

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

HİPERKOLESTEROLEMİK RATLARDA, STATİN VE
TIAZOLIDİNDİON TEDAVİSİ İLE ATEROJENİK RİSK
FAKTÖRLERİ, ENDOTELYAL FONKSİYONLAR VE
İNFLAMASYON MARKIRLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

DOKTORA TEZİ

GÜLŞEN AKALIN

DANIŞMAN

Prof. Dr. ÖZKAN ALATAŞ

Temmuz-2010

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

HİPERKOLESTEROLEMİK RATLARDA, STATİN VE
TIAZOLIDİNDİON TEDAVİSİ İLE ATEROJENİK RİSK
FAKTÖRLERİ, ENDOTELYAL FONKSİYONLAR VE
İNFLAMASYON MARKIRLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

DOKTORA TEZİ

GÜLŞEN AKALIN

DANIŞMAN

Prof. Dr. ÖZKAN ALATAŞ

Proje no: 200811024

PDF Eraser Free

ÖZET

Hiperkolesterolemi, aterogenezin en önemli nedenlerinden birisidir. Bu dönemde, endotelial disfonksiyonu, adezyon moleküllerinin ekspresyonu, hasarlı endotele lökositlerin toplanması ve arteriyel intimaya monositlerin göçü gözlenmektedir.

Bu tez çalışmasında 60 gün süreyle özel diyetle beslenen ratlarda hiperkolesterolemi modeli oluşturularak, 21 gün süreyle rosiglitazon (1-4 mg) ve pioglitazon (3 mg) ile atorvastatin (10 mg) kombine ve ayrı ayrı tedavi amacıyla uygulandı. Sıçanlarda endotel fonksiyonları değerlendirmek amacıyla NO, ADMA, homosistein; antioksidatif ve antiinflamatuvar aktiviteyi belirlemek için, Paraoksonaz, Arilesteraz ve hsCRP; karaciğer fonksiyonlarının belirlenmesi için AST ve ALT ölçüldü.

Çalışmamızda 4 mg rosiglitazon ve 10 mg atorvastatin kombine tedavisi lipit profilini düzeltmede ve NO düzeylerini artırmada diğer mono ve kombine tedavilere göre daha başarılı bulunmuştur. HDL ve ApoA 10 mg. atorvastatin etkisi ile daha fazla yükselirken, Lp(a), ApoB düzeyleri diğer tedavi gruplarına göre daha fazla azalmıştır. ADMA düzeyleri bakımından atorvastatin ve rosiglitazon monoterapide doza bağımlı olmaksızın pioglitazondan daha başarılı bulunmuştur. Kombine tedavide ise 1 mg rosiglitazon kombine tedavisi pioglitazon ve atorvastatin kombinasyonundan daha etkili olmuştur. PON düzeylerinde ise rosiglitazon doza bağımlı olarak etki göstermiştir. hsCRP düzeyleri monoterapi ile benzer şekilde azalma göstermişlerdir. HDL antiinflamatuvar kapasitesi üzerine mono ve kombine tedaviler arasında farklılık gözlenmemiştir. Ayrıca mono tedavide atorvastatin HDL düzeyinde artış sağlayarak, rosiglitazon ve pioglitazon ise HDL düzeylerini değiştirmeden HDL'nin antioksidan kapasitesinde artışa neden olmuşlardır.

Sonuç olarak, rosiglitazon ve pioglitazon tedavilerinin dislipidemi tedavisinde kullanılan atorvastatin kadar lipit profilleri, endotel fonksiyonlar, ateroskleroz gelişmesinin önlenmesi üzerinde etkilere sahip oldukları hatta bazı durumlarda rosiglitazonun atorvastatin ile kombine halde verilmesi ile tedavi etkinliğinde mono terapiye göre daha fazla başarı sağlanabileceği gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: Hiperkolesterolemi, Rosiglitazon, Pioglitazon, Atorvastatin

SUMMARY

Hypercholesterolemia is one of the most important reason of atherogenesis. In this period endothelial dysfunction, expression of adhesion molecules, aggregation of leukocytes on to damaged endothelium, migration of monocytes in to arterial intima and inflammation are occurred.

In this study hypercholesterolemic rat model was generated with a special diet in 60 days, then rosiglitazone (1-4 mg) and pioglitazone (3 mg) and atorvastatin were administrated in combination and separately to rats. NO, ADMA, homocystein levels were measured for assessment of endothelial functions. Paraoxonase, arylesterase and hsCRP were measured assessment of antioxidative and anti-inflammatory activities. AST and ALT were measured for measuring liver functions.

In this study, 4 mg rosiglitazone and 10 mg atorvastatin combination therapy was better in improvement of lipit profiles and NO levels than other mono and combination therapies. While HDL and Apo A was higher, Lp (a) and Apo B was lower than other therapy results with 10 mg atorvastatin. Atorvastatin and rosiglitazone were better than pioglitazone in assessment of ADMA levels without depending on concentration. 1 mg and 10 mg atorvastatin combination was better than pioglitazone and atorvastatin combination. Rosiglitazone was effective on PON levels depending on concentration. hsCRP levels were similar to this result in monotherapy. Mono and combination therapies were not different on HDL-antioxidant capacity. Also, atorvastatin increased HDL levels but rosiglitazone and pioglitazone didn't, while increasing HDL's antioxidant capacity.

As a result, we showed that rosiglitazone and pioglitazone therapies have effects on improvement of lipit profiles, endothelial functions and preventing atherosclerosis progression as atorvastatin which is used in dylipidemia treatment. Also in some situations combination of rosiglitazon with atorvastatin was more succesfull on therapy efficiency than monotherapy.

Key words; Hypercholesterolemia, Rosiglitazone, Pioglitazone, Atorvastatin

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
SUMMARY.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLO DİZİNİ.....	ix
ŞEKİL DİZİNİ.....	x
GRAFİK DİZİNİ.....	xi
SİMGE VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kolesterol.....	3
2.2. Lipoproteinler.....	4
2.2.1. Lipoprotein Metabolizmasını Düzenleyen Başlıca Apolipoproteinler.....	5
2.3. Lipoprotein Yapı İşlev ve Metabolizması.....	7
2.3.1. Şilomikronlar.....	7
2.3.2. Çok Düşük Yoğunluklu Lipoproteinler (VLDL).....	7
2.3.3. Orta Yoğunluklu Lipoproteinler (IDL).....	8
2.3.4. Düşük Yoğunluklu Lipoproteinler (LDL).....	8
2.3.5. Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (HDL).....	9
2.4. Ateroskleroz.....	12
2.4.1. Tanım.....	12
2.4.2. Arter Duvarının Yapısı.....	12
2.4.2.1. Tunika intima (İç tabaka).....	12
2.4.2.2. Tunika media (Orta tabaka).....	13
2.4.2.3. Tunika adventisya (Dış tabaka).....	13
2.4.3. Aterosklerozun Patogenezi.....	13
2.4.4. Lipoprotein Birikimi ve Şekillenmesi.....	14
2.4.4.1. Yağ çizgisi oluşumu.....	14
2.4.4.2. İnflamatuvar hücrelerin adezyonu ve migrasyonu.....	14
2.4.4.3. Köpük hücre oluşumu.....	15
2.4.4.4. Fibröz plak gelişimi.....	15
2.4.4.5. Komplike lezyon gelişimi.....	16

2.4.5. Aterosklerozda Risk Faktörleri.....	16
2.4.6. Ateroskleroz ve Hiperlipidemi.....	20
2.4.7. Ateroskleroz, NO ve Vasküler Homeostaz.....	20
2.4.8. Ateroskleroz ve Asimetrik Dimetil Arjinin (ADMA).....	21
2.4.9. Ateroskleroz ve Homosistein.....	23
2.4.10. Ateroskleroz ve Paraoksonaz (PON).....	26
2.4.11. HDL Tarafından Aterosklerozun İnhibisyonu.....	27
2.4.12. Ateroskleroz ve İnflamasyon.....	28
2.4.13. Ateroskleroz ve C-Reaktif Protein.....	31
2.5. Statinler (Atorvastatin).....	32
2.6. Tiazolidindionlar.....	35
2.6.1. Peroksizom proliferatörleri ile aktive olan reseptörler.....	35
2.6.2. Pioglitazon.....	38
2.6.3. Rosiglitazon.....	39
3. YÖNTEMLER.....	41
3.1. Rutin Biyokimyasal Testler.....	44
3.1.1. Kolesterol Ölçüm Test Prensi.....	44
3.1.2. LDL Kolesterol Ölçüm Test Prensi.....	44
3.1.3. HDL Kolesterol Ölçüm Test Prensi.....	45
3.1.4. Trigliserid Ölçüm Test Prensi.....	45
3.1.5. Lp(a) Ölçüm Test Prensi.....	45
3.1.6. Apo A1 Ölçüm Test Prensi.....	45
3.1.7. Apo B Ölçüm Test Prensi.....	45
3.1.8. hsCRP Ölçüm Test Prensi.....	46
3.1.9. ALT Ölçüm Test Prensi.....	46
3.1.10. AST Ölçüm Test Prensi.....	46
3.2. HDL Antioksidan Kapasitesi Ölçümü.....	47
3.2.1. LDL partiküllerinin çöktürülmesi.....	47
3.2.2. HDL izolasyonu.....	48
3.2.3. Dikloroflorosein (DCF) ile Analizi.....	49
3.3. Nitrik Oksit (NO) Ölçümü.....	51
3.4. Asimetrik Dimetilarjinin (ADMA) Ölçümü.....	52

3.5. Homosistein.....	53
3.6. Paraoksonaz-1 (PON-1).....	54
3.7. Arilesteraz.....	55
3.8. İstatistiksel Analiz.....	55
4.BULGULAR.....	56
4.1. Lipit Profilleri.....	56
4.2. Karaciğer Fonksiyon Belirteçleri.....	66
4.3. Endotel Fonksiyon Belirteçleri.....	69
4.4. Oksidatif ve İnflamatuvar Belirteçler.....	72
4.5. HDL Kolesterolün Antioksidan Özelliği.....	75
5.TARTIŞMA.....	78
5.1. Lipit Profilleri.....	78
5.2. Karaciğer Fonksiyonları.....	88
5.3. Endotel Fonksiyonları.....	90
5.4. Oksidatif ve İnflamatuvar Belirteçler.....	96
5.5. HDL Kolesterolün Antioksidan Özelliği.....	103
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	107
7. KAYNAK DİZİNİ.....	109
8. ÖZGEÇMİŞ.....	127

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1. Ateroskleroz Gelişiminde Görülen Lezyonların Histolojik Sınıflaması.....	14
Tablo 3.1. Deney grupları ve gruplardaki sıçanların özellikleri.....	42
Tablo 4.1. Kontrol ve Hiperkolesterolemik grupların 30, 60 ve 81. gün lipit profilleri (mg/dl).....	56
Tablo 4.2. Tablo 4.2: Grupların tedavi öncesi ve tedavi sonrası T.kolesterol, Trigliserid, HDL-C ve LDL-C değerleri (mg/dl).....	58
Tablo 4.3. Grupların tedavi sonrası Apo A, Apo B ve Lp (a) değerleri (mg/dl).....	63
Tablo 4.4. Tablo 4.4: Grupların AST ve ALT değerleri (U/L).....	66
Tablo 4.5. Grupların tedavi sonrası ADMA, Homosistein ve NO değerleri (µmol/L)...	69
Tablo 4.6. Tablo 4.6: Grupların tedavi sonrası PON (U/L), Arilesteraz (U/L) ve hsCRP (mg/L) değerleri.....	72
Tablo 4.7. Gruplar arası HDL-C 'nin antioksidan özelliğinin karşılaştırılması (FU).....	76
Tablo 4.8. Gruplarda HDL'nin % olarak standart alınan 1'e göre % olarak sınıflandırılması.....	77

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Kolesterolün moleküler yapısı.....	3
Şekil 2.2. Lipoprotein yapısı.....	4
Şekil 2.3. Ters kolesterol transportu.....	11
Şekil 2.4. Tipik bir damarın duvar yapısı.....	12
Şekil 2.5. Peroksinitrit oluşumu.....	20
Şekil 2.6. ADMA'nın moleküler yapısı.....	22
Şekil 2.7. ADMA metabolizması.....	23
Şekil 2.8. Homosistein metabolizması.....	24
Şekil 2.9. Homosistein ve ADMA.....	26
Şekil 2.10. HDL fonksiyonları.....	28
Şekil 2.11. Monositlerin subendotel alana geçişi.....	30
Şekil 2.12. Atorvastatin'in kimyasal yapısı.....	32
Şekil 2.13. HMGCoA redüktaz ve statin bağlanması.....	33
Şekil 2.14. Statinlerin etki mekanizması.....	34
Şekil 2.15. Tiazolidindionların etki mekanizması.....	36
Şekil 2.16. Pioglitazon'un kimyasal yapısı.....	39
Şekil 2.17. Rosiglitazonun kimyasal yapısı.....	40
Şekil 3.1. Diklorofloressein Diasetatin oksidasyonu.....	50
Şekil 3.2. ADMA kromatogramı.....	53
Şekil 3.3. Homosistein kromatogramı.....	54

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 4.1. Grupların tedavi öncesi ve tedavi sonrası Total Kolesterol değerleri.....	59
Grafik 4.2. Grupların tedavi öncesi ve tedavi sonrası Trigliserid değerleri.....	60
Grafik 4.3. Grupların tedavi öncesi ve tedavi sonrası HDL değerleri.....	61
Grafik 4.4. Grafik 4.4: Grupların tedavi öncesi ve tedavi sonrası LDL değerleri.....	62
Grafik 4.5. Grafik 4.5: Grupların tedavi sonrası Apo A değerleri.....	64
Grafik 4.6. Grupların tedavi sonrası ApoB değerleri.....	64
Grafik 4.7. Grupların tedavi sonrası Lp (a) değerleri.....	65
Grafik 4.8. Grupların tedavi sonrası AST değerleri.....	67
Grafik 4.9. Grupların tedavi sonrası AST değerleri.....	68
Grafik 4.10. Grupların tedavi sonrası ADMA değerleri.....	70
Grafik 4.11. Grupların tedavi sonrası homosistein değerleri.....	71
Grafik 4.12. Grupların tedavi sonrası NO değerleri.....	71
Grafik 4.13. Grupların tedavi sonrası PON değerleri.....	73
Grafik 4.14. Grupların tedavi sonrası Arilesteraz değerleri.....	74
Grafik 4.15. Grupların tedavi sonrası hsCRP değerleri.....	74
Grafik 4.16. Kontrol ve hiperkolesterolemik gruba göre mono ve kombine terapilerin HDL'nin antioksidan skoru üzerine etkileri (HDL Skor \leq 1 Antioksidan HDL, HDL Skor $>$ 1 Prooksidan HDL).....	75

SİMGE VE KISALTMALAR

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
A°	: Armstrong
ADMA	: Asimetrik Dimetil Arjinin
ADP	: Adenozin Difosfat
AGE	: Glikasyon ürünleri
ALT	: Alanin Amino Transferaz
ARE	: Arilesteraz
AST	: Aspartat Amino Transferaz
BHMT	: Betain Homosistein Metil Transferaz
Ca	: Kalsiyum
CBS	: Sistasyonin B sentetaz
CETP	: Kolesterol Ester Transfer Protein
cGMP	: Siklik Guanozin Monofosfat
CRP	: C-Reaktif Protein
d	: Dansite (yoğunluk)
DCF	: Diklorofluoresin
DCF-DA	: Diklorofluoresin Diasetat
DDAH	: Dimetilaminohidrolaz
DKB	: Diastolik Kan Basıncı
dl	: Desilitre
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
EH	: Endotel Hücresi
EPH	: Endotel Progenitör Hücreler
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
FU	: Floresans Ünite

GABA	:	Gama Amino Bütirik Asit
HCl	:	Hidroklorik Asit
Hcy	:	Homosistein
HDL	:	Yüksek Dansiteli Lipoprotein
HII	:	HDL İnflamatuvar İndeksi
HL	:	Hepatik Lipaz
HPLC	:	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
hsCRP	:	Yüksek Hassasiyetli C-Reaktif Protein
ICAM-1	:	İnterselüler Adezyon Molekül -1
IDL	:	Ara Dansteli Lipoprotein
IL	:	İnterlökin
kDa	:	Kilo Dalton
KKH	:	Koroner Kalp Hastalığı
LCAT	:	Lesitin Kolesterol Açıltransferaz
LDL	:	Düşük Dansiteli Lipoprotein
Lp(a)	:	Lipoprotein(a)
LPL	:	Lipoprotein Lipaz
MCP-1	:	Monosit Kemotaktik Protein-1
Mg	:	Magnezyum
µg	:	Mikrogram
MI	:	Miyokard İnfarktüsü
ml	:	Mililitre
Mn	:	Mangan
MS	:	Metiyonin Sentetaz
MTHFR	:	Metilen Tetra Hidro Folat Redüktaz
NaCl	:	Sodyum Klorür
NaOH	:	Sodyum Hidroksit
nm	:	Nanometre
NO	:	Nitrik Oksit
NO ₂	:	Azot Dioksit
oxLDL	:	Okside LDL
PAF	:	Trombosit Aktive Edici Faktör

PDF Eraser Free

PAM	:	Pulmoner Alveoler Makrofaj
PDGF	:	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PON	:	Paraoksonaz
PPAR	:	Peroksizom Proliferatör-Aktive Reseptör
PRMT	:	Protein Arjinin Metil transferaz
RAGE	:	Spesifik reseptörlerine bağlandığı zaman
ROS	:	Reaktif Oksijen Türleri
SAA	:	Serum Amiloid A
SAH	:	S-adenozil homosistein
SAM	:	S-adenozil metiyonin
SKB	:	Sistolik Kan Basıncı
TG	:	Trigliserid
TGF- α	:	Transforme Edici Büyüme Faktörü- α
TZD	:	Tizaolidinedion
VCAM-1	:	Vasküler Hücre Adezyon Molekül-1
VLDL	:	Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Son birkaç yılda ateroskleroz patogenezinin anlaşılmasında bir evrim yaşanmıştır. Yıllarca kolesterol ve LDL konsantrasyonu gelecekteki kardiyovasküler olaylar için risk belirteci olmuştur. Bu epidemiyolojik ilişki kolesterol trafiği, lipoproteinler ve kolesterol metabolizması düzenlenmesinin moleküler ve hücrel mekanizmalarının detaylı araştırılmasına neden olmuştur.

Hiperkolesterolemi, aterogenezin en önemli nedeni olarak düşünülebilir. Ancak, son yıllarda yapılan çalışmalarla, hiperkolesteroleminin ateroskleraza neden olan birkaç risk faktöründen sadece birisi olduğu tanımlanmıştır. Çeşitli risk faktörlerinden kaynaklanan inflamasyonun aterojenezin en önemli nedeni olduğu gösterilmiştir (3).

Ateroskleroz, LDL'nin makrofajların köpük hücrelerine dönüşmesi ve arteriyal intimada modifiye LDL'nin köpük hücrelerine alınmasıyla başlamaktadır. İntima'daki köpük hücrelerinin oluşmasından önceki periyod endotelial disfonksiyon için erken riski göstermektedir (72). Bu dönemde, inflamasyonla ilgili çeşitli erken olaylar belirlenmiştir. Bu olaylar, endotel disfonksiyonu, adezyon moleküllerinin ekspresyonu, hasarlı endotele lökositlerin toplanması ve arteriyal intimaya monositlerin migrasyonu olarak sıralanabilir. Son yıllarda yapılan çalışmalar , hiperkolesteroleminin neden olduğu endotel disfonksiyonunun yanısıra dislipidemi, hiperglisemi gibi metabolik bozuklukların ve hiperhomosisteineminin de bu süreçte rol aldığını göstermiştir (3,72). Ayrıca bu çalışmalar, LDL-kolesterol ve kolesterolü düşürmenin faydasının koroner kalp hastalığı (CHD) riskinin azalması ile ilişkili olduğunu göstermiştir. HMG-CoA redüktaz inhibitörleri (statinler) ile tedavi kolesterol düzeylerinin azaltılmasında kullanılan en önemli stratejilerdendir. Böylelikle ateroskleroz gelişimi engellenecek ve CHD insidansı azalacaklardır. Ayrıca statinler kolesterol düşürücü etkilerinin yanında endotel gevşemesi ile antihipertansif etki ve kalp fonksiyonları üzerine de yararlı etkilere sahiptirler.

Tiazolidindionlar ise, nükleer reseptör süper ailesinin bir üyesi olan peroksizom proliferatör-aktive reseptör gama (PPAR- γ) için sentetik ligandlardır ve Tip II diyabet

tedavisinde kullanılmaktadırlar. Ayrıca rosiglitazon bu sınıftaki en potent ve selektif ajandır ve reseptörlere diğerlerinden daha fazla afinite ile bağlanmaktadır. Rosiglitazonun glukoz homeostazı, hücrel farklılaşma, lipit düzenlenmesi ve ateroskleroz, inflamasyon, kanser, infertilite ve demiyelinizasyon üzerine yararlı etkileri olduğu bildirilmektedir (74, 164).

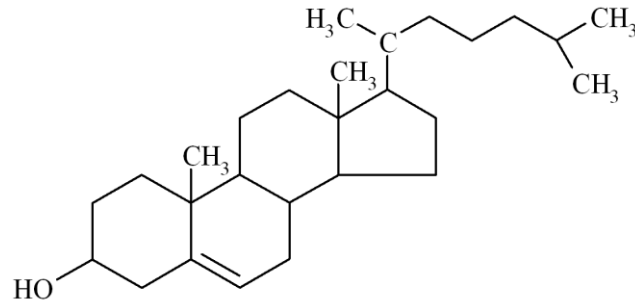
Çalışmamızda kullanılan rosiglitazon ve pioglitazon Tip II diyabetli hastalarda tedavi amacıyla kullanılan PPAR- γ agonisti tiazolidindion türevi ilaçlardır. Etkilerini gösterdikleri PPAR- γ reseptörleri kardiyovasküler sistemde oldukça yaygın bulunmakta; doku inflamasyonu, reaktif oksijen türlerinin üretimi, düz kas hücre büyümesi, lipoprotein metabolizması ve koagülasyon kaskadında rol almaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda PPAR- γ ligandlarının iskemi reperfüzyon sonrası miyokard hasarını azalttığı da gözlenmiştir (74). Diğer taraftan, statinler HMG- CoA redüktaz inhibitörü olarak aterojenik risk faktörü olan hiperkolesterolemide kolesterol düşürücü olarak değerlendirilmektedirler. Literatürlerde statinlerle yapılan monoterapinin hiperkolesterolemik hastalarda, CHD gelişme riskini kombine tedavilere göre daha az azalttığı kaydedilmiştir (55). Bu tez çalışmasında hem hayvan modelleri hem de insanlar üzerinde hala çalışılan, netlik sağlanmamış bir konu olan PPAR- γ agonisti tiazolidindionlar ile statin türevi olan atorvastatinin kombine ve monoterapide kullanımlarının hiperkolesterolemi tedavisinde endotel fonksiyonları, ateroskleroz gelişmesi, aterosklerotik risk faktörleri ve inflamasyon açısından etkinliklerinin değerlendirilerek karşılaştırılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.KOLESTEROL:

Kolesterol, hayvan dokularının karakteristik steroid alkolüdür. Dokularda ve plazmada lipoproteinlerin içerisinde serbest kolesterol veya uzun zincirli yağ asiti ile birleşmiş olarak, kolesteril esteri halinde bulunur. Birçok dokuda asetil-KoA'dan sentezlenir ve sonunda, safrada, kolesterol veya safra tuzları halinde atılır. Kolesterol; tüm hücre membranlarının yapısal bir bileşenidir ve membranların akışkanlığını düzenler, aynı zamanda kortikosteroidler, cinsiyet hormonları, safra asitleri ve D vitamini gibi diğer tüm steroidlerin öncüsüdür (112).

Kolesterol polar özelliğe sahip bir baş ve apolar hidrokarbon gövdeden oluşan bir lipiddir. Bu özelliğinden dolayı zarların ve plazma lipoproteinlerinin dış yüzeyinin vazgeçilmez bir yapı taşıdır. Polar baştaki 3. karbondaki –OH grubu ve 5-6. karbonları arasındaki çift bağ, reaktif kısımlardır. Ayrıca 10. ve 13. karbonlarında –CH₃ grubu, 17. karbonunda ise 8 karbonlu alifatik yan zincir bulunur. Esansiyel yağ asitleri ile esterleşen grup 3. karbonundaki –OH'dür. Bu esterleşmeyi sağlayan enzim ise lesitin kolesterol açıltransferaz (LCAT)'dır (Şekil 2.1) (71).



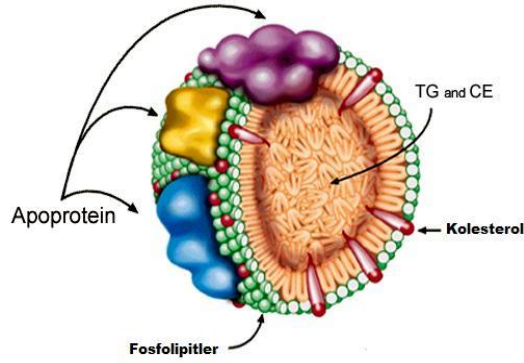
Şekil 2.1. Kolesterolün moleküler yapısı

(www.forum.canardpc.com/showthread.php?t=507&page=331)

2.2. LİPOPROTEİNLER:

Lipoproteinlerin genel işlevi, suda çözünmeyen lipidlerin, çözünür lipid ve protein kompleksi şeklinde kanda taşınmalarını sağlamaktır. Lipidler, trigliserid, kolesterol esterleri, serbest kolesterol ve fosfolipidleri içerirler. Apolipoprotein denilen yaklaşık on değişik protein partikülü çeşitli lipoproteinlerle ilişkilidir ve harflerle 'A', 'B', 'C' vb. adlandırılırlar. Lipoproteinler ayrıca yağda eriyen vitaminler (A, D ve E), ilaçlar (probukol, siklosporin vb.), bazı virüsler ve bazı antioksidan enzimleri (paraoksonaz, trombosit kökenli aktive edici faktör hidrolaz) gibi birçok maddeyi taşırlar (86, 112).

Lipoproteinler, çekirdeklerinde hidrofobik lipidler (trigliserid ve kolesterol esterleri) içeren, protein yüzey tabakalarında ise serbest kolesterol ve fosfolipidler (daha hidrofilik yapı taşları) taşıyan küresel parçacıklardır (Şekil 2.2). Altı majör lipoprotein sınıfı lipid taşınmasında farklı roller oynarlar. Yüzeydeki özgün apolipoproteinler farklı lipoproteinlerin kaderini belirler. Bu nedenle, lipoprotein metabolizması ve lipid anormallikleri ile ilgili hastalıkların anlaşılması için, lipid metabolizmasını düzenleyen her bir apolipoproteinin rolünü incelemek gerekir (86,112).



Şekil 2.2. Lipoprotein yapısı

(www.peprotech.com/content/focusarticles.htm?id=75)

2.2.1.Lipoprotein Metabolizmasını Düzenleyen Başlıca Apolipoproteinler:

Apoprotein A-I (ApoAI): İnsan barsağında ve karaciğerde yapılır ve şilomikronlar ile HDL'nin içeriğinde yer alır. HDL'deki yapısal protein rolüne ek olarak, ApoAI, HDL partikülleri üzerindeki serbest kolesterolü esterleştiren lesitin: kolesterol açiltransferazı (LCAT) aktive edebilir. Fosfolipid bağlanmasında aktif olan ApoAI, LCAT substratı olan fosfatidilkolin ile etkileşimi kolaylaştırır.

ApoAI ilişkili parçacıklar, HDL ile veya fosfolipidden zengin bir HDL ön maddesi (prebeta HDL) ile hücrelerden salınan kolesterol için mükemmel bir alıcı işlevi görürler. HDL'ye kolesterol girişi "ters kolesterol transport" yolunun bir kısmını temsil eder (37).

LDL kolesterol düzeyi özellikle diyabetik ve metabolik sendromlu hastalarda kardiyovasküler risk göstergesi olarak her zaman iyi bir gösterge olmayabilir. Plazmadaki apolipoprotein B düzeyi ve apolipoprotein B/A oranı tüm aterojenik lipoproteinlerin göstergesi olması nedeniyle kardiyovasküler risk değerlendirmesinde önem kazanmaktadır. Son yıllarda yapılan birçok çalışmada apolipoprotein B düzeyinin ve apolipoprotein B/A oranının artışı ile apolipoprotein A düzeyinin azalmasının kardiyovasküler risk artışının iyi birer göstergesi olduğu bildirilmiştir.

Apoprotein A-II (ApoAII): ApoAII başlıca karaciğerde yapılır. LpAI/AII partikülleri olarak anılan HDL alt grupları üzerinde ApoAI ile birlikte bulunur. ApoAII'nin hepatik lipaz aktivasyonu ve LCAT inhibisyonunda rol oynadığı ileri sürülmektedir. Fakat kesin metabolik rolü bilinmemektedir (112).

Apoprotein B (ApoB): ApoB, LDL'nin içerdiği proteinin %95'ini, VLDL ve şilomikronların protein içeriğinin %40'ını oluştururlar. Apoprotein B; B48 ve B100 olmak üzere iki alt sınıfa ayrılabilir. Apo B100 karaciğerde sentezlenir ve VLDL için yapısal bir protein olarak işlev görür, IDL ve VLDL'nin başlıca proteindir. Ayrıca ApoB100, LDL reseptörü için bir ligand olarak görev yapar. ApoB48 ince bağırsaktan

salınır ve şilomikronların yapısal bileşenidir. Her şilomikron bir ApoB48 molekülünü içermektedir (71, 63).

Apoprotein C (ApoC): C apolipoproteinler, farklı lipoproteinler arasında alınıp verilen bir grup düşük molekül ağırlıklı proteinlerdir ve başlıca karaciğer tarafından sentez edilirler. HDL, C apolipoproteinler için bir rezervuar işlevi görür; trigliseridden zengin lipoproteinler ise alıcı işlevi görürler. C apolipoproteinler trigliserid metabolizmasını düzenleyerek ve trigliserid ile HDL kolesterol arasında iyi bilinen ters orantıyı etkilerler. ApoCI, trigliseridden zengin lipoprotein (şilomikron artıkları, VLDL, IDL) alımını düzenler. ApoCII lipoprotein lipaz (LPL) için bir kofaktördür. ApoCII mutasyonları LPL'nin işlevlerini engeller ve ciddi hipertrigliseridemiye yol açar (112, 63).

Apoprotein D (ApoD): Molekül ağırlığı 22 kDa olan lipokalin türünde bir proteindir. Progesteron bağlanma özelliği vardır. HDL'nin yapısında bulunan bu proteinin lipoprotein metabolizmasında oynadığı rol bilinmemektedir.

Apoprotein E (ApoE): VLDL, IDL, kalıntı lipoproteinlerde, şilomikronlarda ve HDL'de bulunmaktadır. Arjinince zengindir.

HDL, şilomikronlar ve VLDL öncülerine aktarmak üzere ApoE'nin kaynağını oluşturur. ApoE fosfolipidler veya HDL ile kompleks yapmış halde lenf sıvısı ve interstisyel sıvıda da bulunur (86).

Plazma Apo E'sinin %75'i karaciğerde hepatositlerce üretilir, geri kalan %25'i ise çeşitli dokular tarafından sentezlenir. Makrofajlar, özellikle de kolesterol ile yüklüken Apo E sentezleyip salgılayabilirler. ApoE mRNA düzeyleri en yüksek dokular sırasıyla karaciğer ve beyindir. ApoE santral ve periferik sinir sistemine kolesterol taşınmasından da sorumludur (71).

Diğer apoproteinler: Apo(a) karaciğerde sentezlenen bir apolipoproteindir. Lp(a)'nın yapısındaki ApoB-100'e en az bir disülfid bağı ile bağlanmış olarak bulunur.

ApoF, ApoH, ApoJ, ApoL ve ApoM çeşitli lipoproteinlerden izole edilen fakat lipoprotein metabolizmasındaki rolü tam olarak belirlenmemiş apoproteinlerdir.

2.3. LİPOPROTEİN YAPI, İŞLEV ve METABOLİZMASI:

2.3.1. Şilomikronlar : Şilomikronlar ($d < 0,95$ g/ml) plazma lipoproteinlerinin en büyükleridir (> 1000 Å çapta). %98-99 oranında lipid ve %1-2 proteinden oluşurlar. Yemek sonrası plazmada bulunurlar ve plazmada dolaşırken birkaç apolipoprotein (apoB48, apoE, apoC) içerirler. ApoB48, ince barsağın (duodenum ve proksimal jejunum) epitel hücreleri tarafından yapılır. Trigliseridler, intestinal epitel hücreleri tarafından alınan serbest yağ asitleri ve monogliseridlerden intestinal hücrelerin apikal bölgesindeki düz endoplazmik retikulumda sentezlenirler. Trigliseridlerle beraber hem fosfolipidler hem de kolesterol büyük şilomikron partiküllerinin yapımında kullanılırlar. Şilomikronlar bazı lipoproteinlerin son karbonhidrat işleminin yapıldığı Golgi organellerinde birikirler ve intestinal hücrelerin lateral kenarı boyunca salınırlar. Epitelyum hücresinde oluşan şilomikronlar, ekzositozla lenf dolaşımına ve oradan duktus torasikus yolu ile kana aktarılırlar. Genel dolaşıma giren öncü şilomikronlar lenf ve kan dolaşımında HDL'den aktarılan ApoCII, ApoCIII ve ApoE apolipoproteinlerini alarak olgun şilomikron haline dönerler (86). Dolaşımdaki şilomikronlar lipoprotein lipaz (LPL) etkisiyle trigliseridden fakir, kolesterolden zengin şilomikron artıklarına dönüşürler. Serbest yağ asitleri trigliserid olarak depolanmak, enerji kaynağı olarak oksitlenmek veya yeniden karaciğerde lipoprotein yapısındaki trigliserid yapımında kullanılmak üzere çeşitli dokular tarafından alınır. Hepatik lipaz (HL) başlıca fosfolipaz gibi ve ikincil olarak da bir gliserid hidrolaz gibi hareket eder, ayrıca şilomikron artıklarının hepatositler tarafından alınmasının son aşamasında da rol oynar. Şilomikron artıkları plazmadan karaciğer parankim hücreleri tarafından kısa sürede temizlenir (37).

2.3.2. Çok Düşük Yoğunluklu Lipoproteinler (VLDL) : Yoğunluğu $d < 1,006$ g/ml, %85-90 arasında lipid (%55 trigliserid, %20 kolesterol, %15 fosfolipid) ve %10-15 protein içerir. Başlıca apolipoproteini ApoB100'dür, ApoE ve ApoC de içerir. VLDL elektroforezde pre- β veya α_2 bandında görünür. VLDL karaciğerde yapılır ve üretimi hepatositlere yağ asidi sağlanmasıyla uyarılır.

Karaciğere artmış yağ asidi girişi yağlı diyetle veya çeşitli metabolik durumlarda (örn. Diyabet) ya da açlığa ikincil olarak yağ asitlerinin adipoz dokudan salınımına bağlı olarak ortaya çıkar. VLDL yapımında kullanılacak trigliserid ve fosfolipidlerin yapımı kaba ve düz endoplazmik retikulumda olur. VLDL kolesterolü de novo sentez edilir ya da lipoprotein yıkımından elde edilir. VLDL partikülleri Disse Aralığına salınır, oradan da dolaşıma geçerler. VLDL plazmada HDL'den ek ApoCler ve ApoE alır.

VLDL trigliseridleri LPL ve daha az oranda HL etkisiyle hidrolize edilirler. VLDL, giderek kolesterolden zengin hale gelen ve küçülen partiküllere dönüşür. VLDL dolaşımdaki LDL'nin öncüsüdür (37, 71, 112)

2.3.3. Orta Yoğunluklu Lipoproteinler (IDL): 1,006-1,019 g/ml dansiteye sahip IDL, normal olarak plazmada çok düşük konsantrasyonlarda bulunur ve büyüklük ve içerik açısından VLDL ve IDL arasında yer alır. Başlıca apolipoproteinleri ApoB100 ve ApoE'dir. VLDL'nin katabolizma ürünü, LDL'nin öncüsüdür. LDL reseptörü ile uzaklaştırılır. Sıklıkla bir tip VLDL artığı olduğuna ve aterojenik olduğuna inanılır (112).

2.3.4. Düşük Yoğunluklu Lipoproteinler (LDL) : 1,019-1,063 g/ml dansiteli LDL plazmada başlıca kolesterol taşıyıcı lipoproteindir; total plazma kolesterolünün yaklaşık %70'i LDL'dedir. LDL yaklaşık %75 lipid (%35 kolesterol esteri, %10 serbest kolesterol, %10 trigliserid ve %20 fosfolipid) ve %25 proteinden oluşur. ApoB100 eser miktardaki ApoE dışında gerçekte bu partiküllerde bulunan yegane proteindir. LDL elektroforezde β bandında görünür. Yaklaşık %75 LDL alımı, hepatositlerce sağlanır. Birçok diğer doku daha küçük miktarlarda LDL alırlar. Alımın yaklaşık 2/3'ü LDL reseptörü aracılığıyla gerçekleştirilir, geri kalan ise iyi açıklanamamış reseptör dışı yolla olur. LDL'nin aterojenik olduğu bilinmektedir (146).

Bütün hücreler yeniden (de novo) kolesterol sentez edebilir. Bununla beraber, LDL-kolesterol birçok hücrede kolesterol kaynağı olarak kullanılır. Karaciğer aldığı kolesterolü membran biyosentezi için, VLDL biyosentezi için, safra asidi yapımı için

kullanabilir. Adrenal bez, overler ve testisler hormon sentezinde, diğer dokular ise hücre onarımı ve çoğalmasında kullanırlar (37, 112).

2.3.5. Yüksek Yoğunluklu Lipoproteinler (HDL): HDL, 1,063-1,21 g/ml dansiteli çapı küçük partiküllerdir. Başlıca iki gruba ayrılabilir: HDL-2 (d= 1,063-1,125g/ml) ve HDL-3 (d= 1,125-1,21 g/ml). Yaklaşık %50 lipid (%25 fosfolipid, %15 kolesterol esterleri, %5 serbest kolesterol, %5 trigliserid) ve %50 proteinden oluşur. Başlıca ApoAI (%65), ApoAII (%25) ve az miktarda ApoE ve C içerir. ApoE HDL alt grubunun (HDL-1) küçük bir komponentidir, fakat plazma ApoE'nin yaklaşık %50'si HDL'de bulunur. HDL'nin başlıca sınıfları ApoE içermez ve böylece LDL reseptörü ile etkileşmez. HDL plazmaya girdiklerinde diğer lipoproteinlere dağıtılmak üzere ApoE ve ApoC için bir rezervuar işlevi görür. HDL alt grupları sadece ApoAI veya ApoAI/II içerebilir. Bir sınıf olarak HDL α -elektroforetik mobilite gösterir (101).

HDL 3 ana kaynaktan gelişir. Birincisi karaciğer yeni 'HDL' denen bir ApoAI fosfolipid salgılar, ikincisi, barsak direkt olarak küçük bir ApoAI içeren 'HDL' partikülü sentez eder ve üçüncü olarak, lipoliz sırasında VLDL ve şilomikronlardan gelen yüzey materyalinden (başlıca ApoAI ve fosfolipid) 'HDL' sağlanır. Şilomikron ve VLDL LPL tarafından etkilenip trigliseridden zengin çekirdek hidroliz edilince fazlalık yüzey materyali küçük HDL disklerini oluşturur.

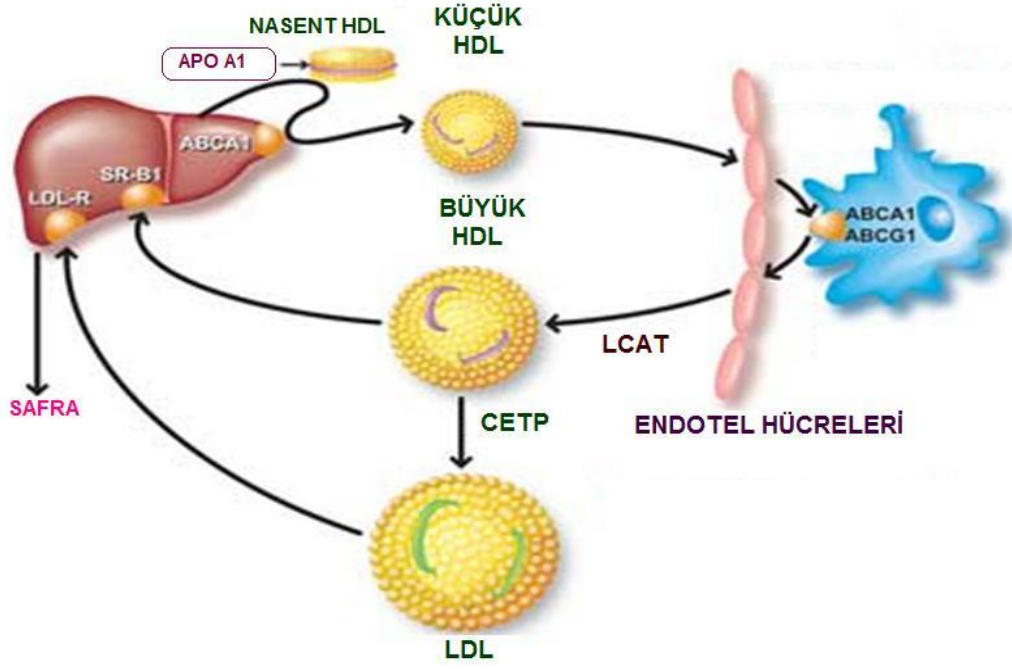
Yeni sentezlenmiş veya plazma öncül HDL partikülleri ApoAI fosfolipid diskleri halinde bulunur. Diğer lipoproteinlerden veya aşırı kolesterolü olan hücre zarlarından mükemmel serbest kolesterol alıcılarıdır. Bu diskler tarafında sınırlı bir miktar serbest kolesterol tutulabilir. Bununla beraber, kolesterolün uzun bir yağ asidi zinciri ile esterifikasyonu hidrofilliğini önemli ölçüde azaltır ve yeni oluşmuş kolesterol ester disk yüzeyinden uzaklaşarak kolesterol esterden zengin bir çekirdek oluşturur ve diski bir küreye çevirir. Plazma serbest kolesterolünü ester formuna dönüştürmekten sorumlu enzim LCAT (Lesitin Kolesterol Açıl Transferaz)'tır (Şekil 2.3).

Küçük küresel olgun HDL (HDL3) ayrıca serbest kolesterol için alıcı işlevi görür ve daha fazla serbest kolesterol alınıp esterleştirildiğinde, partiküllerin hacmi artar ve HDL2 oluşturulur. HDL2 kolesterol esterden daha zengin hale getirilebilir ve aynı zamanda ApoE tutabilir. ApoE içeren HDL (HDL1) HDL'nin minör fakat metabolik olarak aktif bir alt grubudur. ApoE varlığı ApoE HDL'i LDL reseptörüne yönlendirir. Tipik apoE içermeyen HDL, LDL reseptörü ile etkileşmez. HDL1 birçok alttürde ve bazı genetik bozukluğu olan insanlarda majör bir HDL sınıfını temsil eder.

HDL iki farklı mekanizma ile hücrelerden kolesterol sağlar: Hücrelerden sulu transfer; serbest kolesterol hücreden HDL partikülüne doğru bir fizikokimyasal konsantrasyon gradyanı izler, bu olaya pasif desorpsiyon denir. Hücre yüzey bağlayıcı protein ile kolaylaştırılmış transport; HDL hücre zarına bağlanır, bu olay özellikle kolesterol içeriği artmış hücreler için geçerlidir (186).

HDL lipidlerin lipoproteinler ve hücreler arasında dağılımını sağlar. Ters yönlü kolesterol transportu adı verilen bir olayda yer alırlar (Şekil 2.3). HDL hücrelerden kolesterolü alır ve atılım için karaciğere veya kolesterole ihtiyacı olan hücelere aktarır. HDL3, HDL2'e çevrilir ve sonra da HDL1'e gider.

CETP (Kolesterol Ester Transfer Protein) VLDL, IDL ve şilomikron artıklarına kolesterol esteri taşır. Böylece kolesterol VLDL ve şilomikron artıkları yoluyla karaciğere iletilir. CETP etkisiyle aynı zamanda HDL2'e trigliserid taşınır. CETP yolu HDL'den karaciğere kolesterol taşınmasında başlıca yoldur. HL, HDL2 trigliseridlerini hidroliz ederek HDL2'i HDL3'e çevirir. Böylece HDL2-3 döngüsü devam eder. Bir miktar HDL de karaciğer tarafından alınarak yıkıma uğratılır (21,112).



Şekil 2.3. Ters kolesterol transportu

(www.aacc.org/.../2007/dec/Pages/series_1207.aspx)

2.4.ATEROSKLEROZ:

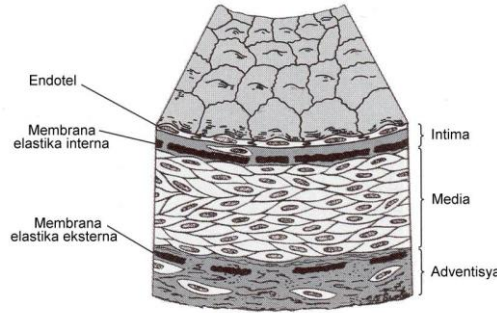
2.4.1. Tanım:

Ateroskleroz, hücresel ve humoral immun cevabın katıldığı orta büyüklükte ve daha büyük arterlerin kalınlaşması ve sertleşmesi sonucu damar lümeninin aterosklerotik plaklarla daralması ile oluşan inflamatuvar bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (143).

Aterogenezis cocukluk ve ergenlik döneminde yavaş bir ilerleme gösterirken; erişkin yaşamda ise daha hızlı bir progresyona ulaşarak yüksek morbiditeye ve ölümcül olabilen klinik durumlara yol açar (23). Erken başlayan değişikliklerden aterom plağına kadar, genetik ve çevresel faktörler, oksidize olmuş LDL'nin (ox-LDL) lokal ve sistemik düzeyleri, inflamatuvar kemokinler, vasküler adezyon molekülleri, serbest radikaller, inflamatuvar hücreler, endotele ait diğer faktörler (NO, ADMA) ve büyüme faktörleri sorumlu görünmektedir (53).

2.4.2. Arter Duvarının Yapısı:

Arter duvarı genel olarak üç tabakadan oluşmaktadır (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Tipik bir damarın duvar yapısı (143)

2.4.2.1. Tunika intima (İç tabaka): İçte endotel hücre dizisi, bunun altında bazal lamina ve gevşek bir fibroelastik bağ dokusundan oluşan subendotelial tabakadan meydana gelir. Subendotelial tabakanın dış kısmında elastik fibrillerin yoğunlaşması ile

membrana elastika interna meydana gelir. Subendotelial tabakada arasıra kontraktilete kapasitesini kaybetmiş modifiye düz kas hücreleri de görülür (Şekil 2.4) (151).

2.4.2.2. Tunika media (Orta tabaka): Arter duvarının en geniş tabakasıdır. Esas olarak sirküler düzenlenmiş düz kas hücrelerinden meydana gelir. Hücreler arasında dağılmış elastik ve kollajen fibriller ile proteoglikanlar bulunur. Ekstrasellüler matriks düz kas hücrelerince oluşturulur. Bu tabaka arterlerde iyi gelişmiştir (Şekil 2.4) (151).

2.4.2.3. Tunika adventisya: (Dış tabaka): Daha çok uzunlamasına düzenlenmiş kollajen ve elastik fibrillerden oluşan bir bağ dokusu yapısıdır. İç kısmı fibrözdür ve ön planda kollajen ve elastinden oluşur. Adventisya liflere ek olarak fibroblastlar, mast hücreleri, adipositler ve sempatik sinir uçlarını içerir (Şekil 2.4) (151).

2.4.3. Aterosklerozun Patogenezi:

Aterosklerozun gelişiminde üç evre vardır (22):

1. Yağlı çizgi gelişimi
2. Fibröz plak gelişimi
3. Komplike lezyon gelişimi

Ateroskleroz patogenezinde üç plak tipi aterosklerozun değişik safhalarını yansıtır ve sıra ile yağlı çizgilenmelerden fibröz plaklara ve sonuçta komplike lezyonlara değişim sözkonusudur. Yağlı çizgilenmelerin sadece belli bir kısmının daha ileri lezyonlara dönüşme riski vardır. Damar duvarında adaptif intima kalınlaşması gibi fizyolojik değişikliklerin rolünü de dikkate alan histopatolojik sınıflandırma; morfolojik değişikliklerin ve klinik sonuçların daha anlaşılır olmasını sağlamaktadır (Tablo 2.1). Amerikan Kalp Birliği Damar Lezyonları Komitesi lezyonun ilerleme sürecini sekiz değişik safhaya ayıran histolojik sınıflama öne sürmüştür (158).

Tablo 2.1 Ateroskleroz Gelişiminde Görülen Lezyonların Histolojik Sınıflaması

Histolojik Sınıflama		Çıplak Gözle Görünüm
Tip I lezyon	Erken lezyon	Yağlı Çizgi
Tip IIa lezyon	Progresyon eğilimli erken lezyon	
Tip IIb lezyon	Progresyon dirençli erken lezyon	
Tip III lezyon	Preaterom	Intermediate lezyon
Tip IV lezyon	Aterom	Fibröz Plak
Tip V lezyon	Fibroaterom	
Tip VI lezyon	Hemorajik/Trombotik	Komplike lezyon
Tip VII lezyon	Kalsifik Lezyon	Kalsifiye plak
Tip VIII lezyon	Fibrotik Lezyon	Fibröz plak

2.4.4. Lipoprotein Birikimi ve Şekillenmesi

2.4.4.1. Yağ çizgisi oluşumu: Çocukluk döneminde görülmeye başlarlar. Patolojik olarak kolesterol esterleri çevresindeki düz kas hücresi topluluklarından ibarettirler. Tıkanmaya yol açmazlar ve semptom vermezler. Bu lezyonlar kendiliğinden kaybolabilir veya aterom plaklarına dönüşebilir. İntima içindeki boşlukta bulunan lipoproteinlerin modifikasyonunda lipoproteinlerdeki lipid ve protein partiküllerinin her ikisi de oksidatif modifikasyona katılabilmektedir. Hidroperoksidazlar, lizofosfolipidler, oksiteroller ve yağ asitlerinin yıkım ürünleri lipidlerin modifikasyon ürünleri içerirken apoprotein partiküllerinin modifikasyonu aminoasit artıklarının türevi gibi peptid yapısının parçalanmış kısımlarını içermektedir. Lizinin amino grubu okside lipidler ile temas içindedir. İnflamatuvar hücrelerde üretilen ürünler lipidlerin modifikasyonunda rol oynarlar. Ayrıca diyabetik hastalarda glikozilasyona uğramış proteinler zamanla denatüre olarak glikozile son ürünler oluşmaktadır. Bu durum apolipoproteinler ve diğer arter proteinlerinin fonksiyonlarını değiştirerek aterogenezi hızlandırmaktadır (72, 114).

2.4.4.2. İnflamatuvar hücrelerin adezyonu ve migrasyonu: Normal şartlarda endotel hücreleri (EH) lökosit adezyonuna karşı dirençlidir. Proinflamatuvar uyarı, satüre yağlardan yüksek olan bir diyet, hiperkolesterolemi, obezite, hiperglisemi, insulin

direnci, hipertansiyon ve sigara içimi, P-selektin ve vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM-1), interselüler adezyon molekülü (ICAM-1) gibi adezyon moleküllerinin endotelial ekspresyonlarını artırmaktadır (47). Bu nedenle dolaşımdaki monosit ve T lenfositlerin bağlanmasına aracılık etmektedir (23). Aterosklerozda özellikle bifurkasyon bölgelerinde kan akımı bozulur ve NO gibi endotelial ateroprotektif moleküllerin aktivitesi azalırken VCAM-1 ekspresyonu artmaktadır.

Ayrıca modifiye lipoproteinler damar duvarı hücrelerinden monosit kemotaktik protein-1 gibi kemotaktik sitokinlerin üretimini ve adezyon moleküllerinin salgılanmasını etkileyerek lökosit girişini düzenler. İnterlökin 1 (IL-1) ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) endotelial hücrelerden VCAM-1 ve ICAM-1 salgılanmasını arttırmaktadır (47).

2.4.4.3. Köpük hücre oluşumu: Makrofajlar köpük hücrelerin oluşmasında önemli bir rol oynamaktadır. Bu hücreler modifiye LDL'yi hücre içine alarak ateroskleroz için karakteristik olan köpük hücrelerini oluştururlar. Mononükleer fagositlerin köpük hücrelerine dönüşebilmesi için endositoz reseptör aracılığı ile lipoproteinlerin hücre içine alınması gereklidir. Hücre içine alınan esterifiye kolesterol lizozomlarda yıkıldıktan sonra sitoplazmaya kaçan serbest kolesterol tekrar esterifiye edilerek hücre içinde damlacık oluşturur (72). Okside LDL'nin alınımının devam etmesi ile makrofaj lipid yüklü köpük hücresine dönüşene kadar bu lipid damlacıkları birikir.

2.4.4.4. Fibröz plak gelişimi: İntimada köpük hücreleri ve düz kas hücreleri ile bu hücreleri çevreleyen kollajen, elastik lifler ve proteoglikanlardan oluşur (22). Plak içinde düz kas hücre proliferasyonu ve ekstraselüler matriks üretimi makrofajlar tarafından salgılanan sitokinler ve büyüme faktörleri ile oluşturulur. Düz kas hücreleri subendotelial aralığa göç eder, bölünürler ve ekstraselüler matriksi sentezlerler. Sonuçta lezyonun lipid dolu çekirdeğini endotel yüzeyinden ayıran fibröz bir şapka oluşur. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), interlökin I (IL-1) ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) plak gelişim ve komplikasyonunda rol oynayan lokal büyüme faktörlerinin üretimini arttırmaktadırlar.

Endotel yüzeyinden fiziksel olarak ayrılan lipid çekirdek ve plak stabilize olmuştur ve bunun sonucunda arter lümeni daralması gözlenecektir (22).

2.4.4.5. Komplike lezyon gelişimi: Fibröz plakta kalsifikasyon ve ülserasyon görülür. Daha sonra plağın fissüre veya rüptüre olmasının ardından kanama meydana gelir. Oluşan inflamatuvar, immün aktivasyon plak yırtılmasını sağlayarak ve doku faktörü ekspresyonunu aktive ederek trombozun başlamasına neden olur. Komplike lezyonlar miyokard infarktüsü veya inme gibi klinik tabloların ortaya çıkmasından sorumludurlar (22).

2.4.5. Aterosklerozda Risk Faktörleri:

Tüm dünyada olduğu gibi önemli bir sağlık sorunu ve başlıca ölüm nedenlerinden biri olan koroner kalp hastalığı (KKH)'nın en önemli sebebi (%90-92) aterosklerozdur (129). Kalp damar hastalıklarında global risk ve hedefler aşağıdaki gibi sıralanmıştır (131).

Koroner Kalp Hastalığı Risk Faktörleri:

- 1) Yaş ve cinsiyet (Erkek>45; kadın >55 yaş)
- 2) Birinci derece akrabalarda erken yaşta kalp damar hastalığı öyküsü
Kadın akraba için <65 yaş, Erkek akraba için <55 yaş
- 3) Sigara kullanımı
- 4) Hipertansiyon SKB \geq 140 mmHg, DKB \geq 90 mmHg veya antihipertansif ilaç kullanımı
- 5) Hiperkolesterolemi (Total kolesterol \geq 200 mg/dl, LDL-kolesterol \geq 130 mg/dl)
- 6) Diyabetes mellitus
- 7) Hareketsiz yaşam
- 8) Aşırı kilo

1) Yaş ve Cinsiyet: Erkeklerde 45 yaşın, kadınlarda 55 yaşın üzerinde olmak önemli bir risk olarak belirlenmiştir. Her iki cinste de risk faktörleri aynı olsa da erkeklerde kardiyovasküler damar hastalığının kadınlardan 10-20 yıl daha erken geliştiği bilinmektedir. Kadınlarda menapoz öncesi dönemde östrojen varlığı koroner arter hastalığı riskinin daha geç başlamasına yol açmaktadır. Postmenapozal kadınlarda ise serum LDL kolesterol düzeyi yükselmesi ile beraber, HDL kolesterol düzeyinde artma durur veya düşmeye başlar. Bu durum kadınlarda postmenapozal aterosklerozun hızlanması için bir risk faktörü oluşturur (17).

2) Birinci derece akrabalarda erken yaşta kalp damar hastalığı öyküsü: Ailede aterosklerotik damar hastalığı öyküsü olan kişilerde erken koroner ateroskleroz riski 1,3-1,6 kat artar. Bu yatkınlığın bir kısmı, genetik temelleri bilinen çeşitli kardiyak risk faktörlerine bağlıdır. Bunlar arasında tek gen mutasyonuna bağlı lipid metabolizması bozukluklarından başka, hipertansiyon, diabetes mellitus, homosistein metabolizması bozuklukları gibi hastalıklar da sayılabilir. (113, 150).

3) Sigara Kullanımı: İçerdiği 4000 kimyasal madde ile insan hayatını tehdit eden sigaranın, hücre üzerinde hematolojik, endokrinolojik, toksik özellikleri olduğu gibi inflamatuvar etkileri de vardır. Özellikle sigaranın toksik bileşenlerinden olan nikotinin lipoprotein metabolizmasını etkileyerek ateroskleroza yol açtığı bildirilmektedir (39).

4) Hipertansiyon: Ateroskleroz patogenezinde katkı sağlayan bir risk faktörü olan Renin-anjiyotensin sisteminde oluşan anjiyotensin II vasküler düz kaslardaki inflamatuvar sinyalleri ortaya çıkarabilir. Transkripsiyon faktörü NF- κ B'nin inflamasyonda gerekli çoğu sinyal yoluna katıldığı bilinmektedir ve düz kaslardaki sitokin gen ağlarının ekspresyonlarını aktive etmekten sorumlu olabilirler. Kan basıncındaki artış bu hücrelerin migrasyon ve proliferasyonuna neden olabilir.

Ayrıca endotel fonksiyonlarındaki bozulmalardan da sorumlu tutulmaktadır. Endotelin vazoprotektif ve antikoagülan özelliklerini bozarak lökositlerin subendotelial mesafeye penetrasyonu ve lipoproteinlere karşı endotel permeabilitesindeki artış trombosit adezyon ve agregasyonunun artması söz konusudur. Bu değişiklikler

hiperlipidemi ile beraber ise aterosklerotik plak gelişimi ile sonuçlanır. Hipertansiyon özellikle yağlı çizgilerin fibröz plak haline geçişini hızlandırmaktadır. Hipertansiyonun damardaki etkileri birçok yönden kolesterol yüksekliğinin etkilerine benzemektedir. Hipertansiyon ve hiperkolesterolemi ateroskleroz gelişiminde güçlü biçimde etkileşir (171).

5) Hiperkolesterolemi: Endotel disfonksiyonunun başlamasında ve devamında lipoproteinlerin rolü vardır. Özellikle LDL oksidasyonu endotel hasarının ana nedenidir ve endotel hücrelerdeki proinflamatuvar moleküllerin ekspresyonunu indüklemektedir. Bu yüzden modifiye LDL' nin uzaklaştırılması inflamatuvar cevabın engellenmesinde önemlidir. Şilomikron artıkları ve VLDL artıkları ise aterosklerozda kısmen etkilidir. Trigliseridden zengin lipoproteinlerin artışı ile koroner kalp hastalığı arasında pozitif bir ilişki vardır. Son zamanlarda serum trigliserid yüksekliğinin koroner kalp hastalığı için bağımsız bir risk faktörü olduğu yönünde yeterince kanıt birikmiştir ve bu etkilerini oksidatif stres aracılığıyla endotelial disfonksiyonu indükleyerek gerçekleştirdiği düşünülmektedir. Bazı çalışmalarda artan serum kolesterol düzeylerinin aynı zamanda prokoagulan sistemi de aktive edebildiği gösterilmiştir. FVIIC ve protrombin fragmenti 1+2 hiperlipidemik hastalarda sağlıklı kontrollere göre yüksek bulunmuştur. Bu kan değişimleri endotelial inflamasyon reaksiyonuna neden olmaktadır (3).

6) Diyabetes Mellitus: Diyabet primer olarak metabolik bir hastalık gibi düşünülse de bir kardiyovasküler risk faktörü olarak da görülmektedir. Diyabetik hastaların en önemli ölüm nedenleri arasında kardiyovasküler komplikasyonlar görülmektedir. Hiperglisemi ile birlikte oluşan ileri glikasyon ürünleri (AGE) spesifik reseptörlerine bağlandığı zaman (RAGE), farklı inflamatuvar moleküllerin ekspresyonları artmaktadır.

Ayrıca gözlenen endotelial disfonksiyon sıklıkla Tip II diyabette ve oksidatif stresde var olan dislipideminin sonucu olabilir. Diyabetik dislipidemiden sorumlu diğer faktörler ise; karaciğerden insülin etkisiyle apolipoprotein üretiminin artması, lipoprotein lipazın regülasyonu, kolesterol ester transfer protein (CETP) aktivasyonu ve insülinin periferik dokuda aktivasyonudur. Diabetik hastalarda bozulmuş endotel bağımlı vazodilatasyon, hiperkoagülasyon, arter duvarında bozulmuş fibrinolizle artmış

PAI-1 düzeyi, endotel NOS'da azalma ve endotelin-1'de artış gözlenmektedir. Trombositler daha büyüktür, membranda artan sayıda glikoprotein IIb-IIIa reseptörleri içerirler. TromboksanA2 biyosentezi artmıştır Trombositlerin agregasyon ve yapışkanlıkları ve Von Willebrand faktör artmaktadır.

Sitokin salınımı ve makrofaj aktivasyonuna yol açan prosesler diabetiklerde artmakta ve aterosinflatuar gelişime katkı sağlamaktadırlar (66,72).

7) Hareketsiz Yaşam: Yapılan çalışmalar sedanter yaşam biçiminin, koroner arter hastalığı riskini arttırdığına dair güçlü veriler sağlamaktadır. Düzenli egzersiz, kilo ve kan basıncındaki azalma ile birlikte HDL kolesterolü yükseltmekte, trigliseridleri ve insülin direncini azaltmaktadır. Hem aterosklerotik hem de sağlıklı bireylerde egzersizden en iyi şekilde yarar sağlamak için yalnızca ılımlı, düzenli egzersiz programının uygulanması önerilmektedir (130).

8) Aşırı Kilo: Obezite artışı ile kardiyovasküler hastalıklar büyük oranda eşleştirilmiştir. Major koroner olaylar için obezite bağımsız bir risk faktörüdür. Hiperkolesterolemi ve metabolik sendrom çoğunlukla obeziteye eşlik etmektedir. Obez kişiler onları akut koroner sendroma yatkın hale getiren proinflatuar bir durum taşımaktadırlar. Bu durum serum CRP'nin yüksek düzeyleri ile karakterize edilmektedir. Aşırı adipoz doku varlığında IL-6, IL-18 ve adiponektin düzeylerinin serum konsantrasyonları önemli bir şekilde artar. Buna karşılık kilo kontrolü CRP düzeylerinde azalma ile birlikte inflamatuvar durumu düzeltebilir.

9) Diğer Kondisyonel Risk Faktörleri:

Lipoprotein (a): Plazminojenin yapısına benzer bir yapıya sahiptir ve plazmin oluşumunu azaltabilir, fibrinolizisi bozar, trombotik durumu indükler. Lipoprotein (a)'nın artan düzeyleri normokolesterolemik ve nondiyabetik kişilerdeki endotel disfonksiyonun güçlü bir tahmincisi olabileceğini göstermiştir. NO'nin oksidatif inaktivasyonu endotelial lezyonun önemli bir nedeni olarak görülür. Azalmış NO düzeyi, trombosit adezyonu/agregasyonu ve arteriyal trombozu teşvik edebilir (69).

Bu faktörlere ek olarak, CRP, homosistein, fibrinojen, Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1, sosyal ve ekonomik faktörler ve psikolojik faktörler de aterosklerotik risk faktörleri olarak önem kazanmaktadır.

2.4.6. Ateroskleroz ve Hiperlipidemi:

Endotele bağlı gevşeme ateroskleroz ve hiperkolesterolemi varlığında bozulmaktadır. Özellikle düşük dansiteli lipoproteinlerin artışı doğrudan endotelinin uyarıcısı olarak endotele bağlı gevşemeyi olumsuz etkiler. Bu olayda pek çok mekanizma rol oynamaktadır: Endotelial uyarı değişikliği ve G proteinlerine bağlı NO yapımının engellenmesi, serbest oksijen radikalleri yapımının artması, L-arjinin etkinliğinin azalması, NO yıkımında arter ve endotelin yapımının artması bunlardan birkaçıdır.

2.4.7. Ateroskleroz, NO ve Vasküler Homeostaz:

Nitrik oksit (NO); yapısında eşlenmemiş elektron bulunduran biyolojik dokularda arjinden sitrüllin oluşumunu katalizleyen nitrik oksit sentaz tarafından üretilir. Fizyolojik süreçlerde sinyal molekülü göreviyle, savunma mekanizmaları, kan basıncını düzenleme, düz kas gevşemesi ve immün düzenlemede rol olmaktadır. NO'nin süperoksit anyonu ile reaksiyona girmesi daha aktif olan peroksinitriti (ONOO⁻) oluşturur (Şekil 2.5). Bu anyon ise DNA kırılması ve lipit peroksidasyonuna tirozin kalıtlarının nitrozasyonuna neden olan güçlü bir oksidandır (170).



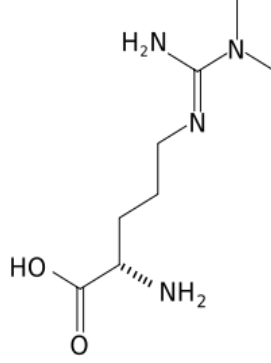
Şekil 2.5. Peroksinitrit oluşumu (<http://medschool.slu.edu/pharmphys/index.php?page=da...>)

Endotel kaynaklı nitrik oksit (NO) bilinen en potent endojen vazodilatördür. Etkisini çözümlenür guanilat siklazın uyarılması ile cGMP oluşturarak göstermektedir. NO kan akımı ve basıncının önemli bir düzenleyicisidir. Kan akımının damarlara yaptığı mekanik kuvvet sonucu endotelden salınır ve akım aracılı vazodilatasyonda önemli bir rol oynar. NO'in endotelden salınması ile norepinefrin, endotelin, anjiotensin II, ve serotoninin vazokonstriktör etkilerine karşı koymaktadır. Endotelyal NO sentaz (NOS)'ın farmakolojik inhibisyonu veya genetik yetersizliği endotelyum bağımlı vazodilatasyonu bozmaktadır ve vasküler direnci artırmaktadır.

Vasküler NO aynı zamanda vasküler yapıyı da etkilemektedir. NO vasküler düz kasların çoğalmasını baskılamaktadır. NO aktivitesinin kronik yetersizliği veya kaybı medial kalınlaşma ve miyointimal hiperplaziye katkıda bulunabilir. Ayrıca, NO dolaşımdaki kan elemanlarının damar duvarı ile etkileşimini de inhibe etmektedir. Endotelyum sağlıklı iken trombosit agregasyonu ve lökosit aderansı oluşmamaktadır. Aksine NO aktivitesinin kaybı vasküler lezyonların oluşumunu hızlandırmaktadır. NO aktivitesinin kaybı insan vasküler hastalıkları durumunda ortaya çıkan iskemik semptom ve normal olmayan vazohareketliliğe katkı sağlayan bir faktördür. Ayrıca, NO yetersizliğinin aterosklerozun başlama ve gelişimine katkı sağlayacağına dair bir sürü kanıt mevcuttur (170).

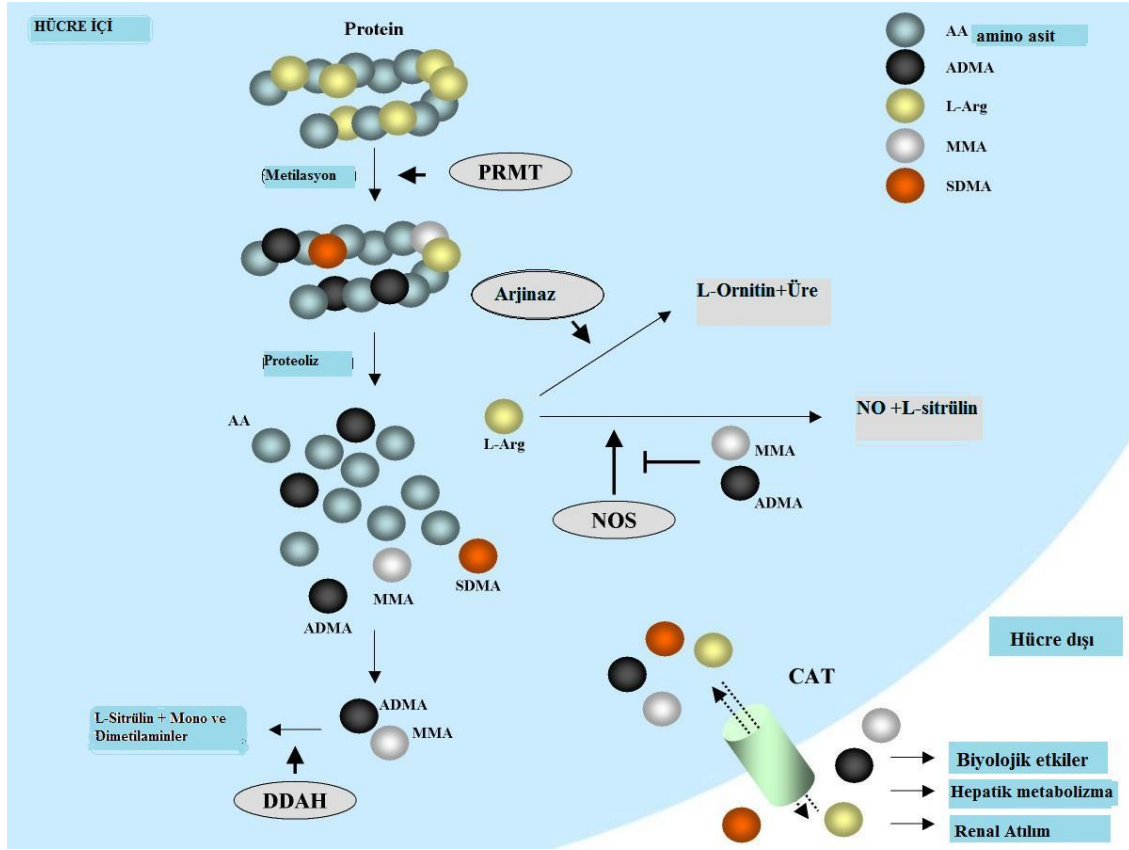
2.4.8. Ateroskleroz ve Asimetrik Dimetil Arjinin (ADMA):

Asimetrik dimetil arjinin (ADMA) insan serum ve idrarında ölçülebilen endojen bir moleküldür. L-arjinin amino asidine yapısal homoloji göstermekte ve NO amino asid prekürsörü L-arjininden sentezlenmektedir (Şekil 2.6). ADMA'nın biyosentezi protein kalıtlarının protein N-metiltransferazlarca (PRMT'ler) metilasyonu esnasında olmaktadır. Bu protein kalıtları fizyolojik protein turnover'ı esnasında proteolitik degradasyonları üzerinden bağılı olmayan ADMA'yı salmaktadırlar. Dolaşımdaki konsantrasyonu L-NMMA'dan 10 kat fazla olan ADMA, insanda NO biyosentezinin aktif majör inhibitörüdür.



Şekil 2.6. ADMA'nın moleküler yapısı (27)

ADMA esas olarak böbrek yoluyla atılır ve ADMA birikimi ilk olarak renal yetmezlikli hastalarda bildirilmiştir (192). Renal yolla atılıma ek olarak ADMA dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz (DDAH) enzimi ile sitrüllin ve dimetilamine degrade olur (Şekil 2.7). Bu enzimin aktivitesi detaylı olarak bilinmemekle birlikte, yüksek ADMA düzeylerine katkısı olabileceği düşünülmektedir. NO sentetaz yolundaki dengesizliklere sebep olan ADMA artışının endotel disfonksiyona yol açarak aterogeneizde önemli bir rolü bulunmaktadır.



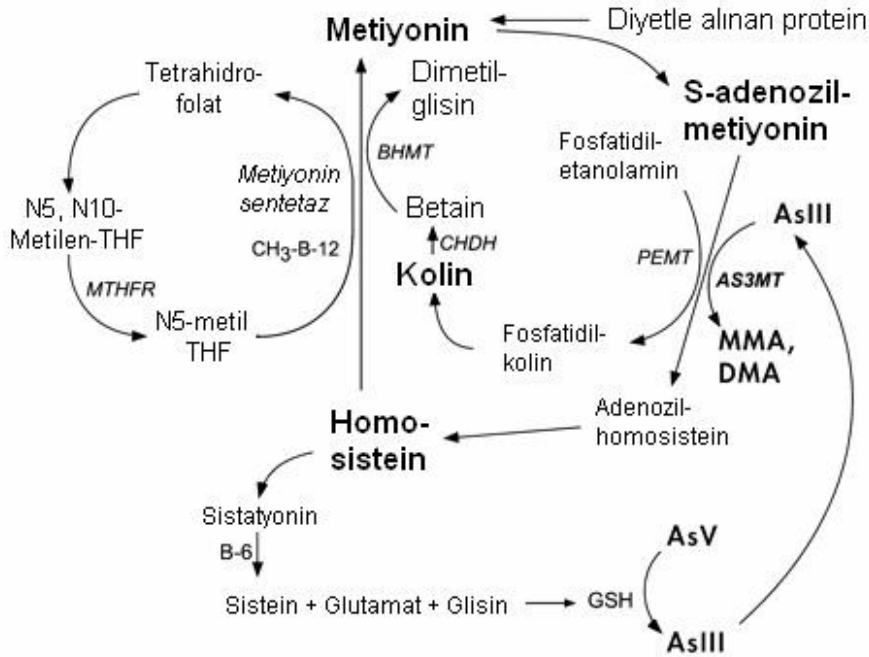
Şekil 2.7. ADMA metabolizması

(www.biomedcentral.com/.../5/figure/F1?highres=y)

2.4.9. Ateroskleroz ve Homosistein:

Homosistein, metiyonin metabolizması sırasında oluşan ve sülfür içeren bir aminoasittir. Aynı zamanda tiol bileşiklerinin metabolik yollarında merkezi görev üstlenmiştir. Metiyonin esansiyel bir aminoasit olup, ya diyetle alınır ve endojen proteinlerin bozulması sonucu ya da homosisteinin yeniden metilasyonu (remetilasyon) oluşur. Metiyonin yeni sentezlenen proteinlerin yapısına katıldığı gibi ATP yardımı ile enzimatik olarak S-adenozil metiyonin (SAM)'e de dönüşebilir. SAM'ın metil grubu DNA metiltransferaz aracılığıyla koparılarak, S-adenozil homosisteine (SAH) dönüşür. Bunun adenozil kısmının hidrolitik olarak parçalanmasıyla da homosistein oluşur (Şekil 2.8) (54).

Vücuttaki homosistein transsülfürasyon veya remetilasyon yollarından birini kullanarak metabolize olur (Şekil 2.8). Transsülfürasyon yolunda; vitamin B6 bağımlı bir enzim olan sistasyonin B sentetaz (CBS) enzimi görev yapar. Homosistein CBS katalizörlüğünde sistasyonine, o da sisteine hidrolize olur. Bu sistein de daha sonra sülfata hidrolize olarak idrarla atılır. Remetilasyon yolunda; homosisteinden, metiyoninin yeniden sentezi iki farklı yolla gerçekleşir. Kısa yolda; betain homosistein metil transferaz (BHMT) enzimi, bir metil vericisi olan betainin metil grubunu, homosisteine aktararak metiyonin oluştururken kendisi dimetilglisine dönüşür. Uzun yolda ise 5-metiltetrahydrofolat, bir metil grubu vericisidir. 5-10 metilentetrahydrofolat, metilentetrahydrofolat redüktaz (MTHFR) enzimi aracılığıyla 5-metiltetrahydrofolata dönüşür. 5-metiltetrahydrofolatın bir metil grubu, kobalamin (vitamin B12) bağımlı enzim olan metiyonin sentetaz (MS) aracılığı ile homosisteine aktarılarak metiyonin oluşturulurken diğer taraftan da tetrahydrofolat meydana gelir. Bu tetrahydrofolat tekrar 5-10 metilentetrahydrofolata dönüşür (152, 118).



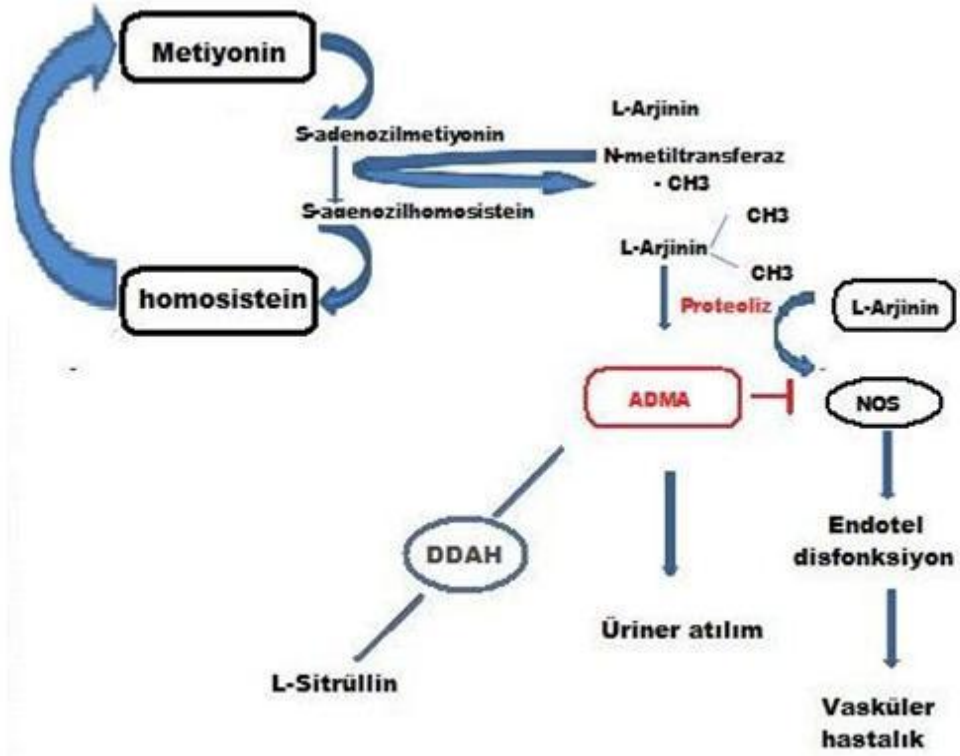
Şekil 2.8. Homosistein metabolizması

(www.danoneenstitusu.org.tr/news.php?id=113&cat=9)

Dolaşımda artmış homosistein düzeyleri koroner, serebral ve periferel damarlarda okliziv bir hastalık için risk faktörüdür ve stabil koroner hastalığı bulunan kişilerin hayatta kalımı için bir risk belirteçidir (3).

Homosistein ve koroner hastalıklar arasındaki bağlantı endotel hücrelerinin antikoagulan özellikleri ve vazomotor düzenlenmenin değişimi ve koagulasyonun aktivasyonu ile ilişkilendirilebilir. Ayrıca homosistein metabolizmasındaki bozukluklar oksidatif strese neden olabilir. Homosistein oksidatif stresi artıran TNF ekspresyonunu artırır, koroner aterosklerozun gelişimine katkıda bulunan bir proinflamataur durumu indükler. Ayrıca araşidonik asitin peroksidasyonu ile oluşan biyoaktif F2 izoprostanlarının artışı sistatinyonin beta sentaz yetersiz kişilerde trombosit aktivasyonuna yol açabilir (49).

Ayrıca homosistein metabolizmasında bir aracı olan S-adenozilmetiyonin dimetilarjininlerin içerdiği metil gruplarının kaynağı olarak görülmektedir (Şekil 2.9). Bu olay deneysel olarak ispatlanmıştır. İnsan endotel hücreleri radyoaktif olarak işaretli S-[14C]-adenozilmetiyonin ile muamele edildikten sonra, bu radyoaktivitenin bir kısmı yeni sentezlenen ADMA'nın içinde belirlenmiştir. İlginç bir şekilde, bu bulgu hayvan ve insanlarda endotel fonksiyonun homosisteinle bozulduğunu gösteren mekanizmaya bir açıklama sağlayabilmektedir.



Şekil 2.9. Homosistein ve ADMA (27)

2.4.10. Ateroskleroz ve Paraoksonaz (PON):

Paraoksonaz arildialkilfosfataz sınıfı ester hidrolaz enzimidir ve üç çeşidi bulunmaktadır. Bunlardan serum PON-1 plazmada HDL ile birlikte bulunur ve plazma lipoproteinlerinin oksidasyonunu önlemede rolü olduğu düşünülmektedir. PON-1 ekspresyonu proaterojenik uyarı ile inhibe edilmektedir (106). Aynı aileden PON-2 ve PON-3'de antioksidan özelliğe sahiptirler. PON-2 hücre içinde her yerde bulunur ancak PON-3 bazal antioksidan aktiviteye sahiptir ve esas olarak HDL'ye bağlanmaktadır (106).

PON-1 memeli karaciğerinde sentezlenir ve HDL içerisindeki apolipoprotein ApoA1 ve Apo J'ye bağlanarak dolaşımda bulunur. Fosfolipid hidroperoksidlerini hidroliz eden bu enzim aynı zamanda organofosfat insektisit (haşere öldürücü) ve sinir gazlarını da hidroliz eder. PON-1'in belirlenen ikinci biyolojik fonksiyonu

antiaterojenik aktiviteye sahip olmasıdır. Serum PON-1 plazmada HDL ile birlikte bulunur ve plazma lipoproteinlerinin oksidasyonunu önlemede rolü olduğu düşünülmektedir. Ayrıca HDL'nin oksidasyonu sırasında anlamlı miktarda lizofosfatidilkolin bulunmuş ve PON-1'in fosfatidilkolin üzerine fosfolipaz A2'ye benzer aktiviteye sahip olduğu sonucuna varılmıştır (83, 99). PON-1 ekspresyonu proaterojenik uyarı ile inhibe edilmektedir (100, 89). Aynı aileden antioksidan özelliğe sahip iki enzim daha vardır; PON-2 ve PON-3. PON-2 hücre içinde her yerde bulunur. Ancak PON-3 bazal antioksidan aktiviteye sahiptir ve esas olarak HDL'ye bağlanmaktadır.

PON proteinleri dokulardaki ekspresyonlarına ve dağılımlarına göre, birbirinden farklılaşmaktadırlar. PON-1'e ait mRNA'nın karaciğerin yanı sıra böbrek, kalp, beyin, ince bağırsak ve akciğer dokularında da bulunduğu gösterilmiş ve PON-1'in, bu dokuların hepsinde endotelial tabakada lokalize olduğu, immunohistokimyasal yöntemlerle tayin edilmiştir (16, 14).

2.4.11. HDL Tarafından Aterosklerozun İnhibisyonu:

HDL'nin yapısında bulunan Ca^{+2} 'a bağlı bir enzim olan paraoksonaz, okside olmuş lipid metabolizmasında ve aterosklerozdan korumada önemli rollere sahiptir. LDL'yi oksidasyondan korumada ve LDL oksidasyonu ile oluşan toksik metabolitlerin aktivitesinin azaltılmasında, HDL ile ilişkili olan PON'un HDL üzerine antioksidan katalizör etkisinin olabileceği düşünülmektedir (Şekil 2.10). Yapılan in vitro çalışmalarda; PON, biyolojik olarak aktif olan LDL'yi hidrolizleyip lipid peroksit oluşumunu anlamlı olarak azaltarak yağlı çizginin oluşmasını da engellediği gösterilmiştir (106). Ayrıca paraoksonaz, HDL üzerinde amino ucundaki hidrofobik bölgede apo A-I ile ilişkilidir (PON1) ve LDL'nin oksidasyonu ile oluşan proinflamatuvar moleküllerini parçalamasıyla vasküler hastalık riskini azaltabilir (106).

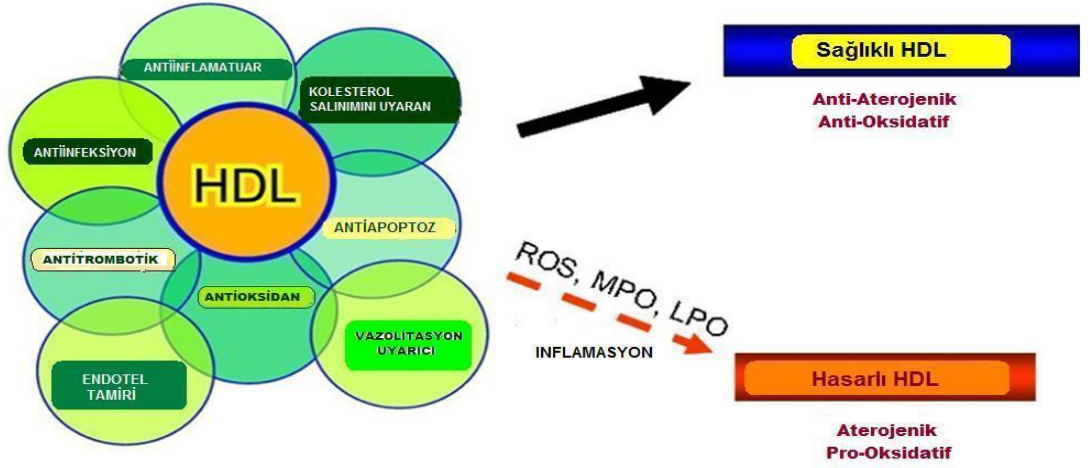
HDL'nin fonksiyonları:

Ters kolesterol transportundan sorumludur.

Monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) düzeylerini kontrol eder.

Apolipoprotein A-1 (ApoA-1) HDL'nin ters kolesterol transportu, antioksidatif ve antiinflamatuvar rollerine yardım eder.

Okside lipitlerin (ox-LDL) üretimini engeller.



Şekil 2.10. HDL fonksiyonları

(<http://indianheartjournal.com/.../209-215.html> adresinden alınarak modifiye edilmiştir)

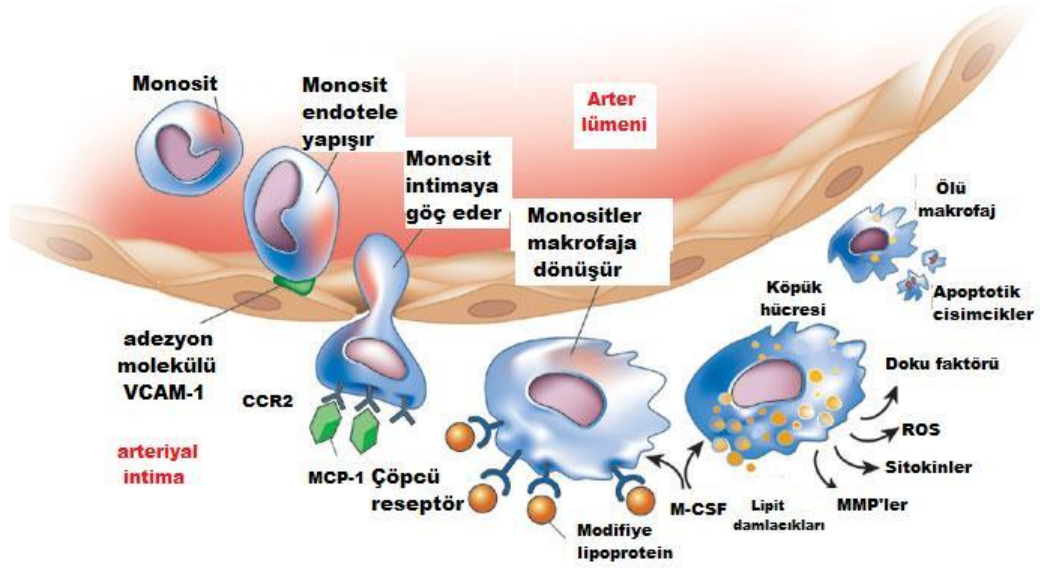
2.4.12. Ateroskleroz ve İnflamasyon:

Aterosklerotik lezyonlarda, intima ve altında görülen fokal kalınlaşan bölgenin içeriğine bakıldığında vasküler endotelial hücreler, düz kas hücreleri, bağ dokusu ile lipit depolanması yanı sıra kandan gelen inflamatuvar ve immün hücrelerin de bulunduğu görülür.

Günümüzdeki bilgilere göre ateroskleroz, multifaktöriyel, başlangıçtan progresyona kadar her basamağında kronik inflamasyonun rol aldığı ve her risk faktörünün altta yatan inflamatuvar süreci hızlandırarak patogeneze katkıda bulunduğu bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (103). İmmün mekanizmaların metabolik risk

faktörleri ile etkileşimi sonucu hastalık başlar ve ilerler. İnflamasyon, hastalığın başlangıcı ile progresyonunun yanı sıra plak yırtılmasında ve trombüs oluşumunda da önemli rol oynar (166).

Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, sigara, kolesterol, hipertansiyon, diabetes mellitus gibi risk faktörlerinin ateroskleroz gelişimindeki rolünü kanıtlamıştır. Deneysel çalışmalar ise bu risk faktörlerinin genel inflamatuvar bir yanıt başlatarak vücutta yaygın bir reaksiyon oluşturduğunu göstermiştir. Risk faktörlerine yanıt olarak hem sistemik akut faz reaktanları aktive olur, hem de endotelden bir sinyal trafiği başlar. Risk faktörlerinden ilk etkilenen damar yapısı endoteldir. Risk faktörlerinin etkisi ile kayganlık özelliğini kaybeder, yapışkan ve protrombotik hale gelir. Erken yaşlardan itibaren risk faktörlerine maruz kalan endotel hücrelerinden adhezyon molekülleri (VCAM-1, ICAM), büyüme faktörleri (PDGF, β FGF, TGF- β , IL-1, TNF α) ve sitokinler (M-CSF, GM-CSF) salınmaya başlar (Şekil 2.11). Yapılan hayvan deneylerinde kolesterolden yüksek diyetle beslenen hayvanda birkaç hafta içinde endotel bozulup yapışkan bir hale gelir ve adhezyon moleküllerini eksprese etmeye başlar (166). VCAM-1 hem monositleri hem de T lenfositleri bağlar. Endotele bağlanan bu hücreler subendotelyal bölgeye 'diapedez' diye adlandırılan bir mekanizma ile geçer ve burada birikir. Monositlerin subendotelyal bölgeye geçmesi için monosit kemoatraktan protein (MCP-1) isimli kemokinin bulunması gereklidir (Şekil 2.11). T hücreleri ise farklı kemokinlerin etkisi (G-IP-10, MIG gibi) ile subendotelyal bölgede birikir. Son zamanlarda mast hücrelerinin de benzer mekanizmalarla biriktiği gösterilmiştir (166). Damarda oluşan yangı nedeni ile eksprese olan bu proteinler erken aterosklerotik lezyonun en önemli sorumlularıdır (166).



Şekil 2.11. Monositlerin subendotel alana geçişi

(www.nature.com/.../n6917/full/nature01323.html)

Bir yandan endotelde inflamatuvar yanıt sürerken öte yandan sistemik bir subklinik inflamasyon da süregelmektedir. Okside LDL gibi proinflamatuvar risk faktörleri primer proinflamatuvar sitokin adı verilen interlökin-1 ve TNF- α 'yı aktive ederler (2). Bu primer proinflamatuvar sitokinler interlökin-6'yı aktive ederek karaciğerden C reaktif protein (CRP), Serum amiloid A (SAA) gibi akut faz reaktanlarının salınmasına yol açarlar. Aterosklerotik sürece bağlı arttığı bilinen ve inflamasyonun bir göstergesi kabul edilen akut faz reaktanları şunlardır: CRP, fibrinojen, faktör VII, PAI-1, TPA, lipoprotein (a). Bunlardan klinikte en fazla kullanılanı hs-CRP olarak adlandırılan yüksek duyarlıklı CRP'dir.

Aktive endotel hücrelerinden salınan makrofaj koloni stimüle eden faktör (M-CSF) bölgedeki makrofaj yığılmasını artırır. M-CSF aynı zamanda immün sistemi uyarır. CD40 ligand isimli proinflamatuvar sitokin de progresyona katkıda bulunan inflamatuvar mediatörlere dendir. T lenfositleri de intimada birikip proinflamatuvar sitokinleri salmaya devam ederler. T hücrelerinin bir ilginç görevi de makrofajları aktive ederek kollajen, MMP ve sitokin salınımını teşvik etmesidir.

Böylece aterom plağı giderek büyür. Okside LDL ve heat shock protein, toll-like reseptörleri uyararak inflamasyonu artırır.

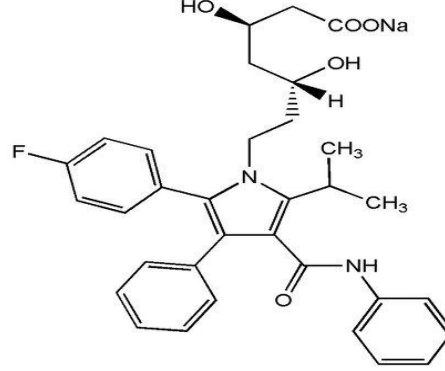
2.4.13. Ateroskleroz ve C-Reaktif Protein:

CRP bir akut faz reaktanıdır; infeksiyon ve doku hasarına yanıt olarak, serum CRP düzeyleri hızlı olarak yükselme gösterir. Doğal immünitede rol oynar ve IL-6'ya yanıt olarak hepatositlerde sentez edilir. IL-6 ve diğer sitokinlerin kaynağı ise aterosklerotik lezyondaki inflamatuvar hücreler ve yağ dokusudur (189). CRP'nin monositlerin sitokin ve doku faktörü sentezini artırdıkları ve endotel hücrelerinden de intraselüler adezyon moleküllerinin ekspresyonlarını stimüle ettikleri gösterilmiştir (189). CRP hasara uğramış hücrelerin plazma membranlarına bağlanır. Kümeleşen CRP plazmadaki LDL ve VLDL kolesterol ile kompleks oluşturur. Kompleks haline gelen CRP klasik kompleman yolunu aktive ederek proinflamatuvar etki gösterir. Aterosklerotik plaklarda CRP'nin stimüle ettiği kompleman proteinlerinin ve ilgili mRNA'larının arttığı da gösterilmiştir (189).

Aterogenez ile CRP arasındaki ilişki inflamasyon ile sınırlı değildir. CRP yüksekliği, plakta lipit birikmesini tetikleyen inflamasyonu göstermesi yanında doğrudan etkileri ile de endotel işlev bozukluğuna yol açmaktadır (189).

2.5. STATİNLER (ATORVASTATİN):

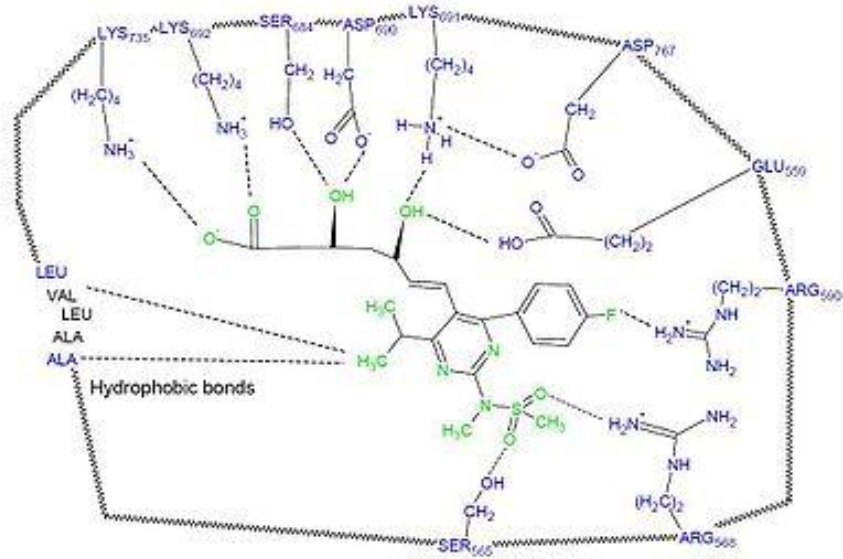
Statinler, yarışmalı olarak hidroksi metil glutaril CoA redüktaz (HMGR)'ı inhibe ederler ve mevalonat yolunun hız kısıtlayıcı olan enzimidir. HMG-CoA'nın mevalonik asite dönüşümünü bloke eder (Şekil 2.12) (32).



Şekil 2.12. Atorvastatin'in kimyasal yapısı

(<http://sitemaker.umich.edu/top.200/atorvastatin>)

HMGR'nin statinlerle moleküler mekanizması katalitik bir mekanizmadır. Enzimin C-terminal kalıtlarının yeniden düzenlenmesi sonucu oluşan olukta statinlerin hidrofobik grupları ile etkileşimi, HMG benzeri yapıya sahip olan statin moleküllerinin bu bölgeyi işgal etmesiyle sonuçlanır. Bu yüzden statinler, HMGCoA redüktazın aktif bölgelerine bağlanarak rol oynar (Şekil 2.13) (32) ve sterik olarak substratın bağlanmasını bloke ederler. Bu çalışmalar atorvastatinin de içinde yer aldığı tip II statinlerin flurofenil grupları üzerinden ileri bağlanma bölgelerine sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca atorvastatin hidrojen bağları da içermektedir (Şekil 2.12) (81).

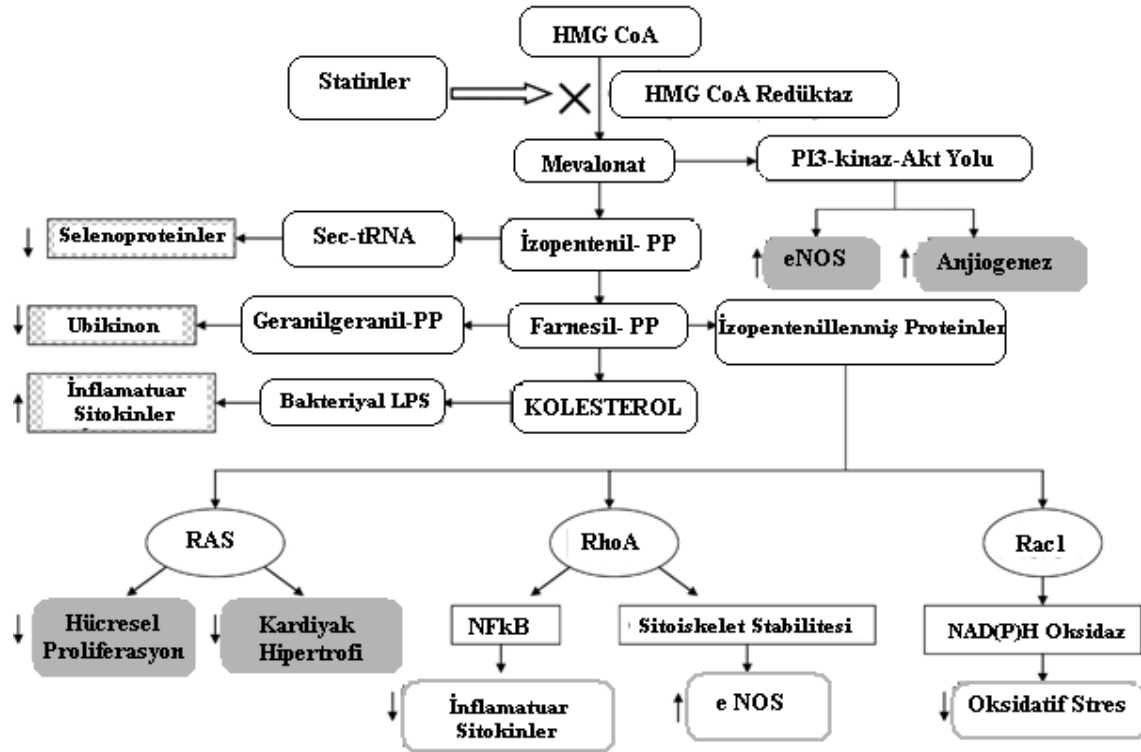


Şekil 2.13. HMGCoA redüktaz ve statin bağlanması

(http://en.wikipedia.org/wiki/Statin_development)

Statinler, karaciğerde kolesterol sentezini kesintiye uğrattıkları, mikrozomal HMGR üretimini aktive eder ve hücre yüzey LDL reseptörlerinin üretimini aktive ederler. Bu sonuçlar statinlerin LDL'nin kan akımından temizlenmesini sağlayarak %20-%55 arasında LDL kolesterol düzeylerini azalttığını göstermiştir (32). Statinlerin hem primer hem de sekonder önleme çalışmalarında kardiyovasküler morbidite ve mortaliteyi azalttığı gözlenmiştir (32). Bu özelliklerinden dolayı statinler dünyada en fazla kullanılan farmasötik ajanlardır. Ayrıca statinlerin lipit düzeylerindeki değişiklikler dışında insan patolojisindeki başka yararlı etkileri de vardır. Son zamanlarda hem klinik hem de temel çalışmalar statinlerin kolesterol düşürücü etkilerinden bağımsız olarak, endotel fonksiyonu düzeltmek, aterosklerotik plak stabilizasyonu sağlamak, antiinflamatuvar, immunomodülatör ve antitrombotik etkiler, kemik metabolizmasındaki olumlu etkileri, demans riskini azaltmak, apoptozun induksiyonu ve antiproliferatif etkiler gibi pleotropik etkilere de sahip olduğunu göstermiştir (6,32).

Bu pleotropik etkilerin çoğu mevalonat yolunun önemli izoprenoid aracılarının sentezinin inhibisyonundan kaynaklanmaktadır. Farnesil pirofosfat, geranil geranilpirofosfat, mevalonat kaynaklı prenil grupları, hücre içi olaylarda aracılık yapan GTP'ye bağlı Rho, Ras ve Rac proteinlerinin aktivasyonlarını gerçekleştirirler. Bunlardan Rho proteini inflamatuvar sitokinlerin aktivasyonunu ve hücre iskeletinin bütünlüğünü sağlayıcı olaylarda rol alır (56). Ras proteinleri hücre çoğalması ve hipertrofisinden sorumlu iken, Rac proteinleri de oksijen radikallerinin oluşumunu sağlar (56) (Şekil 2.14). Statinlerin kolesterol düzeyinde sağladıkları düşüştan kaynaklanmayan yararlı etkilerine pleiotropik etkiler denir ve bu yararlı etkilerin mekanizması yukarıda adı geçen proteinler üzerinden açıklanabilir (56).



Şekil 2.14. Statinlerin etki mekanizması

(www.medscape.com/viewarticle/569335)

2.6. TIAZOLİDİNDİONLAR: (ROSIGLİTAZON ve PİOGLİTAZON)

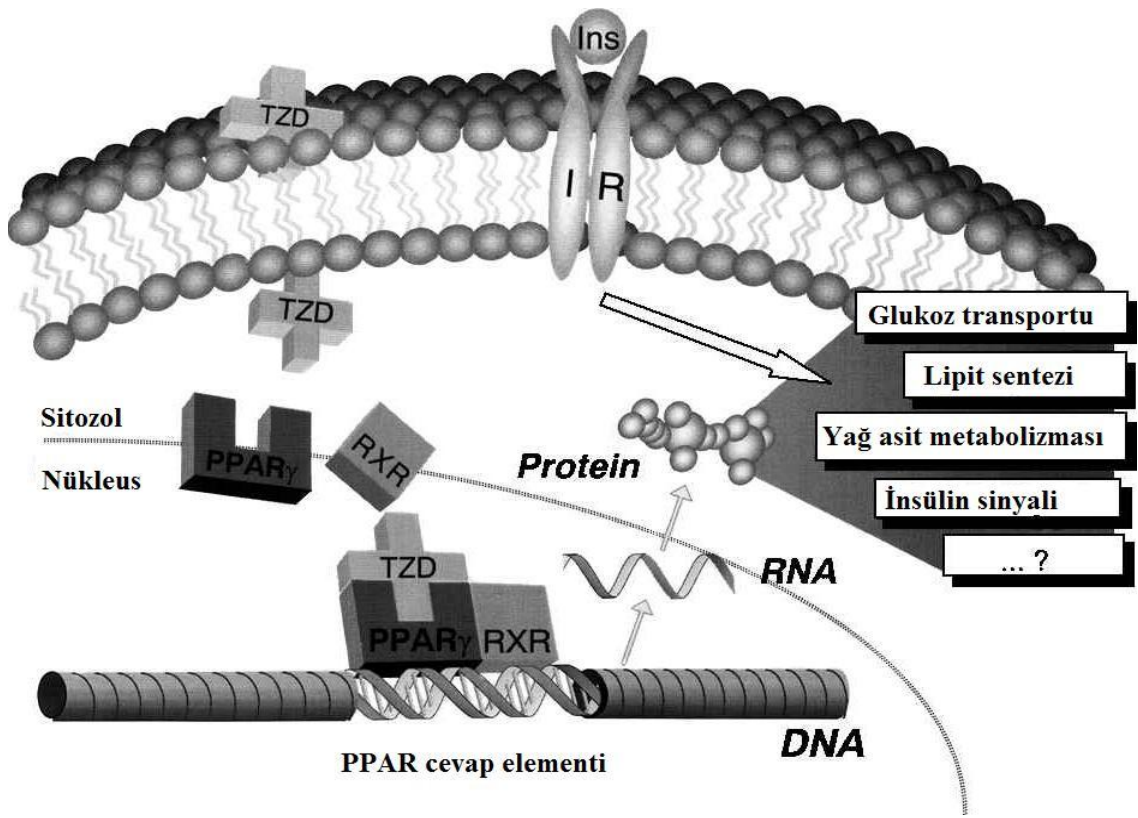
Tiazolidindionlar (TZD), primer etkilerini peroksizom proliferatörleri ile aktive olan reseptör-gama (PPAR γ) olarak adlandırılan özgün reseptörleri aktifleştirerek gösterirler. İnsülin etkisini ve lipid metabolizmasını modüle eden genlerin ekspresyonunu değiştirirler. Sonuçta; kas, karaciğer ve yağ dokusundaki insülin duyarlılığını arttırarak insülin direncini azaltırlar. Bu nedenle PPAR γ ligandı olan ilaçlara “insulin sensitizer” denir. Rosiglitazon ve pioglitazon olmak üzere iki agonist kullanımda mevcuttur (164,156).

2.6.1. Peroksizom proliferatörleri ile aktive olan reseptörler

İnsülin duyarlılığı ve hücre içi lipid metabolizması ile ilişkili besin molekülleri, metabolitler, hormonlar, büyüme faktörleri, inflamatuvar sinyaller ve ilaçlar tarafından indüklenen hücresel bilginin transkripsiyon faktörleri tarafından bütünleştirilmesine en iyi örnek PPAR reseptörleridir (9). PPAR’lar hormonla aktifleşen nükleer reseptör ailesindedir. Reseptörlere ligand bağlanmasından sonra PPAR’larda özgün konformasyonel değişiklikler olur. Bu da birçok koaktivatör proteinin reseptörle etkileşmesine neden olur. Ligandlar reseptörlere bağlandığında uygun koaktivatörler harekete geçerek, çeşitli biyolojik yanıtların oluşmasını başlatırlar (19). PPAR’lar ligand bağlanmasına yanıt olarak, retinoid x reseptörleri (RXR) ile etkileşerek gen ekspresyonunu düzenlerler. Değişik izoformları vardır: PPAR alfa-PPAR beta/delta ve PPAR gama. Alfa temel olarak karaciğer tarafından eksprese edilir. Yağ asidi metabolizmasında merkezi rol oynar ve fibrat içeren ilaçlar için bir hedef teşkil eder. PPAR beta/delta pek çok farklı dokuda eksprese edilir ve bu ekspresyonun bazı yağ asitleri tarafından düzenleniyor olması kuvvetle muhtemeldir.

PPAR gama başlıca adipoz doku olmak üzere pankreatik beta hücreleri, vasküler endotel ve makrofajlarda eksprese edilir (Şekil 2.15). Karaciğer, kalp ve iskelet kası gibi PPAR alfanın daha fazla eksprese edildiği dokularda gama ekspresyonu düşüktür. İskelet kasında PPAR gama eksik farelerde glukoz intoleransı, hiperinsülinemi ve ciddi

insülin direnci olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma ile PPAR gama'nın düşük ekspresyonuna rağmen yaşamsal role sahip bir unsur olduğu ortaya çıkarılmıştır (128). İki tipten oluşur Gama 1 ve 2 Gama 1 monosit, makrofaj dizisinde, dalağın lenfoid hücrelerinde ve kemik iliğinde yüksek oranda eksprese edilir ve immunoregülasyon için önem taşır. PPAR gama 2 adipoz doku ile sınırlıdır. Adiposit farklılaşma ve olgunlaşmasında, lipid ve glukoz metabolizmasında yaşamsal role sahiptir.



Şekil 2.15. Tiazolidindionların etki mekanizması

(http://pdfserve.informaworld.com/731408_758064766_713782132.pdf)

Tiazolidindionların birçok süreci modüle ederek insüline duyarlılığı arttırdığı düşünülmektedir. Bunlar arasında insülin reseptör kinaz etkinliği, insülin reseptör fosforilasyonu, insülin reseptörlerinin sayısı ve hepatik glikoz metabolizmasına etkileri sayılabilir.

Tiazolidindionlar PPAR gama'ya bağlanarak ve reseptörü aktifleştirerek insülin aracılı glukoz alımını, adiposit farklılaşmasını sağlar (74). Leptinin ve tümör nekroz faktör alfanın (TNF- α) serbestleşmesini azaltırken, lipoprotein lipaz, adiposit lipit bağlayıcı protein ve GLUT-4'ün salınımını arttırlar (126). İnsülin sekresyonu üzerine etkileri yoktur, ancak pankreas beta hücre fonksiyonunda iyileşme sağlarlar (59). Tiazolidindionların adiposit farklılaşması ile serbest yağ asitlerinin hücreye alımı sonrası depolanmalarını arttırıcı etkileri göz önüne alındığında yağ dokusunda bir büyüme olacağı öngörülebilir. Diğer yandan da insülin direncindeki azalma karaciğer ve kas gibi dokularda yağ miktarının azalmasıyla açıklanmaktadır (164). Yani tiazolidinedionların yağ dokusu artışından ziyade asıl etkileri yağ dağılımı ile ilgilidir. Tip 2 diabetes mellitusun patogenezi ve tiazolidinedionların etki mekanizmaları göz önüne alındığında, tiazolidinedionların net etkileri; periferik dokularda glukoz alımında artma ve karaciğerde azalan insülin direnci sonucu karaciğer glukoz üretiminde azalma şeklinde özetlenebilir (164).

Tiazolidindionlar hızlıca ve neredeyse tamamen emilirler. Gıdalarla alındıklarında emilimleri hafif gecikir. Plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanırlar (>%99). Rosiglitazon çok zayıf aktivite gösteren metabolitlerine dönüşerek idrarla atılır. Pik plazma konsantrasyonu 1. saatte başlar. Eliminasyon yarı ömrü dozdan bağımsızdır ve 3-4 saattir. Başlıca sitokrom P450-CYP2C8 ile metabolize edilir.

Tiazolidindionların çok yönlü etkileri:

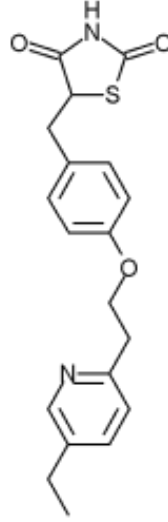
- Glisemi kontrolü
- HbA1c' de azalma
- Serbest yağ asitlerinde azalma
- Lipid profilinde iyileşme (pioglitazon için daha belirgin)
- Beta hücre kitlesinin ve fonksiyonunun korunması
- İnsülin ve C peptid düzeyinde azalma
- Adiponektin ve leptinde artma
- Kan basıncında azalma
- İnflamatuar belirteçlerde (CRP, IL-6) azalma
- Fibrinolitik sistemde olumlu etkiler
- Endotelyal fonksiyonlarda düzelme
- İntima-media kalınlığında azalma
- Visseral/subkutan yağ oranında azalma
- Polikistik over sendromu ve hepatosteatozun tedavisinde olumlu etkileri

2.6.2. Pioglitazon:

Pioglitazon PPAR gama için oldukça selektif bir agonisttir. Lipofilik olduğu için reseptöre bağlanma affinitesi yüksektir (Şekil 2.16). Pioglitazon ile GLUT aktivasyonu, glukoz alımı ve kullanımının artışı, lipoprotein lipaz aktivasyonu, lipogenez, adiposit diferansiyasyonu, yağ asidi membran taşıyıcılarında artış meydana gelir. Bu etkileri ile kas ve yağ hücrelerinin glukoz alımı, yağ hücrelerinin yağ asidi alımı, yağ dokusunda lipogenez artarken; karaciğer hücrelerinde glukoneogenez azalır. Pioglitazon metabolitleri çok daha aktiftir ve esas olarak safra ile atılırlar. Renal yetmezlikte verilebilir, doz ayarlaması yapma gereği yoktur. Açlıkta alınmayla 30 dakika içinde serumda ölçülebilir hale gelebilir ve 2. saatte pik konsantrasyona ulaşır.

Başta albumin olmak üzere serum proteinlerine %99'un üzerinde bağlanır. Yemekle alımın pik konsantrasyon süresini uzatır ama emilimini azaltmaz. Yarılanma ömrü 3-7 saattir. Pioglitazonun aktif metabolitlerinin yarılanma ömrünün 26-28 saat

olması pioglitazonun günde tek doz olarak kullanılmasını sağlar. Pioglitazon CYP3A4 ile metabolize edilir. Oral kontraseptiflerle benzer enzim üzerinden metabolize edildiklerinden etkileşim olabilir (74).



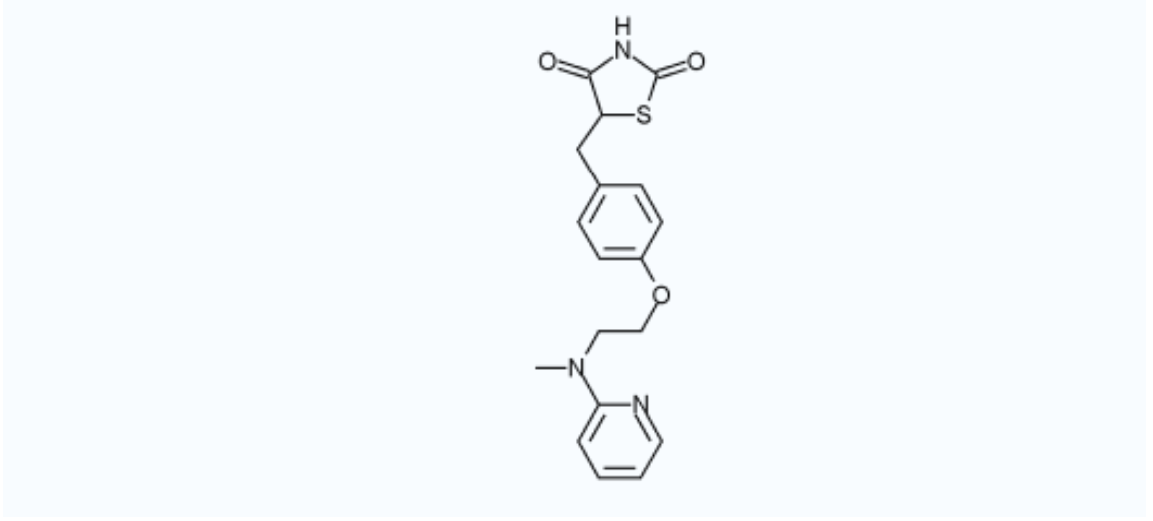
Şekil 2.16. Pioglitazonun kimyasal yapısı

(www.biocrawler.com/.../8a/&sort=size&order=asc)

Pioglitazon hücrelerin insülin duyarlılığını artırarak insülin bağımlı glukoz kullanımını artırır. Böylece yükselmiş olan plazma glukoz konsantrasyonları, plazma insülin seviyeleri ve HbA1c değerlerinde azalma görülür. Trigliserid ve serum VLDL düzeylerini azaltırken HDL seviyesini artırır. Serum LDL düzeylerinde ise bir miktar azalma görülür veya değişiklik olmaz (33).

2.6.3. Rosiglitazon:

Tiazolidindion grubu ilaçlardan anti-diabetik bir ilaçtır (Şekil 2.18). Glisemik kontroldeki önemli etkilerine karşın yan etkiler üzerindeki endişeler rosiglitazon kullanımını azaltmıştır. Diğer tiazolidindionlar gibi rosiglitazonun da etkisi PPAR- γ 'ların hücre içi reseptörlerinin aktivasyonu yoluylaadır. PPAR- γ için selektif ajandır ve PPAR- α 'ya bağlanma bölgesi içermemektedir (102).



Şekil 2.17. Rosiglitazonun kimyasal yapısı
(www.biocrawler.com/.../c0/&sort=size&order=asc)

Rosiglitazon karaciğerde başlıca CYP2C8 ve az ölçüde CYP2C9 (12) enzimleriyle metabolize olur. İdrarda hiç değişmemiş ilaç çıkmaz. Metabolitlerinin antidiyabetik aktivitesi önemsiz ölçüdedir. Metabolik değişim N-demetilasyon, hidroksilasyon ve ardından sülfat ve glukuronid konjugasyonu ile olur (102).

İnsulin direnci etkisinden ayrı olarak, rosiglitazon kullanan hastalar üzerinde antiinflamatuvar etkilere sahiptir: (41) nuclear factor kappa-B (NFκB) düzeyleri düşer ve inhibitör (IκB) düzeyleri artar (58). Ülseratif kolitte de antiinflamatuvar etkisinden dolayı kullanılabilir. Alzheimer'lı hastalarda da yararlı etkilere sahiptir (57).

3. YÖNTEMLER

Deney hayvanları:

Çalışmalara başlamadan önce Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan onay alınmıştır. ESOĞÜ Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden (TICAM) alınan *Wistar albino* türü 250 – 300 gr ağırlığındaki 72 erkek sıçan her grupta 8 deney hayvanı olacak şekilde 9 gruba ayrılarak 12 saat karanlık 12 saat aydınlık ortamda, %45-65 nem oranı 22 ± 1 °C sabit oda ısısı sağlanan ESOĞÜ Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında barındırılmıştır. Sıçanlara yem ve su kısıtlaması yapılmamıştır.

Tablo 3.1. Deney grupları ve gruplardaki sıçanların özellikleri

Gruplar	Gruplardaki sıçanların özellikleri
Kontrol	Gruptaki sıçanlar 81 gün boyunca bazal diyet ile beslendiler. 60. günden itibaren sıçanlara ilaçların çözücülerini olan %0,1 DMSO ve serum fizyolojik oral gavaj yöntemi ile günde bir kez verildi.
Grup 1	Gruptaki sıçanlar 81 gün boyunca %2 kolesterol ve %1 kolik asit içeren bazal diyet ile beslendiler. 60. günden itibaren sıçanlara ilaçların çözücülerini olan %0,1 DMSO ve serum fizyolojik oral gavaj yöntemi ile günde bir kez verildi.
Grup 2	Gruptaki sıçanlar 81 gün boyunca %2 kolesterol ve %1 kolik asit içeren bazal diyet ile beslendiler. 60. günden itibaren sıçanlara oral gavaj yöntemi ile günde bir kez 1 mg/kg/gün rosiglitazon verildi.
Grup 3	Gruptaki sıçanlar 81 gün boyunca %2 kolesterol ve %1 kolik asit içeren bazal diyet ile beslendiler. 60. günden itibaren sıçanlara oral gavaj yöntemi ile günde bir kez 4 mg/kg/gün rosiglitazon verildi.
Grup 4	Gruptaki sıçanlar 81 gün boyunca %2 kolesterol ve %1 kolik asit içeren bazal diyet ile beslendiler. 60. günden itibaren sıçanlara oral gavaj yöntemi ile günde bir kez 10 mg/kg/gün atorvastatin verildi.
Grup 5	Gruptaki sıçanlar 81 gün boyunca %2 kolesterol ve %1 kolik asit içeren bazal diyet ile beslendiler. 60. günden itibaren sıçanlara oral gavaj yöntemi ile günde bir kez 1 mg/kg/gün rosiglitazon ve 10 mg/kg/gün atorvastatin verildi.
Grup 6	Gruptaki sıçanlar 81 gün boyunca %2 kolesterol ve %1 kolik asit içeren bazal diyet ile beslendiler. 60. günden itibaren sıçanlara oral gavaj yöntemi ile günde bir kez 4 mg/kg/gün rosiglitazon ve 10 mg/kg/gün atorvastatin verildi.
Grup 7	Gruptaki sıçanlar 81 gün boyunca %2 kolesterol ve %1 kolik asit içeren bazal diyet ile beslendiler. 60. günden itibaren sıçanlara oral gavaj yöntemi ile günde bir kez 3 mg/kg/gün pioglitazon verildi.
Grup 8	Gruptaki sıçanlar 81 gün boyunca %2 kolesterol ve %1 kolik asit içeren bazal diyet ile beslendiler. 60. günden itibaren sıçanlara oral gavaj yöntemi ile günde bir kez 3 mg/kg/gün pioglitazon ve 10 mg/kg/gün atorvastatin verildi.

Kontrol grup bazal diyet (Karbonhidat, protein, selülöz, yağ, kalsiyum, fosfor, tuz, manganez, Vit A, Vit B₁, Vit B₂, Fe, Cu, I, Co içeren standart fabrikasyon yem) almıştır. Diğer sıçanlar %2 kolesterol (Aldrich) ve %1 kolik asit (Sigma) eklenmiş bazal diyeti 60 gün almıştır. Sıçanlardan 30 ve 60 gün sonrasında eter anestezisi eşliğinde intrakardiyak uygulama ile kan alınıp serum elde edilmiş ve lipit profilleri (Total kolesterol, trigliserid, HDL-C, LDL-C) belirlenmiştir. 60. günden itibaren sıçanlar tabloda belirtildiği şekilde ilaç tedavilerini ve hiperkolesterolemik yemi 21 gün almaya devam etmişlerdir (Tablo 3.1). Tüm ilaç ve çözücüler sıçanlara oral gavaj yoluyla uygulanmıştır. 81. gün sonunda bütün hayvanlar eter anestezisi ile öldürülmüş, kan örnekleri toplanmıştır.

Kanlar serum (rutin ve manuel ölçümler için) ve plazma (HPLC çalışmaları için) eldesi için uygun ayrı tüpler içerisine (serum için jelli tüp, plazma için heparinli tüp) alınarak 1097 g.'de 10 dakika santrifüj edildiler (Jouan MR 22). Üstte berrak renkte ayrılan serum ve plazma örneklerinin bir kısmı pipetle (eppendorf) başka bir eppendorf tüpe alınarak ölçüm zamanına kadar -80 °C'de derin dondurucuda (Jouan VX350 series Thermo Electron) saklandı. Kalan serum örneklerinde aynı gün içinde lipit profilleri rutin laboratuarda ölçüldü.

İlaçların hazırlanması: Rosiglitazon (sanovel) DMSO (Sigma) (%0,1) içinde atorvastatin (sanovel) ve pioglitazon (sanovel) %0,9 NaCl içinde manyetik karıştırıcı (Labinco Hotplate) yardımı ile çözülerek sıçanlara oral gavaj yolu ile günde bir kez uygulanmıştır.

3.1. RUTİN BİYOKİMYASAL TESTLER

Rutin biyokimyasal testlerin (Total kolesterol, LDL-C, HDL-C, Trigliserit, Apo A-1, Apo B, hsCRP, ALT ve AST) ölçümü Modular Systems (Roche Diagnostics) analizör ile yapıldı.

Total Kolesterol (TC), Trigliserid (TG), HDL-C, LDL-C, enzimatik kolorimetrik yöntemeye dayanan metod ile üretici firmanın önerilerine uygun olarak kit kullanılarak ölçüldü.

Kolorimetri, bir ışık kaynağından çıkan, gözle görülen (350-780 nm dalga boyunda) ışığın renkli bir çözelti içerisinde geçerken, oluşturduğu absorbansın ölçülmesi prensibine dayanmaktadır. Konsantrasyonu belli olmayan bir maddenin meydana getirdiği rengin aynı maddenin konsantrasyonu belli miktarı ile eşit koşullarda meydana getirdiği renk ile kıyaslanarak konsantrasyonunun hesaplanması amaçlanmıştır.

3.1.1. Kolesterol Ölçüm Test Prensibi: Kolesterol esterleri, kolesterol esteraz aracılığıyla serbest kolesterol ve yağ asitlerine kantitatif olarak parçalanmıştır. Kolesterol oksijen bulunan ortamda, kolesterol oksidaz aracılığıyla kolest-4-en-3-on ve hidrojen peroksida oksitlenmiştir. Peroksidaz bulunan ortamda, oluşturulmuş hidrojen peroksit 4-amino fenazon ve fenol ile reaksiyona girerek kırmızı bir boya oluşturulmuştur. Bu boyanın renk yoğunluğu kolesterol konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve fotometrik olarak ölçülmüştür.

3.1.2. LDL Kolesterol Ölçüm Test Prensibi: LDL-kolesterol esterleri, kolesterol esteraz aracılığıyla serbest kolesterol ve yağ asitlerine kantitatif olarak parçalanmıştır. Kolesterol oksijen bulunan ortamda, kolesterol oksidaz aracılığıyla kolestenon ve hidrojen peroksida oksitlenmiştir. Peroksidaz bulunan ortamda, oluşturulmuş hidrojen peroksit 4-amino antipirin ve HSDA (Sodyum N-(2-hidroksi-3-sülfopropil)-3,5-dimetoksianilin ile reaksiyona girerek mor-mavi bir boya oluşturulmuştur. Bu boyanın renk yoğunluğu kolesterol konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve fotometrik olarak ölçülmüştür.

3.1.3. HDL Kolesterol Ölçüm Test Prensi: Magnezyum sülfat ve dekstarn sülfat LDL, VLDL ve şilomikronlar ile suda çözünür kompleksler oluşturdu. Daha sonra ortamdaki HDL kolesterol LDL kolesterol ile aynı prensibe dayalı olarak ölçülmüştür.

3.1.4. Trigliserid Ölçüm Test Prensi: Trigliseridlerin gliserole hızlı ve tam olarak hidrolize olması ve sonrasında dihidroksiketon fosfat ve hidrojen peroksida okside olması için mikroorganizma lipoprotein lipazlarının kullanımını esas alınmıştır. Üretilen hidrojen peroksit daha sonra 4-aminofenazon ve 4-klorofenol ile kırmızı bir boya maddesi oluşturmak için peroksidazın katalitik etkisi altında reaksiyona girmiştir.

Lp(a), Apo AI, Apo B ve hsCRP düzeyleri immünotürbidimetrik yöntemeye dayanan Roche Diagnostics kitleri kullanılarak üretici firmanın önerilerine uygun olarak Modular Systems (Roche Diagnostics) analizörde belirlenmiştir.

Türbidimetri bulanıklığın ölçümüdür; çözülden geçen ışık şiddetinin, çözültiyeye gelen ışığın şiddetine oranının ölçümünü gerçekleştiren bir cihaz (spektrofotometre veya fotometre) ile ölçülür.

3.1.5. Lp(a) Ölçüm Test Prensi: Fosfat tamponu çözültisine (pH: 7,5) numune eklenmesi sonrası anti-lipoprotein (a) antikoru ve reaksiyonun başlaması ile anti-lipoprotein (a) antikoları numune içindeki antijenle reaksiyona girip, bir antijen-antikor kompleksi oluşturmuş ve ardından aglütinasyon türbidimetrik olarak ölçülmüştür.

3.1.6. Apo A1 Ölçüm Test Prensi: Tris tamponu çözültisine (pH: 8,0) numune eklenmesi sonrası anti-apolipoprotein A1 antikoru ve reaksiyonun başlaması ile anti-apolipoprotein A1 antikoları numune içindeki antijenle reaksiyona girip, bir antijen-antikor kompleksi oluşturmuş ve ardından aglütinasyon türbidimetrik olarak ölçülmüştür

3.1.7. Apo B Ölçüm Test Prensi: Tris tamponu çözültisine (pH: 8,0) numune eklenmesi sonrası anti-apolipoprotein B antikoru ve reaksiyonun başlaması ile anti-apolipoprotein B antikoları numune içindeki antijenle reaksiyona girip, bir antijen-

antikor kompleksi oluşturmuş ve ardından aglütinasyon türbidimetrik olarak ölçülmüştür.

Alanin Aminotransferaz (ALT) ve Aspartat Aminotransferaz (AST) fotometrik ölçüm yöntemine dayanan Roche Diagnostics kitleri ile üretici firmanın önerilerine uygun olarak Modular Systems (Roche Diagnostics) analizörde belirlenmiştir.

3.1.8. hsCRP Ölçüm Test Prensi: Partikül yüzeyi genişletilmiş immünütürbidimetrik bir testtir. Lateks mikropartiküllerine bağlanmış anti-CRP antikorları numune içindeki antijenle reaksiyona girip, bir antijen/antikor kompleksi oluşturmuştur. Aglütinasyonun ardından bu türbidimetrik olarak ölçülmüştür.

3.1.9. ALT Ölçüm Test Prensi: ALT denge reaksiyonunu katalizlemiştir. Piruvattaki artış laktat dehidrogenaz ile kataliz edilen bir indikatör reaksiyonunda belirlenmiştir. NADH NAD⁺'ya okside edilmiştir. NADH'da meydana gelen azalma piruvat oluşumu ile ve ALT aktivitesi ile doğru orantılı olarak belirlenmiştir.

3.1.10. AST Ölçüm Test Prensi: AST denge reaksiyonunu katalizlemiştir. Okzolasetattaki artış malat dehidrogenaz ile kataliz edilen bir indikatör reaksiyonunda belirlenmiştir. NADH NAD⁺'ya okside edilmiştir. NADH'da meydana gelen azalma okzolasaeat oluşumu ile ve AST aktivitesi ile doğru orantılı olarak ölçülmüştür.

3.2. HDL ANTIOKSİDAN KAPASİTESİ ÖLÇÜMÜ

HDL'nin okside LDL'ye karşı in vitro şartlarda antioksidan kapasitesini ölçen florometrik bir metoddur.

Florometri, Belirli bir ışık kaynağından çıkan UV ışık, çözelti içindeki maddeler tarafından absorbe edilerek (emisyon) daha uzun bir dalga boyu (görünür ışık) şeklinde yayımlanırsa (eksitasyon) buna floresans denir. Floresansın ölçüm yöntemine ise florometri denir.

3.2.1. LDL Partiküllerinin Çöktürülmesi:

Heparin asidik polisakkarit niteliğinde ve yapısında bulunan sülfü gruplarının sıklığı nedeniyle güçlü anyonik bir maddedir. Bu özelliğinden dolayı heparin doğal maddelerle kolayca birleşip kompleks yapabilir (76).

LDL partiküllerinin çöktürülme metodu, heparinin bu kimyasal özelliğinden yararlanılarak, 5,11 pH'da, Mg^{2+} , Ca^{2+} veya Mn^{2+} gibi iki değerlikli katyonların yokluğunda, düşük dansiteli lipoproteinlerin heparinle çökmeleri prensibine dayanır (76).

Reaktifler:

- 0,064M trisodyum sitrat (Merck) tamponu pH, pHmetre (Inolab) ile 5,04'e ayarlandı.
- 5N HCL (Sigma)
- 50000 İÜ/L Heparin (Panpharma 25000 IU/5ml)
- Triton X-100 (Sigma)

Deney Protokolü:

Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarına gönderilen hasta serumlarından havuz oluşturuldu. 500 µl serum her bir santrifüj tüpüne konuldu, üzerine 5 ml heparinli trisodyum sitrat tampon çözeltisi ilave edildi. Tüpler vorteksle karıştırıldıktan sonra oda ısısında 10 dk. bekletildi ve 1097 g.'de oda ısısında 10 dk. santrifüj edildi (Jouan MR 22).

Tüplerin üst kısmında kalan süpernatant atıldıktan sonra tüplere çökeltinin yıkanması amacıyla 2,5 ml heparinli trisodyum sitrat tampon çözeltisi eklenip bir kez daha 1097 g.'de oda ısısında 10 dk. santrifüj edildi (Jouan MR 22) ve yine süpernatant atıldı, çökeltinin üzerine 1 ml Triton X-100 ilave edildi ve vortekslenerek (Nuve NM110) yeniden çözümleri sağlandı.

3.2.2. HDL İzolasyonu:

Çalışma gününe kadar -80°C'de saklanan plazma örnekleri çıkartılarak oda sıcaklığına getirildiler.

Reaktifler:

- Final konsantrasyonu 20 g/L olan dekstran sülfat (Sigma) (MW 50.000),
- 1,0 mol/L MgCl₂ (Merck)
- Çalışma solüsyonu ise; 10 g/L dekstan sülfat ve 0,5 mol/L MgCl₂'un eşit volümlerde karıştırılmasıyla hazırlandı.

Prosedür:

Örnekler ve reaktifler öncelikle oda ısısına getirildi. Örnekler ve kontrolden 1 ml pipetlenip, cam tüpler içine aktarıldı. Her bir tüpe çöktürücü ajandan 0,1 ml ilave edilip, vortekslendi. Tüpler oda ısısında 10 dk. bektetildikten sonra ise 30 dk. 4°C’de 1500 x g’de santrifüj edildi (Jouan MR 22). Süpernatant kısımlar dikkatlice alındı ve temiz başka bir tüpe aktarıldı (34).

İzole edilen LDL ve HDL konsantrasyonları Roche diagnostics kitleri ile üretici firmanın önerilerine uygun olarak Modular Systems analizörde belirlendi.

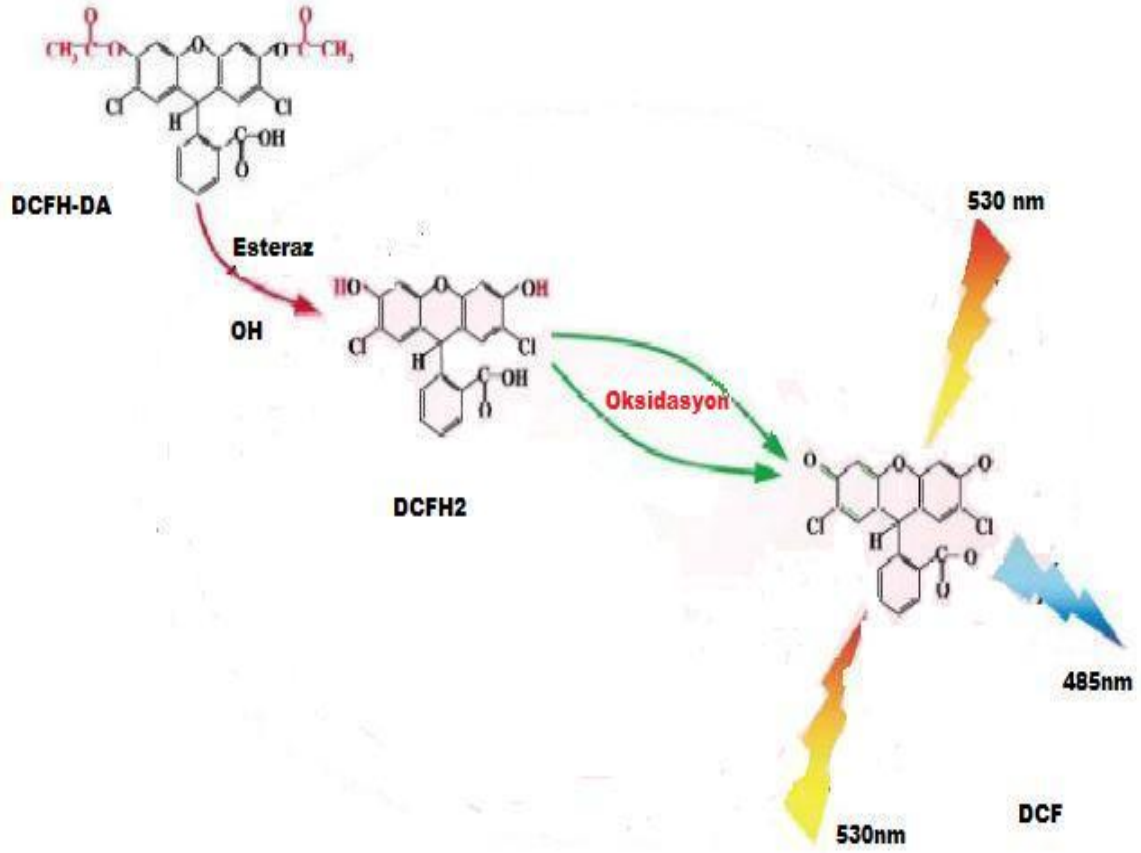
3.2.3. Diklorofloresein (DCF) ile Analizi:

Reaktifler:

- DCFH-DA (Sigma)
- Metanol (Sigma)
- Salin

Diklorodihidrofloresein diasetat (DCFH-DA) 2,0 mg/ml olacak şekilde taze metanol içerisinde çözüldü ve ışıktan korunmuş bir şekilde oda sıcaklığında 30 dk. boyunca inkübe edildi. Bu esnada DCFH salınımı gerçekleştirildi (Şekil 3.1)

10 µl’lik metanolde çözülmüş DCFH polipren tüplere aktarıldı. Daha önceden izole edilmiş HDL ve oluşturulan LDL havuzundan alınan örneklerin konsantrasyonları istenen final konsantrasyonlara ayarlandı.



Şekil 3.1. Diklorofloresein Diasetatın Oksidasyonu

Bu ayarlamalardan sonra serum havuzundan elde edilen 200 µl normal LDL solusyonu (final konsantrasyonu 50 µg/ml), 900 µl test edilecek serum HDL (final konsantrasyonu 10 µg/ml kolesterol) vidalı kapaklı tüplere konuldu. Karanlık bir ortamda oda ısısında 1 saatlik inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi dolduktan sonra 100 µl DCF solusyonundan (0,2 mg/ml) her bir tüpe aktarıldı ve toplam hacim salin ile 1 ml'ye tamamlandı. Karışım 1 dk. vortekslendi ve tekrar 2 saatlik inkübasyona bırakıldı. Floresein okumaları belirli zaman aralıklarında 485 nm. eksitasyon, 530 nm. emisyon dalga boylarında spektrofluorometre (Jasco FP-750) ile belirlendi.

Bulunan değerler; Floresans Ünitesi olarak tanımlanan (FU) birim şeklinde verildi. LDL'nin DCF ile vermiş olduğu FU değeri 1 alındı. 1'in altı değerler antioksidan olarak ve 1 üstü değerler prooksidan olarak değerlendirildi (46).

3.3. NİTRİK OKSİT (NO) ÖLÇÜMÜ:

Birçok çalışmada vücutta endojen olarak üretilen NO konsantrasyonu total nitrit ve nitrat cinsinden hesaplanır. Çünkü üretilen NO çok hızlı bir şekilde önce nitrite (NO_2^-) sonra da nitrata (NO_3^-) dönüşür. Deproteinizasyon işlemi ile ortamdan proteinler uzaklaştırıldıktan sonra nitrit ve nitrat ölçümlerine geçilir (44).

1) Deproteinizasyon işlemi:

125 µl serum, 500 µl 75 mM çinko sülfat çözeltisi üzerine 625 µl 55 mM NaOH (Merck) çözeltisi ilave edildi. 10 dakika beklendi. Daha sonra 10 dakika 1163 g. de santrifüj edildi (Jouan MR 22)

2) Kadmiyum aktivasyonu:

Yaklaşık 750 mg kadmiyum (Fluka) 0,1 M sülfirik asit (Riedel) içinde bekledikten sonra alındı. 3 kez distile suda yıkandı. 2 dak. 5 mM CuSO_4 içerisinde beklenip drenaj yapılarak glisin (%1,5) ile 3 kez yıkandı ve 10 dk. içerisinde kullanıldı.

3) Reaksiyon:

250 µl Glisin, 250 µl süpernatant ve 500 µl distile üzerine aktive edilmiş kadmiyum eklendi. 90 dak. oda sıcaklığında beklendi. Buradan 500 µl alınarak üzerine 25 µl distile su, 250 µl sülfanilamid (Sigma) (%1) ve 250 µl Naftiletiledimin (Sigma) (%0,02) çözeltisi eklendi ve 45 dak. oda ısısında beklendi. Oluşan pembe renk

şiddetinden yararlanılarak ölçüm Elisa okuyucuda (Perkin Elmer/Victor/X3) 545 nm. de 96 kuyucuklu plakalara aktarılarak spektrofotometrik ölçüm prensibine göre gerçekleştirildi (44).

Hesaplama; standartın konsantrasyonundan yararlanılarak ve dilüsyon faktörü de göz önüne alınarak numunelerin NO değerleri $\mu\text{mol/mL}$ cinsinden hesaplandı.

3.4. ASİMETRİK DİMETİLARJİNİN (ADMA) ÖLÇÜMÜ:

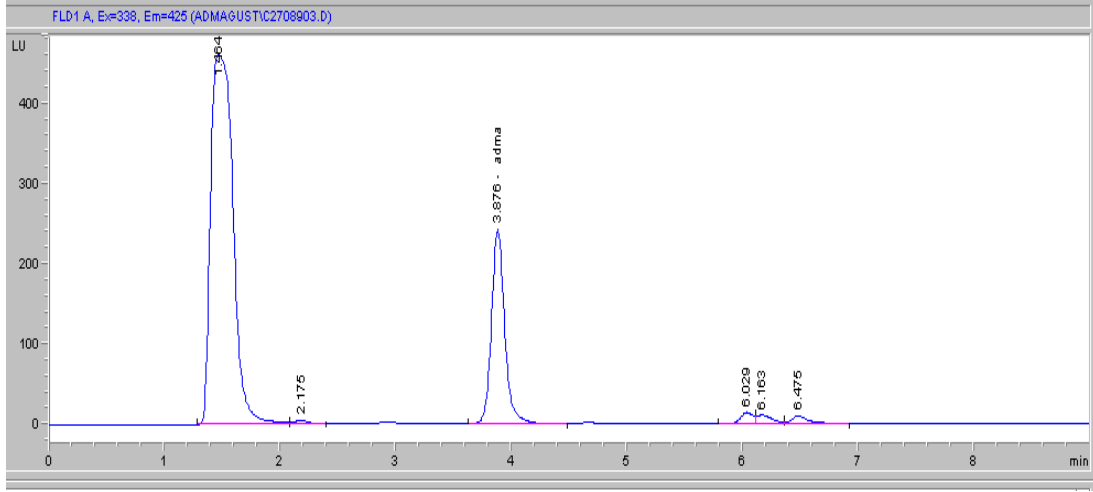
Asimetrik dimetilarjinin düzeyleri yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile ölçüldü (Şekil 3.2).

Kromatografi genel anlamda bir karışımı oluşturan bileşiklerin veya maddelerin iki ayrı faz arasında ve bu fazlardaki hareket hızlarının farklılıklarına dayanarak hem nitelik hem de nicelik olarak ayrıştırılması işlemidir. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisinde genelde organik bileşiklerin taşıyıcı sıvı içinde sisteme yüksek basınç (yaklaşık 40 atm) ile verilmesiyle analitik kolondan çıkan numuneler detektörde tutulur ve miktar tayini yapılır.

ADMA ölçümü Jones ve Wu'nun tarif ettikleri metodun modifiye şekliyle yapıldı. Serumun deproteinizasyonu amacıyla çöktürücü (5-sülfosalisilik asit) kullanıldı. Bu amaçla 100 μl serum üzerine 100 μl çöktürücü reaktif eklendi ve 10 saniye vortekslendi. +4C'de 10 dakika inkübasyona bırakıldı. 11712 g'de 10 dakika santrifuj edildi. Daha sonra 25 μl süpernatant üzerine 180 μl türevlendirici reaktif (borat tamponu içeren Waters AccQ-FluorTM kit) eklendi. Bu karışımın 20 μl 'si HPLC sistemine enjekte edildi ve ADMA miktarları ölçüldü. HPLC'de kolon olarak 5 μm genişliğinde porlara sahip C18 150x4.6mm kolonu kullanıldı. Mobil faz A ve mobil faz B olmak üzere iki çeşit mobil faz hazırlandı (85,185).

Serumdaki analitlerin ayrılması için kolon sıcaklığı 25 °C' ye ayarlandı ve mobil fazın akış hızı 1 ml/dk olarak verildi. ADMA ölçümleri floresan dedektörle yapıldı. Floresan dedektörün eksitasyon dalga boyu 338 nm, emisyon dalga boyu ise 425 nm idi.

ADMA konsantrasyonlarının hesaplanması için standart çözelti kullanılarak standart grafik çizildi. Sonuçlar litre serum başına mikromol/Litre ($\mu\text{mol/L}$) olarak ifade edildi.



Şekil 3.2. ADMA kromatogramı

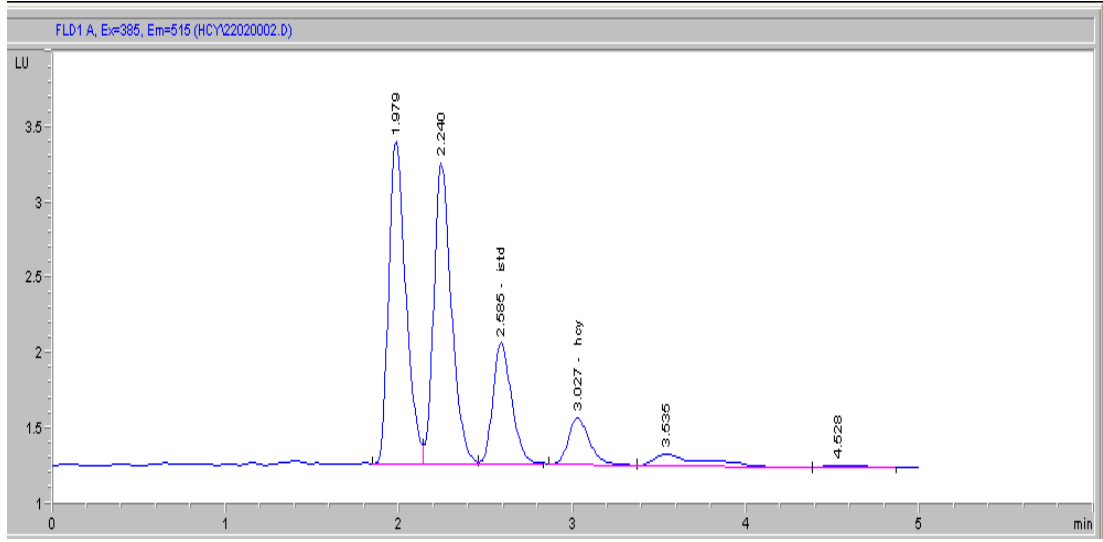
3.5. HOMOSİSTEİN:

Homosistein düzeyleri HPLC kiti (Chromsystems) ile Agilent 1100 HPLC sistemi kullanılarak ölçüldü (Şekil 3.3).

Hazırlama prosedürü: Koyu renkli bir ependorf tüpe 100 μl plazma, 25 μl internal standart ve 25 μl indirgeme ayırıcı koyularak 5 saniye vortekslendi. Oda sıcaklığında 5 dakika bekletildi 100 μl çöktürme ayırıcı (Trikloroasetikasit) ilave edilerek 30 saniye vortekslenildikten sonra 7786 g'de 6 dakika santrifüj edildi (Jouan MR 22). Daha sonra beyaz ependorfa 100 μl . türevlendirici karışımı (EDTA/ borat tamponunda çözülmüş ammonium 7-fluorobenze-2-oxa 1,3-diazole-4-sulfonate) konarak üzerine 50 μl süpernatant eklendi ve karıştırıldı. 10 dk. 50-55°C'de su banyosunda bekletildi. Hızlıca çeşme altında soğutulularak HPLC sistemine verildi.

Serumdaki analitlerin ayrılması mobil fazın akış hızı 1,7 ml/dk olarak verildi. Homosistein ölçümleri UV dedektörle yapıldı. Dedektörün eksitasyon dalga boyu 385

nm, emisyon dalga boyu ise 525 nm idi. Enjeksiyon hacmi 20 µl ve referans değerleri plazma için 5,0-14,0 µmol/L idi.



Şekil 3.3. Homosistein kromatogramı

3.6. PARAOKSONAZ-1 (PON-1)

PON aktivitesi tam otomatize edilmiş Paraoksonaz Aktivite Ölçüm kiti (Rel Assay Diagnostics) ile Modüler P (Roche Diagnostics) analizörde üretici firmanın önerilerine uygun olarak yapılmıştır.

Testin prensibi: Örnekteki paraoksonaz enzimi reaksiyon ortamındaki paraokson substratını hidroliz eder ve açığa çıkan ürünün absorbans artışı, absorbans spektrumuna uygun dalga boyunda kinetik olarak izlenir. Nonenzimatik hidroliz değeri, örnek değerinden çıkarılarak enzimatik aktiviteye ait net değerler hesaplanır.

Ayraçlardan bir tanesi kalsiyum içeren Tris çözeltisi idi. İkinci ayraç ise yeni geliştirilen kararlı substrat solüsyonu idi. Paraoksondan üretilen P-nitro fenol'ün absorbansındaki lineer artış, kinetik ölçüm ile belirlendi. Paraoksonun hidroliz oranı

412 nm. dalgaboyunda absorbans oranında artışın gösterilmesiyle ölçüldü. P-nitrofenol'ün molar absorbtivitesi pH 8,5'de $18.290 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ idi ve paraoksonaz aktivitesinin 1 Ünitesi 37°C 'de her dakikada her litrede $1 \mu\text{mol}$ paraoksonu hidroliz eden enzim miktarı olarak tanımlandı. Paraoksonaz aktivitesi U/L serum olarak ifade edildi.

3.7. ARİLESTERAZ

Arilesteraz aktivitesi, tam otomatize edilmiş Arilesteraz Aktivite Ölçüm kiti (Rel Assay Diagnostics) ile Modüler P (Roche Diagnostics) analizörde üretici firmanın önerilerine uygun olarak yapılmıştır.

Testin prensibi: Arilesteraz enzim aktivitesi ölçümünde substrat olarak fenil asetat kullanıldı. Enzimatik aktivite fenol'ün Molar absorpsiyon katsayısından ($1310 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) faydalanarak hesaplandı. Örnekte bulunan PON1, fenil asetatı ürünleri olan fenol ve asetik asite hidroliz etti. Üretilen fenol, 4-aminoantipirin ve potasyum ferrisiyanid ile oksidatif çiftleşme üzerinden 548 nm 'de kolorimetrik olarak ölçüldü. Arilesteraz enzim aktivitesi, U/L olarak hesaplandı.

3.8. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analiz Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda yapıldı. SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 13.0 programı kullanıldı. Veriler ortalama \pm SD olarak özetlendi. Değişkenlerin normallik varsayımları Shapiro Wilk testi ile test edildi. Normal dağılım gösteren verilerin karşılaştırılmaları ANOVA testi ile yapıldı. Varyanslar homojen grupların çoklu karşılaştırılmalarında TUKEY HSD, Normal dağılım göstermeyen verilerin analizinde parametrik olmayan testlerden Kruskal-Wallis One way ANOVA testi kullanılmıştır. Önce ve sonra değerlerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren parametrik değerlere paired samples t-testi, non-parametrik değerlere ise wilcoxon t testi kullanılmıştır. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. LİPİT PROFİLLERİ

Kontrol grubunun 30, 60 ve 81. gün total kolesterol, trigliserid, HDL-C ve LDL-C değerleri Tablo 4.1 de gösterildiği şekilde idi. Belirtilen zamanlardaki ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p>0,05$) (Tablo 4.1, Grafik 4.1).

Tablo 4.1 Kontrol ve Hiperkolesterolemik grupların 30, 60 ve 81. gün lipit profilleri (mg/dl) (ortalama \pm SD)

		Normal sıçan diyeti		Tedavi*
		30. gün	60. Gün (T.Ö)	81. gün (T.S)
Kontrol	T. Kolesterol (mg/dl)	43,5 \pm 2,4	46 \pm 8,6	44,3 \pm 7,5
	Trigliserid (mg/dl)	40,4 \pm 1,7	47,1 \pm 4,01	49,7 \pm 1,9
	HDL-C (mg/dl)	29,3 \pm 6,1	32 \pm 2,4	31,4 \pm 4,3
	LDL-C (mg/dl)	9 \pm 1,8	9 \pm 2,2	11,1 \pm 5,7
Hiperkolesterolemik		Hiperkolesterolemik yem		Tedavi*
		30. gün	60. Gün (T.Ö)	81. gün (T.S)
	T. Kolesterol (mg/dl)	169 \pm 21,1	174,7 \pm 4,9	181,2 \pm 14,8
	Trigliserid (mg/dl)	73,3 \pm 16,4	78,6 \pm 24,7	79,2 \pm 18,3
	HDL-C (mg/dl)	14,7 \pm 1,8	14,2 \pm 1,1	13,5 \pm 1,8
	LDL-C (mg/dl)	91 \pm 9,5	97,3 \pm 6,2	151,2 \pm 4,7 ^a

a: 60. gün LDL değerine göre fark $p<0,05$

Tedavi*: Çözücü (%0,1 DMSO + %0,9 NaCl) 60-81.gün arasında uygulandı.

Hiperkolesterolemik grubun 30, 60 ve 81. gün total kolesterol, trigliserid, HDL-C ve LDL-C değerleri Tablo 4.1'de gösterildiği şekilde idi. 60. gün LDL-C ($97,3 \pm 6,2$) düzeyleri ve 81. gün LDL-C ($151,2 \pm 4,7$) düzeyleri kıyaslandığında anlamlı bir artış bulundu ($p < 0,05$). Ancak diğer ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p > 0,05$) (Tablo 4.1).

Tablo 4.2. Grupların tedavi öncesi ve tedavi sonrası T.kolesterol, Trigliserid, HDL-C ve LDL-C değerleri (mg/dl) (ortalama±SD)

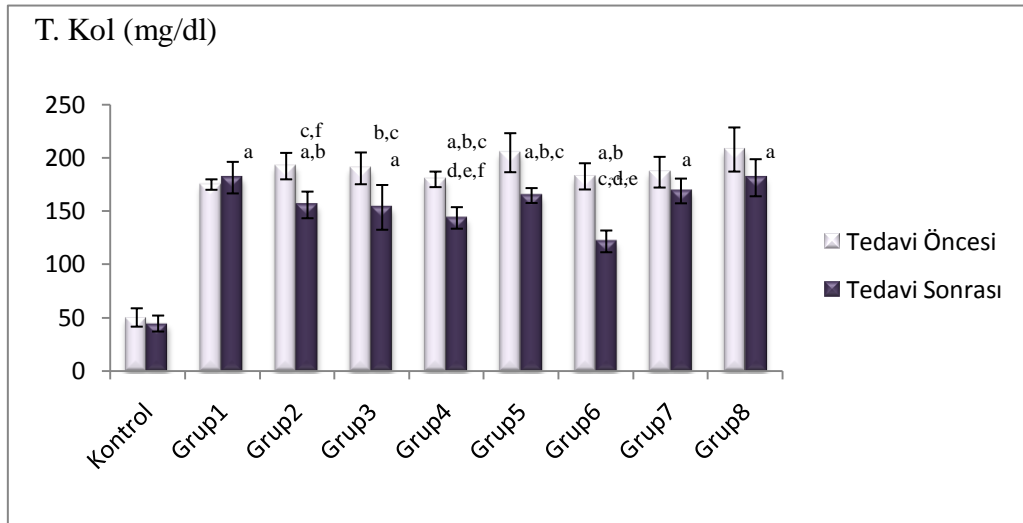
	Total Kolesterol		Trigliserid		HDL-C		LDL-C	
	T. Ö.	T. S.	T.Ö.	T. S.	T.Ö.	T. S.	T.Ö.	T. S.
Kontrol	46±8,6	44,3±7,5	47,1±4,01	49,7±1,9	32±2,4	31,4±4,3	9±2,2	11,1±5,7
Grup 1	174,7±4,9	181,2±14,8	78,6±24,7	79,2±18,3	14,2±1,1	13,5±1,8	97,3±6,2	151,2±4,7
Grup 2	192±12,4	155,6±12,5	107,6±7,9	63±10,1	10,8±1,4	12,2±0,95	142,6±6,7	125,5±13,1
Grup 3	189,9±14,9	153,3±21,0	77,4±12,4	47,6±7,7	13,4±1,2	15,9±1,46	145,7±11,9	123,3±8,0
Grup 4	179,6±7,3	143,4±10,1	93±5,1	60,6±9,0	20,6±0,5	28,7±1,7	130,7±10,5	102,4±4,9
Grup 5	204,6±18,3	164,4±7,0	95,6±8,2	60,4±3,9	17±1,0	27,4±1,2	157,3±7,0	125±11,1
Grup 6	182,4±12,3	121,4±10,2	87,9±18,7	41,3±5,2	7,7±0,7	18,1±0,7	136,8±18,8	86±7,0
Grup 7	186,3±14,4	168,7±11,6	76,6±10,0	33,8±4,0	18,1±1,06	17,1±1,9	138,9±15,0	133,6±25,4
Grup 8	207,6±20,7	181,1±17,4	73±6,7	38,3±5,4	17,6±1,1	26,7±0,9	154,3±8,7	134,1±12,9

T. Ö: Tedavi öncesi (Hiperkolesterolemik yem ile beslendi) T. S.: Tedavi sonrası, Grup1: Hiperkolesterolemik, Grup 2: 1mg.Rosiglitazon, Grup3: 4mg.Rosiglitazon, Grup 4: 10mg.Atorvastatin, Grup5:1mg.Rosiglitazon ve 10mg.Atorvastatin, Grup 6: 4mg.Rosiglitazon ve 10mg.Atorvastatin, Grup 7: 3mg Pioglitazon, Grup 8: 3mg Pioglitazon ve 10 mg Atorvastatin .

Tedavi öncesi ölçüm sonucuna göre farklılık (*: p<0,05, **: p<0,01, ***: p<0,001)

Grup 2, Grup 3, Grup 4, Grup 5, Grup 6, Grup 7 ve Grup 8'in sırasıyla 1 mg rosiglitazon, 4 mg rosiglitazon, 10 mg atorvastatin, 1 mg rosiglitazon ve 10 mg atorvastatin, 4 mg rosiglitazon ve 10 mg atorvastatin, 3 mg pioglitazon, 3 mg pioglitazon ve 10 mg atorvastatin tedavileri aldıktan sonraki total kolesterol düzeylerinde (sırasıyla 155,6±12,5, 153,3±21,0, 143,4±10,1, 164,4±7,0, 121,4±10,2, 168,7±11,6, 181,1±17,4) tedavi öncesi total kolesterol düzeylerine göre (sırasıyla 192±12,4, 189,9±14,9, 179,6±7,3, 204,6±18,3, 182,4±12,3, 182,4±12,3, 186,3±14,4, 207,6±20,7) istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi (sırasıyla p<0,001, p<0,05, p<0,001, p<0,01, p<0,001, p<0,01, p<0,05) (Tablo 4.2, Grafik4.1).

Tedavi sonrası gruplarda, gruplar arası karşılaştırma sonuçlarına göre, Grup 2, Grup 3, Grup 4, Grup 5, Grup 6 total kolesterol değerleri hiperkolesterolemik gruba göre kıyaslanınca anlamlı düzeyde azalma gözlemlendi (p<0,05). Ayrıca bu grupların Grup 8'e göre de total kolesterol değerlerinde anlamlı düzeyde azalma gözlemlendi (p<0,05). Grup 4 ve Grup 6 ise Grup 7'ye göre kıyaslandığında total kolesterol düzeyleri anlamlı düzeyde düşüktü (p<0,05). Grup 6, Grup 4 ve Grup 5'e göre de kıyaslandığında düşük değere sahipti (p<0,05) (Grafik 4.1).

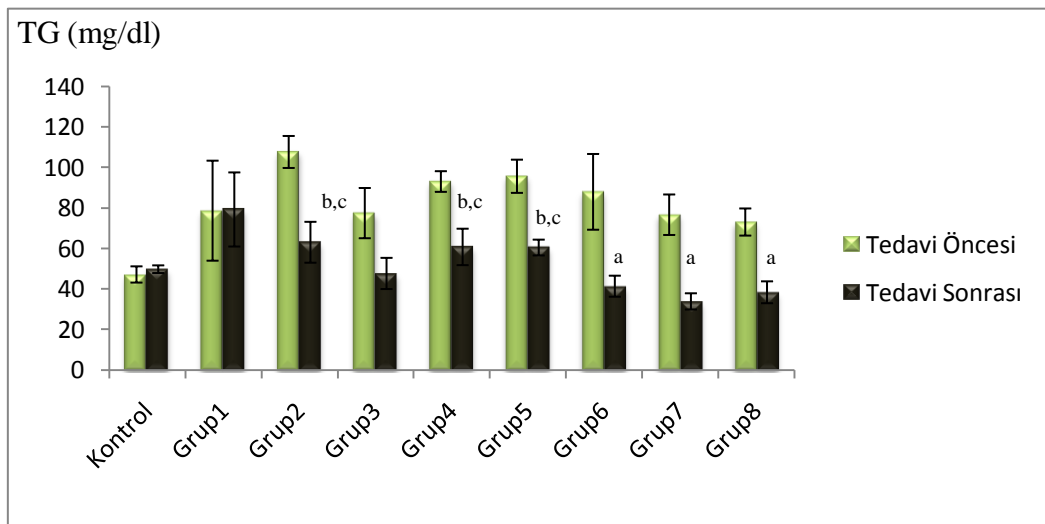


Grafik 4.1. Grupların tedavi öncesi ve tedavi sonrası Total Kolesterol değerleri

Tedavi sonrası a: kontrole göre anlamlılık, b: Grup 1'e göre anlamlılık, c: Grup 8'e göre anlamlılık, d:Grup 7'ye göre anlamlılık e: Grup 5'e göre anlamlılık, f: Grup 6'ya göre anlamlılık (p<0,05)

Grup 2, Grup 3, Grup 4, Grup 5, Grup 6, Grup 7 ve Grup 8'in sırasıyla 1 mg rosiglitazon, 4 mg rosiglitazon, 10 mg atorvastatin, 1 mg rosiglitazon ve 10 mg atorvastatin, 4 mg rosiglitazon ve 10 mg atorvastatin, 3 mg pioglitazon, 3 mg pioglitazon ve 10 mg atorvastatin tedavileri aldıktan sonraki trigliserid düzeylerinde (sırasıyla $63 \pm 10,1$, $47,6 \pm 7,7$, $60,6 \pm 9,0$, $60,4 \pm 3,9$, $41,3 \pm 5,2$, $33,8 \pm 4,0$, $38,3 \pm 5,4$) tedavi öncesi trigliserid düzeylerine göre (sırasıyla $107,6 \pm 7,9$, $77,4 \pm 12,4$, $93 \pm 5,1$, $95,6 \pm 8,2$, $87,9 \pm 18,7$, $76,6 \pm 10,0$, $73 \pm 26,6$) azalma gözlemlendi. Bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla $p < 0,001$, $p < 0,01$, $p < 0,001$, $p < 0,05$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,05$) (Tablo 4.2, Grafik 4.2).

Tedavi sonrası gruplarda, gruplar arası karşılaştırma sonuçlarına göre Grup 6, Grup 7, Grup 8 trigliserid değerleri hiperkolesterolemik gruba göre kıyaslanınca anlamlı düzeyde azalma gözlemlendi ($p < 0,05$). Ayrıca Grup 7, Grup 2, Grup 4 ve Grup 5'ye göre kıyaslanınca trigliserid düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p < 0,05$). Grup 8'in trigliserid değeri ise Grup 4 ve Grup 5'e göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu ($p < 0,05$) (Grafik 4.2).

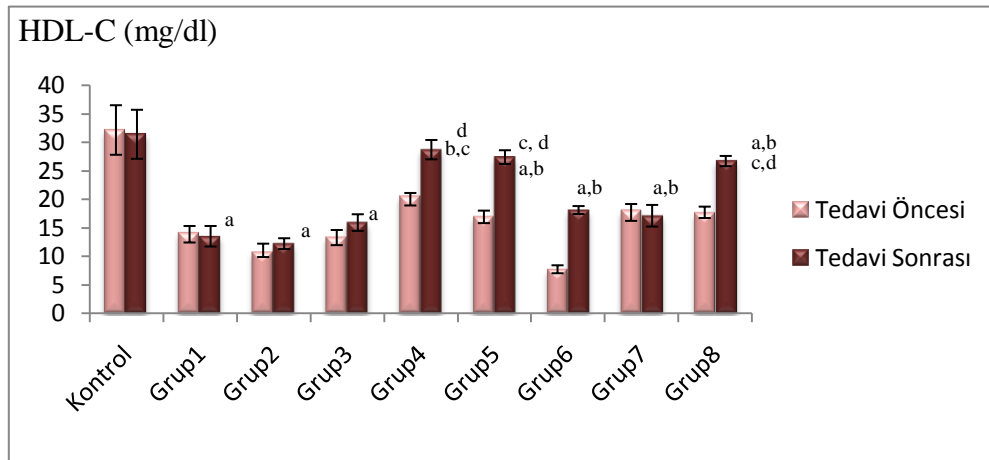


Grafik 4.2. Grupların tedavi öncesi ve tedavi sonrası Trigliserid değerleri

Tedavi sonrası a: Grup1'e göre farklılık, b: Grup7'ye göre farklılık, c: Grup8'e göre farklılık $p < 0,05$

Grup 4, Grup 5, Grup 6 ve Grup 8'in sırasıyla 10 mg atorvastatin, 1 mg rosiglitazon ve 10 mg atorvastatin, 4 mg rosiglitazon ve 10 mg atorvastatin, 3 mg pioglitazon ve 10 mg atorvastatin tedavileri aldıktan sonraki HDL-C düzeylerinde (sırasıyla 28,7±1,7, 27,4±1,2, 18,1±0,7, 26,7±0,9) tedavi öncesi HDL-C düzeylerine göre (sırasıyla 20,6±0,5, 17±1, 7,7±0,7, 17,6±1,1) artış gözlemlendi. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0,05$) (Tablo 4.2, Grafik 4.3).

Tedavi sonrası gruplarda, gruplar arası karşılaştırma sonuçlarına göre Grup 1, Grup 2, Grup 3, Grup 5, Grup 6, Grup 7, Grup 8 HDL-C değerleri kontrol grubuna göre kıyaslanınca anlamlı düzeyde düşük idi ($p<0,05$). Grup 4, Grup 5, Grup 6, Grup 7, Grup 8 değerleri Grup 1'e göre kıyaslanınca HDL-C değerleri anlamlı düzeyde artmıştı ($p<0,05$). Ayrıca Grup 4, Grup 5 ve Grup 8 HDL-C değerleri, Grup 6 ve Grup 7'ye göre anlamlı düzeyde artmıştı ($p<0,05$) (Grafik 4.3).

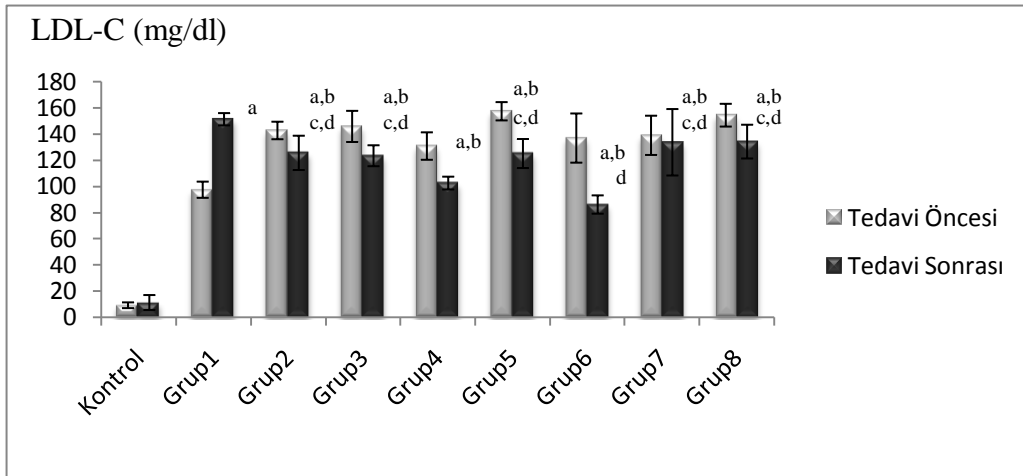


Grafik 4.3. Grupların tedavi öncesi ve tedavi sonrası HDL değerleri

Tedavi sonrası a: Kontrole göre anlamlılık, b: Grup1'e göre anlamlı farklılık, c: Grup6'ya göre anlamlı farklılık, d: Grup7'ye göre anlamlı farklılık ($p<0,05$).

Grup 1, Grup 2, Grup 3, Grup 4, Grup 5, Grup 6 ve Grup 8'in sırasıyla çözücü, 1 mg rosiglitazon, 4 mg rosiglitazon, 10 mg atorvastatin, 1mg rosiglitazon ve 10 mg atorvastatin, 4 mg rosiglitazon ve 10 mg atorvastatin, 3 mg pioglitazon ve 10 mg atorvastatin tedavileri aldıktan sonraki LDL-C düzeylerinde (sırasıyla 151,2±4,7, 125,5±13,1, 123,3±8,0, 102,4±4,9, 125±11,1, 86±7,0 134,1±12,9) tedavi öncesi LDL düzeylerine göre (sırasıyla 97,3±6,2 142,6±6,7, 145,7±11,9, 130,7±10,5, 157,3±7,0, 136,8±18,8, 154,3±8,7) anlamlı bir farklılık bulundu (sırasıyla p<0,001, p<0,001, p<0,01, p<0,001, p<0,001, p<0,001, p<0,01) (Tablo 4.2, Grafik 4.4).

Tedavi sonrası gruplarda, gruplar arası karşılaştırma sonuçlarına göre tüm grupların LDL-C değerleri kontrol grubuna göre kıyaslanınca anlamlı düzeyde yüksek idi (p<0,05), (Grafik 4.4). Kontrol ve tüm tedavi gruplarının LDL değerlerinde hiperkolesterolemik grup ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir düşme vardı (p<0,05). Ayrıca Grup 6'nın LDL-C değeri Grup 2, Grup 3, Grup 4, Grup 5, Grup 7 ve Grup 8'e göre kıyaslanınca anlamlı düzeyde düşük idi (p<0,05). Grup 4'ün LDL-C düzeyi ise Grup 2, Grup 3, Grup 5, Grup 7, Grup 8 ile kıyaslanınca anlamlı düzeyde düşük bulundu (p<0,05).



Grafik 4.4. Grupların tedavi öncesi ve tedavi sonrası LDL değerleri

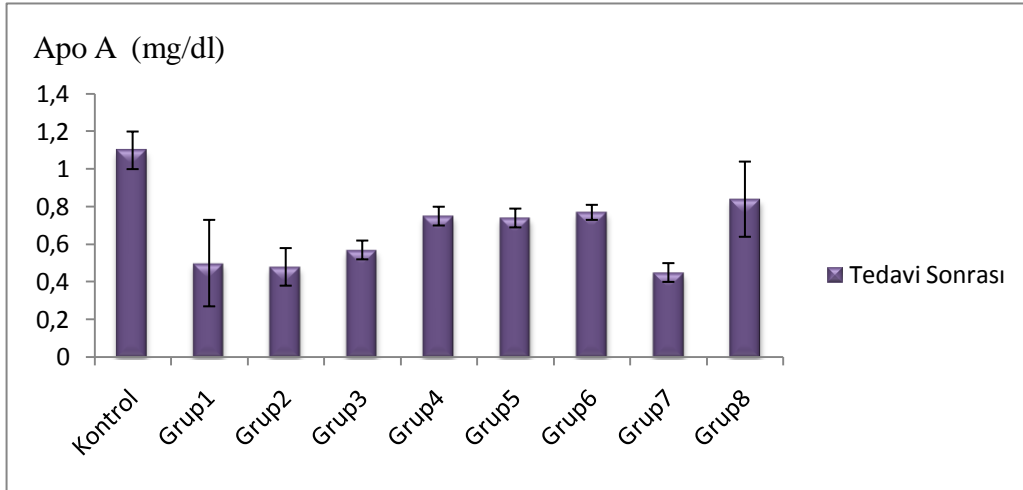
Tedavi sonrası a: Kontrole göre anlamlılık, b: Grup1'e göre anlamlılık, c: Grup6'ya göre anlamlılık, d: Grup 4'e göre anlamlılık p<0,05.

Tablo 4.3. Grupların tedavi sonrası Apo A, Apo B ve Lp (a) değerleri (mg/dl).

	Apo A	Apo B	Lp (a)
Kontrol	1,1±0,05	5,41±1,37	2,07±0,9 ^a
Grup 1 Hiperkolesterolemik	0,5±0,1 ^b	9,81±0,23 ^b	6,2±1,0
Grup 2 (1 mg.rosiglitazon)	0,48±0,05 ^b	9,95±0,26 ^b	5,96±0,6 ^b
Grup 3 (4 mg.rosiglitazon)	0,57±0,05 ^b	9,6±0,46 ^b	5,65±1,4 ^b
Grup 4 (10 mg.atorvastatin)	0,75±0,05 ^{a,b}	7,7±0,90 ^{a,b}	4,4±0,9 ^{a,b}
Grup 5 (1 mg.rosiglitazon ve 10 mg.atorvastatin)	0,74±0,05 ^{a,b}	6,7±0,53 ^{a,b}	3,6±0,5 ^a
Grup 6 (4 mg.rosiglitazon ve 10 mg.atorvastatin)	0,77±0,04 ^{a,b}	7,0±0,57 ^{a,b}	4,2±0,6 ^{a,b}
Grup 7 (3 mg pioglitazon)	0,45±0,05 ^b	8,7±0,25 ^b	6,0±1,4 ^b
Grup 8 (3 mg pioglitazon ve 10 mg atorvastatin)	0,84±0,2 ^{a,b}	5,64±0,78 ^{a,b}	2,8±0,2 ^a

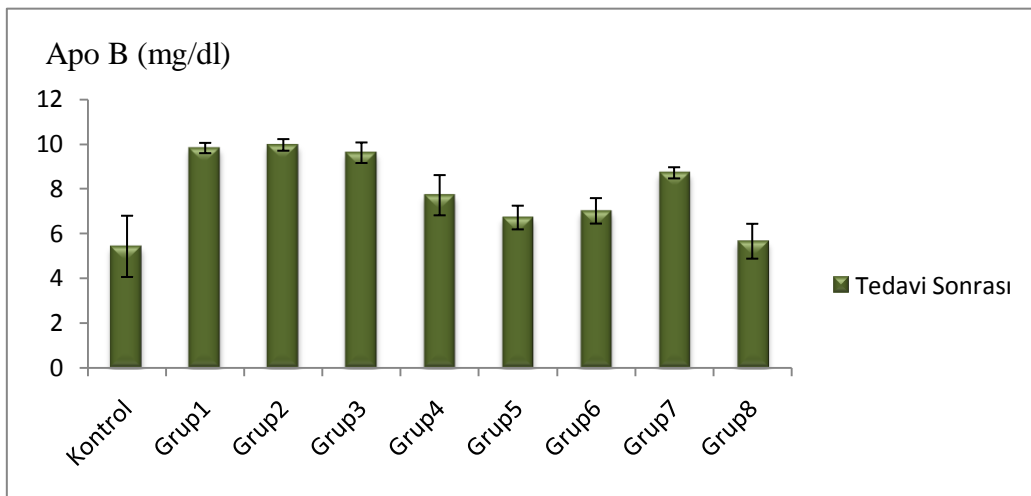
a: Grup1'e göre farklılık, b: Kontrole göre farklılık, p<0,05

Hiperkolesterolemik grup ($0,5\pm 0,1$) ile kıyaslandığında Grup 4 ($0,75\pm 0,05$) Grup 5 ($0,74\pm 0,05$) ve Grup 6 ($0,77\pm 0,04$) ve Grup 8 ($0,84\pm 0,2$) Apo A değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış vardı ($p<0,05$). Ayrıca kontrol ($1,1\pm 0,10$) ile tüm gruplar arasında anlamlı bir farklılık vardı (Tablo 4.3, Grafik 4.6). (Tablo 4.3, Grafik 4.5).



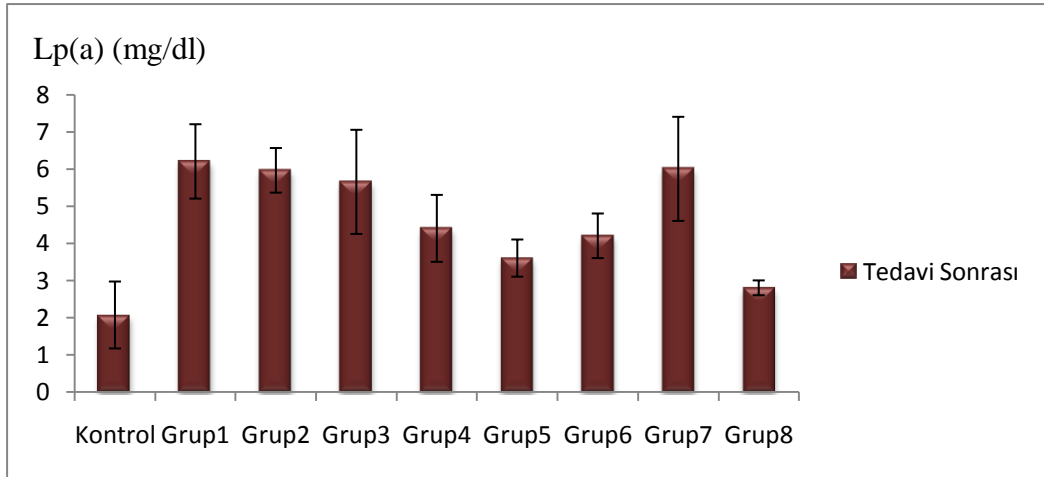
Grafik 4.5. Grupların tedavi sonrası Apo A değerleri

Hiperkolesterolemik grup ($9,81\pm 0,23$) ile kıyaslandığında Grup 4 ($7,7\pm 0,90$), Grup 5 ($6,7\pm 0,53$), Grup 6 ($7,0\pm 0,57$), Grup 8 ($5,64\pm 0,78$), Apo B değerleri arasında anlamlı bir farklılık vardı ($p<0,05$). Ayrıca kontrol ($5,41\pm 1,37$) ile tüm gruplar arasında anlamlı bir farklılık vardı (Tablo 4.3, Grafik 4.6).



Grafik 4.6. Grupların tedavi sonrası ApoB değerleri

Çalışmamızda hiperkolesterolemik diyetin Lp (a) düzeylerini artırdığı ($6,2 \pm 1,0$), 10 mg atorvastatin mono tedavisinin ($4,4 \pm 0,9$) , 1 mg ve 4 mg rosiglitazonun 10 mg atorvastatin ile kombinasyonlarının (sırasıyla $3,6 \pm 0,5$, $4,2 \pm 0,6$) ve 3 mg pioglitazonun 10 mg atorvastatin ile kombinasyonlarının ($2,8 \pm 0,2$) tedavide etkili oldukları gözlenmiştir ($p < 0,05$). Ayrıca 10 mg atorvastatin mono tedavisi ile kullanılan her iki tiazolidindion agonistinin atorvastatin ile kombine tedavileri 1 mg rosiglitazon mono tedavisine göre kıyaslanınca Lp (a) düzeylerini anlamlı düzeyde azaltmıştı ($p < 0,05$). Ayrıca 1 mg rosiglitazon+ 10 mg atorvastatin kombinasyonu ve 3 mg pioglitazon+ 10 mg atorvastatin kombinasyonu tedavisindeki Lp (a) düzeylerindeki azalmalar 4 mg rosiglitazon mono tedavisine göre anlamlı idi ($p < 0,05$) (Tablo 4.3 Grafik 4.7).



Grafik 4.7. Grupların tedavi sonrası Lp (a) değerleri

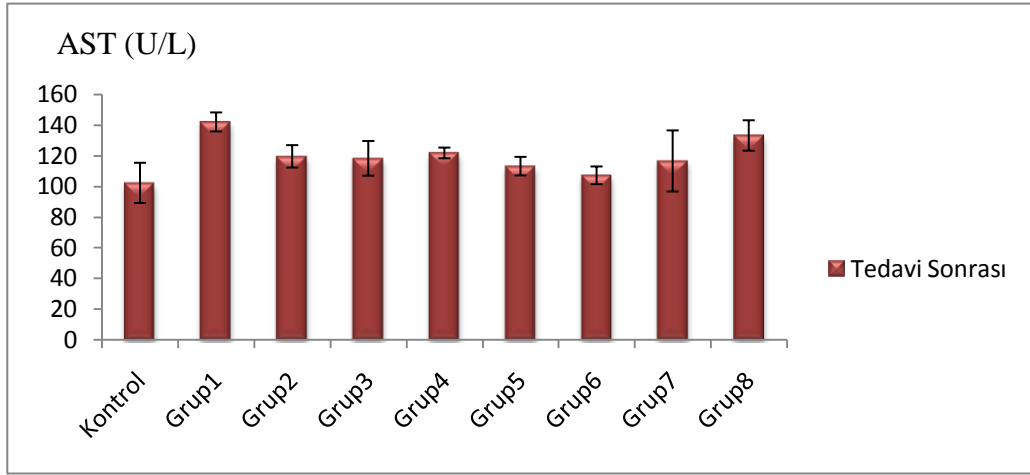
4.2. KARACİĞER FONKSİYON BELİRTEÇLERİ

Tablo 4.4. Grupların AST ve ALT değerleri (U/L)

	AST	ALT
Kontrol	102,1 \pm 13,1 ^{a,b}	55,8 \pm 2,3 ^{a,c}
Grup 1 Hiperkolesterolemik	141,8 \pm 6,2	75,5 \pm 6,0
Grup 2 (1 mg.rosiglitazon)	119,4 \pm 7,3	63,1 \pm 13,2
Grup 3 (4 mg.rosiglitazon)	118,1 \pm 11,3	72,3 \pm 5,3
Grup 4 (10 mg.atorvastatin)	121,6 \pm 3,5	67,6 \pm 7,5
Grup 5 (1 mg.rosiglitazon ve 10 mg.atorvastatin)	113 \pm 6,05 ^a	55,2 \pm 3,6 ^{a,c}
Grup 6 (4 mg.rosiglitazon ve 10 mg.atorvastatin)	107 \pm 5,8 ^{a,b}	62,8 \pm 4,6
Grup 7 (3 mg pioglitazon)	116,4 \pm 19,9	64,3 \pm 3,9
Grup 8 (3 mg pioglitazon ve 10 mg atorvastatin)	133 \pm 9,9	66,4 \pm 6,7

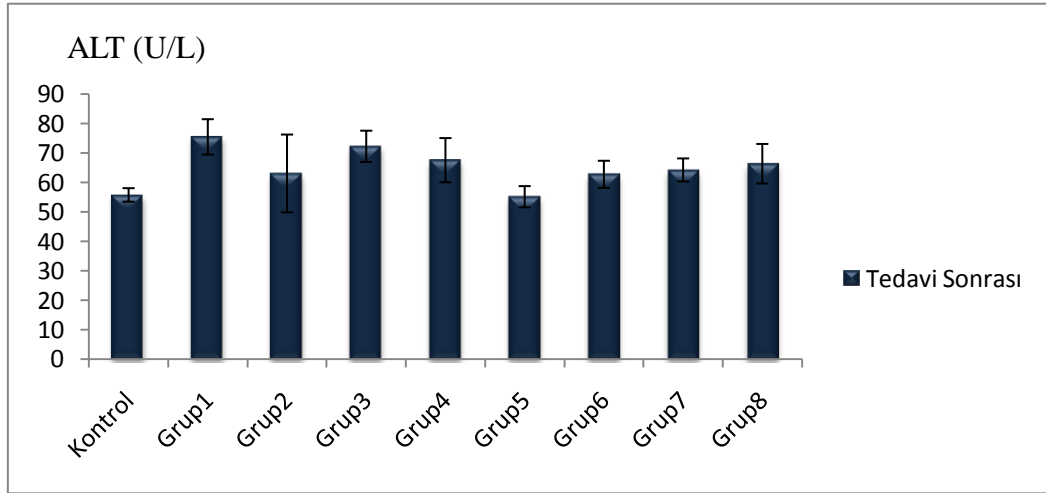
a: Grup 1'e göre farklılık,b: Grup 8'e göre farklılık,c: Grup 3'e göre farklılık p<0,05

Kontrole göre ($102,1 \pm 13,1$) kıyaslanınca hiperkolesterolemik grubun ($141,8 \pm 6,2$) AST değerlerinde anlamlı bir artış vardı ($p < 0,05$). Grup 5 ($113 \pm 6,05$) ve Grup 6 ($107 \pm 5,8$) tedavi gruplarında ise hiperkolesterolemik gruba göre anlamlı bir azalma vardı ($p < 0,05$). Grup 6 ile kıyaslanınca Grup 8'deki AST değerlerinde artış vardı. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdi ($p < 0,05$) (Tablo 4.4, Grafik 4.8).



Grafik 4.8. Grupların tedavi sonrası AST değerleri

Hiperkolesterolemik grupta (Grup1) ($75,5 \pm 6,0$) ALT değerlerinde kontrole ($55,8 \pm 2,3$) göre anlamlı bir artış vardı ($p < 0,05$). Grup 5 tedavi grubunda ($55,2 \pm 3,6$) ise Grup 1'e göre anlamlı bir azalma vardı ($p < 0,05$). Ayrıca Grup 3 ($72,3 \pm 5,3$) ALT değeri Grup 5 den ($55,2 \pm 3,6$) anlamlı şekilde yüksekti ($p < 0,05$). (Tablo 4.4, Grafik 4.9) .



Grafik 4.9. Grupların tedavi sonrası AST değerleri

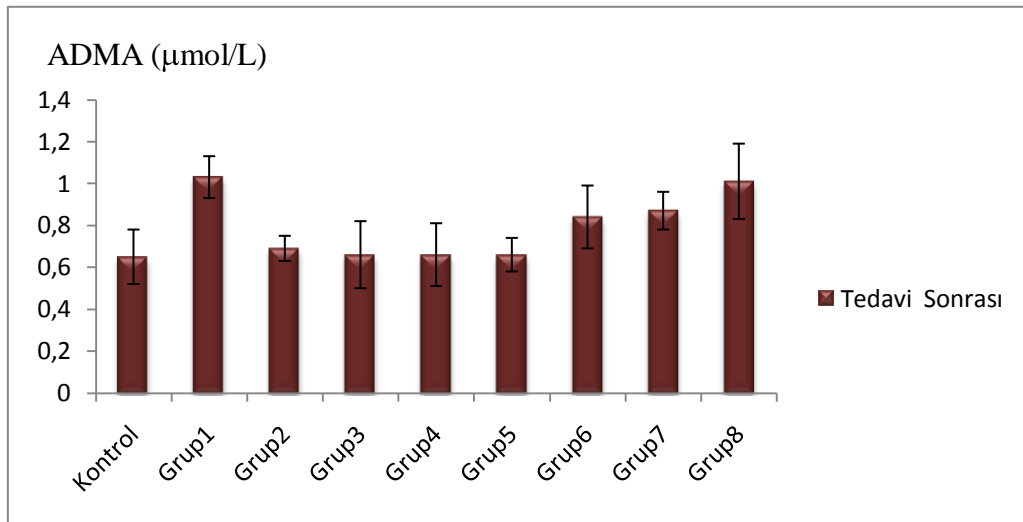
4.3. ENDOTEL FONKSİYON BELİRTEÇLERİ

Tablo 4.5. Grupların tedavi sonrası ADMA, Homosistein ve NO değerleri ($\mu\text{mol/L}$)

	ADMA	Homosistein	NO
Kontrol	0,65 \pm 0,13 ^a	1,86 \pm 0,59 ^a	26,98 \pm 3,34 ^a
Grup 1 Hiperkolesterolemik	1,03 \pm 0,10	4,91 \pm 1,17	20,02 \pm 1,40 ^{b,f}
Grup 2 (1 mg.rosiglitazon)	0,69 \pm 0,06 ^{a,c,d,e}	2,94 \pm 0,57 ^{a,b}	24,84 \pm 2,81 ^a
Grup 3 (4 mg.rosiglitazon)	0,66 \pm 0,16 ^{a,c,d,e}	2,80 \pm 0,57 ^{a,b}	26,78 \pm 3,44 ^a
Grup 4 (10 mg.atorvastatin)	0,66 \pm 0,15 ^{a,c,d,e}	2,34 \pm 0,56 ^a	23,09 \pm 3,24 ^{b,c,f}
Grup 5 (1 mg.rosiglitazon ve 10 mg.atorvastatin)	0,66 \pm 0,08 ^{a,c,d,e}	1,98 \pm 0,42 ^a	23,09 \pm 2,38 ^{b,c,f}
Grup 6 (4 mg.rosiglitazon ve 10 mg.atorvastatin)	0,84 \pm 0,15 ^{a,b,e}	2,36 \pm 0,76 ^a	27,38 \pm 3,41 ^a
Grup 7 (3mg pioglitazon)	0,87 \pm 0,09 ^{a,b,e}	2,54 \pm 0,51 ^a	23,41 \pm 4,19 ^{a,b,c,f}
Grup 8 (3 mg pioglitazon ve 10 mg atorvastatin)	1,01 \pm 0,18 ^{a,b}	2,08 \pm 0,63 ^a	23,67 \pm 2,76 ^{a,c}

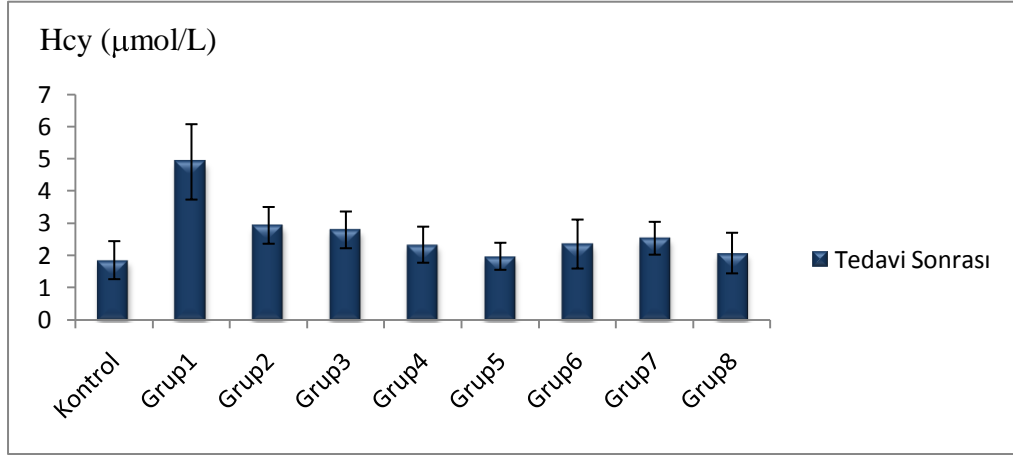
a: Hiperkolesterolemik gruba göre farklılık, b: Kontrol grubuna göre farklılık, c: Grup 6'ya göre farklılık, d: Grup 7'ye göre farklılık, e: Grup8'e göre farklılık, f: Grup3 'e göre farklılık (p<0,05)

Hiperkolesterolemik grupta ($1,03 \pm 0,10$) kontrole ($0,65 \pm 0,13$) göre kıyaslanınca ADMA düzeylerinde anlamlı bir artış vardı ($p < 0,05$). Tüm gruplar Grup 2 ($0,69 \pm 0,06$), Grup 3 ($0,66 \pm 0,16$), Grup 4 ($0,66 \pm 0,15$), Grup 5 ($0,66 \pm 0,08$), Grup 6 ($0,84 \pm 0,15$), Grup 7 ($0,87 \pm 0,09$), Grup 8 ($1,01 \pm 0,18$) ve Hiperkolesterolemik grup arasında ADMA düzeyleri kıyaslanınca anlamlı bir azalma vardı ($p < 0,05$). Kontrole göre kıyaslanınca , Grup 6, Grup 7 ve Grup 8 arasında anlamlı bir artış vardı ($p < 0,05$). Grup 6 ile kıyaslanınca Grup 2, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ADMA değerlerinde anlamlı bir azalma vardı ($p < 0,05$). Grup 7 ile kıyaslanınca Grup 2, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ADMA değerlerinde anlamlı bir azalma vardı ($p < 0,05$). Grup 8 ile kıyaslanınca Grup 2, Grup 3, Grup 4, Grup 5, Grup 6 ve Grup 7 arasında ADMA değerlerinde anlamlı bir azalma vardı ($p < 0,05$) (Tablo 4.5, Grafik 4.12)



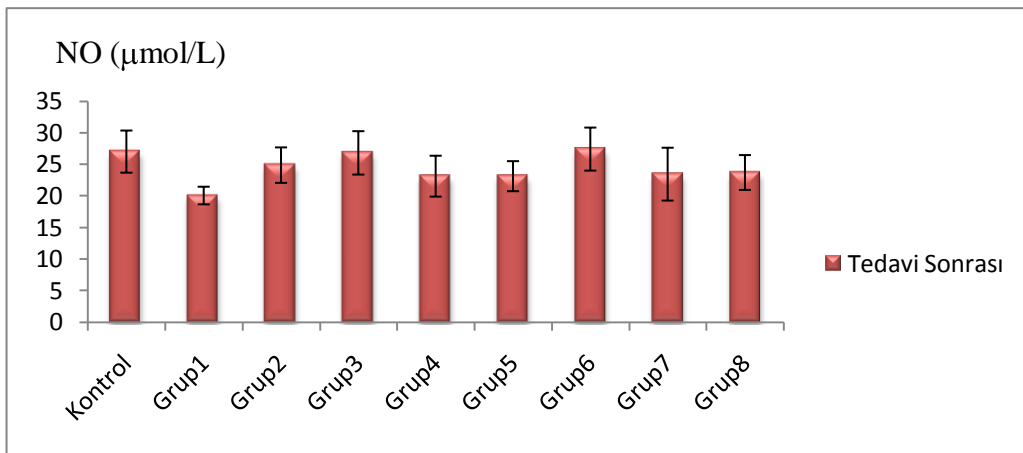
Grafik 4.10. Grupların tedavi sonrası ADMA değerleri

Hiperkolesterolemik grupta ($4,91 \pm 1,17$) kontrole ($1,86 \pm 0,59$) göre kıyaslanınca homosistein düzeylerinde anlamlı bir artış vardı ($p < 0,05$). Tüm gruplar (Grup2 ($2,94 \pm 0,57$), Grup3 ($2,80 \pm 0,57$), Grup 4 ($2,34 \pm 0,56$), Grup5 ($1,98 \pm 0,42$), Grup 6 ($2,36 \pm 0,76$), Grup 7 ($2,54 \pm 0,51$), Grup 8 ($2,08 \pm 0,63$)) ve Hiperkolesterolemik grup arasında homosistein düzeyleri kıyaslanınca anlamlı bir azalma vardı ($p < 0,05$). Ayrıca Grup 2 ve Grup 3 deki azalma kontrol grubuna göre anlamlı idi ($p < 0,05$) (Tablo 4.5, Grafik 4.11).



Grafik 4.11. Grupların tedavi sonrası homosistein değerleri

Hiperkolesterolemik grupta ($20,02 \pm 1,40$) kontrole ($26,98 \pm 3,34$) göre kıyaslanınca NO düzeylerinde anlamlı bir azalma vardı ($p < 0,05$). Grup 2 ($24,84 \pm 2,81$), Grup 3 ($26,78 \pm 3,44$), Grup 6 ($27,38 \pm 3,41$), Grup 7 ($23,41 \pm 4,19$) ve Grup 8 ($23,67 \pm 2,76$) NO düzeyleri hiperkolesterolemik gruba göre anlamlı düzeyde yüksekti ($p < 0,05$). Grup 4 ($23,09 \pm 3,24$), Grup 5 ($23,09 \pm 2,38$), Grup 7 ($23,41 \pm 4,19$) NO değerleri kontrol ile kıyaslanınca anlamlı şekilde düşüktü ($p < 0,05$). Grup 4, Grup 5, Grup 7 ve Grup 8'in NO değerleri Grup 6 ile kıyaslanınca anlamlı şekilde düşüktü ($p < 0,05$). Ayrıca Grup 1, Grup 4, Grup 5 ve Grup 7 NO değerleri Grup 3 ile kıyaslanınca anlamlı azalmalar gözlenmiştir ($p < 0,05$) (Tablo 4.5, Grafik 4.12).



Grafik 4.12. Grupların tedavi sonrası NO değerleri

4.4. OKSİDATİF VE İNFLAMATUAR BELİRTEÇLER

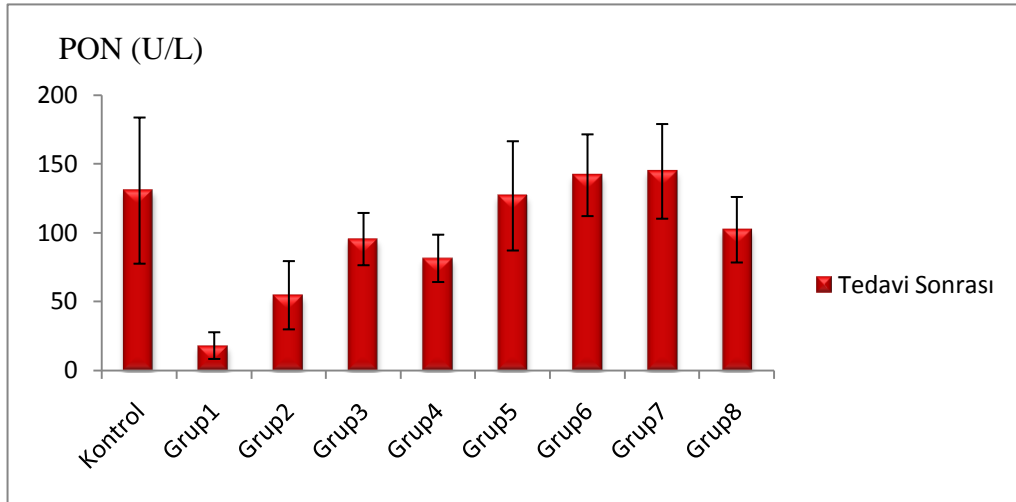
Tablo 4.6. Grupların tedavi sonrası PON (U/L), Arilesteraz (U/L) ve hsCRP (mg/L) değerleri

	PON	Arilesteraz	hsCRP
Kontrol	130,43±53,1 ^a	193,6±42,2 ^a	0,67±0,27 ^a
Grup 1 Hiperkolesterolemik	17,8±9,7	88,0±10,5	1,42±0,21
Grup 2 (1 mg.rosiglitazon)	54,4±24,8 ^{a,b}	123,1±17,4 ^{a,b}	0,91±0,40 ^{a,b,d}
Grup 3 (4 mg.rosiglitazon)	95,2±19,0 ^{a,c}	141±29,1 ^{a,b}	0,90±0,45 ^{a,b,d}
Grup 4 (10 mg.atorvastatin)	81,2±17,2 ^{a,c}	130±49,5 ^{a,b}	1,02±0,41 ^{a,b}
Grup 5 (1 mg.rosiglitazon ve 10 mg.atorvastatin)	126,6±39,7 ^{a,c}	156,6±23,1 ^{a,b}	1,14±0,26 ^b
Grup 6 (4 mg.rosiglitazon ve 10 mg.atorvastatin)	141,6±29,7 ^{a,c}	145,9±24,3 ^{a,b}	1,28±0,10 ^b
Grup 7 (3 mg pioglitazon)	114,4±34,4 ^{a,c}	166,1±57,9 ^{a,b}	1,17±0,22 ^b
Grup 8 (3 mg pioglitazon ve 10 mg atorvastatin)	102,0±23,8 ^{a,c}	156,7±37,1 ^{a,b}	1,12±0,07

a: Hiperkolesterolemik gruba göre farklılık, b: Kontrol grubuna göre farklılık, c: Grup2'ye göre farklılık,

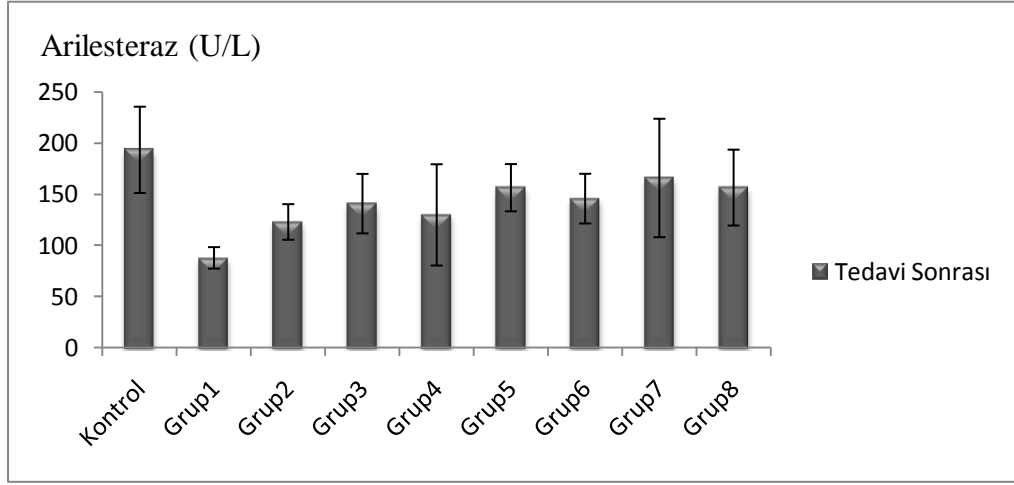
d: Grup6'ya göre farklılık p<0,05.

Hiperkolesterolemik grubun ($17,8 \pm 9,7$) PON düzeyleri kontrol ($130,43 \pm 53,1$) ile kıyaslanınca anlamlı şekilde düşüktü ($p < 0,05$). Tüm grupların Grup 2 ($54,4 \pm 24,8$), Grup 3 ($95,2 \pm 19,0$), Grup 4 ($81,2 \pm 17,2$), Grup 5 ($126,6 \pm 39,7$), Grup 6 ($141,6 \pm 29,7$), Grup 7 ($114,4 \pm 34,4$), Grup 8 ($102,0 \pm 23,8$) PON değerleri hiperkolesterolemik grup ile kıyaslanınca anlamlı düzeyde artmıştı ($p < 0,05$). Grup2 PON değeri kontrole göre anlamlı şekilde düşüktü ($p < 0,05$). Grup 2'nin PON değeri Grup 3, Grup 4, Grup 5, Grup 7 ve Grup 8 ile kıyaslanınca anlamlı düzeyde düşüktü ($p < 0,05$) (Tablo 4.6, Grafik 4.13).



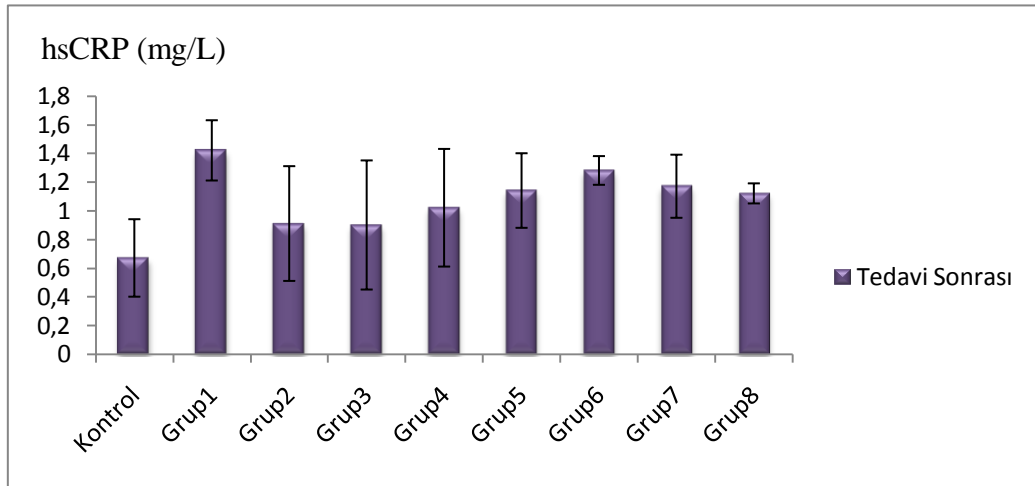
Grafik 4.13.Grupların tedavi sonrası PON değerleri

Hiperkolesterolemik grubun ($88,0 \pm 10,5$) Arilesteraz düzeyleri kontrol ($193,6 \pm 42,2$) ile kıyaslanınca anlamlı şekilde düşüktü ($p < 0,05$). Tüm grupların (Grup 2 ($123,1 \pm 17,4$), Grup 3 ($141 \pm 29,1$), Grup 4 ($130 \pm 49,5$), Grup 5 ($156,6 \pm 23,1$), Grup 6 ($145,9 \pm 24,3$), Grup 7 ($166,1 \pm 57,9$), Grup 8 ($156,7 \pm 37,1$)) Arilesteraz değerleri hiperkolesterolemik grup ile kıyaslanınca anlamlı düzeyde artmıştı ($p < 0,05$). Ayrıca tüm grupların arilesteraz değerleri kontrole göre kıyaslanınca anlamlı düzeyde düşüktü ($p < 0,05$) (Tablo 4.6, Grafik 4.14).



Grafik 4.14. Grupların tedavi sonrası Arilesteraz değerleri

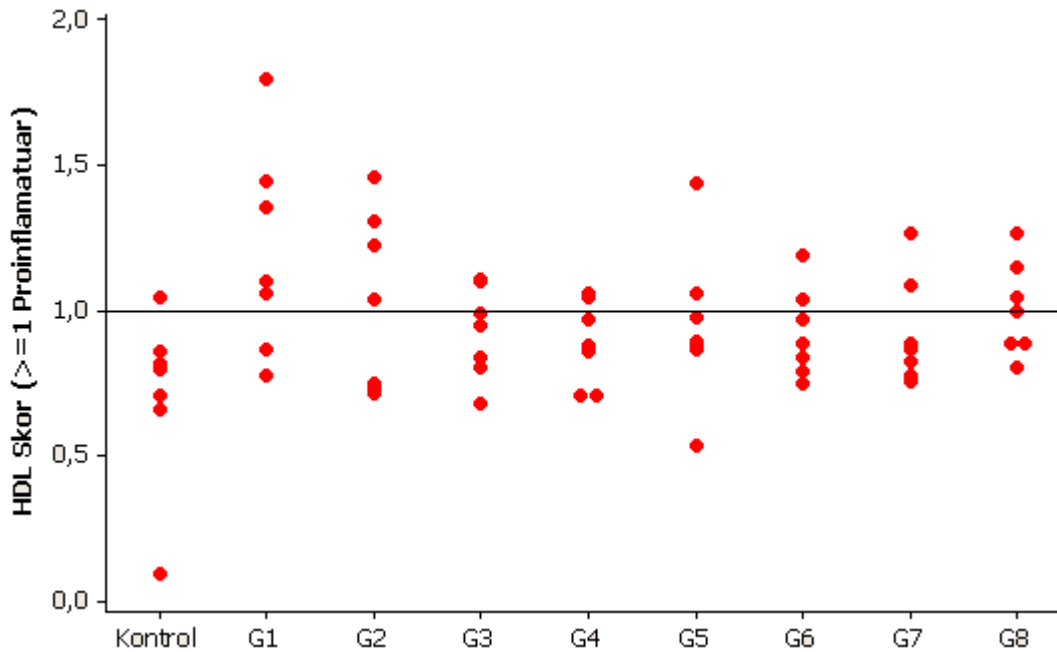
Hiperkolesterolemik grubun ($1,42 \pm 0,21$) hsCRP düzeyleri kontrol ($0,67 \pm 0,27$) ile kıyaslanınca anlamlı şekilde yüksekti ($p < 0,05$). Grup 2 ($0,91 \pm 0,40$) Grup 3 ($0,90 \pm 0,45$), Grup 4 ($1,02 \pm 0,41$), hsCRP düzeyleri hiperkolesterolemik grup ile kıyaslanınca anlamlı düzeyde düşüktü ($p < 0,05$). Grup 6'nın ($1,28 \pm 0,10$) düzeyleri Grup2 ve Grup3 ile kıyaslanınca anlamlı düzeyde yüksekti ($p < 0,05$). Ayrıca Grup 2, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ($1,14 \pm 0,26$), Grup 6 ve Grup 7 hsCRP düzeyleri kontrole göre anlamlı düzeyde yüksekti ($p < 0,05$) (Tablo 4.6, Grafik 4.15).



Grafik 4.15. Grupların tedavi sonrası hsCRP değerleri

4.5. HDL KOLESTEROLÜN ANTIOKSİDAN ÖZELLİĞİ:

LDL-C'nin oksidasyonuna karşı HDL-C'nin antioksidan özelliğini belirlemeye dayalı yapılan testin sonucunda kontrol grubuna göre hiperkolesterolemik grupta HDL kolesterolün antioksidan kapasitesinde ileri derecede anlamlı bir düşüş gözlemlendi ($p<0,001$). 4 mg rosiglitazon (G3), 10 mg atorvastatin (G4), 1 mg rosiglitazon ve 10 mg atorvastatin kombinasyonu (G5) 4 mg rosiglitazon ve 10 mg atorvastatin kombinasyonu (G6), 3 mg pioglitazon (G7) 3 mg pioglitazon ve 10 mg atorvastatin kombinasyonunu kullanan hiperkolesterolemik grubun (G8) antioksidan HDL kapasitesi hiperkolesterolemik gruba (G1) göre farklıydı ($p<0,05$). Ayrıca 1 mg rosiglitazon (G2) ile 3 mg pioglitazon ve 10 mg atorvastatin kombinasyonunu kullanan hiperkolesterolemik grubun (G8) antioksidan HDL kapasitesi kontrol grubuna göre farklıydı ($p<0,05$) (Tablo 4.7-4.8, Grafik 4.16).



Grafik 4.16. Kontrol ve hiperkolesterolemik gruba göre mono ve kombine terapilerin HDL'nin antiinflammatuar skoru üzerine etkileri

(HDL Skor \leq 1 Antiinflammatuar HDL, HDL Skor $>$ 1 Proinflammatuar HDL)

Tablo 4.7. Gruplar arası HDL-C ‘nin antioksidan özelliğinin karşılaştırılması (FU)

	HDL oksidasyon kapasitesi
Kontrol	0,32±0,13 ^a
Grup 1 Hiperkolesterolemik	0,56±0,14
Grup 2 (1 mg.rosiglitazon)	0,48±0,13 ^b
Grup 3 (4 mg.rosiglitazon)	0,41±0,07 ^a
Grup 4 (10 mg.atorvastatin)	0,41±0,06 ^a
Grup 5 (1 mg.rosiglitazon ve 10 mg.atorvastatin)	0,43±0,12 ^a
Grup 6 (4 mg.rosiglitazon ve 10 mg.atorvastatin)	0,42±0,08 ^a
Grup 7 (3 mg pioglitazon)	0,45±0,07 ^a
Grup 8 (3 mg pioglitazon ve 10 mg atorvastatin)	0,58±0,09 ^{a,b}

a: Hiperkolesterolemik gruba göre fark p<0,05

b: Kontrol grubuna göre fark p<0,05

Tablo 4.8. Gruplarda HDL'nin % olarak standart alınan 1'e göre % olarak sınıflandırılması

	> 1 % Proinflamatuvar HDL	≤ 1 % Antiinflamatuvar HDL
Kontrol	14,3	85,7
Grup 1 Hiperkolesterolemik	71,4	28,6
Grup 2 (1 mg.rosiglitazon)	57,1	42,9
Grup 3 (4 mg.rosiglitazon)	28,6	71,4
Grup 4 (10 mg.atorvastatin)	28,6	71,4
Grup 5 (1 mg.rosiglitazon ve 10 mg.atorvastatin)	28,6	71,4
Grup 6 (4 mg.rosiglitazon ve 10 mg.atorvastatin)	28,6	71,4
Grup 7 (3 mg pioglitazon)	28,6	71,4
Grup 8 (3 mg pioglitazon ve 10 mg atorvastatin)	42,9	57,1

5. TARTIŞMA

5.1. LİPİT PROFİLİ:

Bu tez çalışmasında hiperkolesterolemi tedavisinde kullanılan atorvastatin ve Tip II diyabet tedavisinde kullanılan tiazolidinedion (glitazon) türevi olan rosiglitazon ve pioglitazonun hiperkolesterolemik sıçanlarda tek başlarına ve kombine tedavilerinin endotel fonksiyonlar ve inflamasyon üzerine olan etkileri ile anti-oksidatif özellikleri araştırıldı.

Deney hayvanlarında ilaçların etkisini araştırmak için önce özel bir diyetle alınan ratlar hiperkolesterolemik hale getirilmeye çalışılmıştır. Daha sonra literatür taramaları sonucunda tedaviye uygun ilaç dozları kararlaştırılmıştır (133,155). Bu amaçla çalışmamızda %2 kolesterol ve %1 kolik asit içeren bazal diyet erkek wistar albino sıçanlara 11 hafta uygulanarak hiperkolesterolemi indüksiyonu gerçekleştirilmiştir. Serum total kolesterol (TK), trigliserid (TG), ve LDL değerlerinde kontrol ile kıyaslandığında anlamlı bir artış gözlenirken ($p<0,05$), HDL değerinde bir azalma gözlenmiştir ($p<0,05$) (Tablo 4.1).

Penumathsa ve arkadaşları 8 hafta süreyle %5 kolesterol içeren bazal diyet kullanarak TK, TG ve LDL düzeylerinde artış, HDL düzeylerinde benzer şekilde azalma bulmuşlardır (127). **Amin ve arkadaşları** ise hiperkolesterolemik model oluşturmak amacıyla 8 haftalık %1 kolesterol ve %0,25 lik kolik asit içeren bazal diyet kullanmış TK, TG ve LDL düzeylerinde artış gözlerken HDL düzeylerinde azalma bulmuşlardır (4).

Bu çalışmalar, kolik asit ilavesinin kolesterol emilimine katkıda bulunabildiğini ve bu koşulda daha az kolesterol kullanımının model oluşturmak için yeterli olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda da bu kombinasyonla hiperkolesterolemi oluşturmak amacıyla sıçanlar tarafından tüketilen kolesterol alımı en aza indirilmiştir. Ayrıca sıçanlarda kolesterolün kolik asit ile birlikte verilmesinin CYP7A1 transkripsiyonunu

azalttığı bulunmuştur (4). CYP7A1, özellikle günlük kolesterol atılımının %50' sinden sorumlu olan safra asitlerinin sentezinde gerekli olan bir enzimdir (187).

Hiperkolesterolemik sıçanlarda LDL kolesterol artışı LDL reseptör sayısında azalmaya veya LDL kolesterolün reseptörlerine bağlanmasında azalmaya neden olabilir. Ayrıca karaciğer LDL reseptörlerindeki değişiklikler de hepatik kolesterol alınmasındaki bozulmayla birlikte hiperkolesterolemik diyetle indüklenen kan kolesterol düzeylerindeki artışa katkı sağlayabilir (4).

Ateroskleroz gelişiminde etkili olan diğer bir risk faktörü ise aşırı hücresel kolesterolün toplanıp HDL partiküllerince işlenerek metabolizma için karaciğere götürüldüğü ters kolesterol transportunda merkezi rolü olan HDL kolesterol düzeyindeki azalmadır (4). Çalışmamızda dikkat çeken bir nokta ise hiperkolesterolemik sıçanlarda 30. 60. ve 81. gün sonunda normokolesterolemik grup ile kıyaslandığında HDL kolesterol düzeylerinde yaklaşık %50'lik bir düşüş gözlenmesidir. Bu düşüşün nedeni ApoA1 düzeylerindeki azalmalar, ya da kolesterol ester transfer protein aktivitesindeki değişimler olabilir (104). Klinik çalışmalarda ise hiperkolesterolemik insanların HDL kolesterol düzeylerinde normal gruba kıyasla bariz bir azalma gözlenmemiştir (13). Bu sonuçlar türler arasındaki farklılıkların önemini göstermektedir. Ayrıca artmış TG ve azalmış HDL düzeyleri hiperkolesterolemik sıçanlarda azalmış lipoprotein lipaz aktivitesine katkıda bulunabilir.

Peroksizom proliferatörleri ile aktive olan reseptörler (PPAR'lar) lipoprotein metabolizmasını, glukoz homeostazını ve inflamasyonu düzenleyen (50) transkripsiyon faktörleridirler. Çalışmalar PPAR- γ aktivasyonunun aterogenezi sadece metabolik hastalıkları düzelterek değil aynı zamanda vasküler duvara doğrudan etki ederek de azalttığını göstermiştir.

PPAR- γ agonistleri lökositlerin endotel hücreleri yüzeyinde toplanmasını düzenler (50), inflamatuvar cevabı kontrol ederler. Ayrıca, monosit ve makrofajların aktivasyonu, düz kas hücrelerince inflamatuvar sitokinlerin üretimi de PPAR- γ agonistleri tarafından düzenlenir (75). Aterosklerotik hayvan modelleri ve insanlarda

gerçekleştirilen klinik çalışmalar da PPAR- γ agonistlerinin in vivo antiaterosklerotik bir destek sağladığını göstermiştir (50).

PPAR- γ aktivasyonu enerjinin adipositlerde trigliseridler halinde depolanmasını sağlar. PPAR- γ agonistleri, adiposit, karaciğer ve yağ asitlerini enerji için kullanan hücrelerde yağ asit sentezi ile kullanımını düzenleyen çeşitli faktörlerin doku spesifik gen ekspresyonlarını sağlamaktadır. PPAR- γ agonistleri ile tedavi tüm vücutta trigliserid/yağ asidi metabolizmasını etkilemektedir (104). Adipositlerde hem pioglitazon hem de rosiglitazon trigliseridden zengin lipoproteinlerin ve yağ asidi alımı ve depolanmasını sağlayan genlerin ekspresyonlarını artırmaktadır (104). Tiazolidinedionlar aynı zamanda adipositlerden yağ asidi salınımını da azaltmaktadır. Böylelikle karaciğere daha az yağ asidi dağılımını sağlayarak, hepatik trigliserid sentezinde azalmaya neden olacaktır.

Aynı zamanda PPAR- γ agonistleri ile tedavi lipit ve glukoz metabolizmasını etkileyen adipokinlerin sekresyonunu da etkilemektedir. Adiponektini ve resistini artırmaktadır (104). Karaciğerde PPAR- γ agonistleri ile tedavi Apo CII ve Apo CIII'ün de içinde bulunduğu lipit metabolizmasında rolü olan çeşitli genlerin ekspresyonlarındaki değişimlerle ilişkilidir. Apolipoproteinler CII ve CIII lipoprotein lipazı sırasıyla uyarmakta ve inhibe etmektedirler. Lipoprotein lipaz ise trigliseridden zengin lipoproteinleri hidroliz ederek serumdan uzaklaştırılmalarını sağlayan major enzimdir (104).

Diğer taraftan hiperkolesterolemik sıçanların tedavisinde kullandığımız diğer bir etken madde statin türevi olan atorvastatindir. Statinler HMG-CoA redüktaz inhibitörü olan moleküllerdir. Ortak noktaları ise yapılarındaki HMG benzeri dihidroksiheptenoik asit zinciridir. Bu zincir HMG-CoA redüktaz enzimi için yalancı bir substrat oluşturarak enzimin aktif bölgesine bağlanır ve kompetitif bir inhibisyona neden olur. Bu inhibisyon neticesinde asetil CoA'dan mevalonik asit sentezi gerçekleşemez ve kolesterol sentezi inhibe olur.

Hücre içinde sentezlenen kolesterolün azalması karaciğer hücre yüzeyinde bulunan LDL ve VLDL reseptörlerinin sayıca artıp aktifleşmesine neden olur. Bu reseptörler dolaşımda bulunan LDL ve VLDL'yi yakalayıp karaciğer hücresine alarak plazmadaki miktarlarının azalmasına neden olur. Yani statinlerin kolesterol düşürücü etkileri bir yandan hücre içi sentezi azaltıp, diğer yandan da dolaşımdaki LDL'nin hücre içine alınmasını sağlayarak gerçekleşir (70).

Statinlerin trigliserid zengini lipoproteinlerin katabolizmasını artırdıkları ve postprandial lipemiyi azalttıkları gösterilmiştir. LDL reseptörü ve lipoprotein lipaz ekspresyonu artışı ile ApoCIII ekspresyonu ve VLDL üretimindeki azalmalar kandaki trigliseridden zengin lipoproteinlerin azalmalarını sağlamaktadır. Statin tedavisi kolesterolün HDL'den trigliseridden zengin lipoproteine aktarımını azaltarak HDL kolesterol artışına katkı sağlayabilir.

Statinler HDL'nin başlıca yapısal proteini olan Apo A1 üretimini PPAR- γ 'yı aktive eden rho-sinyal yolunu inhibe ederek artırmaktadır. Ayrıca HDL-kolesterolü artırmada bir mekanizma olarak, kolesterol ester transfer proteinin inhibisyonu da statinler tarafından sağlanabilir (13)

Çalışmamızda 1 mg rosiglitazon, 4 mg rosiglitazon, 10 mg atorvastatin, 1 mg rosiglitazon+10 mg atorvastatin ve 4 mg rosiglitazon+10 mg atorvastatin ile 3 mg pioglitazon ve 3 mg pioglitazon+10 mg atorvastatin tedavilerini alan hiperkolesterolemik grupların trigliserid düzeyleri tedavi öncesi trigliserid düzeylerine göre anlamlı düzeyde düşüktü. Bu düşürme oranını 4 mg rosiglitazon+10 mg atorvastatin kombine tedavisi en fazla göstermiş olsa da diğer grupların oranları da birbirine yakındı. Ayrıca tedavi sonrası Grup 6, Grup 7 ve Grup 8 trigliserid değerleri anlamlı düzeyde hiperkolesterolemik gruptan düşüktü ($p<0,05$).

Benzer şekilde tek veya çoklu ilaç alan hiperkolesterolemik grupların total kolesterol düzeyleri de tedavi öncesi total kolesterol düzeylerine göre anlamlı düzeyde düşüktü. Gruplar arasında 4 mg rosiglitazon+10 mg atorvastatin kombine tedavisi diğer monoterapi (Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'den yaklaşık 1,7 kat ve Grup 7'den 3,5 kat daha

etkili) ve kombine tedavilere (Grup 5'den 1,5, Grup 8'den 2,3 kat fazla etkili) göre total kolesterol düzeylerini daha fazla düşürmüştür.

Freed ve arkadaşları 8 mg/gün rosiglitazon ile 10-20 mg/gün atorvastatinin Tip II diyabetli hastalarda glisemik kontrol ve küçük yoğun LDL'lerin uzaklaştırılmasında yararlı etkiler sağladığını göstermişlerdir (64, 40).

Lewin ve arkadaşları da çok merkezli gerçekleştirdikleri bir çalışmada 40 mg/gün simvastatin ile pioglitazon veya rosiglitazon kombinasyonunun 24 haftada lipit profillerini olumlu yönde değiştirdiklerini göstermişlerdir (95, 40). **Chu ve arkadaşları** ise rosiglitazon ve atorvastatin kombinasyonu ile total kolesterol, LDL, trigliserid düzeylerinde anlamlı azalmalar gözlemlerken HDL düzeylerinde anlamlı bir değişme bulamamışlardır (40).

Ayrıca **Llaverias ve arkadaşları** da rosiglitazon ve atorvastatin kombinasyonunun makrofajlarda hücre içi kolesterol birikimini azalttığını gözlemlemişlerdir (97, 40). Statinlerin aynı zamanda PPAR- γ 'yı aktive etme kapasiteleri de gözlenmiştir. Statin türevi olan pravastatin aynı zamanda hastalarda Tip II diyabetin görülme riskini azaltırken diğer bir türev olan serivastatinin insülin direnci ve salınmasını düzelttiği öne sürülmüştür (124). Ayrıca statinlerin in vitro 3T3-L1 adipositlerde de adiposit farklılaşmasını etkiledikleri gösterilmiştir (65).

Makrofajlarda ise statinlerin PPAR- γ transkripsiyon aktivitesini artırdıkları, LPS ile indüklenen TNF- α 'yı ve monosit kemoatraktan protein-1 ekspresyonunu azalttıkları nükleer transkripsiyon faktör ve aktivatör protein 1 için transkripsiyon aktivitesini baskıladıkları gösterilmiştir. Böylelikle statinlerin aterosklerotik plak stabilizasyonunu da sağladıkları gösterilmiştir (111,191).

Yapılan çalışmalarda kullanılan dozların ve zamanların lipit profillerinin düzenlenmesinde etkili oldukları görülmektedir. Çalışmamızda 4mg rosiglitazon ve 10 mg atorvastatin kombine tedavisinin lipit profili üzerine daha etkili olmasının nedeni, olarak kullanılan doz ve zamanın gerçekleştirdiğimiz hiperkolesterolemik model için uygun olması olabilir. Literatürde pioglitazonun lipit profillerini düzeltmede

rosiglitazondan daha etkili olduğuna dair veriler bulunmaktadır (104). Ancak bu modelde kullandığımız düşük doz (3 mg) pioglitazon hem monoterapide hem de atorvastatin (10 mg) ile kombine tedavide lipit profillerini düzeltmiş olsa da rosiglitazondan daha etkili olmamıştır. **Srinivasan ve arkadaşları** da yüksek diyetle oluşturdukları hiperkolesterolemik sıçan modelinde 3 mg pioglitazonun anlamlı değişiklikler oluşturmadığını ancak dozun artırılmasıyla lipit profilinde düzelmeler olduğunu gözlemişlerdir (155).

Çalışmamızda 1 mg rosiglitazon, 4 mg rosiglitazon, 10 mg atorvastatin, 1 mg rosiglitazon+10 mg atorvastatin ve 4 mg rosiglitazon+10 mg atorvastatin ve 3 mg pioglitazon+10 mg atorvastatin tedavilerini alan hiperkolesterolemik grupların LDL düzeyleri tedavi öncesi LDL düzeylerine göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Gruplar arasında 4 mg rosiglitazon+10 mg atorvastatin kombine tedavisi diğer monoterapi (Grup 2'den 5,3, Grup 3'den 4,1 ve Grup 4'den 3,2 kat ve Grup 7'den 1,7 kat daha etkili) ve kombine tedavilere (Grup 5'den 2,8, Grup 8'den 4,4 kat daha etkili) göre LDL düzeylerini daha fazla düşürmüştür. Ayrıca tedavi alan tüm grupların LDL düzeyleri hiperkolesterolemik grubun LDL düzeyinden anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

Tao ve arkadaşları hiperkolesterolemik sıçan modelinde 3 mg/kg/gün rosiglitazon ile 3 haftalık ve 5 haftalık tedavi uygulaması sonrasında total kolesterol, trigliserid ve LDL düzeylerinde azalma bulmuşlar ancak HDL düzeylerinin 5 haftalık kullanım sonrasında yükseldiğini gözlemlemişlerdir (96). Bir diğer diyet ile oluşturulan hiperkolesterolemik sıçan modelinde de 4 mg/kg/gün rosiglitazon sıçanlara 5 ay boyunca verilmiş ve total kolesterol, TG ve LDL düzeylerinde anlamlı düzeyde azalmalar gözlenmiştir (133). Liu ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği bir diğer hiperkolesterolemik sıçan modelinde ise 3 mg/kg/gün rosiglitazon sıçanlara 5 hafta boyunca verilmiş ve kolesterol ve LDL düzeylerinde azalma sağlamıştır (78).

Çalışmamızda, 10 mg atorvastatin (8,1 mg/dl artış) 1 mg rosiglitazon+10 mg atorvastatin (10,4 mg/dl artış) ve 4 mg rosiglitazon+10 mg atorvastatin (10,4 mg/dl artış) ve 3 mg pioglitazon+10 mg atorvastatin (9,1 mg/dl artış) tedavilerini alan

hiperkolesterolemik grupların HDL düzeyleri tedavi öncesi HDL düzeylerine göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur.

Goldberg ve arkadaşları ile **Deeg ve arkadaşları** yaptıkları bir çalışmada pioglitazon ve rosiglitazonun etkilerini Type II diyabetli ve dislipidemili hastalarda kıyaslamışlardır. Hastalar günlük 30 mg pioglitazon ve 4 mg rosiglitazon almışlardır. Trigliserid düzeylerinde pioglitazon ile %12' lik bir düşüş, rosiglitazon ile %15' lik artış gözlenmiştir. Trigliseridlerdeki azalma büyük VLDL ve IDL'lerde azalmayla eşlenik bulunmuştur. Oysa rosiglitazonla trigliserid artışının hem büyük hem de orta büyüklükteki VLDL ve IDL konsantrasyonları ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. Pioglitazon Apo CIII'ü azaltırken, rosiglitazon artırmıştır (104). Pioglitazon LDL düzeyini azaltırken, Apo B'yi değiştirmemiştir. Oysa rosiglitazon hem Apo B'yi hem de LDL düzeyini artırmıştır. LDL düzeylerindeki farklılıkların önemi açık olmasa da bu azalışlar koroner kalp hastalığı için azalan riski göstermektedir. Ayrıca her iki tedavi Lp (a) düzeylerini de artırmıştır (104). Her iki tedavi de HDL kolesterolü artırmıştır. Ancak pioglitazon, HDL partikül boyutunu artırmada rosiglitazona göre daha başarılı bulunmuştur (%14,9 ve %7,8). Pioglitazon total, büyük ve orta HDL leri artırırken, küçük HDL konsantrasyonunu azaltmıştır. Rosiglitazon ise total, büyük ve küçük HDL'yi azaltırken, orta HDL partikül konsantrasyonunu artırmıştır. Pioglitazon ile Apo A1 de değişme gözlenmezken rosiglitazon ile Apo A1 düzeyleri azalmıştır. Kolesterol ester transfer protein aktivitesi rosiglitazon ile azalırken, pioglitazon ile artmıştır. Pioglitazon büyük LDL konsantrasyonunu artırmada ve küçük yoğun LDL partiküllerini azaltmada rosiglitazondan daha etkili olmuştur (104).

Pioglitazonla kombinasyon, rosiglitazonla olan kombinasyonla kıyaslandığında 17 haftalık tedavi sonrası hastalarda trigliserid, total kolesterol, LDL partikül konsantrasyonunda daha fazla azalma ve LDL kolesterol, HDL kolesterol ve LDL partikül çapında artış göstermişlerdir. Apo B değişmezken, Apo A1 artmıştır (20).

Lp(a) LDL'ye hem lipit kompozisyonu hem de Apo-B 100 içermesinden dolayı benzerlik göstermektedir. Farklılık Apo (a) varlığındandır. Lp (a) intimadaki çeşitli doku matriks bileşenleri ile etkileşim kurabilir. Oksidatif modifikasyonlara açıktır.

TGF- β 'nin inhibisyonu ile düz kas hücre çoğalmasını artırmaktadır. Ayrıca plazminojene benzerliğinden dolayı trombolizle de etkileşmektedir. Bu özelliklerinden dolayı koroner arter hastalık riskini artırıcı olduğu düşünülmektedir.

Bazı çalışmalarda statinlerle tedavide artmış Lp (a) değerleri bulunurken, (30, 31) bazılarında tersi gözlenmiştir (67,184). **Maron ve arkadaşlarının** yaptığı bir çalışmada ise statin tedavisinin Lp(a) değerlerini etkilemediği gösterilmiştir (105).

Rosiglitazon ve pioglitazonun her ikisiyle de tedavi Lp (a) düzeylerini artırmıştır (104). Glimeperid gibi oral antidiyabetiklerle de kombine verince pioglitazon Lp (a) düzeylerini azaltırken; rosiglitazon ile kombine tedavi etkilememiştir (51).

Çalışmamızda, hiperkolesterolemik gruba göre kıyaslandığında 10 mg atorvastatin (1,4 kat azalma), 1 mg rosiglitazon+10 mg atorvastatin (1,7 kat azalma), 4 mg rosiglitazon+10 mg atorvastatin (1,4 mg/dl azalma) ve 3 mg pioglitazon+10 mg atorvastatin (2,2 kat azalma) tedavilerini alan hiperkolesterolemik grupların Lp(a) düzeyleri anlamlı düzeyde düşüktü. Çalışmamızda her ne kadar pioglitazon ve atorvastatin kullanımı en yüksek oranda Lp (a) değerlerini düşürmüş olsa da bu değer istatistiksel olarak diğer kombine ve atorvastatin monoterapisinden farklı değildi. Dolayısıyla bu sonuçlar bu düşüşlerin atorvastatin etkisinden kaynaklanıyor olabileceğini düşündürmektedir.

Apolipoprotein B (Apo-B) aterojenik LDL partiküllerinin primer yapısal komponentidir. LDL kolesterolün absorpsiyonu katabolizması ve LDL partiküllerinin LDL reseptörlerine bağlanması için gereklidir. Apo-B içeren partiküllerin fazlalığı aterojenik proses için ana tetikleyicidir. Apo-B arter duvarında aterojenik lipoproteinlerin birikimine yol açar (5). LDL, IDL ve VLDL partikülleri bir ApoB-100 partikülü taşımaktadır. Toplam Apo B değeri potansiyel olarak aterojenik lipoproteinlerin toplam miktarını temsil etmektedir (5).

Apolipoprotein A1, HDL partiküllerinin primer protein komponentidir. ApoA1 HDL reseptörleri ile etkileşim kurar ve lesitin-kolesterol açıl transferaz enzimini uyarır. Bu enzim ise ters kolesterol transport işleminde esas basamak olan kolesterolün

esterifikasyonunu sağlar (5). ApoA1 ayrıca antiinflamatuvar ve antioksidan etkiler de göstermektedir.

Büyük klinik çalışmalarda statin tedavisi ile ApoA1 de artış ve ApoB'de azalış gözlenmiştir. Yapılan bir çalışmada atorvastatinin LDL kolesterolü ve ApoB'yi düşürmede simvastatinden daha etkili olduğu gösterilmiştir (5). Fakat bu tedavinin hiperkolesterolemi hastalarının ApoA1 düzeyleri üzerinde daha az etkili olduğu da gözlenmiştir (45). **Insull ve arkadaşlarının** yaptığı çalışmada da atorvastatinin ApoB'yi düşürmede simvastatinden daha etkili olduğu gösterilmiştir (79).

Strandberg ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise atorvastatinin ApoA1 ve HDL'yi artırdığı gözlenmiştir (159). **Berhanu ve arkadaşlarının** yaptığı kombine statin ve glitazon tedavilerinde pioglitazonla yapılan 17 haftalık kombine tedavilerin ApoB'yi değiştirmedeği fakat ApoA'yı daha fazla artırdığı gözlenmiştir (20).

Sakamoto ve arkadaşları hem pioglitazonun hem de rosiglitazonun COS-1 hücrelerinde sırasıyla ApoA1'i 5,4 ve 4,2 kat aktive ettiklerini göstermiştir. Ayrıca **Qin ve arkadaşları** HepG2 hücrelerinde pioglitazonun Apo A1 sentezini artırdığını göstermişlerdir (153).

Yapılan çalışmalarda HDL2 düzeylerinin rosiglitazon tedavisi ile arttığı gösterilmiştir. Bu artışlar hepatic lipaz aktivitesi ile ilişkili olabilir (190).

PPAR- γ ABC taşıyıcı A1 (ABCA1) ekspresyonunu düzenleyebilir. Bu taşıyıcı ApoA1 ilişkili lipit çıkışına aracılık etmektedir. (41). Bu yüzden rosiglitazon ters kolesterol transportunu ABCA1 ekspresyonunu artırarak uyarabilir. (64).

Çalışmamızda, hiperkolesterolemik gruba göre kıyaslandığında 10 mg atorvastatin (1,5 kat artış) 1 mg rosiglitazon+10 mg atorvastatin (1,48 kat artış) ve 4 mg rosiglitazon+10 mg atorvastatin (1,54 artış) ve 3 mg pioglitazon+10 mg atorvastatin (1,68 kat artış) tedavilerini alan hiperkolesterolemik grupların Apo A1 düzeyleri anlamlı düzeyde yüksekti. Fakat gruplar arasında farklılık yoktu.

Çalışmamızda, hiperkolesterolemik gruba göre kıyaslandığında 10 mg. atorvastatin (1,27 kat azalma) 1 mg rosiglitazon+10 mg atorvastatin (1,46 kat azalma) ve 4 mg rosiglitazon+10 mg atorvastatin (1,40 kat azalma) ve 3 mg pioglitazon+10 mg atorvastatin (1,73 kat azalma) tedavilerini alan hiperkolesterolemik grupların Apo B düzeyleri anlamlı düzeyde düşüktü. Fakat gruplar arasında farklılık yoktu.

Apo A ve Apo B düzeylerinde farklılıklara baktığımızda rosiglitazon ve pioglitazon tedavilerinin olumlu etkileri bulunsa da istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kombine tedavi ve statin ile monoterapide gözlenen sonuçların benzerliği etkinin statin tedavisinden kaynaklanıyor olabileceğini düşündürmektedir.

5.2. KARACİĞER FONKSİYONLARI

Amin ve arkadaşları karaciğer transaminazlarının (ALT ve AST) hiperkolesterolemik ratlarda 3 ve 6 hafta sonunda normal kontrollere göre kıyaslandığında arttığını bulmuşlardır. Hiperlipidemi ile karaciğer dokusunun hasarı sonrası hücre membranı hasara uğrar, normalde hücre sitozolünde bulunan bu enzimler kan dolaşımına geçer (4). Yüksek kolesterol düzeyleri karaciğer hasarına neden olabilir (4). **Vijayabaskar ve arkadaşlarının** yaptığı çalışmada 17 gün hiperkolesterolemik diyetle beslenen sıçanların 7 günlük 1,34 mg/kg/gün atorvastatin tedavisi sonrası karaciğer ALT ve AST değerlerinde düzelmeye gözlenmiştir (176). Kore atorvastatin çalışma grubunca gerçekleştirilen bir çalışmada ise serum transaminazlarında kalıcı bir artış gözlenmemiştir (8).

Caldwell ve Promrat çalışma gruplarının sonuçlarına göre PPAR γ -agonistlerinin non-alkolik steatohepatitli (NASH) hastalarında karaciğer yağ içeriğini ve ALT değerlerini düşürdükleri gösterilmiş ve ayrıca periferik insulin direnci de düzelmiştir (35,132).

3455 kişinin rosiglitazon tedavisi aldığı bir çalışmada hepatotoksisite not edilmemiştir (145). Ancak rosiglitazon kullanımı sonrası iki vakada hepatotoksisite rapor edilmiştir (1,62). Ayrıca pioglitazonunda bilinen hepatotoksisitesi bulunmamaktadır (91).

Yapılan çalışmalarda pioglitazon ve rosiglitazonun herhangi bir idiyosenkratik karaciğer toksisitesine neden olmadığı da bildirilmiştir (148).

Çalışmamızda 1 mg rosiglitazon+10 mg atorvastatin ile 4 mg rosiglitazon+ 10 mg atorvastatin grupları AST değerleri hiperkolesterolemik gruba göre anlamlı düzeyde düşüktü. Diğer tedavi gruplarının AST değerleri hiperkolesterolemik gruba göre farklılık göstermedi. Ayrıca 1 mg rosiglitazon+10 mg atorvastatin grubu ALT değerleri hiperkolesterolemik gruba göre anlamlı düzeyde düşüktü. Diğer tüm tedavi gruplarının ALT değerleri hiperkolesterolemik gruba benzerdi.

Bu sonuçlar göstermektedir ki, hiperkolesterolemi kontrole kıyasla karaciğer fonksiyonu belirteci olan enzimlerde hafif bir artışa sebep olmuştur. Ancak bu artışlar toksisite anlamına gelmemektedir. Ayrıca kullandığımız ilaç dozları sıçanlarda hiperkolesteroleminin neden olduğu hepatosit fonksiyonu bozukluğuna ilaveten zararlı bir etki göstermemiştir. Ayrıca 1 mg ve 4 mg rosiglitazon ile 10 mg atorvastatin kombinasyonlarının karaciğer fonksiyonunu düzeltmede rol oynadığı söylenebilir.

5.3. ENDOTEL FONKSİYONLARI

Statinler endotel fonksiyonları için de önemli bir yere sahip olan NO düzeyini, eNOS ekspresyonu üzerinden düzenler. Bu düzenleme 3 yoldan yapılır. Birincisi statinlerin eNOS mRNA'sının stabilitesini artırdığı Rho/RCK sinyalini gerektiren yoldur. RhoA burada negatif düzenleyicidir. İkincisi serin-treonin protein kinaz aktivasyonudur. Böylelikle eNOS fosforilasyonunda artışa neden olurlar. Üçüncü olarak e-NOS'a bağlanan transmembran protein olan kaveolin-1'i azaltırlar (191).

Çalışmamızda, hiperkolesterolemik gruba göre kıyaslandığında 1 mg rosigitazon, 4 mg rosigitazon, 1 mg rosigitazon+10 mg atorvastatin ve 4 mg rosigitazon+10 mg atorvastatin, 3 mg pioglitazon ve 3 mg pioglitazon+10 mg atorvastatin tedavilerini alan hiperkolesterolemik grupların NO düzeyleri anlamlı düzeyde yüksekti. 4 mg rosigitazon tedavisi NO değerlerini 1 mg rosigitazon ve 3 mg pioglitazona göre anlamlı şekilde artırdı. Ayrıca 4 mg rosigitazon ve 10 mg atorvastatin kombine tedavileri diğer kombinasyonlara göre NO değerlerini artırmada daha etkili bulundu.

Çalışmamızda, hiperkolesterolemik grubun NO değerleri kontrole göre kıyaslandığında anlamlı şekilde düşmüştür. Bu sonuçlar **Szilvassy ve arkadaşlarının** yaptığı çalışmada gözledikleri hiperkolesterolemik modelde vasküler NO üretiminde önemli düşüşler ile paraleldir (4,163). Oksijen radikallerinin oluşumu NO yararlanımını azaltarak endotel bağımlı cevaplarda yetersizliğe yol açar.

NO'in biyoyararlanımı NO'in azalmış sentezi ya da NO'in artmış degradasyonu ile bozulmaktadır. Proaterosklerotik durumlarda NO'in bozulmuş aktivitesi NO'in oksijen radikalleri üzerinden degradasyonunun artmasından kaynaklanmaktadır (4,15). Kısa dönem atorvastatin tedavisi lipit profilinde iyileşme, antioksidan etkiler ve endotel fonksiyonunda düzelmeleri indükleyebilir (144). Hatta 3 gün sonra bile hiperkolesterolemide oksidatif stresi azaltarak NO üretimini indükleyebilir. Bu düzelmeye LDL kolesterolü azaltmadaki etkisinden çok daha hızlı gözlenmektedir (84).

Çalışmamızda 21 gün süreyle 10 mg atorvastatin tedavisi hiperkolesterolemik sıçanlarda NO değerini artırmış olsa da istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bunun sebebi gruplarda kullanılan sıçan sayısının az olması olabilir.

Dandona ve arkadaşları da glitazonların HDL kolesterolün artması, inflamatuvar markırların azaltılması ve endotel fonksiyonların düzeltilmesi açısından bizim sonuçlarımızla paralel şekilde memnuniyet verici etkileri olduğunu göstermişlerdir (48).

PPAR- γ agonistlerinin CuZn-SOD gen ekspresyonunu ve protein düzeylerini insan umbilikal ven ve aortasında artırdığı gösterilmiştir (165). Hiperkolesterolemi ile oluşturulan artmış süperoksid anyon düzeyleri NO'nin degradasyonunu artırmaktadır. Yapılan çalışmada pioglitazonun NO degradasyonunu CuZn-SOD aktivitesini artırıcı etkisiyle inhibe edebileceğini göstermişlerdir (165)

Maeshiba ve arkadaşları ratlarda yaptıkları çalışmada 30 mg/kg/gün dozunda 13 hafta süre ile pioglitazonun kronik kullanımının toksik olmadığını göstermişlerdir. Dolayısıyla gözlenen vasküloprotektif etkilerinin toksisiteden kaynaklanmadığı belirtilmektedir. Taniguchi ve arkadaşları ise 15 mg/kg/gün dozda 5 hafta kullanmışlar ve vasküloprotektif etkiler gözlemlemişlerdir (165).

Homosistein (Hcy), ROS üretimi ile oksidatif stresi artırdığından NO'e bağlanır ve homosisteinlenmiş proteinler oluşturur. Ya da öncülü olan, biyolojik transmetilasyonların potent bir inhibitörü olan S-Adenozilhomosisteinlerin birikimine yol açar. Homosistein düzeylerinin düzeltilmesinin kardiyovasküler riski azaltmadaki rolünü araştıran büyük klinik çalışmalar, hiperhomosisteinememinin tedavisinde önerilen besinsel ve biyokimyasal düzenlemelerin etkisini açıkça ortaya koyamamıştır (4).

Homosistein iNOS'u indükler ve NO biyoyararlanımının azalmasına neden olan eNOS ekspresyonu azaltıp GABA-A reseptörleri ile yarışarak oksidatif stres aktarım yollarını indükler (169).

Bolayirli ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği bir çalışmada endotel fonksiyonunun bozulmasında hiperkolesterolemi gibi diğer kardiyovasküler risk faktörleri de varken NO aracılı vazodilatasyonun bozulması ile birlikte artan homosistein düzeyleri de görülmüştür. Bu yüksek homosistein düzeyleri hiperkolesterolemik tavşanlarda gözlenmiştir (4,28). Aksine **Zulli ve arkadaşları** hiperkolesterolemik tavşanlarda plazma homosistein düzeylerinde kontrollerle kıyaslandığında anlamlı bir farklılık gözlememişlerdir (193).

Ferretti ve arkadaşları disülfid bağları oluşumu, LDL lipit peroksidasyonu artırılması ve oksijen kaynaklı serbest radikalleri oluşturulması ile artan homosistein düzeylerinin ilişkili olabileceğini göstermişlerdir (60).

Hiperhomosisteinemi, kardiyovasküler hastalıklar için bağımsız risk faktörüdür. Homosisteinin artmış redoks aktivitesi antiaterojenik etkisi olan NO'nun artan oksidatif inaktivasyonuna neden olabilir (27). Homosistein disülfidler, Hidrojen peroksit ve süper oksidin oluşumu ile NO'nun oksidatif degradasyonuna yol açar (161).

Çalışmamızda hiperkolesterolemik grubun homosistein değerleri kontrol grubundan anlamlı derecede yüksekti. Bu sonuçlar **Amin ve arkadaşlarının** oluşturduğu modeldeki sonuçlarla paraleldi. Hiperkolesterolemik grup ile kıyaslanınca homosistein düzeylerinde tüm tedavi gruplarında anlamlı bir düşüş vardı. Ayrıca kombine tedavilerdeki homosistein düzeyleri sağlıklı kontrol ile farklılık göstermiyordu.

Hiperkolesterolemik sıçanların atorvastatin ile tedavisi Hcy metabolizmasını glomerular filtrasyon, Hcy metabolizması veya sistatyon- β -sentaz üzerine olan etkiler ile değiştirmektedir (61). Ayrıca atorvastatin tedavisi eNOS sentezini de artırmaktadır. **Bolayirli ve arkadaşlarının** tavşanlarda oluşturdukları hiperkolesterolemik modelde atorvastatin tedavisi sonrası bizim bulgularımızın aksine homosistein düzeylerinde değişme gözlenmemiştir (28). Bu durum kullanılan deney hayvanlarının farklı olmasına bağlı olabilir.

Stulc ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Tip II diyabet hastalarında 4mg rosiglitazon tedavisinin homosistein düzeylerini değiştirmediği gözlenmiştir. (162). **Rodriguez ve arkadaşları** da yüksek yağlı diyetle beslenen diyabetik sıçanlarda pioglitazon ile Hcy düzeylerinde kontrole kıyasla farklılık gözlememişlerdir (140). Fakat bizim çalışmamızda hem atorvastatin hem de tiazolidindionlar ve kombine tedavileri ile homosistein düzeyleri düşmüştür.

Derosa ve arkadaşları pioglitazonu ve rosiglitazonu glimepiride ile tedavi edilen Tip II diyabet hastalarının tedavilerine eklenmiştir. Bu şekilde homosistein düzeylerinde azalma gözlenmiştir (51).

Hiperlipidemi ile hiperhomosisteinemi arasında önemli bir ilişki vardır. Bu yüzden hiperhomosisteineminin düzeltilmesinde lipit düşürücü tedavinin önemi büyüktür. Yüksek homosistein düzeyleri ile düşük HDL düzeyleri ve bozulmuş plazma lipitleri, yağlı karaciğer ile ilişkilendirilmiştir. Azalmış metil grubu VLDL toplanması için gerekli major fosfolipit olan fosfotidilkolin sentezinde azalmaya neden olur.

Hcy'in HDL üzerindeki etkisi HDL partikülü toplanmasına katılan molekül veya enzimlerin inhibe edilmesi ile ilişkili olabilir (4, 120). Hiperkolesterolemi, endotel fonksiyonunu ya NO sentez ve salınımını bozarak veya NO'i süperoksit radikalleri ile inaktive ederek azaltmaktadır (4). Ayrıca NO 'in azalmış biyolojik aktivitesi ve biyoyararlanımı dolaşımdaki artan endojen NOS inhibitörü asimetrik dimetil arjinin (ADMA) kaynaklı olabilir ya da homosistein ilişkili endotel disfonksiyonla ilişkili olabilir (4).

Çalışmamızda, hiperkolesterolemik gruba göre kıyaslandığında tüm tedavi gruplarının ADMA düzeylerinde azalma gözlenmiştir. 1mg ve 4mg rosiglitazon ve 10 mg atorvastatin ADMA düzeyleri üzerine 3 mg pioglitazona göre daha etkili idi. 1 mg rosiglitazon+10 mg atorvastatin ve 4 mg rosiglitazon+10 mg atorvastatin gruplarında 3 mg pioglitazon+10 mg atorvastatin tedavilerini alan hiperkolesterolemik gruba göre ADMA düzeyleri anlamlı düzeyde düşüktü.

Total homosistein artışı, ADMA metabolizmasından sorumlu bir enzim olan dimetil-arjinin dimetil-aminohidrolaz (DDAH) aktivitesini inhibe ederek ADMA'nın endoteldeki oluşumunu artırmaktadır (4).

Wakino ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada pioglitazonun hipertansif ratlarda DDAH-II'yi artırdığı ve ADMA'yı azaltarak NO sentez yolunu uyardığı gözlenmiştir. (177).

Ayrıca LDL, interlökin-1 β ve retinoik asit ile de DDAH-II düzenlenmektedir. (177). Son zamanlardaki iki çalışmada hiperkolesterolemik tavşan (24) ve insanlarda ADMA düzeylerinin arttığı gözlenmiştir (25). **Boger ve arkadaşları** bir başka çalışmada LDL kolesterolün ADMA üretimi ile ilişkili bir enzim olan protein arjinin metil transferaz (PRMT)'ın indüksiyonu aracılığıyla insan endotel hücrelerinde ADMA sentezini artırdığını göstermişlerdir (26). Bizim çalışmamızda da tedavi amacı ile kullandığımız ilaçlar LDL düzeylerini anlamlı düzeyde düşürdüler. Bu LDL düzeylerindeki düşüşler ADMA düzeylerini bu belirtilen yoldan azaltmış olabilirler.

Ayrıca sağlıklı insan örneklerinde yapılan bir çalışmada dolaşımdaki ADMA düzeyleri ile insulin direnci arasında pozitif bir ilişki olduğu gösterilmiştir (161). Bu çalışmada aynı zamanda rosiglitazonla tedavi ile ADMA düzeyinde ve insulin direncinde düşme gözlenmiştir.

Bazı çalışmalarda hasta kişilerde (134), bazı hayvanlarda (88) ve sağlıklı veya diyabetik insanlarda rosiglitazon tedavisinin ADMA düzeylerini anlamlı şekilde değiştirmedeği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (110). Diyabetik olmayan kişilerde rosiglitazon bizim sonuçlarımıza benzer şekilde eNOS inhibitörü ADMA'nın düzeylerini azaltmıştır (161).

Bolayirli ve arkadaşlarının oluşturduğu hiperkolesterolemik tavşan modelinde 0,3 mg/kg/gün atorvastatin tedavisi 4 hafta boyunca uygulanmıştır (28) ve ADMA ve NO düzeylerinde anlamlı bir değişme gözlenmemiştir. Ayrıca hiperkolesterolemik hastalarda atorvastatin kullanımı ADMA düzeylerinde önemli bir değişiklik göstermemiştir (123). Bizim sonuçlarımızda ise ADMA düzeyleri hem atorvastatin

monoterapi de hem de rosiglitazon ve pioglitazon ile kombine tedavide azalmıştır. Hatta bu azalışlar rosiglitazon ile tedavi edilen gruplarda pioglitazon ile kıyaslanınca daha fazladır. Ayrıca hem 1 mg hem de 4 mg rosiglitazon ile statin kombinasyonu, 3 mg pioglitazonun statin kombinasyonuna göre daha iyi sonuç vermiştir.

5.4. OKSİDATİF VE İNFLAMATUAR BELİRTEÇLER

Paraoksonaz (PON) ve arilesteraz (ARE) HDL'de bulunan antioksidan fonksiyonlu kalsiyum bağımlı esteraz enzimlerdir. Paraoksonazın üç çeşidi bulunmaktadır. Bunlardan serum PON-1 plazmada HDL ile birlikte bulunur ve plazma lipoproteinlerinin oksidasyonunu önlemede rolü olduğu düşünülmektedir. Aynı aileden PON2 ve PON3'de antioksidan özelliğe sahiptirler. PON2 hücre içinde her yerde bulunur ancak PON3 bazal antioksidan aktiviteye sahiptir ve esas olarak HDL'ye bağlanmaktadır (106).

PON ve ARE'nin lipit peroksit ürünlerini ve organofosfatları hidroliz ettikleri bilinmektedir (100). Aterosklerozla ilişkili çoğu hastalıkta düzeylerinin azaldığı bildirilmektedir (100). Ayrıca PON1 ve ARE aktivitelerinin HDL düzeylerinden etkilendiği bilinmektedir (100).

PON-1 üç aktiviteye sahip olan bir enzimdir. Paraoksonaz (PON), aril esteraz (ARES), diaoksonaz. PON-1 organofosfatlar, paraokson, fenil asetat gibi aromatik esterleri, lipit peroksidasyon ürünlerini hidroliz eder ve onların birikmesini engeller. Bu yüzden PON-1 aterosklerozun ilerlemesini önler ve antiaterojenik özelliği vardır (7). PON-1 serum ve dokularda oksidatif stresi de azaltmaktadır ve kardiyovasküler hastalıklara karşı korumaktadır (10).

İn vitro çalışmalarda PON'un LDL ve HDL'yi, bakır iyonunun ve serbest radikallerin indüklediği oksidasyondan koruyarak antioksidan etki gösterdiği belirlenmiştir. Paraoksonaz enziminin, okside LDL'de bulunan kolesterol linoleat hidroperoksitleri ve okside fosfolipidleri hidroliz ederek bu koruyucu etkisini gösterebildiği bildirilmektedir (181).

Hiperkolesterolemide reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu artmıştır. ROS oluşumu protein, lipit, nükleik asit ve matriks komponentlerine hasar vermektedir. Poliansatüre yağ asitlerindeki çift bağlara atak yapabilir ve böylelikle lipit peroksidasyonunu indükler ve daha fazla oksidatif hasar verir. Plazma okside LDL konsantrasyonlarının artışı hiperkolesterolemi, son dönem böbrek hastalığı,

transplantasyon, koroner ateroskleroz, diabet, koroner arter hastalığı ve metabolik sendromda gösterilmiştir (10,93). **Aviram ve arkadaşları** ox-LDL ile PON-1 inaktivasyonunu böylece hem PON ve ARE aktivitelerinde azalmayı hem de HDL'nin oksidasyona yatkınlığını göstermişlerdir (10). **Navab ve arkadaşları** da paraoksonazın HDL'nin antioksidan özelliklerini koruduğunu göstermişlerdir (115). Antioksidan ve antiaterojenik özelliklere sahip PON ve ARE enzimlerindeki azalmalar, ateroskleroz gelişiminde rol oynayabilir.

Homosistein tiyolakton (HTL) hem toksik hem de sitotoksik bir homosistein metabolik ürünüdür. Bu ürün PON1'in homosistein tiyolaktonaz aktivitesi ile detoksifiye edilmektedir. (82). PON1 HDL'nin bir komponentidir ve okside lipitleri degrade eder. PON1'in homosistein tiyolaktonaz aktivitesi ise PON-1'in antiaterosklerotik ve antioksidan etkilerinden sorumludurlar (60, 82).

Tomas ve Aviram tarafından gerçekleştirilen önceki çalışmalar; oksidatif stresin PON1 aktivitesini inhibe ettiğini göstermektedir. Ayrıca **Bolayirli ve arkadaşları** da tavşanlarda bu sonuçlara paralel şekilde sonuçlar elde etmişlerdir. PON-1 düzeylerinin HDL kolesterol ile negatif olarak korele olduklarını göstermişlerdir. Ayrıca, hiperkolesteroleminin enzim sülfidril grupları ile okside lipitler arasında etkileşimler aracılığıyla PON-1 enzim aktivitesini azaltabildiği bilinmektedir. **Hong ve arkadaşları** ile **Tomas ve arkadaşlarının** yaptığı çalışma ile paralel olarak bizim çalışmamızda da hiperkolesterolemik sıçanlarda PON-1 düzeyleri azalmıştı (77,167). Ayrıca **Nus ve arkadaşları** da hiperkolesterolemik sıçan ve farelerde bizim çalışmamızla benzer şekilde ARE düzeylerinin düştüğünü göstermişlerdir (109).

Çalışmamızda hiperkolesterolemik grubun PON değerleri kontrol grubundan anlamlı derecede düşüktü. Ayrıca hiperkolesterolemik gruba göre kıyaslandığında tüm tedavi gruplarının PON düzeylerinde artış gözlenmiştir. Ayrıca tek başına 1mg rosiglitazon monotedavisi PON düzeylerini artırsa da diğer tedavi gruplarına göre kıyaslandığında bu artış anlamlı düzeyde düşüktü. Ayrıca 4 mg rosiglitazon+10 mg. atorvastatin kombine tedavisi PON düzeylerini diğer gruplara göre daha fazla artırsa da istatistiksel olarak artış farklı değildi.

Çalışmamızda hiperkolesterolemik grubun ARE değerleri kontrol grubundan anlamlı derecede düşüktü. Ayrıca hiperkolesterolemik gruba göre kıyaslandığında tüm tedavi gruplarının ARE düzeylerinde PON değerlerine paralel bir şekilde artış gözlenmiştir.

Hiperhomosisteineminin zararlı etkileri için oksijen kaynaklı serbest radikaller disülfid bağlarının oluşturulmasında rol almaktadır. Böylelikle lipit peroksidasyonu artacaktır (60). Yüksek homosistein hiperkolesterolemik tavşanlarda PON gen ekspresyonunu negatif olarak etkilemektedir ve azalmış PON-1 serum aktivitesine neden olmaktadır (28). Bu sonuçlar tedavi sonrası homosistein düzeylerinin azalması ve PON aktivitesinin artışı yönündeki bulgularımızla paraleldir. Ayrıca lipit peroksitlerindeki azalmalar, atorvastatinin uyardığı oksidasyona yatkın olan yaşlı LDL'lerin uzaklaştırılmasıyla, LDL kolesterolün azalmasından kaynaklanmaktadır. Atorvastatinin antioksidan etkileriyle PON-1 aktivitesini dolaylı olarak artırabilirler.

Yapılan literatür araştırmasında; hiperlipidemik hastalarda atorvastatin tedavisinin lipit profili ve oksidatif stres parametrelerini azaltırken, PON-1 aktivitesini arttırdığı gözlenmiştir (73,92,142). Ancak bizim çalışmamızın aksine dislipideminin düzeltilmesi ile hiperlipidemik insanlarda PON-1 aktivitesinde değişme gözlenmemiştir (168). Yine çalışmamızın aksine **Paragh ve arkadaşları** ile **Harangi ve arkadaşlarının** yaptıkları çalışmalarda atorvastatin tedavisi sonrası hiperlipidemik insanlarda HDL kolesterol düzeylerinde değişim gözlenmemiştir (73,125).

Yapılan çalışmalarda ApoA1'in PON-1 aktivitesini stabilize ettiği gözlenmiştir. ApoA1 yokluğunda PON-1 HDLde düşük seviyelerde eksprese edilir ve daha az stabildir. ApoA1' in glikasyonu, PON-1 ve HDL arasındaki bağlanmayı olumsuz yönde etkiler (122).

Rosiglitazon ters kolesterol taşınmasını artırmaktadır. **Wijk ve arkadaşlarının** yaptıkları çalışmalarda rosiglitazonun tip II diyabet hastalarında açlık PON aktivitesini artırdığı ancak kütesini değiştirmedığı gözlenmiştir (173).

Rosiglitazonla tedavi sonrası PON-1 aktivitesindeki artış PON-1 geninin doğrudan uyarılmasından kaynaklanıyor olabilir. Ancak bunun olasılığı düşük olabilir, çünkü **Wijk ve arkadaşları** yaptıkları çalışmalarda rosiglitazon tedavisi ile PON düzeyinde değişiklik olmadığını bulmuşlardır. Dolayısıyla PON-1 aktivitesindeki artışların ve lipoperoksitlerdeki azalışların hiperkolesterolemik hastalarda gözleendiği gibi glisemik kontrolün ya da insulin direncinin düzelmesinden kaynaklanıyor olabileceği düşünülmüştür (173).

Rosiglitazonun antioksidan etkileri PPAR- γ aktivitesinden bağımsız olabilir. HDL'nin ters kolesterol transportunu artırması yanında antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri genel antiaterojenik etkilerine katkı sağlamaktadır. HDL'nin antioksidan özelliği apoprotein ve içerdiği PON enziminden kaynaklanmaktadır. ApoA-1 ayrıca LDL'den seeding moleküllerin uzaklaşmasından sorumludur. LDL kaynaklı fosfolipitlerin oksidasyonunu engeller. ApoA1 geninde PPAR γ yanıt elementi bulunduğundan ApoA1 geni pozitif olarak PPAR- γ tarafından düzenlenmektedir. Dolayısıyla ApoA1 ekspresyonu PPAR- γ agonistleri ile düzenlenmektedir.

Trujillo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hiperkolesterolemik farelerde PON düzeylerinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir (188). Bizim çalışmamızda ise doza bağımlı olarak rosiglitazon tedavisi PON düzeylerini artırmıştır.

Torres ve arkadaşlarının Yeni Zelanda tavşanları ile gerçekleştirdiği bir çalışmada rosiglitazonun ApoA1 artışı ve daha çok küçük HDL yapılması ile PON1 aktivitesinde artışa neden oldukları ve HDL boyutunun küçültülmesinin antidislipidemik ilaçlar için terapötik bir amaç olabileceğini göstermişlerdir (36). Torres ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada da pioglitazonun HDL boyutu dağılımına etki ederek küçük HDL3C partiküllerine dönüşümü artırdığını göstermişlerdir (36). Ancak Apo A1 konsantrasyonunu değiştirmeden kinetiğini etkilemiştir. Bu küçük HDL'lerdeki değişim rosiglitazonun etkisi ile benzerdir. Dolayısıyla pioglitazonun etkisinin de rosiglitazona benzer şekilde PON-1 aktivitesini artırıcı yönde olduğunu düşündürmektedir. Çalışmamızda bu verilere uyumlu şekilde pioglitazon, rosiglitazon

ve bu ilaçların atorvastatin ile kombinasyonu ile tedaviler sonucunda PON ve ARE düzeylerinde artış gözlenmiştir.

Ateroskleroz, ateroma içinde T lenfositleri, monositler ve makrofajların bulunmasıyla karakterize olan kompleks bir inflamatuvar olgudur. Ateroma içindeki makrofajlar ve T lenfositleri tarafından salgılanan inflamatuvar sitokinler, endotel fonksiyonunu, düz kas hücre proliferasyonunu, kollajen degradasyonunu ve trombolizisi değiştirebilir (80).

Makrofajların aktivasyonu ile birlikte başlayan süreç sonucunda gerçekleşen monosit adezyonu ve sonrasında monositlerin subendotelyal yüzeye geçişleri ateroenezin erken fazını oluşturmaktadır (80).

Son yapılan çalışmalar, statinlerin aterosklerotik plaklarda bulunan inflamatuvar hücreleri azaltabilme yeteneklerinin onların antiinflamatuvar özelliklerinden kaynaklandığını göstermiştir (174). Etkinin mekanizması tam olarak açıklanamasa da, statinlerin bir düzenleyici bölge olan $\beta 2$ integrin ve lökosit fonksiyonlu antijen-1'e bağlanarak inflamatuvar yanıtı azalttığı gösterilmiştir (182).

Statinlerin, normokolesterolemik ve diyabetik hayvanlarda, P selektin ve lökosit adezyonunu azaltarak iskemik miyokardiyumu koruduğu da gösterilmiştir (94,157). Kolesterol düşürücü etkilerinden bağımsız olarak ortaya çıkan bu etkinin, eNOS eksikliğinde ya da L-NAME ile tedavi edilen deney hayvanlarında oluşmuyor olması, statinlerin vasküler koruyucu etkilerinin eNOS bağımlı olduğunu göstermektedir. Bu mekanizmalara ek olarak, inflamasyonun göstergesi olan ve karaciğer tarafından proinflamatuvar sitokinlere yanıt olarak üretilen C reaktif proteinin (hs-CRP) (136) yükselmiş düzeyleri koroner arter hastalıklarının bir göstergesi olarak bilinir ve koroner arter hastalığı ile koroner iskemisi olan hastalarla, miyokard infarktüsü geçiren hastalarda oldukça yüksektir (135).

Çalışmamızda hiperkolesterolemik grubun hsCRP düzeyleri kontrol ile kıyaslanınca anlamlı düzeyde yüksekti. Ayrıca 1 mg rosiglitazon, 4 mg rosiglitazon ve

10 mg atorvastatin monoterapileri hsCRP düzeylerini hiperkolesterolemik grup ile kıyaslanınca anlamlı derecede düşürdü.

Ridker ve arkadaşlarının yaptığı statin tedavisinin hiperkolesterolemisi olan hastalardaki hs-CRP düzeylerini düşürdüğü saptanmıştır (135). Bununla birlikte, yapılan çalışmalar, statinlerin sistemik ve vasküler inflamasyonu azalttığını da göstermiştir (136).

Diğer taraftan inflamasyonun ateroskleroz ve Tip II DM’de ana faktörlerden biri olduğu da düşünülmektedir. Glitazonların klinik çalışmalarda proinflamatuvar risk markırlarının önemli şekilde düşmesinden sorumlu oldukları gösterilmiştir (147, 180). Bir çalışmada 4 mg/gün rosiglitazon kullanımının hs-CRP düzeylerini %30 oranında düşürdüğü gösterilmiştir (180). Diğer bir çalışmada da benzer şekilde pioglitazonun (30 mg/gün)’nun proinflamatuvar risk markırlarını düşürme oranının glukozu düşürme oranından daha iyi olduğu gösterilmiştir (147).

Bu çalışmalar tiazolidinedionların potent antiinflamatuvar etkileri olduğunu göstermektedir ve kardiyovasküler olayları önlemede önemli rolleri bulunmaktadır. CRP, eNOS ekspresyonunda ve insan endotel hücrelerinde (EH) azalmaya neden olur. EH apoptozunu NO-bağımlı tarzda artırmakta ve nükleer faktör kapa B düzeyini artırmaktadır. Endotel progenitör hücrelerin (EPH) farklılaşmasını da inhibe etmekte ve apoptoza sürüklemektedir. Rosiglitazonla tedavi CRP’nin EPH üzerindeki zarar verici etkilerini azaltmıştır (175). CRP kompleman sistemi aktifleştirebilir ve in vitro insan kan hücreleri için kemotaktiktir. Ox-LDL’nin makrofajlarca alınımını artırır. İnsan monosit ve makrofajlarında ise MMP-1 düzeylerini artırarak plak hassasiyetinde rol almaktadır. Ayrıca düz kas hücre migrasyonuna ve reaktif oksijen türlerinin oluşumuna yol açan anjiyotensin tip 1 reseptör’ün artan ekspresyonuna yol açar.

Hattori ve arkadaşları rosiglitazon ve pioglitazonla NF-KB, MCP-1, IL-6 ve iNOS gen ekspresyonunun engellendiğini göstermişlerdir (75). Yapılan bir çalışmada TZD’lerin bir hafta içinde CRP düzeylerini %30 azaltırken statinleri %14 azalttıkları

gösterilmiştir (154). Bizim çalışmamızda ise TZD'ler hsCRP düzeylerini düzeltmede atorvastatin ile benzer etki göstermiştir.

Atorvastatin tedavisi ile rosiglitazonla tedavi edilen Tip II Diyabet hastalarında CRP önemli şekilde azalmıştır. Ayrıca uzun süre statin tedavisine rosiglitazon ve pioglitazon ilavesi ile diabetik olmayan kardiyovasküler hastalarda yararlı etkiler gözlenmiştir (55). Çalışmamızda bu sonuçların aksine, kombine tedavilerin hiperkolesterolemik gruba göre kıyaslandığında hsCRP düzeylerinde düşüş sağladıkları görülse de anlamlı olmadıkları gözlenmiştir. Ayrıca 1 mg ve 4 mg rosiglitazon, 10 mg atorvastatin monoterapileri doza bağımlı olmaksızın hsCRP düzeylerinde düşüş sağlamışlardır.

5.5. HDL KOLESTEROLÜN ANTIOKSİDAN ÖZELLİĞİ:

Çalışmamızda özgün olan bir diğer amaç ise son zamanlarda dikkat çeken yeni bir konu olan HDL-C'nin antioksidan özelliği üzerine hiperkolesterolemik sıçanlarda PPAR- γ agonistlerinin ve statinlerin tek ve kombine kullanılmalarının etkisini göstermekti. Burada dikkat çeken nokta HDL-C'nin serum konsantrasyonu değil antiinflamatuvar özelliği açısından incelenmesidir.

Daha önce de belirttiğimiz gibi PON güçlü bir antioksidan etkiye sahiptir, bu enzim sayesinde HDL'nin oksidasyondan korunduğu bildirilmektedir. **Durrington ve arkadaşları** ise HDL'nin LDL'yi oksidasyona karşı koruyucu etkisinde paraoksonaz (PON)'ın yanısıra LCAT ve PAF-AH enzimlerinin de katkısı olduğunu bildirmiştir. Bu enzimler de PON gibi, fosfolipid hidroperoksitlerinin oluşumunu önleyerek LDL'yi oksidasyondan koruyucu etki göstermektedirler. Bu veriler koroner kalp hastalıklı ve normal HDL kolesterol seviyelerine sahip bazı kişilerin proinflamatuvar HDL'ye de sahip olduklarını göstermektedir. Normal antiinflamatuvar HDL aterosklerozun korunmasında çeşitli roller üstlenir. HDL aynı zamanda LDL'den ROS'nin uzaklaştırılmasında da antiinflamatuvar rol alır, böylece LDL'yi oksidasyondan korumuş olur. Ayrıca HDL adezyon molekülleri ve sitokinlerin ekspresyonunu inhibe eder. Proinflamatuvar HDL, LDL'yi oksidasyondan koruyamaz ve monositlerin toplanmasını engelleyemez ve inflamatuvar yanıtı artırabilir.

Sampietro ve arkadaşları ailesel hipoalfalipoproteinemiye sahip kişilerde CRP'nin artmış olduğunu ve koroner arter hastalığına sahip kişilerde daha fazla artış gösterdiğini rapor etmişlerdir. Normal HDL'nin antiinflamatuvar özellikte olduğunu ileri sürdüler (18). **Chisolm ve arkadaşları** LDL tarafından indüklenen sitotoksositeye karşı koruyucu olan HDL'yi ilk kez göstermişlerdir (43). Ayrıca HDL'nin kültürdeki endotel hücrelerinde LDL oksidasyonuna karşı koruyucu olduğu bulunmuştur.

Navab ve arkadaşları ise Apo A-1 ya da Apo A-1 peptitlerinin normal insan HDL'si ile ya da PON enzimi ile insan arter duvar hücrelerinde oxLDL oluşumunu engelleyemediğini göstermişlerdir. Ayrıca serumda antioksidanlar bulunsu bile insan

aortik endotelyal hücreleri ve düz kas hücrelerinde MCP-1 üretimine sebep olan LDL oksidasyonunun bu antioksidanlar tarafından engellenemediği bildirilmiştir (117).

Bir diğer araştırmada ise koroner arter hastalıklı 27 hastadaki HDL'nin MCP-1'in üretimine neden olan LDL'yi inhibe etmede başarılı olmadığını fakat 31 sağlıklı gönüllüde HDL'nin bu görevi yerine getirebildiği gösterilmiştir (116).

Sistemik Lupus Eritematozus (SLE)'lu kadınların Koroner Kalp Hastalığı (CHD) geçirme riskleri 7-50 kat artmaktadır. **McMahon ve arkadaşları** (108) SLE'lu kadınların %44,7 sinin ve romatoid artritli kadınların %20,12'sinin normal HDL kolesterol düzeylerine sahip olsalar da proinflamatuvar HDL'ye sahip olduklarını göstermişlerdir. Sağlıklı kadınlar da ise HDL'nin %4,1'i proinflamatuvar özelliktedir (108). Sıçanlarla yapmış olduğumuz bu çalışmamızda ise kontrol grubunun %14'ünün proinflamatuvar HDL'ye sahip oldukları gözlenmiştir. Grup içinde sadece bir sıçanın HDL inflamatuvar indeksi >1 olduğu halde gruptaki sıçan sayısının azlığından dolayı ortalama yüksek çıkmıştır.

Charles-Schoeman ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada 80 mg/gün atorvastatinin romatoid artritli hastalara uygulanması ile inflamatuvar HDL oranında düzelmeye gözlenmiştir (38). **Roberts ve arkadaşları** çalışmalarında metabolik sendrom özellikleri gösteren obez erkeklerde diet ve aerobik programının inflamatuvar indeks HDL kolesterol düzeylerinin düşmesine rağmen düzelttiğini bulmuşlardır (139).

Opole ve arkadaşları ise LDL'nin kandan uzaklaştırılması ile HDL kolesteroldeki düşmeye rağmen ailesel hiperkolesterolemili hastalarda HDL'nin inflamatuvar özelliklerinin önemli şekilde düzeldiğini göstermişlerdir (121).

Kolesterol ile beslenen tavşanlarda **Van Lenten ve arkadaşları** HDL kolesterol düzeylerinin ApoA-I mimetik peptidleri ile beklenen etkileri yansıtmadığını, aksine HDL inflamatuvar indeks (HII) değerlerinin lezyon bölgesini tahmin etmede önemli olabileceğini göstermişlerdir. Ayrıca bu çalışmada serum amiloid A düzeyleri ile HII değerleri anlamlı şekilde korele bulunmuştur (172). Oksidatif modifikasyonlar için Apo A'nın yapısındaki Tyr 166 kalıtı tercih edilir. Bu bölge LCAT ile etkileşir ve onu aktive

eder. **Nicholls, Zheng and Hazen** (119) MPO'nun HDL ile etkileşerek ve ApoA1'e oksidatif hasar verdiğini ve böylelikle HDL'nin kolesterol çıkışını artırma yeteneğinde kayba neden olduğunu göstermişlerdir.

Green ve arkadaşları ise statin ve niasin ile tedavinin HDL'nin ApoE içeriğini azalttığını ve HDL proteomunu sağlıklı kişilerinkine benzer şekilde değiştirdiğini göstermişlerdir (68). **Trujillo ve arkadaşları** ise farelerde oluşturdukları ateroskleroz modelinde rosiglitazon uygulanması sonrası HDL'nin antioksidan kapasitesini sentetik PAPC (L- α -1-palmitoyl-2-arachidonoyl-snglycero-3-phosphocholine)'ye karşı incelemişler ve ilacın HDL'nin antioksidan özelliğini bizim çalışmamızla paralel şekilde artırdığını göstermişlerdir (188).

Literatür taramalarımızda pioglitazon monoterapisi ile TZD ve statin kombinasyonun HDL'nin antiinflamatuvar özellikleri üzerine etkileri ile birebir örtüşen bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu bakımdan çalışmamız bir ilktir. Ancak daha önceki bilgilerimize göre pioglitazonun da kolesterol ester transfer protein ekspresyonunu, ApoA1 düzeylerini ve PON aktivitesini artırıcı etkiye sahip olmalarından HDL inflamatuvar kapasitesini değiştirebilme potansiyellerinin olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamız gerek mono gerekse kombine tedavilerin hiperkolesterolemik sıçanlarda HDL kolesterolün antioksidan özelliklerine etkileri bakımından ilk kez gerçekleştirilmiştir. Bulgularımıza göre, hiperkolesterolemik grubun proinflamatuvar HDL yüzdesi (%71,4) kontrol grubundan (%14,3) anlamlı derecede yüksekti. Ayrıca hiperkolesterolemik gruba göre kıyaslandığında tüm tedavi gruplarının proinflamatuvar HDL yüzdelerinde azalma ve antiinflamatuvar HDL yüzdelerinde artma gözlenmiştir. Bu artış ve azalışlar doz ve kombine tedaviden etkilenmemiştir. Gruplarda daha fazla sayıda sıçan kullanılması bu farkı ortaya koyabilir.

Statinlerin kardiyovasküler riski azaltıcı etkileri oldukça iyi bilinmektedir. Ancak TZD'lerin bu olaydaki rolleri tartışmalıdır. Hayvan modelleri ve insan çalışmaları metabolik profiller, ateroskleroz gelişimi ve kardiyoproteksiyonda çoklu komplementer ve aditif yararlı etkiler için bu ilaçların potansiyeli olduğunu göstermektedir. Ancak kardiyovasküler olaylarda hala TZD ve atorvastatin

kombinasyonunun etkileri ile ilgili veriler sınırlıdır. Bu kombinasyonlarla ilişkili kesin veriler PROactive çalışmasından gelmektedir.

Çoklu risk faktörü taşıyan kişilerde pioglitazonun statin tedavisine eklenmesi önemli kardiyovasküler yararlar sağlasa da kardiyovasküler riski azalttığına dair bir kanıt yoktur. Ayrıca bazı çalışmalarda da özellikle rosiglitazonun kardiyovasküler riski artırdığına dair veriler vardır. Bizim çalışmamızda ise tedavi amacıyla kullanılan doz ve zamanlarda hem rosiglitazonun hem de pioglitazonun herhangi bir endotel fonksiyon bozukluğuna, inflamatuvar parametrede artışa veya karaciğer fonksiyonlarında bozulmaya neden olmadığı gözlenmiştir. Bunun nedeni olarak türlerin farklılığı ya da kullanılan ilaçların kullanım süre ve dozları gösterilebilir. Ayrıca devam eden, RECORD, BARI-2D ve PPAR çalışmaları statin tedavisi alan hastalara ek olarak TZD verilmesinin kardiyovasküler riski azaltıcı etkisi olup olmadığını gösterecektir (149).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışma sonuçlarımıza göre, trigliserid, total kolesterol ve LDL kolesterol düzeylerinin düşürülmesinde 4 mg rosiglitazon ve 10 mg atorvastatin kombine tedavisi diğer mono ve kombine tedavilere oranla daha etkili olmuştur. Ayrıca bu kombinasyonun NO düzeylerini de diğer kombine ve monoterapilere göre artırmada daha başarılı olduğu görülmüştür. HDL ve ApoA 10 mg atorvastatin etkisi ile daha fazla yükselirken, Lp(a) ve ApoB düzeyleri diğer tedavi gruplarına göre daha fazla düşmüştür.

Ayrıca tedavide kullandığımız rosiglitazon, pioglitazon ve atorvastatinin mono ve kombine tedavileri uygulanan doz ve zamanda herhangi bir hepatotoksisite göstermeden tedavi etkinliği göstermişlerdir. Hatta, rosiglitazon ve atorvastatin kombine tedavisi doza bağımlı olmaksızın hepatosit fonksiyonlarını düzeltmiştir.

Homosistein düzeylerine baktığımızda ise hiperkolesterolemik sıçan modelinde rosiglitazon, pioglitazon ve atorvastatin tekli ve kombine tedavilerinin birbirine göre üstünlüğü gözlenmiştir.

ADMA düzeyleri bakımından atorvastatin ve rosiglitazon monoterapide doza bağımlı olmaksızın pioglitazondan daha başarılı olmuştur. Kombine tedavide ise 1 mg rosiglitazon kombine tedavisi pioglitazon ve atorvastatin kombinasyonundan daha etkili olmuştur.

PON düzeylerinde ise rosiglitazon doza bağımlı olarak etki göstermiştir. hsCRP düzeyleri monoterapi ile benzer şekilde azalma göstermişlerdir.

HDL antiinflamatuvar kapasitesi üzerine mono ve kombine tedaviler arasında farklılık gözlenmemiştir. Ayrıca mono tedavide atorvastatin HDL düzeyinde artış sağlayarak, rosiglitazon ve pioglitazon ise HDL düzeylerini değiştirmeden HDL'nin antioksidan kapasitesinde artışa neden olmuşlardır.

Bu sonuçlar bize HDL'nin miktarından çok fonksiyonunun önemini göstermektedir ve kardiyak risk belirlenmesinde önemli bir parametre olan HDL-C miktarının yanı sıra HDL'nin antioksidan kapasitesinin de belirlenmesinin hiperkolesterolemik hastaların hedefe yönelik tedavi etkinliğinin değerlendirilmesinde daha fazla katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, Tip II Diyabet tedavisinde insulin duyarlılığını artırıcı olarak kullanılan PPAR- γ ligandı tiazolidindion türevi olan rosiglitazon ve pioglitazonun da dislipidemi tedavisinde kullanılan atorvastatin kadar lipit profilleri, endotel fonksiyonlar ve ateroskleroz gelişmesinin önlenmesi üzerinde etkilere sahip oldukları hatta bazı durumlarda rosiglitazonun atorvastatin ile kombine halde verilmesinin tedavi etkinliğinde mono terapiye göre daha fazla başarı sağlanabileceğini düşünmekteyiz.

7.KAYNAK DİZİNİ

- 1)- Al-Salman J., Arjomand H., Kemp D.G., Mittal M., 2000, Hepatocellular injury in a patient receiving rosiglitazone : a case report. *Ann InternMed.* ; 132 : 121-124 p.
- 2)- Alizadeh Dehnavi R., De Roos A, Rabelink TJ, van Pelt J, Wensink MJ, Romijn JA, et al. 2008, Elevated CRP levels are associated with increased carotid atherosclerosis independent of visceral obesity, *Atherosclerosis*, 200:417-23 p.
- 3)- Altman R., 2003, Risk factors in coronary atherosclerosis athero-inflammation: the meeting point, *Thrombosis Journal*, 1:4
- 4)- Amin K.A., Abd El-Twab T.M., 2009, Oxidative markers, nitric oxide and homocysteine alteration in hypercholesterolimic rats: role of atorvastatine and cinnamon, *Int J Clin Exp Med* (2): 254-265 p.
- 5)- Andrikoula M., McDowell F.W., 2008, The contribution of ApoB and ApoA1 measurements to cardiovascular risk assessment, *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 10; 271-278 p.
- 6)- Aprahamian T., Bonegio R, Rizzo J, et al. 2006, Simvastatin treatment ameliorates autoimmune disease associated with accelerated atherosclerosis in a murine lupus model. *J Immunol*;177(5):3028–34 p.
- 7)- Aslan M, Kosecik M, Horoz M, Selek S, Celik H, Erel O. 2007, Assessment of paraoxonase and arylesterase activities in patients with iron deficiency anemia. *Atherosclerosis* 191: 397-402 p.
- 8)- Atorvastatin Study Group in Korea, 2008, Flexible Initial Dosing of Atorvastatin Based Upon Initial Low-Density Lipoprotein Cholesterol Levels in Type 2 Diabetic Patients *The Korean Journal of Internal Medicine* :23: 22-29 p.
- 9)- Auwerx J., Mangelsdorf D. 2000, X_ceptors, nuclear receptors for metabolism In:Stemme D, Olsson AG, editors. *Atherosclerosis XII Elsveier Science B*. Amsterdam; 5th ed: 21-39 p.
- 10)- Aviram M, Rosenblat M. 2004, Paraoxonases 1, 2, and 3, oxidative stress and macrophage foam cell formation during atherosclerosis development. *Free Radic Biol* ; 37: 1304-1316 p.
- 11)- Aviram M, Rosenblat M. 2005, Paraoxonases and cardiovascular diseases: pharmacological and nutritional influences. *Curr Opin Lipidol*; 16:393-399 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- 12)-** Baldwin S.J., Clarke SE, Chenery RJ., 1999, Characterization of the cytochrome P450 enzymes involved in the in vitro metabolism of rosiglitazone. *Br J Clin Pharmacol.* 48:424-432 p.
- 13)-** Ballantyne CM, Andrews TC, Hsia JA, Kramer JH, Shear C; ACCESS Study Group. Atorvastatin Comparative Cholesterol Efficacy and Safety Study., 2001, Correlation of non-high density lipoprotein cholesterol with apolipoprotein B: effect of 5 hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors on high-density lipoprotein levels., *Am J Cardiol*; 88: 265–269 p.
- 14)-** Barter, P.J., Gotto, M.A., Phil, D., Larosa, J.C., Maroni, J., Szarek, M., Grundy, S.M., Kastelein, J.J.P., Bittner, V., Fruchart, J.C., 2007, HDL Cholesterol, Very Low Levels of LDL Cholesterol, and Cardiovascular Events, *N Engl J Med* 27; 357(13):1301-10 p.
- 15)-** Barua R.S., Ambrose J.A., Srivastava S., DeVoe M.C., Eales-Reynolds L.J., 2003, Reactive oxygen species are involved in smoking-induced dysfunction of nitric oxide biosynthesis and upregulation of endothelial nitric oxide synthase: an in vitro demonstration in human coronary artery endothelial cells. *Circulation*; 13 107 (18): 2342-2347 p.
- 16)-** Başkol, G., Köse, K., 2004, Paraoksonaz: Biyokimyasal Özellikleri, Fonksiyonları ve Klinik Önemi, *Erciyes Tıp Dergisi* 26: (2); 75-80 s.
- 17)-** Bechlioulis A., Naka K.K, Papanikolaou O., Kontostolis E., Kalantaridou S. N., Lampros M.K., 2009, Menopause and Hormone Therapy: From Vascular Endothelial Function to Cardiovascular Disease *Hellenic J Cardiol*; 50: 303-315 p.
- 18)-** Benjamin, J.A, Navab, M., Watson, K.E., Greg, C. F., and Fogelman, A M., 2004, Anti-Inflammatory Properties of HDL, *Atherosclerosis Research Unit, Division of Cardiology*, 5:351–358 p.
- 19)-** Berger J., Moller DE., 2002, The mechanisms of action of PPAR's. *Annu Rev. Med*, 53:409-35 p.
- 20)-** Berhanu P., Kipnes M.S., Khan M.A., Perez A.T., Kupfer S.F., et al., 2006, Effects of pioglitazone on lipid and lipoprotein profiles in patients with type 2 diabetes and dyslipidaemia after treatment conversion from rosiglitazone while continuing stable statin therapy, *Diabetes and Vascular Disease Research*, (3), 39-44 p.
- 21)-** Betteridge D.J., 1996, *Lipids and Lipoproteins, Volume1*, Groupe Fournier, Martin Dunitz Ltd., 1-20 p.
- 22)-** Bhagavan NV., 2002, *Plasma Lipoproteins. Medical Biochemistry. 4th edition*, Harcourt Academic Press, 429-452 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- 23)-** Binder CJ., Chang M, Shaw PX, Miller YI, Hartvigsen K et al. 2002, Innate and acquired immunity in atherogenesis. *Nature Medicine*; Vol 8, Number 11:1218-1226 p.
- 24)-** Bode-Boger S.M., Boger R.H., Kienke S., Junker W., Frolich J.C., 1996, Elevated L-arginine/dimethylarginine ratio contributes to enhanced systemic NO production by dietary L-arginine in hypercholesterolemic rabbits. *Biochem Biophys Res Commun*; 219: 598–603 p.
- 25)-** Boger R.H., Bode-Boger S.M., Szuba A., et al. 1998, Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation*; 98: 1842–1847 p.
- 26)-** Boger R.H., Sydow K., Borlak J., et al. 2000, LDL cholesterol upregulates synthesis of asymmetrical dimethylarginine in human endothelial cells: involvement of S-adenosylmethionine-dependent methyltransferases. *Circ Res*; 87: 99–105 p.
- 27)-** Boger R.H., 2003, The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor, *Cardiovascular research*; 59. 824-833 p.
- 28)-** Bolayirli I.M., Aslan M., Balci H., Altug T., Hacibekiroglu M., Seven A., 2007, Effect of atorva-statin therapy on hypercholesterolemic rabbits with respect to oxidative stress, nitric oxide pathway and homocysteine. *Life Sci*; 81(2): 121-127 p.
- 29)-** Boris M., Ramaz B.K., 2007, Glitazones: Beyond glucose lowering!, *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 197-207 p.
- 30)-** Branchi A, Rovellini A, Fiorenza A.M., et al. 1995, Effects of bezafibrate and of 2 HMG-CoA reductase inhibitors on lipoprotein (a) level in hypercholesterolemic patients. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 33: 345–50 p.
- 31)-** Bredie SJ, Westerveld HT, Knipscheer HC, et al. 1996, Effects of gemfibrozil or simvastatin on apolipoprotein-B-containing lipoproteins, apolipoprotein-CIII and lipoprotein (a) in familial combined hyperlipidaemia. *Neth J Med* 49:5 9–67 p.
- 32)-** Buhaescu I., Izzedine H., 2007, Mevalonate pathway: A review of clinical and therapeutical implications, *Clinical Biochemistry*, 40 (9-10), 575-584 p.
- 33)-** Burnett P., 2002, Pioglitazone-current profile *Br. J. Diab. Vasc. Dis.* 2(1): 18-23 p.
- 34)-** Burtis, C.A., Ashwood E.R., 1994, *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, Second Edition, W.B. Saunders Company in the United States of America
- 35)-** Caldwell S.H., Hespeneide E.E., Redick J.A., Iezzoni J.C., Battle E.H., Sheppard B.L. 2001 A pilot study of a thiazolidinedione, troglitazone, in nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 96: 519-525 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- 36)-** Carreon T.E., Rendón S.K., Monter G.M., Toledo P.I., Gamboa R., Menjivar M., López M.R., Luc G., Fievet C., Cruz D., Vargas A.G., Perez M.O., 2009, Rosiglitazone modifies HDL structure and increases HDL-apo AI synthesis and catabolic rates, *Clinica Chimica Acta* 401: 37–41 p.
- 37)-** Champe P.C., Harvey RA., 1994, Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry, 2.baskı, Lippincott Williams&Wilkins, 213-222 p.
- 38)-** Charles-Schoeman, C., D. Khanna, D.E. Furst, M. McMahon, S.T. Reddy, A.M. Fogelman, H.E. Paulus, G.S. Park, T. Gong, an B.J. Ansell. 2007. Effects of high-dose atorvastatin on anti-inflammatory properties of high density lipoprotein in patients with rheumatoid arthritis: a pilot study. *J. Rheumatol.* 34: 1459-1464 p.
- 39)-** Chelland, S.C., Moffatt, R.J., Stamford, B.A., 2008, Smoking and Smoking Cessation-The Relationship Between Cardiovascular Disease and Lipoprotein Metabolism: A review, *J. Atherosclerosis*, 201(2): 225-35 p.
- 40)-** Chih-Sheng Chu, Kun-Tai Lee, Ming-Yi Lee, Ho-Ming Su, Wen-Chol Voon, Sheng-Hsiung Sheu, and Wen-Ter Lai, 2006, Effects of *Rosiglitazone* Alone and in Combination With *Atorvastatin* on Nontraditional Markers of Cardiovascular Disease in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus . *The American journal of Cardiology*, 97(5), 646-650 p.
- 41)-** Chinetti G., Lestavel S., Bocher V., Remaley A.T., Neve B, Torra I.P., Teissier E., Minnich A., Jaye M., Duverger N., et al.2001, PPAR-alpha and PPAR-gammaactivators induce cholesterol removal from human macrophage foam cells through stimulation of the ABCA1 pathway. *Nat Med* 7: 53–58 p.
- 42)-** Chinetti G., Fruchart JC, Staels B., 2000, Peroxisome proliferatorsactivated receptors (PPARs): nuclear receptors at the crossroads between lipid metabolism and inflammation. *Inflamm Res*;49:497–505 p.
- 43)-** Chisolm, G.M., 1991, Cytotoxicity of Oxidized Lipoproteins. *Curr. Opin. Lipidol.*; 2:311-317 p.
- 44)-** Cortas K. and Wakid N.W., 1990, Determination of Inorganic Nitrate in Serum and Urine by a Kinetic Cadmium-Reduction Method, *Clin. Chem.* 36/8, 1440-1443 p.
- 45)-** Crouse J.R., III, Frohlich J, Ose L, Mercuri M, Tobert JA. 1999, Effects of high disease of simvastatin and atorvastatin on high-density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein Am J Cardiol, 83: 1476–1477 p.
- 46)-** Crow J.P., 1997, Dichlorodihydrofluorescein and Dihydrorhodamine 123 are Sensitive Indicators of Peroxynitrite in Vitro: Implications for Intracellular Measurement of Reactive Nitrogen and Oxygen Species, *Nitric Oxide* 1(2): 145-57 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- 47)- Cybulsky M.I, Gimbrone MA., 1991, Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherosclerosis, *Science*, 251:788-91 p.
- 48)- Dandona P., Aljada A., Chaudhuri A., 2003, Vascular reactivity and thiazolidinediones. *Am J Med* ;115: 81—86 p.
- 49)- Davi G., Di Minno G and Coppola A et al., 2001, Oxidative stress and platelet activation in homozygous homocystinuria *Circulation*, 104:1124-1128 p.
- 50)- Dayuan L., Kui C., Nandita S., Xingjiang Z., Yin W., Anjan K. S., Francesco R., Jawahar L. M., 2005, The effect of PPAR-g ligand pioglitazone on platelet aggregation and arterial thrombus formation, 65: 907-912 p.
- 51)- Derosa G., Cicero AF, Gaddi A. et al. 2004, Metabolic effects of pioglitazone and rosiglitazone in patients with diabetes and metabolic syndrome treated with glimepiride: a twelvemonth, multicenter, double-blind, randomized, controlled, parallel-group trial. *Clin Ther.*, 26(5): 744–754 p.
- 52)- Durrington, P.N., Mackness, B., Mackness, M.I., 2001, Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 21(4): 473– 480 p.
- 53)- Düzgün N., Atilla E., 2008, Aterosklerozis ve Sistemik Otoimmün İnflamatuvar Hastalıklar, *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 28:508-512 s.
- 54)-Engbersen A.M.T., Franken DG, Boers GHJ, et al. 1995, Methylenetetrahydrofolate reductase as a cause of mild hyperhomocysteinemia. *Am J Hum Genet* , 56:142-50 p.
- 55)- Erdmann E., 2007, Review: Statin plus thiazolidinedione use in patients with diabetes at high cardiovascular risk. *British Journal of Diabetes & Vascular Disease*; 7; 211-216 p.
- 56)- Eren Mehmet,2009 Global risk and objectives in cardiovascular diseases role of statins in the treatment of heart failure *Türk Kardiyoloji Dergisi*.
- 57)- Escribano L., Simón A.M., Pérez-Mediavilla A., et al., 2009, Rosiglitazone reverses memory decline and hippocampal glucocorticoid receptor down-regulation in an Alzheimer's disease mouse model. *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, 379(2), 406-410 p.
- 58)- Eun-Kyung Kim, Kang-Beom Kwon, Bon-Sun Koo, et al.,2007, Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ protects pancreatic β -cells from cytokine-induced cytotoxicity via NF κ B pathway, *The International Journal of Biochemistry& Cell Biology*, 39 (6), 1260-1275 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- 59)**- Farell G.C., Larter CZ.2006, Nonalcoholic fatty liver disease from steatosis to cirrhosis. *Hepatology*, 43(51): 99-112 p.
- 60)**- Ferretti G., Bacchetti T., Marotti E., Curatola G., 2003, Effect of homocystienylation on human high density lipoproteins: a correlation with paraoxonase activity. *Metabolism*; 52 (2) 146-151 p
- 61)**- Fogari R., Preti P., Zoppi A., Lazzari P., Corradi L., Fogari E., Ciccarelli L., Derosa G. 2006, Effects of amlodipine-atorvastatin combination on inflammation markers and insulin sensitivity in normocholesterolemic obese hypertensive patients. *Eur J Clin Pharmacol*; 62: 817–822 p.
- 62)**- Forman L.M., Simmons D.A., Diamond R.H., 2000, Hepatic failure in a patient taking rosiglitazone. *Ann Intern Med* ; **132** : 118-121 p.
- 63)**- Fortmann S.P., Maron DJ., 1993, Disorders of Lipid Metabolism. *Scientific American Medicine*, 9:II:1-24 p.
- 64)**- Freed M.I, Ratner R, Marcovina SM, Kreider MM, Biswas N, Cohen BR, Brunzell JD; Rosiglitazone Study 108 Investigators. 2002, Effects of rosiglitazone alone and in combination with atorvastatin on the metabolic abnormalities in type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol*; 90: 947–952 p.
- 65)**- Freeman DJ, Norrie J, Sattar N, Neely RD, Cobbe SM, Ford I, Isles C, Lorimer AR, Macfarlane PW, McKillop JH, Packard CJ, Shepherd J, Gaw A., 2001, Pravastatin and the development of diabetes mellitus: evidence for a protective treatment effect in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Circulation*; 103: 357–362 p.
- 66)**- Gerstein H.C., Yusuf S., 1996, Dysglycaemia and risk of cardiovascular disease. *Lancet* 347:949-50 p.
- 67)**- Goudevenos J.A, Bairaktari E.T, Chatzidimou K.G, et al. 2001, The effect of atorvastatin on serum lipids, lipoprotein(a) and plasma fibrinogen levels in primary dyslipidaemia – a pilot study involving serial sampling. *Curr Med Res Opin*, 16: 269–275 p.
- 68)**- Green, P.S., T. Vaisar, S. Pennathur, J.J. Kulstad, A.B. Moore, S. Marcovina, J. Brunzell, R.H. Knopp, X.Q. Zhao, and J. W. Heinecke. 2008. Combined statin and niacin therapy remodels the high-density lipoprotein proteome. *Circulation* 118: 1259 - 1267 p.
- 69)**- Guo H.C., Chapman MJ, Bruckert E, et al., 1991, Lipoprotein (a) in homozygous hypercholesterolemia: density profile, particle heterogeneity and apolipoprotein (a) phenotype., *Atherosclerosis*, 86:69-83 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- 70)-** Güleç S., 2007, Statinlerin etkinliği, Türk Kardiyol Dern Arş., 35: 8-14 s.
- 71)-** Gürdöl, F., Ademoğlu, E. 2006, Biyokimya, 1. Baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul
- 72)-**Hansson GK., 2005, Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *New Engl J Med.*, 352:1685- 95 p.
- 73)-** Harangi, M., Seres, I., Varga, Z., Emri, G., Szilvassy, Z., Paragh, G., Remenyik, E., 2004. Atorvastatin effect on high-density lipoprotein-associated paraoxonase activity and oxidative DNA damage. *European Journal of Clinical Pharmacology* 60 (10), 685–691 p.
- 74)-** Hardy E., Jabbour SA. 2003, Type 2 diabetes mellitus textbook. *Thiazolidinediones* Goldstein BJ and Müller-Wieland D (eds)., Dunitz London, 117-30 p.
- 75)-** Hattori, Y., Matsumura, M., and Kasai, K., 2003. Vascular smooth muscle cell activation by C-reactive protein. *Cardiovasc. Res.* 58: 186–195 p.
- 76)-** Hirano, T., Ito, Y., Saegusa H., and Yoshino G., 2003, A novel and simple method for quantification of small, dense LDL. *J Lipid Res* ; 44(11); 2193-201 p.
- 77)-** Hong, S.C., Zhao, S.P., Wu, Z.H., 2006. Probucol up-regulates paraoxonase 1 expression in hepatocytes of hypercholesterolemic rabbits. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 47 (1), 77–81 p.
- 78)-** Hui-Rong L., Ling T., Erhe G., Yan Q., Wayne B.L., Bernard L.L., Theodore A.C., Walter K., Tian-Li Y., and Xin-Liang M., 2009, Rosiglitazone inhibits hypercholesterolaemia-induced myeloperoxidase upregulation—a novel mechanism for the cardioprotective effects of PPAR agonists, *Cardiovascular Research*, 81: 344-352 p.
- 79)-** Insull W., Kafonek S, Goldner D, Zieve F. 2001, Comparison of efficacy and safety of atorvastatin (10 mg) with simvastatin (10 mg) at six weeks. ASSET investigators. *Am J Cardiol*; 87: 554–559 p.
- 80)-** İrat A.M., Işık A.C., 2006, HMG-KoA Redüktaz İnhibitörlerinin Pleiotropik Etkileri, *J. Fac. Pharm*, 35 (3) 197-209 p.
- 81)-** Istvan E.S., and Deisenhofer, J., 2001, Structural Mechanism for Statin Inhibition of HMGCoA Reductase. *Science*, Vol 292, 1160 – 1164 p.
- 82)-** Jakubowski, H., 2003. Homocysteine-thiolactone and S-nitroso-homocysteine mediate incorporation of homocysteine into protein in humans. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 41 (11), 1462–1466 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- 83)-** Jarvik G.P., Hatsukami TS, Carlson C., et al., 2003, Paraoxonase activity, but not haplotype utilizing the linkage disequilibrium structure, predicts vascular disease. *Arterioscler Thromb Vas Biol.*, 23: 1465–1471 p.
- 84)-** John S., Schneider M.P., Delles C., Jacobi J., Schmieder R.E., 2005, Lipid-independent effects of statins on endothelial function and bioavailability of nitric oxide in hypercholesterolemic patients. *Am Heart J* ; 149 (3): 473.
- 85)-** Jones E.C., Darcy J.C., Woodberry T., Anstey N.M., McNeil Y.R. 2010, HPLC analysis of asymmetric dimethylarginine, symmetric dimethylarginine, homoarginine and arginine in small plasma volumes using a gemine-NX column at high pH. *J. Chromatogr. B. Analyt Technol Biomed Life Sci* 878 (1): 8-12 p.
- 86)-** Karaca L., Demirtaş, S., Ergüder, İ., 2006, Lipidler ve Ateroskleroz Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, 112 s.
- 87)-** Kaspar B., Manfredi R., Christoph S., et al., 2008, Comparative effects of rosiglitazone and pioglitazone on fasting and postprandial low-density lipoprotein size and subclasses in patients with type 2 diabetes, *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 9(3): 343-349 p.
- 88)-** Kelly A.S., Thelen A.M., Kaiser D.R., Gonzalez-Campoy J.M., Bank A.J., 2007, Rosiglitazone improves endothelial function and inflammation but not asymmetric dimethylarginine or oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. *Vasc Med* ;12: 311–318 p.
- 89)-** Kelso G.J, Stuart WD, Richter RJ, et al., 1994, Apolipoprotein J is associated with paraoxonase in human plasma. *Biochemistry* 33:832-839 p.
- 90)-** Koroner Arter Hastalığına Yaklaşım ve Tedavi Klavuzu, 1999, Türk Kardiyoloji Derneği
- 91)-** Krische D., 2000, The glitazones: proceed with caution Daniel Krische, *West J Med*; 173: 54-57 p.
- 92)-** Kural, B.V., Orem, C., Uydu, H.A., Alver, A., Orem, A., 2004. The effects of lipid-lowering therapy on paraoxonase activities and their relationships with the oxidant–antioxidant system in patients with dyslipidemia. *Coronary Artery Disease* 15 (5), 277–283 p.
- 93)-** Lavy A, Brook GJ, Dankner G, Amotz AB, Aviram M., 1991, Enhanced in vitro oxidation of plasma lipoproteins derived from hypercholesterolemic patients. *Metabolism*; 40: 794-799 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

94)- Lefer A.M., Scalia R, Lefer DJ., 2001, Vascular effects of HMG-CoA reductase inhibitors (statins) unrelated to cholesterol lowering: new concepts for cardiovascular disease” Cardiovasc Res. 49:281-287 p.

95)- Lewin A.J., Kipnes MS, Meneghini LF, Plotkin DJ, Perevozskaya IT, Shah S, Maccubbin DL, Mitchel YB, Tobert JA; Simvastatin/ Thiazolidinedione Study Group. 2004, Effects of simvastatin on the lipid profile and attainment of low-density lipoprotein cholesterol goals when added to thiazolidinedione therapy in patients with type 2 diabetes mellitus: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Clin Ther ; 26: 379 –389 p

96)- Ling T., Hui-Rong L., Erhe G., Zhi-Ping T., Bernard L. L., Theodore A. Christopher, Xin-Liang Ma, Ines Batinic-Haberle, Robert N. W., Eliot H. O., Tian-Li Y., 2003, Antioxidative, Antinitrative, and Vasculoprotective Effects of a Peroxisome Proliferator–Activated Receptor-Agonist in Hypercholesterolemia, Circulation, 108: 2805-20811 p.

97)- Llaverias G, Lacasa D, Vinals M, Vazquez-Carrera M, Sanchez RM, Laguna JC, Alegret M. 2004, Reduction of intracellular cholesterol accumulation in THP-1 macrophages by a combination of rosiglitazone and atorvastatin. Biochem Pharmacol; 68: 155–163 p.

98)- Mackness M.I., 1989, Possible medical significance of human serum paraoxonase. En: Reiner E, Aldridge WN, Hoskin FC, editors. Enzymes hydrolysing organophosphorus compounds. UK: Ellis- Horwood, 202-13 p.

99)- Mackness M.I, Durrington PN. 1995, HDL, its enzymes and its potential to influence lipid peroxidation. Atherosclerosis., 115:243–253 p.

100)- Mackness B., Durrington P.N., Mackness M.I., 1998, Human serum paraoxonase. Gen Pharmacol.; 31: 329-336 p.

101)- Mahley W.R., Weisgraber K.H., Farese R.V. 1998, Williams Textbook Of Endocrinology, Lipid Metabolizması Bozuklukları, Bölüm 23 Çeviri: Teikkurt, C., Dokuzuncu Baskı, W.B. Saunders, Philadelphia, 84 s.

102)- Malinowski J.M., Bolesta S., 2000, Rosiglitazone in the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus:Ç A Critical Review. Clinical Therapeutics (22), 1151-1168 p.

103)- Mallika V., Goswami B, Rajappa M. 2007, Atherosclerosis pathophysiology and the role of novel risk factors: a clinicobiochemical perspective. Angiology, 58:513-22 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

104)- Mark A.D., Meng H.T., 2008, Pioglitazone versus Rosiglitazone: Effects on Lipids, Lipoproteins, and Apolipoproteins in Head-to-Head Randomized Clinical Studies, PPAR Res. Article ID 520465, 6 pages doi:10.1155/2008/520465

105)- Maron D.J, Fazio S., Linton M.F. 2000 ,Current perspectives on statins. Circulation 101: 207–213 p.

106)- Marta T., Latorre G., Sentí M., and Marrugata J.,2004, The Antioxidant Function of High Density Lipoproteins: A New Paradigm in Atherosclerosis Rev Esp Cardiol 57(6):557-69 p.

107)- Martin I.F., Robert R., Santica M.M., Margaret M.K., Nandita B., Beth R.C., and John D. B., Rosiglitazone Study 108 Investigators, 2002, Effects of *Rosiglitazone* Alone and in Combination With *Atorvastatin* on the Metabolic Abnormalities in Type 2 Diabetes Mellitus, Am J Cardiol, 90: 947–952 p.

108)- McMahan, M.J., Grossman, J. FitzGerald, E. Dahlin-Lee, D.J. Wallace, B.Y. Thong, H. Badsha, K. Kalunian, C. Charles, M. Navab, A. M. Fogelman, and B.H. Hahn. 2006. Proinflammatory high-density lipoprotein as a biomarker for atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism* 54: 2541-2549 p.

109)- Meritxell N., Francisco J.S. M., Jose V.S.G., Elvira Lopez O., Jose M.S., 2008, Determination of rat and mice arylesterase activity using serum mimetics, Enzyme and Microbial Technology 43: 252–256 p.

110)- Mittermayer F., Schaller G, Pleiner J, Krzyzanowska K, Kapiotis S, Roden M, et al. 2007, Rosiglitazone prevents free fatty acid-induced vascular endothelial dysfunction. J Clin Endocrinol Metab; 92: 2574–2580 p.

111)- Miyuki Y., Takeshi M., Takafumi S., Ishii N., et al., 2007, Statins activate peroxisome proliferator-activated receptor gamma through extracellular signal-regulated kinase 1/2 and p38 mitogen-activated protein kinase-dependent cyclooxygenase-2 expression in macrophages., Circ Res, 100: 1442 – 1451 p.

112)- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell, V.W., 2004, Harper Biyokimya, Nobel Tıp Kitabevleri, 928 p.

113)- Myers R.H., Kiely DK, Cupples LA, Kannel WB., 1990, Parental history is an independent risk factor for coronary artery disease: Framingham Study. Am Heart J., 120:963-69 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

114)- Navab M., Berliner J.A, Watson A.D, et al. 1996, The Yin and Yang of oxidation in the development of the fatty streak. A review based on the 1994 George Lyman Duff Memorial Lecture. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 16:831-42 p.

115)- Navab M., Hama S.Y., Cooke C.J., Anantharamaiah G.M, Chaddha M, Jin L, et al. 2000 Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: step 1. *J Lipid Res* ; 41: 1481-1494 p.

116)- Navab, M., Hama, S.Y., Hough, G.P., Subbanagounder, G., Reddy, S.T., Fogelman, M.A., 2001, A Cell-free Assay for Detecting HDL That is Dysfunctional in Preventing The Formation of or Inactivating Oxidized Phospholipids, *J Lipids Res*, 42(8): 1308-17 p.

117)- Navab, M., Imes, S.S., Hama, S.Y., Hough, G.P., Ross, L.A., Bork, R.W., Valente, A.J., Berliner, J.A., Drinkwater, D.C., Laks H., and Fogelman, A.M., 1991, Monocyte transmigration induced by modification of low density lipoprotein in cocultures of human aortic wall cells is due to induction of monocyte chemotactic protein 1 synthesis and is abolished by high density lipoprotein. *J Clin Invest* 88 (6): 2039-46 p.

118)- Nelen W.L.D.M., Blom H.J, Thomas C.M.G., Steegers E.A.P., Boers G.H.J, Eskes T.K.A.B.,1998, Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism affects the charge in homocysteine and folate concentrations resulting from low dose folic acid supplementation in women with unexplained recurrent miscarriages. *Nutrition Org.*, 128:1336-1341 p.

119)- Nicholls, S.J., L. Zheng and S.L. Hazen. 2005. Formation of dysfunctional high-density lipoprotein by myeloperoxidase. *Trends Cardiovasc Med.* 15: 212-219 p.

120)- Obeid R., Herrmann W. 2009, Homocysteine and lipids: S-adenosyl methionine as a key inter-mediate. *FEBS Lett.* ; 17,583(8): 1215-1225 p.

121)- Opole, I.O., J.M. Belmont, A. Kumar, and P.M. Moriarty. 2007. Effect of low-density lipoprotein apheresis on inflammatory and noninflammatory high-density lipoprotein cholesterol. *Am J Cardiol.* 100:1416-1418 p.

122)- Özekin A, Değer O. 2001, LDL oksidasyonu ve etkileri. *İbni Sina Tıp Dergisi*; 6: 125-132 s.

123)- Paiva, H., Laakso, J., Lehtimäki, T., Isomustajarvi, M., Ruokenen, I., Laksonen, R., 2003. Effect of high-dose statin treatment on plasma concentrations of endogenous nitric oxide synthase inhibitors. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 41 (2), 219–222 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

124)- Paniagua J.A., Lopez-Miranda J, Escribano A, Berral FJ, Marin C, Bravo D, Paz-Rojas E, Gomez P, Barcos M, Moreno JA, Perez-Jimenez F., 2002, Cerivastatin improves insulin sensitivity and insulin secretion in early-state obese type 2 diabetes. *Diabetes.*, 51: 2596 -2603 p.

125)- Paragh, G., Toroscsik, D., Seres, I., Harangi, M., Illyes, L., Balogh, Z., Kovacs, P., 2004. Effect of short term treatment with simvastatin and atorvastatin on lipids and paraoxonase activity in patients with hyperlipoproteinemia. *Current Medical Research and Opinion* 20 (8), 1321–1327 p.

126)- Pasquali R., Gambiner A. 2006, Insulin-sensitizing agents in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol.* 154: 763-775 p.

127)- Penumathsa S.V., Koneru S., Samuel S.M., Maulik G., Bagchi D., Yet S-F., Menon V.P., Maulik N., 2008, Strategic targets to induce neovascularization by resveratrol in hypercholesterolemic rat myocardium: Role of caveolin-1, endothelial nitric oxide synthase, hemoxygenase-1, and vascular endothelial growth factor, *Free Radical Biology & Medicine* 45 :1027–1034 p.

128)- Pershadsingh H.A., 2006, Dual Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-alpha/gfama agonists: In the Treatment of Type 2 Diabetes Melitus and the Metabolic Syndrome Treatment. *Endocrinol* 5: 89-99 p.

129)- Peto R., 1994, Smoking and death: the past 40 years and the next 40, *BMJ.*, 8; 309(6959) : 937-939 p.

130)- Pfaffenbarger R.S., Hyde R.T, Wing A.L, et al. 1993, The association of changes in physical activity level and other lifestyle characteristics with mortality among men. *NEJM* 328:538-45 p.

131)- Poulter N. 2003, Global risk of cardiovascular disease, *Heart*, 89 (2) 2-5 p.

132)- Promrat K., Lutchman G., Uwaifo G.I., Freedman R.J., Soza A., Heller T., Doo E., Ghany M., Premkumar A., Park Y., Liang T.J., Yanovski J.A., Kleiner D.E., Hoofnagle J.H., 2004, A pilot study of pioglitazone treatment for nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 39: 188-196 p.

133)- Ren L., Li Y., Tang R., Hu D., Sheng Z., Liu N., 2010, The inhibitory effects of rosiglitazone on cardiac hypertrophy through modulating the renin-angiotensin system in diet-induced hypercholesterolemic rats, *Cell Biochem Funct* 28: 58–65 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

134)- Richir M.C., Ellgerg B., Teerlink T., Siroena M.P., Vissera M., Spreuwenberg M., Girbes A.R., van der Hoven B., van den Bergheg G., Wilhelm A.J., et al., 2009, The effect of rosiglitazone on asymmetric dimethylarginine (ADMA) in critically ill patients, *Pharmacological Research* 60; 519–524 p.

135)- Ridker P.M., Rifai N., Clearfield M., Downs J.R., Weis S.E., Miles J.S., Gotto A.M. Jr., 2001, Measurement of C-reactive protein for the targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events” *N Engl J Med.* 344:1959-1965 p.

136)- Ridker P.M., Rifai N., Lowenthal S.P., 2001, Rapid reduction in C-reactive protein with cerivastatin among 785 patients with primary hypercholesterolemia, *Circulation*, 103; 1191-1193 p.

137)- Ridker P.M., Rifai N., Pfeffer M.A., Sacks F., Braunwald E., 1999, Long-term effects of pravastatin on plasma concentration of C-reactive protein: the cholesterol and recurrent events (CARE) investigators” *Circulation* 100: 230-235 p.

138)- Rifai N., Bachorik P.S., Albers J.J., 1999, Lipids, lipoproteins and apolipoproteins. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, Editörler: Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood, W.B., Saunders Company, Philadelphia, 3.baskı, 809-861 p.

139)- Roberts, C.K., C. Ng, S. Hama, A.J. Eliseo, and R.J. Barnard. 2006. Effect of a short-term diet and exercise intervention on inflammatory/anti-inflammatory properties of HDL in overweight/obese men with cardiovascular risk factors. *J Appl Physiol* 101: 1727-1732 p.

140)- Rodriguez W.E., Joshua, I.G., Falcone J.C., Tyagi S.C., 2006, Pioglitazone prevents cardiac remodeling in high-fat, high-calorie-induced Type 2 diabetes mellitus. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*; 291: 81–87 p.

141)- Ronald B.G., David M.K., Mark A.D., John B.B., Antony J.Z., Jane A.P., Meng H.T., et al., 2005 A Comparison of Lipid and Glycemic Effects of Pioglitazone and Rosiglitazone in Patients With Type 2 Diabetes and Dyslipidemia, *Diabetes Care*, 28(7) : 1547-1554 p.

142)- Rosenblat, M., Hayek, T., Hussein, K., Aviram, M., 2004. Decreased macrophage paraoxonase 2 expression in patients with hypercholesterolemia is the result of their increased cellular cholesterol content: effect of atorvastatin therapy. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 24, 175–180 p.

143)- Ross R., Glomset J.A. 1976, The pathogenesis of atherosclerosis. *N. Engl. J. Med.* 295:369 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

144)- Sakabe K., Fukuda N., Wakayama K., Nada T., Shinohara H., Tamura Y., 2003, Effects of atorvastatin therapy on the low-density lipoprotein subfraction, remnant-like particles cholesterol, and oxidized low-density lipoprotein within 2 weeks in hypercholesterolemic patients. *Circ J*; 67: 866-870 p.

145)- Salzman A., 1999, Rosiglitazone therapy is not associated with hepatotoxicity [abstract]. *Diabetes* ; **48** : A95.

146)- Sarandöl A., Sarandöl, E., Eker, S.S., Karağaç, E.U., Hızlı, B.Z., Dirican, M., Kırılı, S., 2006, Oxidation of Apolipoprotein B containing lipoproteins and serum paraoxonase/arylesterase activities in major depressive disorder, *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* 30(6): 1103-8 p.

147)- Satoh N, Ogawa Y, Usui T. 2003, Antiatherogenic effect of pioglitazone in type 2 diabetic patients irrespective of the responsiveness to its antidiabetic effect. *Diabetes Care* ;26: 2493-2499 p.

148)- Scheen AJ., 2001, Thiazolidinediones and liver toxicity, *Diabetes Metab* ; 27:3 05-13 p.

149)- Sobel B.E., Frye R., Detre K.M., 2003, Burgeoning dilemmas in the management of diabetes and cardiovascular disease: rationale for the Bypass Angioplasty Revascularization Investigation 2 Diabetes (BARI 2D) Trial. *Circulation* ; 107:636-642 p.

150)- Schildkraut J.M., Myers RH, Cuocolo LA, et al. 1989, Coronary risk associated with age and sex of parental heart disease in the Framingham Study. *Am J Cardiol* 15:555-559 p.

151)- Schwartz S.M., Heimark, RL, Majesky, MW., 1990, Developmental Mechanisms Underlying Pathology of Arteries, *Physiol Rev*; 70(4):1177-209 p.

152)- Schwartz SM, Siscovick DS, Malinow R, Rosendaal FR. 1997, Myocardial infarction in young women in relation to plasma total homocysteine, folate, and a common variant in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Circulation*, 96:412-417 p.

153)- Shucun Q., Tianjiao L., Vaijinath S., K., Moti L.K., 2007 Pioglitazone Stimulates Apolipoprotein A-I Production Without Affecting HDL Removal in HepG2 Cells Involvement of PPAR, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 27: 2428-2434 p.

154)- Sjöholm, A., Nystrom, T., 2005. Endothelial inflammation in insulin resistance. *Lancet* 365, 610–612 .p

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

155)- Srinivasan, K., Patole, P.S., Kaul, C.L., Ramarao, P., 2004, Reversal of glucose intolerance by pioglitazone in high fat diet-fed rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 26(5): 327-333 p.

156)- Staels B., Fruchart JC. 2005, Therapeutic roles of peroxisome proliferator_activated receptor agonists. *Diabetes* 54: 2460-2470 p.

157)- Stalker T.J., Lefer A.M., Scalia R., 2001, A new HMG-CoA reductase inhibitor, risovastatin, exerts anti-inflammatory effects on the microvascular endothelium: the role of mevalonic acid” *Br J Pharmacol*. 133: 406-412 p.

158)- Stary H.C., Chandler A, Dinsmore R, et al. 1995, A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and histological classification of atherosclerosis. A report from the Committe on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 92:1355-1363 p.

159)- Strandberg T.E., Vanhanen H, Tikkanen M.J., 2000 Associations between change in C-reactive protein and serum lipids during statin treatment. *Ann Med* 32: 579–583 p.

160)- Stuhlinger M.C., Tsao P.S., Her J.H., Kimoto M., Balint R.F., Cooke J.P.,2001, Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway role of asym-metric dimethylarginine, *Circulation* ; 104: 2569-2575 p.

161)- Stuhlinger M.C., Abbasi F., Chu J.W., et al. 2002, Relationship between insulin resistance and an endogenous nitric oxide synthase inhibitor. *JAMA* 2002; 287: 1420–1426 p.

162)- Stulc T., Kasalova Z., Krejci H., Dolezalova R., Ceska R., 2005, Effect of rosiglitazone on homocysteine and creatinine levels in patients with type 2 diabetes, *Atherosclerosis*; 183(2), 367-368 p.

163)- Szilvassy Z., Csont T., Pali T., Droy-Lefaix M.T., Ferdinandy P. 2001, Nitric oxide, peroxynitrite and cGMP in atherosclerosis-induced hypertension in rabbits: beneficial effects of cicletanine, *J of Vascular Research*; 38(1): 39-46 p.

164)- Tack C.J., Smits P. 2006, Thiazoidinedione derivatives in type 2 diabetes mellitus. *North J Med*. 64: 166-174 p.

165)- Taniguchia J., Honda H., Shibusawac Y., Iwata T., Notoya Y., 2005, Alteration in endothelial function and modulation by treatment with pioglitazone in rabbit renal artery from short-term hypercholesterolemia, *Vascular Pharmacology* 43; 47-55 p.

166)- Tokgözoğlu L. 2009, Ateroskleroz ve enflamasyonun rolü, *Türk Kardiyol Dern Arş* 37: 1-6 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

167)- Tomas, M., Senti, M., Faria, F.G., Vila, J., Torrents, A., Covas, M., Marrugat, J., 2000. Effect of simvastatin therapy on paraoxonase activity and related lipoproteins in familial hypercholesterolemic patients. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 20 (9), 2113–2119 p.

168)- Tsimihodimos, V., Karabina, S.A.P., Tambaki, A.P., 2002. Atorvastatin preferentially reduces LDL-associated platelet-activating factor acetylhydrolase activity in dyslipidemias of type IIA and type IIB. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 22, 306–311 p.

169)- Tyagi N., Gillespie W., Vacek J.C., Sen U., Tyagi S.C., Lominadze D., 2009, Activation of GABA-A receptor ameliorates homocysteine-induced MMP-9 activation by ERK pathway. *J Cell Physiol*; 220 (1): 257-266 p.

170)- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur M., Telzer J., 2007, Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem Cell Biol*, 39 (1), 44-84 p.

171)- Van den Hoogen P.C.W., Feskens E.J.M., Nagelkerke N.J.D., et al. 2000, The relation between bloodpressure and mortality due to coronary heart disease among men in different parts of the world.Seven countries Study Research Group. *N Eng J Med* 342(1): 1-8 p.

172)- Van Lenten B.J., Wagner, M. Navab, G.M. Anantharamaiah, S. Hama, S.T. Reddy, and A.M. Fogelman. 2007. Lipoprotein inflammatory properties and serum amyloid A levels but not cholesterol levels predict lesion area in cholesterol-fed rabbits. *J Lipid Res.* 48: 2344-2353 p.

173)- Van Wijk J., Coll B., Cabezas M.C., Koning E., Camps J., Rabelink T., Mackness B., and Joven J., 2006, Rosiglitazone Modulates Fasting and Post-Prandial Paraoxonase 1 Activity in Type 2 Diabetic Patients, *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 33, 1134–1137 p.

174)- Vaughan C.J., Gotto A.M., Basson C.T., 2000, The evolving role of statins in the management of atherosclerosis *J Am Coll Cardiol.* **35**: 1-10 p.

175)- Verma S., Kuliszewski, M.A., Li, S.H., Szmitko, P.E., Zucco, L., Wang, C.H., Badiwala, M.V., Mickle, D.A., Weisel, R.D., Fedak, P.W., Stewart, D.J., Kutryk, M.J., 2004. C-reactive protein attenuates endothelial progenitor cell survival, differentiation, and function: further evidence of a mechanistic link between C-reactive protein and cardiovascular disease. *Circulation* 109, 2058–2067 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

176)- Vijayabaskar P., Sethupathy, S. and Somasundaram, S. T., 2008, A comparative study on the atheroprotective potential of heparin and atorvastatin in hypercholesterolemic rats, *African Journal of Biochemistry Research*, 2 (5), 120-127 p.

177)- Wakino S., Hayashi K., Tatematsu S., Hasegawa K., Takamatsu I., Kanda T., Homma K., Yoshioka K., Sugano N., and Saruta T., 2005, Pioglitazone Lowers Systemic Asymmetric Dimethylarginine by Inducing Dimethylarginine Dimethylaminohydrolase in Rats *Hypertens Res.*, 28 (3): 255-262 p.

178)- Walldius G, Jungner I, Holme I, Aastveit A.H., Kolar W., Steiner E., 2001, High apolipoprotein B, low apolipoprotein A-I and improvement in the prediction of fatal myocardial infarction (AMORIS study): a prospective study. *Lancet*; 358: 2026–2033 p.

179)- Walldius G., Jungner I. 2004, Apolipoprotein B and apolipoprotein A-I: risk indicators of coronary heart disease and targets for lipid-modifying therapy. *J. Intern Med*; 255: 188–205 p.

180)- Wang T.D., Chen W.J., Lin J.W., et al. 2004, Effects of rosiglitazone on endothelial function, C-reactive protein, and components of the metabolic syndrome in nondiabetic patients with the metabolic syndrome. *Am J Cardiol*; 93(3): 362—365 p.

181)- Watson, A.D., Navab, M., Hama, S.Y., Sevanian, A., Prescott, S.M., Stafforini, D.M., McIntyre, T.M., La Du, B.N., Fogelman, A.M., and J.A. 1995, Berliner Effect of Platelet Activating Factor Acetylhydrolase on the Formation of Minimally Oxidized-Low Density Lipoprotein *J. Clin Invest* 95(2); 774-782 p.

182)- Weitz-Schmidt G., Welzenbach K, Brinkmann V, Kamata T, Kallen J, Bruns C, Cottens S, Takada Y, Hommel U. 2001, Statins selectively inhibit leukocyte function antigen-1 by binding to a novel regulatory integrin site” *Nat Med.* 7: 687-682 p.

183)- West J.B., 1985, Regulation of Lipid and Lipoprotein Metabolism. *Best and Taylor’s Physiological Basis of Medical Practice*. Editör: John B. West, Williams and Wilkins, Baltimore, 11. baskı, 805-817 p.

184)- Wissen S.V., Smilde T.J., Trip M.D., Boo T.D., Kastelein J.J.P. et.al., 2003, Long term statin treatment reduces lipoprotein (a) concentrations in heterozygous familial hypercholesterolaemia, *Heart* ; 89: 893–896 p.

185)- Wu G., Meininger C.J., 2008, Analysis of citrulline, arginine, and methylarginines using high-performance liquid chromatography. *Methods Enzymo* 1440: 177- 189 p.

186)- Yalçın A., Çetin, M., 2001, Plazma Lipoproteinleri ve Klinik Önemi, *Uludağ Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı*, 123-129 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

187)-Yang T.T., Koo M.W., 2000, Chinese green tea lowers cholesterol level through an increase in fecal lipid excretion. *Life Sci*, 66: 411–423 p.

188)- Y Hernandez T., F Rodriguez E., A Macias .R, A Caballero H., and Jose C R.P., 2008, Rosiglitazone but not losartan prevents Nrf-2 dependent CD36 gene expression up-regulation in an in vivo atherosclerosis model, *Cardiovascular Diabetology*, doi: 10.1186/1475-2840-7-3.

189)- Yılmaz Y., Öngen Z., 2009, The importance of non-lipid risk factors: a review focusing on C-reactive protein, *Türk Kardiyol Dern Arş - Arch Turk Soc Cardiol* 37 (4): 7-13 s.

190)- Zambon A., Hokanson J.E., Brown B.G., Brunzell J.D., 1999 Evidence for a new pathophysiological mechanism for coronary artery disease regression: hepatic lipase-mediated changes in LDL density. *Circulation* 99: 1959–1964 p.

191)- Zhou Q., Liao J.K., 2010, Pleiotropic effects of statins. - Basic research and clinical perspectives -, *Circ J.*, 74: 818-826 p.

192)- Zoccali C., Böger S.M., Mallamaci F., Benedetto F.A., Tripepi G., Malatino L.S., Cataliotti A., Bellanuova I., Fermo I., Frölich J.,2001, Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study, *Lancet*; 358: 2113-2117 p.

193)- Zulli, A., Hare, D.L., Buxton, B.F., Black, M.J., 2004. High dietary methionine plus cholesterol exacerbates atherosclerosis formation in the left main coronary artery of rabbits. *Atherosclerosis* 176, 83–89 p.

8. ÖZGEÇMİŞ

Bireysel bilgiler

Adı Soyadı : Gülşen AKALIN
Doğum Tarihi, Yeri :02.08.1979, KÜTAHYA
Uyruğu : T.C.
Medeni Durumu : Bekar
İletişim Adresi : Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya AD.
ESKİŞEHİR
Telefon : 0 222 3350580-3728
Email: : gakalin@anadolu.edu.tr

Eğitim Durumu

İlköğretim : 1985-1990, Eskişehir Battalgazi İlköğretim Okulu
Ortaöğretim : 1990–1993, Eskişehir Battalgazi İlköğretim Okulu
Lise :.1993–1997, Eskişehir H. Ahmed Yesevi Lisesi (Yabancı dil ağırlıklı lise)
Üniversite : 1997–2001, Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Yüksek Lisans: : 2002-2004, Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Biyokimya Ana Bilim Dalı
Doktora : 2004-..... Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı