti Tablo 10’da özetlendi. Kontrol (Şekil 30.A) ve likopen grubunda (Şekil 30.B) karaciğerlerin normal histolojik görünümde olduğu saptandı. Kontrol (Şekil 31.A) ve likopen (Şekil 31.B) uygulanan gruplarda korunmuş sitoplazma içerisinde belirgin çekirdek ve çekirdekçiğe sahip hepatositlerin kordonsal yapıları oluşturduğu gözlemlendi. En belirgin histolojik değişimler Hiperkolesterolemi grubunda tespit edildi. HK grubunda karaciğerlerde periportal ve midzonal bölgelerde daha şiddetli olmak üzere makro veziküler tarzda yağlanma dikkati çekti (Şekil 30.C). Bazı periportal alanlarda mononükleer hücre infiltrasyonları mevcuttu. Periasiner bölgedeki hepatositlerde hafif şiddette yağlanma ile birlikte bulanık şişkinlik tespit edildi. Yağlanma gözlenen bazı hepatositlerin çekirdeklerinde karyopiknoz şekillendiği dikkati çekti (Şekil 31.C). HK ile birlikte likopen uygulanan grupta periportal ve midzonal bölgedeki yağlanma şiddetinin HK grubuna göre azaldığı ($P<0,001$) bu bölgelerdeki hepatositlerde bulanık şişkinliğin daha belirgin mikroskopik değişim olduğu dikkati çekti (Şekil 30,31.D).

Tablo 10. Karaciğerlerde tespit edilen lezyonların gruplara göre şiddeti

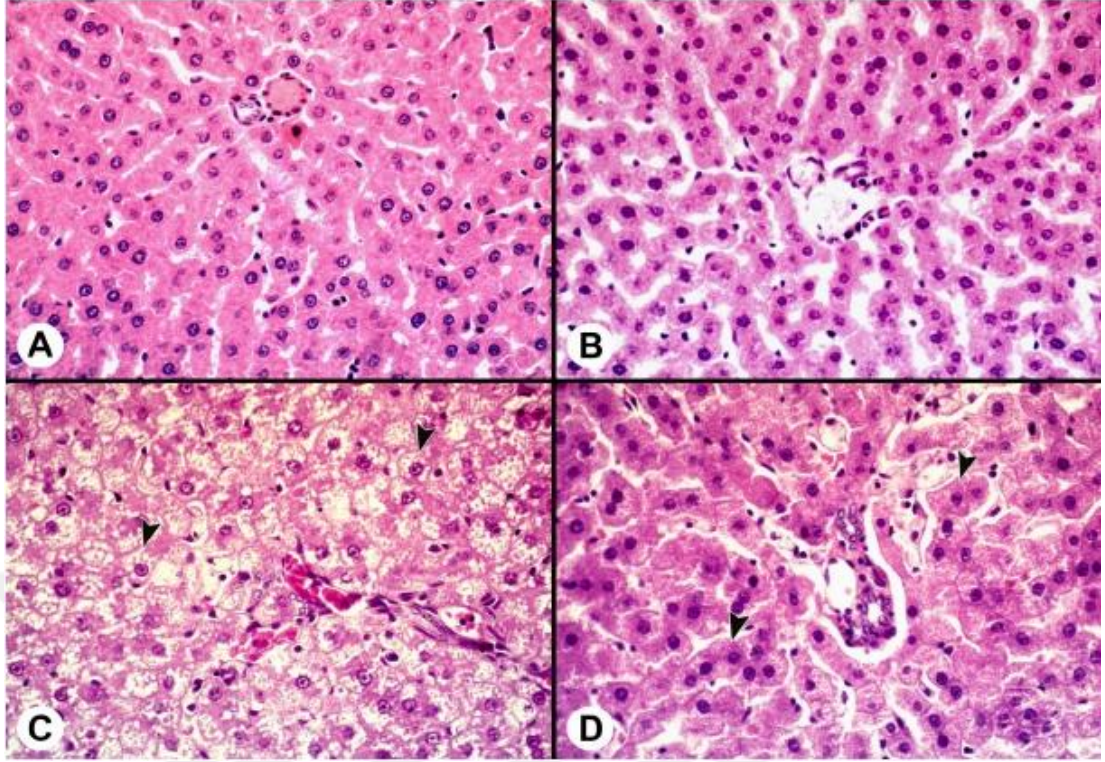
Lezyonlar	Gruplar				P değeri
	Kontrol	Likopen	HK	HK+Likopen	
Karyopiknoz	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.71 ± 0.40	0.43 ± 0.20	0.057
Sinuzoidal konjesyon	0.57 ± 0.20 ^b	1.00 ± 0.00 ^a	1.00 ± 0.00 ^a	1.14 ± 0.14 ^a	0.019
Bulanık şişkinlik	0.00 ± 0.00 ^b	0.57 ± 0.20 ^{ab}	1.14 ± 0.26 ^a	1.00 ± 0.31 ^a	0.007
Periportal ve midzonal bölgede yağlanma	0.00 ± 0.00 ^c	0.00 ± 0.00 ^c	2.29 ± 0.29 ^a	1.43 ± 0.20 ^b	0.001
Periportal hücre infiltrasyonu	0.29 ± 0.18 ^b	0.43 ± 0.20 ^b	1.43 ± 0.20 ^a	1.00 ± 0.00 ^a	0.001
Periasiner yağlanma	0.00 ± 0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^b	1.14 ± 0.34 ^a	0.43 ± 0.20 ^b	0.001
Apoptozis	0.14 ± 0.14 ^c	0.29 ± 0.18 ^c	1.43 ± 0.20 ^a	0.86 ± 0.14 ^b	0.001

(a,b) Aynı satırda farklı harfler ile gösterilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0,05). HK; Hiperkolesterolemi.



Şekil 30. Gruplara ait karaciğerin histopatolojik görünümü.

A. Kontrol grubuna ait karaciğerin histolojik görünümü. **B.** Likopen uygulanan grupta karaciğerin histolojik görünümü. **C.** HK grubunda periportal ve midzonal bölgelerde yağlanmanın görünümü (asteriksler). **D.** HK+Likopen grubunda karaciğerin histolojik görünümü. HEx50.



Şekil 31. Gruplara ait karaciğerin histopatolojik görünümü.

A. Kontrol grubuna ait karaciğerin histolojik görünümü. **B.** Likopen grubunda periportal bölgenin normal görünümü. **C.** HK grubunda periportal bölgedeki hepatositlerde makroveziküler yağlanmanın görünümü (ok başları) **D.** HK+Likopen grubunda periportal bölgedeki hepatositlerde bulanık şişkinliğin görünümü (ok başları). HEx200.

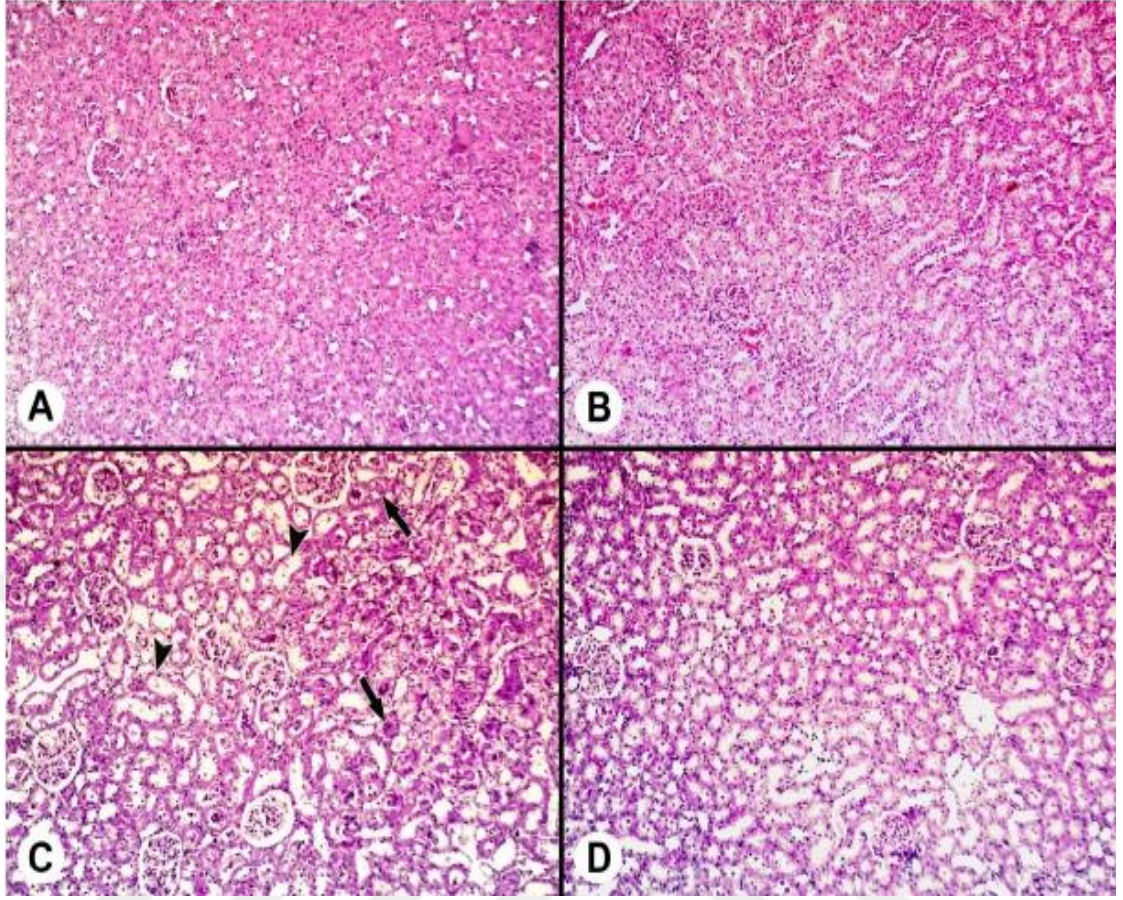
3.2.8.2. Böbrekte Mikroskobik Bulgular

Tüm gruplarda böbrekte belirlenen lezyonların şiddeti Tablo 11’de özetlendi. Kontrol ve likopen uygulanan gruplarda böbreklerin normal histolojik görünümde olduğu saptandı (Şekil 32-33A,B). HK grubunda tubulus epitel hücrelerinde deskuamasyon, bulanık şişme ile birlikte tubülüs lümenlerinde hiyalin silindir formasyonları ve tubüler dilatasyon en belirgin değişimlerdi (Şekil 32C). Bu görünümlere ek olarak Bowman kapsülünde kalınlaşma ile birlikte mezangial hücrelerde proliferasyon dikkati çekti (Şekil 33C). Bazı hayvanlarda intertubuler alanlarda mononükleer hücre birikimleri ile karakterize intersitisyel nefritis mevcuttu. HK+Likopen grubunda ise anılan lezyonların daha hafif şiddette şekillendiği tespit edilmekle birlikte tubulus epitelinde bulanık şişme ve hücre infiltrasyonu dışında diğer lezyonlarda istatistiksel farklılık bulunmadı (Şekil 32-33D).

Tablo 11. Böbreklerde tespit edilen lezyonların gruplara göre şiddeti

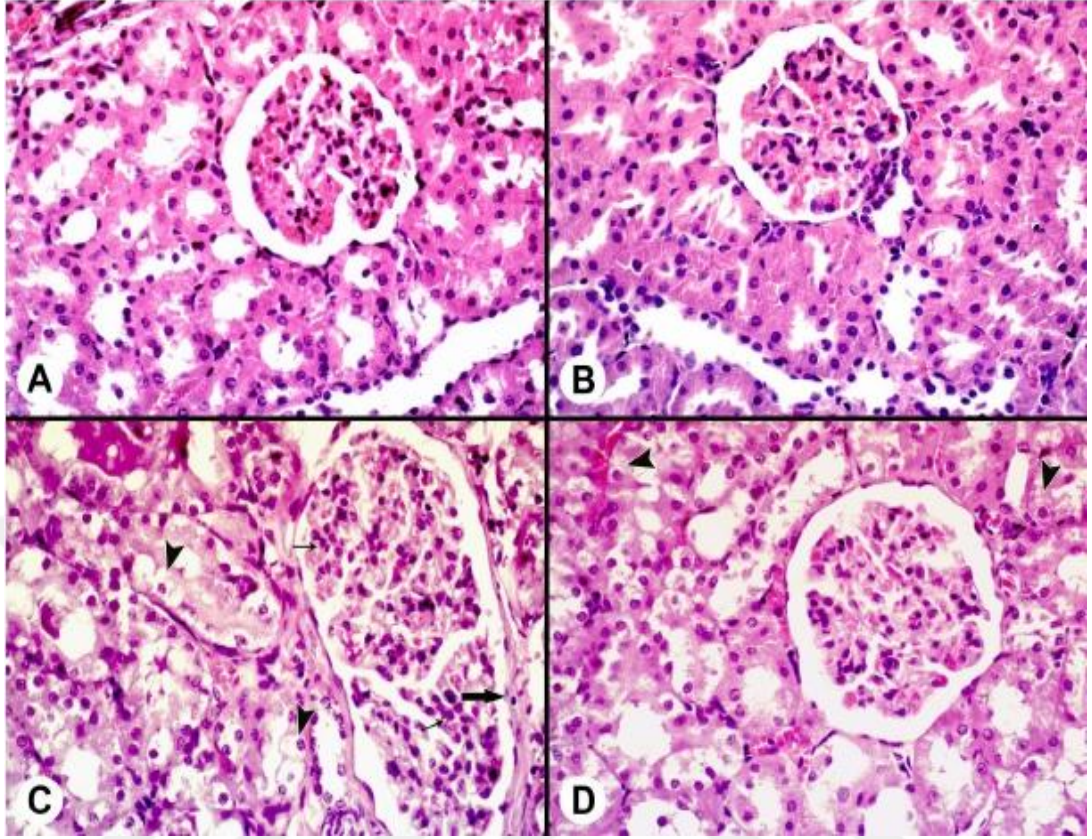
Lezyonlar	Gruplar				P değeri
	Kontrol	Likopen	HK	HK+Likopen	
Tubulus epitel hücrelerinde nekroz ve deskuamasyon	0.00 ± 0.00 ^b	0.14 ± 0.14 ^b	2.00 ± 0.22 ^a	1.43 ± 0.30 ^a	0.001
Tubulus epitel hücrelerinde bulanık şişme	0.14 ± 0.14 ^c	0.29 ± 0.18 ^c	2.29 ± 0.18 ^a	1.43 ± 0.20 ^b	0.001
İntratubuler hiyalin damlacığı	0.29 ± 0.18 ^b	0.43 ± 0.20 ^b	2.00 ± 0.22 ^a	1.57 ± 0.20 ^a	0.001
Tubular dilatasyon	0.14 ± 0.14 ^b	0.14 ± 0.14 ^b	2.00 ± 0.22 ^a	1.57 ± 0.20 ^a	0.001
Bowman kapsülünde kalınlaşma	0.00 ± 0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^b	0.57 ± 0.20 ^a	0.29 ± 0.18 ^{ab}	0.019
İntersitisyel hücre infiltrasyonu	0.00 ± 0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^b	0.43 ± 0.20 ^a	0.00 ± 0.00 ^b	0.012

(a,b) Aynı satırda farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak önemlidir (p<0,05). HK; Hiperkolesterolemi.



Şekil 32. Gruplara ait böbreğin histopatolojik görünümü.

A. Kontrol grubuna ait böbreğin histolojik görünümü. **B.** Likopen uygulanan grupta böbreğin histolojik görünümü. **C.** HK grubunda intratubuler hiyalin silindir formasyonları (oklar) ve tubuler dilatasyonun (ok başları) görünümü. **D.** HK+Likopen grubunda böbreğin histolojik görünümü. HEx50.

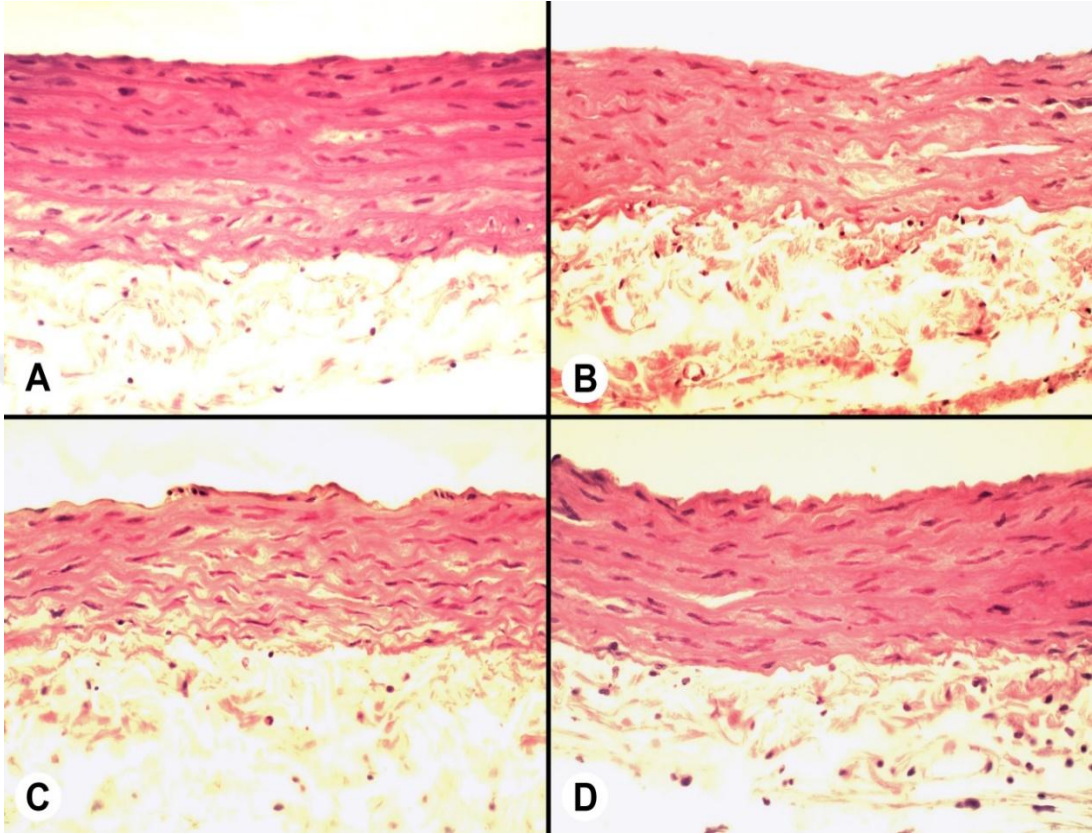


Şekil 33. Gruplara ait böbreğin histopatolojik görünümü.

A. Kontrol grubuna ait böbreğin histolojik görünümü. **B.** Likopen uygulanan grupta böbreğin histolojik görünümü. **C.** HK grubunda intratubuler hiyalin silindir formasyonları, tubulus epitelinde vakuoler dejenerasyon (ok başları), Bowman kapsülünde kalınlaşma (büyük ok) ve mezengial hücrelerde proliferasyon (küçük oklar) . **D.** HK+Likopen grubunda böbreğin histolojik görünümü. HE x 200.

3.2.8.3. Aortta Mikroskopik Bulgular

Kontrol ve tüm deneme gruplarına ait aort kesitlerinde mikroskopik olarak herhangi bir lezyona rastlanmadı (Şekil 34).



Şekil 34. Gruplara ait aortun histopatolojik görünümü.

A. Kontrol grubu **B.** Likopen grubu **C.** HK grubu **D.** HK+Likopen grubuna ait aortun histolojik görünümü. HE x 200.

4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Kolesterol, hem yararlı hem de zararlı olduğu bilinen etkileri ile günümüzde çok tartışılan bir moleküldür. Kolesterolün safra tuzları, steroid hormonlar ve D vitaminin öncül maddesi olması ile hücre membranlarının yapısal bileşeni olup viskoziteyi sağlaması yararlı etkileri arasındadır. Ancak kolesterolün kandaki seviyesinin yükselmesi ve arter duvarları gibi yanlış yerlerde birikip hareket edememesi onu tehlikeli yapmaktadır (Brown ve Goldstein, 1986). Bundan dolayı kolesterol dengesinin sağlanması hayati önem kazanmakta ve kolesterol seviyesindeki dengesizlik ise ateroskleroz ve takiben koroner ile serebrovasküler hastalıkların önemli bir risk faktörü olan hiperkolesterolemiye neden olmaktadır (Palozza vd., 2012).

Hiperkolesterolemi, yüksek LDL ve hipertrigliseridemi ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıkların gelişmesinde önemli risk faktörleridir (Vazquez-Castilla vd., 2013). Dünya Sağlık Örgütü'nün 2002 yılı raporuna göre dünyadaki ölümlerin 7,1 milyon ile hipertansiyon, 4,9 milyon ölüm ile tütün kullanımı ve 4,4 milyon ölüm ile yüksek kolesterol düzeyi (toplam ölümlerin %7,9'u) gelmektedir. Yüksek kolesterol düzeyi, ateroskleroz oluşturarak koroner kalp hastalıklarına (anjina pectoris, miyokard infarktüsü, ani kardiyak ölüm, konjestif kalp yetmezliği, aritmi), serebrovasküler hastalıklara (geçici iskemik atak, inme) ve periferik vasküler hastalıklara (aralıklı topallama, gangren, ağrılı ayak) yol açabilir (Mergen vd., 2010).

Kolesterolün hücre içinde aşırı birikiminin önlenmesi iç ve dış kolesterol kaynakları arasındaki bir denge ile sağlanmaktadır. Bu denge biyosentetik yolların ve LDL reseptör sentezinin feedback mekanizması ile gerçekleşmektedir. *HMG-KoA redüktaz*, mevalonat sentez yolağının hız sınırlayıcı basamağını katalizler. Bu yolağın son ürünü olan kolesterol, negatif olarak *HMG-KoA redüktaz* aktivitesini düzenler, böylece hücrel kolesterol sentezi önlenir. Ayrıca kolesterol LDL reseptör sentezini bu lipoprotein gen transkripsiyonunu baskılayarak engeller. Diğer yandan hücrel kolesterol sentezi yarışmalı olarak *HMG-KoA redüktazı* inhibe eden statinler gibi sentetik bileşiklerle engellenir (Fuhrman vd., 1997).

Statinler kolesterol biyosentezinde *HMG-KoA redüktazı* inhibe ederek kan kolesterol düzeylerini düşüren, hastalar tarafından iyi tolere edilebilen ilaç gruplarıdır. Kardiyovasküler hastalık riski üzerine ispatlanmış etkilerinden dolayı da yaygın olarak kullanılmaya devam edilmektedir (Armitage, 2007). Statinler gibi geniş bir kullanım alanı

bulan ve bilinen bazı yan etkilerinin önemli toplum sağlık sorunlarına dönüşebilen ilaçların, yararlarının yanında tehlikeli yanlarının da bilinmesine ihtiyaç vardır (Golomb ve Evans, 2008), Statinlerin özellikle miyopati ile rabdomyolize neden olarak kaslar üzerine ve bazı enzim seviyelerini yükselterek de karaciğer üzerine yan etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Armitage, 2007). Bu yan etkilerden dolayı da kolesterol seviyesini kontrol etmek için alternatif tedavilere gereksinim duyulmuştur (Palozza vd., 2012).

Likopen domates ve domates ürünlerinde bulunan doğal bir karotenoittir. Epidemiyolojik çalışmalar serum ve adipoz dokuda likopen seviyesi ile kardiyovasküler hastalıkların görülme sıklığı arasında ters ilişki olduğunu göstermiştir. Birçok çalışma serum ya da doku likopen düzeylerinin karotid artrit ve aort duvar kalınlığı veya lezyonlarıyla ters ilişkili olduğunu, böylelikle likopenin ateroskleroza karşı koruyucu olabileceğini düşündürmektedir. *In vitro* çalışmalar likopenin güçlü antioksidan etkisinden dolayı da LDL'yi oksidasyondan koruduğı, benzer şekilde *in vivo* çalışmalarda ise likopen içerikli besinlerin LDL'nin oksidasyona karşı direncini artırdığını göstermektedir (Palozza vd., 2010). Okside LDL'nin, köpük hücre oluşumunda ve aterogeneizde rolü kesin olarak kanıtlanmıştır (Cushing vd., 1990; Steinberg, 1997). Birçok *in vitro* çalışmada likopenin veya domates ürünlerinin kimyasal olarak indüklenen LDL oksidasyonunda gecikme sağladığı gösterilmiştir. Likopenin diğer besin ürünleriyle etkileşimi LDL oksidasyonunu daha güçlü bir biçimde azaltmaktadır. Likopenin E vitaminiyle olan kombinasyonu, bakır iyonu ile indüklenmiş LDL oksidasyonunu likopenin tek başına verilmesinden daha fazla inhibe etmiştir (Palozza vd., 2010).

Kolesterol ve izoprenoidlerin biyosentezindeki önemli basamak olan HMG-KoA'nın mevalonata deačilasyonu, *HMG-KoA redüktaz* tarafından katalizlenmektedir. Likopen mevalonattan *HMG-KoA redüktaz* yolu aracılığıyla sentezlenen poliizoprenoittir. Bitki ve hayvan hücrelerinde *HMG-KoA redüktaz* son ürün baskılamasıyla düzenlenmektedir (Palozza vd., 2010). Likopenin zamana ve doza bağılı şekilde THP-1 hücrelerinde *HMG-KoA redüktaz*ın ekspresyonunu düşürdüğü gösterilmiştir. *HMG-KoA redüktaz*ın likopen tarafından inhibisyonuna hücre içi kolesterol seviyesinin azalması eşlik etmektedir. Bu bilgiler likopenin kolesterol seviyesini makrofajlarda (Fuhrman vd., 1997) ve insan çalışmalarında (Elson, 1999) düşürdüğünü gösteren diğer çalışmalarla uyum içindedir. *In vitro* gözlemler diyetle alınan likopenin plazma kolesterol seviyesini azalttığını göstermektedir (Sesso vd., 2005; Palozza vd., 2010).

Deneysel çalışmalarda yüksek kolesterol içeren diyetlerle beslenen hayvanlarda hiperkolesterolemi oluşturma modeli sıçan, tavşan ve kobaylarda yaygın bir şekilde ortaya konmuştur. Bu çalışmada Sprague-Dawley ırkı erkek sıçanlarda hayvanların yemlerine %2'lik kolesterol ve %0,5'lik kolik asit ilaveleri yapılarak 8 hafta boyunca hiperkolesterolemi oluşturulmaya çalışılmıştır. Diyetlere katılan kolik asidin hem emülsifiye edici özelliği nedeniyle kolesterol emilimini artırmak hem de hepatik kolesterol 7- α hidroksilaz aktivitesini inhibe edici etkileri bulunduğundan bu çalışmada da yemlere kolik asit ilavesi yapılmıştır (Küçükgergin vd., 2010). Çalışmanın sonunda hiperkolesterolemi grubunda serum lipit profiline bakıldığında total kolesterol, LDL, VLDL, trigliserit düzeylerinde kontrol grubuna göre önemli artışlar görülmüştür. Buna karşın iyi kolesterol olarak bilinen HDL düzeylerinin hiperkolesterolemi grubunda kontrole göre önemli düzeylerde azaldığı ve kolesterol diyetiyle beraber eş zamanlı likopen uygulamalarının HDL düzeyinde bir değişikliğe neden olmadığı görülmüştür ($p>0,05$). Likopen uygulamalarının total kolesterol ve LDL düzeyleri üzerine kısmen olumlu etkileri olmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Trigliserit ve VLDL düzeyleri ise likopen uygulamasıyla anlamlı azalmıştır ($p<0,05$). Penumathsa vd., (2007) sıçanlara 8 hafta boyunca %2'lik kolesterol ve % 0,5'lik kolik asitli içeren diyet uygulamış ve sıçanların serum lipit profilinde kontrole kıyasla anlamlı yükselmeler gözlemişlerdir. Aynı şekilde başka bir çalışmada ise kolesterol ve kolik asit düzeyleri azaltılarak verilmiş (%1 kolesterol ve %0,2 kolik asitli diyet) ve yine sıçanlarda total kolesterol, LDL, trigliserit düzeylerinde anlamlı yükselmelerin ve HDL düzeyinde ise anlamlı azalmaların olduğu gözlenmiştir (García Giménez vd., 2012). Angelis-Pereira vd. (2013), %0,5 kolesterol ve %3,5 hidrojenat sebze yağı içerikli diyetle beslenen sıçanlarda total kolesterolün kontrol grubuna göre anlamlı bir biçimde yükseldiğini ve trigliserit düzeyinde ise anlamlı bir artışın olmadığını tespit etmişlerdir. Diyetle kullanılan kolesterol ve kolik asit konsantrasyonunun hiperlipidemi oluşturmak için yeterli olduğunu ancak hipertrigliseridemi tetiklemek için yetersiz olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda diyetteki kolesterol miktarının hem hiperlipidemi hem de hipertrigliseridemi oluşturmak için yeterli olduğu görülmektedir. Total kolesterol ve LDL kolesterolün yükselmesi kardiyovasküler hastalıklar için en iyi bilinen risk faktörleridir ve plak oluşumu, endotel disfonksiyon ile oksidatif stresin ilerlemesine neden olmaktadır (Penumathsa vd., 2007).

Oksidatif stres; oksidan-antioksidan dengenin oksidanlara doğru kayması sonucu meydana gelir (Sies, 1985). Oksidatif stres sırasında, dokuların antioksidan mekanizmanın

indüklenmesi ile cevap oluşturduğu bilinmektedir. Ancak aşırı oksidatif stres durumunda, serbest radikal üretilerek oluşturulan oksidatif hasara karşı savunma sisteminin tam bir koruma sağlayamadığı görülmüştür (García Giménez vd., 2012). Kolesterolde zengin diyetle beslenmenin beraberinde serbest radikal oluşumunu getirdiği, daha sonra oksidatif stres ile hiperkolesteroleminin olduğu yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir. Oksidatif stres; hiperkolesterolemi ve aterogenez için önemli bir risk faktörüdür (Ismail vd., 2010). Oksidatif strese karşı birçok antioksidanın koruyuculuk gösterdiği çeşitli çalışmalarca ortaya konulmuştur. Likopenin karotenoidler arasında ROS'u süpürmede en güçlü antioksidan olduğunu gösteren veriler mevcuttur. Likopen, yüksek oranda konjuge çift bağ içermesinden dolayı güçlü bir biçimde singlet oksijeni süpürür. Singlet oksijeni süpürürken enerji $^1O_2$ den likopene transfer edilir ve enerjice zengin üçlü bir duruma dönüştürülür. Yine likopenin hidrojen peroksidi ve nitrojen dioksidi inaktive ettiği de rapor edilmiştir (Rao ve Agarwal, 1999).

Çalışmalar birçok hastalığın temelini oluşturan oksidatif stresin, güçlü antioksidan özelliği olan likopen tarafından azaltılması yönünde sürdürülmüş, böylelikle likopenin hastalıklarda tedavi edici veya risk azaltıcı etkileri araştırılmıştır. Tüm bunlardan yola çıkarak kuvvetli bir antioksidan olan likopenin hiperkolesterolemi kaynaklı oksidatif stresi azaltıp azaltmayacağı ve oksidatif stres parametrelerini iyileştirici etkisinin olup olmayacağı fikri bu çalışmanın temel hedeflerinden biri olmuştur. Konuyla ilgili yapılan bir çalışmada deneysel hiperkolesterolemik yemin karaciğer dokusunda MDA düzeyini kontrole göre anlamlı olarak yükselttiği görülmüş, yüksek dozda hipolipidemik etkili *Asparagus officinalis* ekstraktının verilmesiyle de MDA düzeyinin düştüğü gözlenmiştir (García Giménez vd., 2012). Her ne kadar çalışmalarda kolesterolü diyetle beslenen sıçanlarda MDA düzeylerinin arttığı görülse de bunun aksi çalışmalar da mevcuttur. Afonso vd., (2013)'nin yaptığı çalışmada sıçanlara 4 hafta boyunca hiperkolesterolemik yem (%0,5 kolesterol ve %0,25 kolik asit içeren yem) uygulanmış, hiperkolesteromi gruplarındaki beyin ve karaciğer dokusu MDA düzeylerinin kontrol gruplarına göre istatistiksel olmamakla birlikte azalmalar gösterdiği bildirilmiştir. Aynı şekilde Bravo vd. (2014)'nin yaptıkları bir çalışmada sıçanlara hiperkolesterolemik yem (%2'lik kolesterol ve %4'lük kolat içeren yem) 3 hafta uygulanmış ve karaciğer MDA düzeylerinin kontrol grubunda hiperkolesterolemi grubuna göre daha yüksek ancak fark anlamlı bulunmamıştır. 10 hafta boyunca hiperkolesterolemik diyetin (%1'lik kolesterol içeren diyet) uygulanmış olduğu hamsterlarda, lipid peroksidasyon ürünü olan TBARS düzeylerinde karaciğer dokusunda kontrol grubuna göre herhangi bir değişiklik

oluşturmadığı, serumda ise artışa neden olduğu bildirilmiştir (Martinello vd., 2006). Hoyos vd. (2000), hiperkolesterolemik diyetin sıçan karaciğer, beyin, kalp ve dalağında lipid peroksidasyon düzeylerinde herhangi bir değişiklik meydana getirmediğini, hatta hiperkolesterolemik diyetle eşzamanlı uygulanan melatoninin de beyin ve kalpte lipid peroksidasyon düzeyinde herhangi bir değişiklik sağlamadığını rapor etmişlerdir. Likopenin MDA düzeyindeki artışları önlediği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Ateşşahin vd., 2005; Yılmaz vd., 2006). Sisplatine maruz kalan sıçanlarda likopenin MDA düzeyindeki artışları önlediği görülmüştür (Ateşşahin vd., 2006a). Aynı şekilde diyetle alınan likopenin insanlarda MDA seviyelerini azalttığı gözlenmiştir. Birçok çalışmada lipid peroksidasyon ürünlerinin sitotoksik ve genotoksik olduğu, çeşitli dejeneratif hastalıkların etiyolojisinde önemli rol oynadığı bildirilmektedir (Rao ve Shen, 2002). Bu çalışmada lipid peroksidasyonun önemli göstergelerinden MDA'nın beyin dokusunda hiperkolesterolemi grubunda kontrol grubuna kıyasla yükseldiği ($p<0,05$) ve likopenin bu değeri düşürdüğü gözlenmiştir. Ancak MDA düzeylerinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hiperkolesterolemi grubunda böbrek ve kalp dokularında önemli değişikliklerin olmadığı, buna karşın karaciğer dokusunda ise azaldığı tespit edilmiştir. Bu dokularda uygulanan likopenin MDA'yı kısmen azalttığı söylenebilir. Bu çalışmadan elde edilen bulgular daha önceki çalışmalarla örtüşmekte ve bunun likopenin güçlü antioksidan etkisiyle ilişkilendirilebileceği düşünülmektedir. Ayrıca birçok hastalığın temelini oluşturan lipid peroksidasyon ürünlerinin hiperkolesterolemik yemle beslenerek arttığı ve eş zamanlı likopen uygulamasının hastalıklarla savaşta önemli bir madde olduğu ortaya konmuştur. Hiperkolesterolemik yemle beslenmenin böbrek ve kalp dokularında MDA düzeylerinde belirgin artışların görülmemesi yeterli süre ve dozda uygulanmadığıyla açıklanabilir.

GSH memeli antioksidan biyolojisinde önemli bir rol oynayan ve hücrelerde en çok bulunan nonprotein tiyoldür. GSH, hücreleri ROS ve RNS gibi eksojen ve endojen toksinlere karşı korur (Martin ve Teismann, 2009). Dokularda GSH düzeylerinin azalması birçok patolojik olayın varlığına işaret etmektedir. Yapılan bir çalışmada hiperkolesterolemik diyetin karaciğer ve beyin dokusu ile eritrosit GSH seviyelerini düşürdüğü; hiperkolesterolemik diyetin yanında E vitamini takviyelerinin GSH düzeylerini tekrar yükselttiği gösterilmiştir (Gökkuşu ve Mostafazadeh, 2003). Bir kemoterapötik ajan olan sisplatinin böbrek dokusunda GSH düzeylerini azalttığı ve likopen uygulamasıyla da azalan GSH düzeyinin yükseldiği bildirilmiştir. Likopenin hücrel GSH üzerine etkisini muhtemelen ya doğrudan antioksidan etkisinden (GSH biyosentezini artırarak) ya da A ve

E vitamini gibi diğer antioksidanların seviyelerini yükselterek gösterdiği ileri sürülmüştür (Ateşşahin vd., 2005). Çalışmamızda hiperkolesterolemiye bağlı olarak karaciğer ve kalp dokusu GSH düzeylerinin, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı görülmüştür. Böbrek ve beyin dokusunda ise kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olmayan azalmalar gözlenmiştir. Kolesterolle eş zamanlı likopen uygulamalarının GSH düzeylerinde artışlara neden olduğu ve likopenin oksidatif stresle mücadelede GSH düzeylerini artırdığı kanaatine varılmıştır.

SOD, süperoksit anyon radikalini H_2O_2 'ye dönüştürerek oksidatif hasarlara karşı antioksidan savunma sisteminin önemli bir enzimidir. GSH-Px ise H_2O_2 'i ve organik hidroperoksitleri su veya ilgili alkollere dönüşümünü katalize eden, selenyum içerikli bir enzimdir (Pisoschi ve Pop, 2015). Küçükgergin vd. (2010), hiperkolesterolemik yemle (%4'lük kolesterol ve %1'lik kolik asit içeren yem) 1 ay süreyle beslenen sıçanlarda; karaciğer ve kalp dokusu SOD aktivitelerinde herhangi bir değişikliğin oluşmadığı ve antioksidan etkili artichoke (*Cynara scolymus* L., Asteraceae) yaprak ekstraktının da bu antioksidan enzim üzerine bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir. GSH-Px aktivitelerinde ise anlamlı azalmaların olduğu gösterilmiştir. Vazquez-Castilla vd. (2013), 7 hafta boyunca hiperkolesterolemik yemle (%1'lik kolesterol ve %0,2'lik kolik asit içeren yem) beslenen sıçanların karaciğer GSH-Px aktivitelerinde kontrol grubuna göre bir değişimin olmadığını bildirmişlerdir. Sıçanlara farklı dozlarda likopen (0,001, 0,005, 0,05 ve 0,1 g/kg/gün) uygulandığı bir çalışmada özellikle 0,005 ve 0,05 g/kg/gün dozlarında likopenin kandaki SOD düzeyini önemli ölçüde artırdığı, 0,005 g/kg/gün dozunda likopenin ise GSH-Px düzeyini artırdığı gösterilmiştir. Diğer dozlarda likopen uygulamasının enzim düzeylerinde herhangi bir değişiklik sağlamadığı gözlenmiştir (Breinholt vd., 2000). Çalışmamızda ise karaciğer, böbrek, kalp ve beyin dokusu SOD aktivitelerinde HK gruplarında kontrol gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azalmalar gözlenmiştir. Uygulanan likopen ise SOD aktivitelerinde başta kalp dokusu olmak üzere anlamlı olmayan yükselmeler sağlamıştır ($p>0,05$). Ayrıca bu çalışmada GSH-Px aktivitelerinde böbrek dokusunda hiperkolesterolemik diyetle eş zamanlı uygulanan likopenin hiperkolesterolemi grubuna göre önemli yükselmeler sağladığı ve karaciğer dokusunda ise önemli azalmalara neden olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$). Kalp ve beyin dokularında GSH-Px aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı değişikliğin olmadığı gözlenmiştir ($p>0,05$). Hiperkolesterolemik yemle beslenmenin antioksidan dengeyi oksidanlara doğru kaydırıldığı ve eş zamanlı likopen uygulamasının bu dengeyi tekrar oluşturmaya çalıştığı düşünülmektedir.

CAT, H_2O_2 'in suya dönüşümünü katalizleyen bir enzimdir. Hücre, organ ve dokuların büyük çoğunluğunda, özellikle de karaciğer ve eritrositlerde yüksek konsantrasyonlarda bulunur (Pisoschi ve Pop, 2015). Vazquez-Castilla vd. (2013), hiperkolesterolemik yemle (%1'lik kolesterol ve %0,2'lik kolik asit içeren yem) 7 hafta boyunca beslenen sıçanların karaciğer CAT aktivitelerinin kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde düştüğünü gözlemlemişlerdir. Hiperkolesterolemik yem (%1 kolesterol içeren yem) uygulanan hamsterlarda CAT aktivitesinin ne serumda ne de karaciğer dokusunda anlamlı bir değişiklik oluşturmadığı bildirilmiştir (Martinello vd., 2006). Hiperkolesterolemik yemle (%1 kolesterol içeren yem) beslenen sıçan ve tavşanlarda meydana gelecek değişiklikleri kıyaslamak amacıyla yapılan bir başka çalışmada, kolesterolle beslenmenin tavşanlarda karaciğer dokusu CAT aktivitesini azalttığı ancak sıçanlarda ise artırdığı gözlenmiştir (Mahfouz ve Kummerow, 2000). Karahan vd. (2005), likopenin gentamisin uygulanan sıçanlarda böbrek dokusunda azalan CAT aktivitesini tekrar yükselttiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca karbon tetraklorür ile oluşturulan karaciğer hasarı sonrası azalan CAT aktivitesinin likopen ile arttığı rapor edilmiştir (Pinto vd., 2013). Palabiyik vd. (2013)'nin yaptıkları çalışmada ise okratoksin kaynaklı böbrek oksidatif stresine karşı likopenin CAT aktivitesi üzerine belirgin bir değişiklik sağlamadığını belirtmişlerdir. Diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre yükselen CAT aktivitesinin likopen verilmesiyle değişmediği görülmüştür (Aydın ve Çelik, 2012). Çalışmamızda ise hiperkolesterolemik diyetin karaciğer CAT aktivitesini kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azalttığı ($p<0,05$), likopen verilmesiyle de kısmen yükselme sağlandığı görülmüştür. Karaciğer dışındaki diğer dokularda ise gruplararası CAT aktivitesinde pek fazla değişikliğin olmadığı gözlenmiştir. Bulgularımız daha önceden yapılmış çalışmalar ile paralellik göstermekte, 8 hafta süresince uygulanan hiperkolesterolemik diyetin dokulardaki biyokimyasal enzimlerin aktivitesini anlamlı bir biçimde değiştirmek için yeterli süre ve miktarda olmaması ile açıklanabilir.

Afonso vd. (2013), hiperkolesterolemik diyetle beslenen sıçanların yem tüketme ve kilo alımlarıyla ilgili gruplar arasında herhangi bir fark olmadığını göstermiştir. García Giménez vd. (2012), hiperkolesterolemik diyetle eş zamanlı hipolipidemik etkili *Asparagus officinalis* ekstraktının yüksek dozda verildiği gruplarda yem tüketiminin daha az olduğu ancak ağırlık artışıyla ilgili anlamlı farkın olmadığı bildirmiştir. Yedi hafta boyunca hiperkolesterolemik diyetle (%1'lik kolesterol ve %0,2'lik kolik asit içeren yem) beslenen sıçanların canlı ağırlık artışının en fazla hiperkolesterolemi grubunda olduğu ve kontrol grubuyla kıyaslandığında ise önemli artışın olmadığı gösterilmiştir ($p>0,05$) (Vazquez-

Castilla vd., 2013). Çalışmamızda sıçanların deney öncesi ve sonrası ağırlıkları ölçülmüş, Kontrol, Likopen ve Hiperkolesterolemi gruplarında anlamlı artışların olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$). Buna karşın Hiperkolesterolemi+Likopen uygulanan grupta istatistiksel olarak anlamlı olmayan artışlar gözlenmiştir ($p>0,05$). Hiperkolesterolemik diyetin, canlı ağırlık artışını etkilemediği belirlenmiştir.

Aterojenik indeksin aterosklerozun önemli bir parametresi olduğu düşünülmektedir. Hiperkolesterolemik diyetin (%1 kolesterol+%0,2 kolik asit içeren yem) sıçanlarda aterojenik indeksi yükselttiği gösterilmiştir (García Giménez vd., 2012). Bir başka çalışmada ise hiperkolesterolemik sıçanlarda aterojenik indeksin yükseldiği; antioksidan ve hipolipidemik etkisi bilinen *Hibiscus sabdariffa* L. (roselle) ekstraktının bu parametrede azalma sağladığı ancak serum HDL seviyesini etkilemediği bildirilmiştir. Burada aterosklerozda aterojenik indeksin tek başına her bir lipit parametresinden daha iyi bir parametre olduğu ve roselle ekstraktının muhtemelen HDL'nin ters kolesterol taşınmasını etkileyemediği belirtilmiştir (Hirunpanich vd., 2006). Çalışmamızda 8 hafta süresince kolesterolce zengin yem ile beslenen sıçanlarda aterojenik indeks kontrol grubuna göre anlamlı arttığı ($p<0,05$), Hiperkolesterolemi+Likopen grubunda ise likopen uygulamasıyla da azaldığı görülmektedir. Antiaterojenik rolünün güçlü bir antioksidan olması ve LDL'yi oksidasyondan korumasıyla ilişkilendirilen likopenin, aterosklerozda yeni bir parametre olan aterojenik indeksi düşürmesi de aterosklerozun tedavisi açısından önemli bir bulgu olduğu düşünülmektedir.

Kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde, LDL'nin statin tedavisiyle düşürülmesi hedef alınmıştır ancak LDL kolesterolü düşürülen hastalarda hala hastalık riskinin devam ettiği gözlenmiştir. Bu kişilerde statinlerle LDL'nin düşürülmesinin aslında kardiyovasküler hastalık riskiyle bağlantılı olmadığı düşünülmektedir (Koncsos vd., 2016). Kardiyovasküler hastalıklarla düşük HDL ve yüksek trigliserit düzeyleri arasında daha güçlü bağlantı olduğu görüldükten sonra non-HDL tedavilerde gözönünde bulundurulması gereken önemli bir risk belirteci olmuştur (Bayturan vd., 2011). Non-HDL kardiyovasküler hastalıkların teşhisinde LDL'den daha üstün bir parametre olup, LDL'den çok daha fazla avantajlara sahiptir (Blaha vd., 2008). Hiperkolesterolemik diyetin (%0,5 kolesterol + %0,25 kolik asit içeren yem) sıçanlarda non-HDL düzeyini artırdığı ve antioksidan etkili bitkisel bir ekstakt olan rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.)'nin non-HDL düzeyinde azalmalar meydana getirdiği bildirilmiştir (Afonso vd., 2013). Çalışmamızda ise kolesterolle beslenmenin non-HDL düzeyini kontrol grubuna göre oldukça yükselttiği ve HK+Likopen grubunda likopen

verilmesinin ise istatistiksel açıdan önemli olmasa da non-HDL düzeyini düşürdüğünü görülmektedir. Hiperkolesterolemik diyetle beslenmenin kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde risk faktörü olan hiperkolesterolemiyi tetiklediği ve kardiyovasküler hastalıkların belirlenmesinde önemli bir belirteç olan non-HDL'nin likopen tarafından azaltılması, likopenin bu hastalığın tedavisinde göz önünde bulundurulması gereken bir madde olabileceği kanaatini doğurmaktadır.

AST ve ALT düzeylerinin belirlenmesi özellikle karaciğer hücre hasarının belirlenmesinde en çok kullanılan testlerdir. Çünkü enzimler karaciğer hücrelerinde yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadırlar. Hepatositler veya hücre membranları hasar gördüklerinde bu enzimler dolaşıma geçerler (Martinello vd., 2006). AST karaciğerin yanısıra kalp, iskelet kasları, alyuvarlar gibi birçok doku ve organda bulunurken, ALT ise ağırlıklı olarak karaciğerde, çok az miktarlarda ise böbrek, kalp ve iskelet kaslarında bulunur. Yukarıda geçen organlardaki hasarlar serum ALT düzeylerini etkileyebilir ancak genellikle ALT yükselmesi karaciğer hasarından kaynaklanmaktadır. GGT de en çok karaciğerde bulunmakla birlikte böbrek, safra yolları epiteli, bağırsaklar, beyin, pankreas ve dalakta çok daha düşük miktarlarda bulunmaktadır. GGT karaciğer hastalıklarının tespitinde, AST'den daha duyarlıdır (Prasad, 2008). Ayrıca yüksek konsantrasyonda kolesterol diyetiyle beslenmenin karaciğerde hasara neden olduğu rapor edilmiştir (Bolkent vd., 2004). 7 hafta boyunca %5'lik ve %10'luk kolesterol diyetinin uygulandığı çalışmada (Adeyemi vd., 2008) serum AST ve ALT düzeylerinde yükselmelere neden olduğu ancak %1'lik kolesterol diyetinin uygulandığı çalışmalarda (Martinello vd., 2006) ise serum AST ve ALT düzeylerinde değişikliğin olmadığı belirtilmiştir. Ismail vd. (2010)'nin çalışmasında 8 hafta boyunca %1'lik kolesterol diyetiyle beslenmenin plazma ALT ve GGT düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir biçimde yükseldiğini belirlemişlerdir. Upaganlawar vd. (2010), miyokardiyal enfarktüs oluşturulan sıçanlarda kontrol grubuna göre serum AST ve ALT düzeylerinde anlamlı yükselmeler olduğunu, likopen ile E vitamini kombinasyonunun bu parametrelerde önemli ölçüde azalmalar sağladığını gözlenmişlerdir. Çalışmamızda serum karaciğer fonksiyon testlerine bakıldığında kolesterol diyetiyle beslenmenin serum AST, ALT ve GGT gibi enzimleri yükselttiği görüldü. Hiperkolesterolemik gruplara eş zamanlı likopen uygulamalarının ise bu enzim değerlerinde kısmen düşüşler sağladığı ancak bu azalmaların istatistiksel olarak pek anlamlı bulunmadığı gözlemlendi. Total bilirubin düzeyinde ise herhangi bir değişiklik kaydedilmedi. Karaciğer transaminazlarının kontrol grubuna göre hiperkolesterolemi grubunda yüksek bulunması yüksek kolesterol diyetiyle

beslenmenin, karaciğer fonksiyonunu etkilemiş olabileceği gibi veriler, önceki çalışmalar ile paralellik göstermektedir. Likopenin ise tüm bu parametrelerde kısmen iyileşme sağlaması, karaciğer fonksiyonları üzerine olumlu etkilerinin olabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda histopatolojik olarak kolesterolle beslenmenin karaciğer ve böbrek dokusunda çeşitli lezyonların oluşumuna neden olduğu ve kolesterolü yemle eş zamanlı likopen verilen grupta ise bu lezyonların daha hafif şiddette şekillendiği tespit edilmiştir. Karaciğerdeki yağlanma, sinüzoidal konjesyon, bulanıklık-şişkinlik, hücre infiltrasyonları, apoptozis gibi değişimler, daha önce yapılan çalışmalarda da (Anandhi vd., 2014) gösterilmiştir. Yine %4 kolesterol ve %1 kolik asitle hazırlanan diyetle oluşturulan hiperkolesteroleminin sıçan böbreğinde histopatolojik değişimlere neden olduğu bildirilmiştir (Eddy vd., 1996). Histopatolojik olarak en belirgin değişimlerin hiperkolesterolemi gruplarında gözlenmesi, kolesterolün çeşitli doku ve organlarda hasara neden olabileceğini destekler nitelikte bulgulardır. Buna karşın, yapılan başka bir çalışmada %4'lük kolesterol diyetiyle beslenen sıçanların karaciğer ve aortunda herhangi bir histopatolojik değişimin olmadığı ve 30 gün boyunca %4'lük diyetin morfolojik değişimler oluşturmak için yeterli olmadığı kanısına varılmıştır (Valcheva-Kuzmanova vd., 2007). Nitekim Anandhi vd., (2014)'nin yaptıkları çalışmada aterojenik diyetle (%5 kolesterol, %20 sükroz, hidrojenat sebze yağı, %2 sodyum kolat, %20 laktoz, %0,4 kolin klorit, %0,15 tiourasil) beslenen sıçanlarda torasik aortlarının tunica medya katmanında hasar, tunica adventisya tabakasında kalınlaşma ve çok sayıda mast hücreleri ile lipit içeren hücrelere rastlanılmıştır. Çalışmamızda ise aortta tüm gruplarda herhangi bir lezyona rastlanılmamıştır. Daha önceki çalışmalara benzer biçimde bu çalışmada sıçanlara uygulanan yemin kolesterol ve kolik asit miktarları ile deney süresinin aortta patolojik değişimler oluşturmak için yeterli olmadığı düşünülmektedir.

Bulgularımız kolesterolden zengin diyetle beslenmenin oksidatif stresi tetikleyebileceği ve antioksidan olarak kabul edilen SOD, GSH-Px ve CAT aktiviteleri ile GSH düzeylerinde kısmen azalmalara neden olarak dokularda oksidatif hasar oluşturabileceğini göstermektedir. Histopatolojik olarak da en belirgin değişimlerin hiperkolesterolemi gruplarında gözlenmesi bu durumu destekler nitelikteki bulgulardır. Lipit peroksidasyon ürünü olan MDA düzeyinin ise sadece beyin dokusunda yüksek bulunması ve diğer dokularda kontrol grubundan farklı bulunmaması başka çalışmalarla da (Bravo vd., 2014; Afonso vd., 2013; Martinello vd., 2006) desteklenmektedir. Günümüzde çokça tartışılan kolesterolün zararlı etkilerinin yanısıra yararlı etkilerinin olduğu da

düşünelecek olunursa, 8 hafta boyunca %2'lik diyetle alınması bazı dokularda MDA düzeyini değiştirmek için yeterli süre ve dozda olmadığı fikrini akla getirmektedir. Likopenin ise oksidatif stres parametrelerinde iyileşme sağlaması, onun antioksidan özelliğinden kaynaklanmaktadır. Hiperkolesterolemide oksidatif stresin arttığı da düşünülecek olunursa, likopenin antioksidan özelliği nedeniyle bu alandaki çalışmaların sürdürülmesinin yararlı olacağı düşünülmektedir.

Likopenin tüm bu olumlu etkileri ele alındığında hiperkolesterolemide, dolayısıyla kardiyovasküler hastalıklar ve ateroskleroz tedavisinde suplementasyon halinde kullanılma potansiyelinin olabileceğini ve bu alandaki çalışmalar için de önemli adres olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, likopen tüketiminin dokulardaki ve dolaşımdaki likopen seviyelerini artırdığı, güçlü antioksidan olarak rol oynadığı ve oksidatif hasara karşı hücreleri koruduğu bilindiğinden başta kanser olmak üzere birçok hastalığa karşı koruyucu ya da risk azaltıcı etkisi vardır. İleride bu konuyla ilgili mekanizmaların moleküler düzeylerde araştırılması ve daha fazla bilgi elde edilmesinin önemli olacağı kanatindeyiz.

KAYNAKLAR

- Adeyemi, O., Adebisi, K.E., Isiosio, L.O. and Aboluwoye, C.O.,** 2008. Effects of Dietary Cholesterol on Some Serum Enzymes, *J. Med. Sci.*, **8**(4), 390-394.
- Aebi, H.,** 1984. Catalase in vitro assay methods, *Methods Enzymol.*, **105**,121-126.
- Afonso, M.S., de O, S.A., Carvalho, E.B., Rivelli, D.P., Barros, S. B., Rogero, M.M., Lottenber,g A.M., Torres, P.R. and Mancini-Filho, J.,** 2013. Phenolic compounds from Rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) attenuate oxidative stress and reduce blood cholesterol concentrations in diet-induced hypercholesterolemic rats, *Nutrition & Metabolism*, **10**(1), 1.
- Agarwal, S. and Rao, A.V.,** 1998. Tomato Lycopene and Low Density Lipoprotein Oxidation: A Human Dietary Intervention Study, *Lipids*, **33**(10), 981-984.
- Anandhi, R., Thomas, P.A. and Geraldine, P.,** 2014. Evaluation of the anti-atherogenic potential of chrysin in Wistar rats, *Molecular and Cellular Biochemistry*, **385**(1-2), 103-113.
- Anderson, S., Meyer, T.W., Rennke, H.G. and Brenner, B.M.,** 1985. Control of Glomerular Hypertension Limits Glomerular Injury in Rats with Reduced Renal Mass, *Journal of Clinical Investigation*, **76**(2), 612-619.
- Angelis-Pereira, M.C.D., Barcelos, M.D.F.P., Sousa, M.S.B. and Pereira, J.D.A.R.,** 2013. Effects of the kefir and banana pulp and skin flours on hypercholesterolemic rats, *Acta Cirurgica Brasileira*, **28**(7), 481-486.
- Arab, L. and Steck, S.,** 2000. Lycopene and cardiovascular disease, *The American Journal of Clinical Nutrition*, **71**(6), 1691-1695.
- Armitage, J.,** 2007. The safety of statins in clinical practice, *The Lancet*, **370**(9601), 1781-1790.
- Astorg, P., Gradelet, S., Berges, R. and Suschetet, M.,** 1997. Dietary lycopene decreases the initiation of liver preneoplastic foci by diethylnitrosamine in the rat, *Nutr. Cancer*, **29**(1), 60-68.
- Ateşşahin, A., Karahan, I., Türk, G., Gür, S., Yılmaz, S. and Çeribaşı, A.O.,** 2006 (a). Protective role of lycopene on cisplatin-induced changes in sperm characteristics, testicular damage and oxidative stress in rats, *Reproductive Toxicology*, **21**(1), 42-47.

- Ateşşahin, A., Türk, G., Karahan, I., Yılmaz, S., Çeribaşı, A.O. and Bulmuş, O., 2006** (b). Lycopene prevents adriamycin-induced testicular toxicity in rats, *Fertil Steril*, **85**, Suppl 1, 1216-1222.
- Ateşşahin, A., Yılmaz, S., Karahan, I., Çeribasi, A.O. and Karaoğlu, A., 2005.** Effects of lycopene against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats, *Toxicology*, **212**(2), 116-123.
- Aydin, M. and Çelik, S., 2012.** Effects of lycopene on plasma glucose, insulin levels, oxidative stress, and body weights of streptozotocin-induced diabetic rats, *Turkish Journal of Medical Sciences*, **42**, 1406-1413.
- Bancroft, J.D. and Stevens, A., 1990.** Theory and practise of histological techniques. Third Edition. Churchill, Livingstone, Edinburg, London, Melbourne and New York. Sayfa: 112-147, 245-269, 509-596.
- Basuny, A.M., Gaafar, A.M. and Arafat, S.M., 2009.** Tomato lycopene is a natural antioxidant and can alleviate hypercholesterolemia, *Afr J Biotechnol.*, **8**, 6627–6633.
- Bayturan, Ö., Ütük, O. and Tuzcu, E.M., 2011.** LDL kolesterolü düşürmenin ötesi, *Anadolu Kardiyoloji Dergisi*, **11**(2), 163.
- Beutler, E., 1975.** Red cell metabolism. In A Manual of Biochemical Methods. New York: Grune Strottan, 67-69.
- Blaha, M.J., Blumenthal, R.S., Brinton, E.A., Jacobson, T.A. and National Lipid Association Taskforce on Non-HDL Cholesterol., 2008.** The importance of non-HDL cholesterol reporting in lipid management, *Journal of Clinical Lipidology*, **2**(4), 267-273.
- Bolkent, S., Yanardag, R., Bolkent, S. and Döğer, M.M., 2004.** Beneficial Effects of Combined Treatment With Niacin and Chromium on the Liver of Hyperlipemic Rats, *Biological Trace Element Research*, **101**(3), 219-229.
- Bonetti, P.O., Lerman, L.O., Napoli, C. and Lerman, A., 2003.** Statin effects beyond lipid lowering - are they clinically relevant?, *Eur Heart J.*, **24**, 225-248.
- Bravo, L., Mateos, R., Sarriá, B., Baeza, G., Lecumberri, E., Ramos, S. and Goya, L., 2014.** Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) in high-cholesterol fed rats, *Fitoterapia*, **92**, 219-229.
- Breinholt, V., Lauridsen, S.T., Daneshvar, B. and Jakobsen, J., 2000.** Dose-response effects of lycopene on selected drug-metabolizing and antioxidant enzymes in the rat, *Cancer Letters*, **154**(2), 201-210.

- Brown, M.S. and Goldstein, J.L.,** 1986. A Receptor-Mediated Pathway for Cholesterol Homeostasis, *Science*, **232**(4746), 34-47.
- Byon, C.H., Javed, A., Dai, Q., Kappes, J.C., Clemens, T.L. Darley-USmar, V.M., McDonald, J.M. and Chen, Y.,** 2008. Oxidative Stress Induces Vascular Calcification Through Modulation of the Osteogenic Transcription Factor Runx2 by AKT Signaling, *J. Biol. Chem.*, **283**, 15319–15327.
- Calderon, R.M., Cubeddu, L.X., Goldberg, R.B. and Schiff, E.R.,** 2010. Statins in the Treatment of Dyslipidemia in the Presence of Elevated Liver Aminotransferase Levels: A Therapeutic Dilemma, *Mayo Clinic Proceedings*, **85** (4), 349-356.
- Champe, P.C., Harvey, R.A. and Ferrier, D.R.,** 2007. Biyokimya, Ed. Ulukaya, E., 3. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- Cushing, S.D., Berliner, J.A., Valente, A.J., Territo, M.C., Navab, M., Parhami, F., Gerrity, R., Schwartz, C.J. and Fogelman, A.M.,** 1990. Minimally modified low density lipoprotein induces monocyte chemotactic protein 1 in human endothelial cells and smooth muscle cells, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **87**(13), 5134-5138.
- Diamond, J.R. and Karnovsky, M.J.,** 1987. Exacerbation of chronic aminonucleoside nephrosis by dietary cholesterol supplementation, *Kidney International*, **32**, 671-677.
- Eddy, A.A., Liu, A. and McCulloch, L.,** 1996. Interstitial inflammation and fibrosis in rats with diet induced hypercholesterolemia, *Kidney International*, **50**, 1139–1149.
- Ellman, G.,** 1959. Tissue sulphydryl groups, *Arch. Biochem. Biophys.*, **82**, 70-77.
- Elson, C.E., Peffley, D.M., Hentosh, P. and Mo, H.,** 1999. Isoprenoid-mediated inhibition of mevalonate synthesis: potential application to cancer, *Experimental Biology and Medicine*, **221**(4), 294-311.
- Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of Blood Cholesterol in Adults., 2001. Executive summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *Jama*, **285**(19), 2486-2497.
- Foy, C.J., Passmore, A.P., Vahidassr, M.D., Young, I.S. and Lawson, J.T.,** 1999. Plasma chain-breaking antioxidants in Alzheimer's disease, vascular dementia and Parkinson's disease, *Qjm:An International Journal of Medicine*, **92**(1), 39-45.
- Frederiksen, H., Rasmussen, S.E., Schröder, M., Bysted, A., Jakobsen, J., Frandsen, H., Ravn-Haren, G. and Mortensen, A.,** 2007. Dietary supplementation with an

- extract of lycopene-rich tomatoes does not reduce atherosclerosis in Watanabe Heritable Hyperlipidemic rabbits, *British Journal of Nutrition*, **97**(01), 6-10.
- Frost, P.H. and Havel, R.J.**, 1998. Rationale for Use of Non-High-Density Lipoprotein Cholesterol Rather than Low-Density Lipoprotein Cholesterol as a Tool for Lipoprotein Cholesterol Screening and Assessment of Risk and Therapy, *Am. J. Cardiol.*, **81**, 26B-31B.
- Fuhrman, B., Elis, A. and Aviram, M.**, 1997. Hypocholesterolemic Effect of Lycopene and β -Carotene Is Related to Suppression of Cholesterol Synthesis and Augmentation of LDL Receptor Activity in Macrophage, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **233**, 658-662.
- Futerman, L.G. and Lemberg, L.**, 2004. Statin Pleiotropy: Fact or Fiction?, *American Journal of Critical Care*, **13**(3), 244-249.
- García Giménez, M.D., De la Puerta, R., Sáenz, M.T., Marquez-Martín, A. and Fernández-Arche, M.A.**, 2012. Hypocholesterolemic and Hepatoprotective Effects of “Triguero” Asparagus from Andalusian in Rats Fed a High Cholesterol Diet, *Evid. Based. Compl. Alt. Med.*, **2012**, 1-6.
- Giovannucci, E., Ascherio, A., Rimm, E.B., Stampfer, M.J., Colditz, G.A. and Willet, W.C.**, 1995. Intake of Carotenoids and Retinol in Relation to Risk of Prostate Cancer, *J. Natl. Cancer Inst.*, **87**, 1767–1776.
- Giovannucci, E.**, 1999. Tomatoes, Tomato-Based Products, Lycopene, and Cancer: Review of the Epidemiologic Literature, *J. Natl. Cancer Inst.*, **91**, 317–331.
- Gökkuşu, C. and Mostafazadeh, T.**, 2003. Changes of oxidative stress in various tissues by long-term administration of vitamin E in hypercholesterolemic rats, *Clinica Chimica Acta*, **328**, 155-161.
- Golomb, B.A. and Evans, M.A.**, 2008. Statin Adverse Effects: A Review of the Literature and Evidence for a Mitochondrial Mechanism, *American Journal of Cardiovascular Drugs*, **8**(6), 373-418.
- Hassan, H.A. and Edrees, G.M.**, 2004. Therapeutic effect of lycopene-rich tomato juice on cardiac disorder in rats fed on fried food in oxidized frying oil, *Egypt J. Hosp. Med.*, **14**, 115-126.
- Hevonoja, T., Pentikainen, M.O., Hyvonen, M.T., Kovanen, P.T. and Ala-Korpela, M.**, 2000. Structure of low density lipoprotein (LDL) particles: Basis for understanding

- molecular changes in modified LDL, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1488** (3), 189–210.
- Hirunpanich, V., Utaipat, A., Morales, N.P., Bunyapraphatsara, N., Sato, H., Herunsale, A. and Suthisisang, C.,** 2006. Hypocholesterolemic and antioxidant effects of aqueous extracts from the dried calyx of *Hibiscus sabdariffa* L. in hypercholesterolemic rats, *Journal of Ethnopharmacology*, **103**(2), 252-260.
- Hoyos, M., Guerrero, J.M., Perez-Cano, R., Olivan, J., Fabiani, F., Garcia-Pergañeda, A. and Osuna, C.,** 2000. Serum cholesterol and lipid peroxidation are decreased by melatonin in diet-induced hypercholesterolemic rats, *Journal of Pineal Research*, **28**(3), 150-155.
- Hu, M.Y., Li, Y.L., Jiang, C.H., Liu, Z.Q., Qu, S.L. and Huang, Y.M.,** 2008. Comparison of lycopene and fluvastatin effects on atherosclerosis induced by a high-fat diet in rabbits, *Nutrition*, **24**, 1030–1038.
- Ismail, M., Al-Naqeeb, G. and Chan, K.W.,** 2010. *Nigella sativa* thymoquinone-rich fraction greatly improves plasma antioxidant capacity and expression of antioxidant genes in hypercholesterolemic rats, *Free Radic Biol Med.*, **48**, 664–672.
- Iwasaki, A. and Gagnon, C.,** 1992. Formation of reactive oxygen species in spermatozoa of infertile patients, *Fertil Steril*, **57**, 409–416.
- Jain, C.K., Agarwal, S. and Rao, A.V.,** 1999. The Effect of Dietary Lycopene on Bioavailability, Tissue Distribution, In-Vivo Antioxidant Properties and Colonic Preneoplasia in Rats, *Nutr. Res.*, **19**, 1383–1391.
- Jonathan, E. and Feig, M.D.,** 2014. Regression of Atherosclerosis: Insights from Animal and Clinical Studies, *Annals of Global Health*, **80**, 13-23.
- Karahan, I., Ateşşahin, A., Yılmaz, S., Çeribaşı, A.O. and Sakin, F.,** 2005. Protective effect of lycopene on gentamicin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats, *Toxicology*, **215**(3), 198-204.
- Kasiske, B.L., O'donnell, M.P., Cleary, M.P. and Keane, W.F.,** 1988. Treatment of hyperlipidemia reduces glomerular injury in obese Zucker rats, *Kidney International*, **33**(3), 667-672.
- Kasiske, B.L., O'Donnell, M.P., Schmitz, P.G., Kim, Y., Keane, W.F., Daniels, F., and Holden, G.,** 1990. Renal injury of diet-induced hypercholesterolemia in rats. *Kidney International*, **37**(3), 880-891.

- Katz, D.H., Intwala, S.S. and Stone, N.J.,** 2014. Addressing Statin Adverse Effects in the Clinic: The 5 Ms, *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, **19**(6), 533-542.
- Kayaalp, O.,** 2009. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Pelikan Yayıncılık, Ankara.
- Khachik, F., Beecher, G.R. and Smith, Jr. J.C.,** 1995. Lutein, Lycopene and Their Oxidative Metabolite in Chemoprevention of Cancer, *J. Cell Biochem.*, **22**, 236–246.
- Khachik, F., Carvalho, L., Bernstein, P.S., Muir, G.J., Zhao, D.Y. and Katz, N.B.,** 2002. Chemistry, Distribution and Metabolism of Tomato Carotenoids and Their Impact on Human Health, *Exp. Biol. Med.*, **227**(10), 845–851.
- Khachik, F., Spangler, C.J., Smith Jr. J.C., Canfield L.M., Steck, A. and Pfander, H.,** 1997. Identification, Quantification, and Relative Concentrations of Carotenoids and Their Metabolites in Human Milk and Serum, *Anal. Chem.*, **69**, 1873–1881.
- Kimura, M., Kurose, I., Russell, J. and Granger, D.N.** 1997. Effects of Fluvastatin on Leukocyte–Endothelial Cell Adhesion in Hypercholesterolemic Rats, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **17**(8), 1521-1526.
- Kohlmeier, L., Kark, J. D., Gomez-Gracia, E., Martin, B. C., Steck, S. E., Kardinaal, A. F., Ringstad, J. Thamm, M., Masaev, V., Riemersma, R., Martin-Moreno, J. M., Huttunen, J.K. and Kok F.J.,** 1997. Lycopene and Myocardial Infarction Risk in the EURAMIC Study, *American Journal of Epidemiology*, **146**(8), 618-626.
- Koncsos, P., Fülöp, P., Juhász, I., Bíró, K., Márk, L., Simonyi, G. and Paragh, G.,** 2016. Changes in triglyceride, HDL-C, and non-HDL-C levels in patients with acute coronary syndrome, *Wiener Klinische Wochenschrift*, 1-6.
- Kristenson, M., Zieden, B., Kucinskiene, Z., Abaravicius, A., Razinkovienė, L., Elinder, L.S., Bergdahl, B., Elwing, B., Calkauskas, H. and Olsson, A.G.,** 1997. Antioxidant state and mortality from coronary heart disease in Lithuanian and Swedish men: concomitant cross sectional study of men aged 50, *The Bmj*, **314**(7081), 629.
- Krutovskikh, V., Asamoto, M., Takasuka, N., Murakoshi, M., Nishino, H. and Tsuda, H.,** 1997. Differential dose-dependent effects of CI-, p-carotenes and lycopene on gap junctional intercellular communication in rat liver in vivo, *Jpn. J. Cancer Res.*, **88**, 1121-1124.

- Küçükgergin, C., Aydin, A.F., Erata, G.O., Mehmetcik, G., Toker, N.T. and Uysal, M.,** 2010. Effect of Artichoke Leaf Extract on Hepatic and Cardiac Oxidative Stress in Rats Fed on High Cholesterol Diet, *Biological Trace Element Research*, **135**, 264–274.
- Leopold, J.A. and Loscalzo, J.,** 2009. Oxidative risk for atherothrombotic cardiovascular disease, *Free Radic. Biol. Med.*, **47**, 1673–1706.
- Leung, A., Schaefer, E.W., Tempelhof, M.W. and Stone, N.J.,** 2012. Emphasizing Statin Safety in the Hospitalized Patient: a Review, *The American journal of medicine*, **125**(9), 845-853.
- Lorenz, M., Fechner, M., Kalkowski, J., Fröhlich, K., Trautmann, A., Böhm, V., Liebisch, G., Lehneis, S., Schmitz, G., Ludwig, A., Baumann, G., Stangl, K. and Stangl, V.,** 2012. Effects of Lycopene on the Initial State of Atherosclerosis in New Zealand White (NZW) Rabbits, *PLoS One*, **7**, 1-8.
- Lowry, O.H., Rosebroug, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.,** 1951. Protein measurement with pholin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275.
- Mahfouz, M.M. and Kummerow, F.A.,** 2000. Cholesterol-rich diets have different effects on lipid peroxidation, cholesterol oxides, and antioxidant enzymes in rats and rabbits, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **11**(5), 293-302.
- Mahley, R.W., Innerarity, T.L., Rall, S.C. Jr. and Weisgraber, K.H.,** 1984. Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function, *J. Lipid Res.*, **25**, 1277–1294.
- Martin, H.L. and Teismann, P.,** 2009. Glutathione - a review on its role and significance in Parkinson's disease, *The FASEB Journal*, **23**(10), 3263-3272.
- Martinello, F., Soares, S.M., Franco, J.J., Santos, A.C., Sugohara, A., Garcia, S.B., Curti, S.A. and Uyemura, S.A.,** 2006. Hypolipemic and antioxidant activities from *Tamarindus indica* L. pulp fruit extract in hypercholesterolemic hamsters, *Food and Chemical Toxicology*, **44**(6), 810-818.
- Martínez, A. and Melendez-Martínez, A.J.,** 2016. Lycopene, oxidative cleavage derivatives and antiradical activity, *Computational and Theoretical Chemistry*, **1077**, 92-98.
- McFarlane, S.I., Muniyappa, R., Fransisco, R. and Stowers, J.R.,** 2002. Pleiotropic Effects of Statins: Lipid Reduction and Beyond, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **87**, 1451–1458,

- Mehta, N., Hordines, J., Volpe, C., Doerr, R. and Cohen, S.A.,** 1997. Cellular effects of hypercholesterolemia in modulation of cancer growth and metastasis: a review of the evidence, *Surg. Oncol.*, **6**, 179–185.
- Mergen, B.E. Mergen, H. Öngel, K., Tavlı, T. and Tavlı, V.,** 2010. Lipoprotein metabolism disorders and their treatment, *Turkish Journal of Family Practice*, **14**(1), 38-45.
- Mildner-Szkudlarz, S. and Bajerska, J.,** 2013. Protective effect of grape by-product fortified breads against cholesterol/cholic acid diet-induced hypercholesterolaemia in rats, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **93**, 3271–3278.
- Misra, R., Mangi, S., Joshi, S., Mittal, S., Gupta, S.K. and Pandey, R.M.,** 2006. LycoRed as an alternative to hormone replacement therapy in lowering serum lipids and oxidative stress markers: A randomized controlled clinical trial, *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, **32**(3), 299-304.
- Moriel, P., Sevanian, A., Ajzen, S., Zanella, M.T., Plavnik, F.L., Rubbo, H. and Abdalla, D.S.P.,** 2002. Nitric oxide, cholesterol oxides and endothelium-dependent vasodilation in plasma of patients with essential hypertension, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **35**(11), 1301-1309.
- Mortensen, A., Skibsted, L.H., Sampson, J., Rice-Evans, C. and Everett, S.A.,** 1997. Comparative mechanisms and rates of free radical scavenging by carotenoid antioxidants, *FEBS Letters*, **418**(1-2), 91-97.
- Nelson, D.L. and Cox, M.M.,** 2013. Lehninger Biyokimyanın İlkeleri, 5. Baskıdan çeviri, Ed. Elçin, Y.M., Palme Yayıncılık, Ankara.
- Neuvonen, P.J., Niemi, M. and Backman, J.T.,** 2006. Drug interactions with lipid-lowering drugs: Mechanisms and clinical relevance, *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, **80**(6), 565-581.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K.,** 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Anal. Biochem.*, **95**, 351-358.
- Palabiyik, S.S., Erkekoglu, P., Zeybek, N.D., Kizilgun, M., Baydar, D.E., Sahin, G. and Giray, B.K.,** 2013. Protective effect of lycopene against ochratoxin A induced renal oxidative stress and apoptosis in rats, *Experimental and Toxicologic Pathology*, **65**(6), 853-861.

- Palozza, P., Catalano, A., Simone, R.E., Mele, M.C. and Cittadini, A.,** 2012. Effect of Lycopene and Tomato Products on Cholesterol Metabolism, *Ann. Nutr. Metab.*, **61**, 126-134.
- Palozza, P., Parrone, N., Simone, R.E. and Catalano, A.,** 2010. Lycopene in atherosclerosis prevention: An integrated scheme of the potential mechanisms of action from cell culture studies, *Archives of biochemistry and biophysics*, **504**(1), 26-33.
- Palozza, P., Simone, R., Catalano, A., Monego, G., Barini, A., Mele, M.C., Parrone, N., Trombino, S., Picci, N. and Ranelletti, F.O.,** 2011. Lycopene prevention of oxysterol-induced proinflammatory cytokine cascade in human macrophages: inhibition of NF- κ B nuclear binding and increase in PPAR γ expression, *J. Nutr. Biochem.*, **22**, 259–268.
- Paran, E. and Engelhard, Y.,** 2001. P-333: Effect of tomato's lycopene on blood pressure, serum lipoproteins, plasma homocysteine and oxidative stress markers in grade I hypertensive patients, *American Journal of Hypertension*, **14**(1), 141-141.
- Penumathsa, S.V., Thirunavukkarasu, M., Koneru, S., Juhasz, B., Zhan, L., Pant, R., Menon, V.P., Otani, H. and Maulik, N.,** 2007. Statin and Resveratrol in Combination induces Cardioprotection against Myocardial Infarction in Hypercholesterolemic Rat, *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, **42**(3), 508-516.
- Pinto, C., Rodríguez-Galdón, B., Cestero, J.J. and Macías, P.,** 2013. Hepatoprotective effects of lycopene against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats, *Journal of Functional Foods*, **5**(4), 1601-1610.
- Pisoschi, A.M. and Pop, A.,** 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review, *European Journal of Medicinal Chemistry*, **97**, 55-74.
- Prasad, K.,** 2008. Serum biochemical changes in rabbits on a regular diet with and without flax lignan complex following a high-cholesterol diet, *The International Journal of Angiology*, **17**(1), 27.
- Pruefer, D., Scalia, R. and Lefer, A.M.,** 1999. Simvastatin inhibits leukocyte-endothelial cell interactions and protects against inflammatory processes in normocholesterolemic rats, *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, **19**, 894–900.

- Rao A.V. and Agarwal S.**, 1999. Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review, *Nutrition Research*, **19**, 305–323.
- Rao, A.V. and Balachandran, B.**, 2003. Role of oxidative stress and antioxidants in neurodegenerative diseases, *Nutritional Neuroscience*, **5**(5), 291-309.
- Rao, A.V. and Rao, L.G.**, 2007. Carotenoids and human health, *Pharmacol. Res.*, **55**, 207-216.
- Rao, A.V. and Shen, H.**, 2002. Effect of low dose lycopene intake on lycopene bioavailability and oxidative stress, *Nutrition Research*, **22**(10), 1125-1131.
- Rao, A.V., Fleshner, N. and Agarwal, S.**, 1999. Serum and tissue lycopene and biomarkers of oxidation in prostate cancer patients: a case-control study, *Nutrition and Cancer*, **33**(2), 159-164.
- Rao, A.V., Ray, M.R. and Rao, L.G.**, 2006. Lycopene, *Advances in Food and Nutrition Research*, **51**, 99-164.
- Rao, L.G., Mackinnon, E.S., Josse, R.G., Murray, T.M., Strauss, A. and Rao, A.V.**, 2007. Lycopene consumption decreases oxidative stress and bone resorption markers in postmenopausal women, *Osteoporosis Int.*, **18**(1), 109–115.
- Ridker P.M.**, 2014. LDL cholesterol: controversies and future therapeutic directions, *The Lancet*, **384**, 607–617.
- Ried, K. and Fakler, P.**, 2011. Protective effect of lycopene on serum cholesterol and blood pressure: Meta-analyses of intervention trials, *Maturitas*, **68**(4), 299-310.
- Rissanen, T., Voutilainen, S., Nyyssönen, K., Salonen, R. and Salonen, J.T.**, 2000. Low Plasma Lycopene Concentration is Associated with Increased Intima-Media Thickness of the Carotid Artery Wall, *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, **20**(12), 2677-2681.
- Roberts, M.D.**, 2013. CRESTOR (Rosuvastatin calcium) NDA 21-366 JUPITER. United States Food and Drug Administration Endocrinologic and Metabolic Drugs Advisory Committee. 2009.
- Ross, R.**, 1999. Atherosclerosis—an inflammatory disease, *The New England Journal of Medicine*, **340**(2), 115-126.
- Russell, D.W.**, 1992. Cholesterol biosynthesis and metabolism, *Cardiovascular drugs and therapy*, **6**(2), 103-110.
- Santos, R.D. and Maranhao, R.C.**, 2014. What is new with familial hypercholesterolemia?, *Curr. Opin. Lipidol.*, **25**, 183–188.

- Schaefer, E.J., Anthanont, P. and Asztalos, B.F.**, 2014. High-density lipoprotein metabolism, composition, function, and deficiency, *Curr. Opin. Lipidol.*, **25**, 194–199.
- Schmidt, R., Fazekas, F., Hayn, M., Schmidt, H., Kapeller, P., Roob, G., Offenbacher, H., Schumacher, M., Eber, B., Weinrauch, V. and Kostner, G.M.**, 1997. Risk factors for microangiopathy-related cerebral damage in the Austrian stroke prevention study, *Journal of the Neurological Sciences*, **152**(1), 15-21.
- Sesso, H.D., Buring, J.E., Norkus, E.P. and Gaziano, J.M.** 2005. Plasma lycopene, other carotenoids, and retinol and the risk of cardiovascular disease in men, *The American Journal of Clinical Nutrition*, **81**(5), 990-997.
- Sies, H.**, 1985. Oxidative stress, Academic Press, London.
- Stahl, W. and Sies, H.**, 1992. Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans, *The Journal of Nutrition*, **122**(11), 2161-2166.
- Steinberg, D.**, 1997. Low Density Lipoprotein Oxidation and Its Pathobiological Significance, *Journal of Biological Chemistry*, **272**(34), 20963-20966.
- Story, J.A., Tepper, S.A. and Kritchevsky, D.**, 1974. Influence of Synthetic Conjugates of Cholic Acid on Cholesterolemia in Rats, *J. Nutr.*, **104**, 1185–1188.
- Sun, Y., Oberley, L.W. and Li, Y.**, 1988. A Simple Method for Clinical Assay of Superoxide Dismutase, *Clin. Chem.*, **34**, 497-500.
- Tobert, J.A., Bell, G.D., Birtwell, J., James, I., Kukovetz, W.R., Pryor, J.S., Buntinx, A., Holmes, I.B., Chao, Y.S. and Bolognese, J.A.**, 1982. Cholesterol-lowering Effect of Mevinolin, an Inhibitor of 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzyme a Reductase, in Healthy Volunteers, *Journal of Clinical Investigation*, **69**(4), 913-919.
- Upaganlawar, A., Gandhi, H. And Balaraman, R.**, 2010. Effect of vitamin E alone and in combination with lycopene on biochemical and histopathological alterations in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats, *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, **1**(1), 24-31.
- Valcheva-Kuzmanova, S., Kuzmanov, K., Mihova, V., Krasnaliev, I., Borisova, P. and Belcheva, A.**, 2007. Antihyperlipidemic Effect of *Aronia melanocarpa* Fruit Juice in Rats Fed a High-Cholesterol Diet, *Plant Foods for Human Nutrition*, **62**(1), 19-24.
- Vance, D.E and Van den Bosch H.**, 2000. Cholesterol in the year 2000, *Biochim. Biophys. Acta-Molec. Cell Biol. Lipids*, **1529**, 1–8.

- Vazquez-Castilla, S., LaPuerta, R.D., Giminez, M.D.G., Fernandez-Arche, M.A. and Guillen-Bajarno, R.,** 2013. Bioactive Constituents from “Triguero” Asparagus Improve the Plasma Lipid Profile and Liver Antioxidant Status in Hypercholesterolemic Rats, *Int. J. Mol .Sci.*, **14**, 21227-21239.
- Verghese, M., Richardson, J.E., Boateng, J., Shackelford, L.A., Howard, C., Walker, L.T. and Chawan, C.B.,** 2008. Dietary Lycopene Has a Protective Effect on Cardiovascular Disease in New Zealand Male Rabbits, *J. Biol. Sci.*, **8**, 268–277.
- Yilmaz, S., Atessahin, A., Sahna, E., Karahan, I. and Ozer, S.,** 2006. Protective effect of lycopene on adriamycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity, *Toxicology*, **218**(2), 164-171.
- Zengin, H.,** 2012. Ateroskleroz patogenezi, *Journal of Experimental and Clinical Medicine*, **29**, 101-106.

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında İstanbul’da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi İstanbul’da tamamladım. 2002–2007 yılları arasında İnönü Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği Bölümü’nde lisans eğitimimi tamamladım. Aynı yıl Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı’nda tezli yüksek lisansa başladım. Yüksek lisans eğitimim sürerken, 2009 Mart ayında Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’ne araştırma görevlisi olarak atandım. Lisansüstü eğitimimi tamamlamak üzere 35. madde ile tekrar Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’ne araştırma görevlisi olarak geçici görevlendirme ile gönderildim. 2010 yılında Yüksek lisans eğitimimi tamamladım. Aynı yıl Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı’nda doktora eğitimine başladım. Halen Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nde araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım. Evli ve bir çocuk annesiyim.