

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Selma SÜER GÖKMEN

**DENEYSEL ATEROSKLEROZ OLUŞTURULMUŞ
SIÇANLARDA L-ARGİNİNİN PARAOKSONAZ
AKTİVİTESİNE ETKİSİ**

Özgür Doğa ÖZSOY

EDİRNE-2011

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Selma SÜER GÖKMEN

**DENEYSEL ATEROSKLEROZ OLUŞTURULMUŞ
SIÇANLARDA L-ARGİNİNİN PARAOKSONAZ
AKTİVİTESİNE ETKİSİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Özgür Doğa ÖZSOY

Tez No:

EDİRNE-2011

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince her konuda bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren danışmanım Biyokimya AD öğretim üyesi Prof. Dr. Selma SÜER GÖKMEN'e, Biyokimya AD Başkanı Prof. Dr. Erol ÇAKIR'a, Biyokimya AD öğretim üyeleri Doç. Dr. Sevgi ESKİOCAK'a ve Doç. Dr. Hakan ERBAŐ'a, dokuları histopatolojik olarak inceleyen Patoloji AD öğretim üyesi Doç. Dr. Őemsi ALTANER'e, Deney Hayvanları Birimi'ndeki çalışmalarımnda yardımcı olan Doktora Öğr. Selda UZGUR'a ve Yüksek Lisans Öğr. Simla ÇOBANOĞLU'na ve diğer asistan arkadaşlarıma ve Merkez Laboratuvarı çalışanlarına teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
ATEROSKLEROZ.....	3
LİPİDLER.....	9
MALONDİALDEHİD.....	19
ARGİNİN.....	20
PARAOKSONAZ.....	21
GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	26
ATEROSKLEROZ MODELİNİN OLUŞTURULMASI.....	26
KAN ÖRNEKLERİNİN ALINMASI.....	27
SAKRİFİKASYON VE DOKU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI.....	27
ANALİZLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER.....	27
ANALİZLERDE KULLANILAN LABORATUVAR MALZEMELERİ.....	28
PARAOKSONAZ AKTİVİTESİ ÖLÇÜMÜ.....	28
TRİGLİSERİD ÖLÇÜMÜ.....	29
TOTAL KOLESTEROL ÖLÇÜMÜ.....	29
HDL KOLESTEROL ÖLÇÜMÜ.....	29
LDL VE VLDL KOLESTEROLÜN HESAPLANMASI.....	30
MALONDİALDEHİD TAYİNİ.....	30
ATEROSKLEROZ İNDEKSİNİN HESAPLANMASI.....	30
PATOLOJİK DEĞERLENDİRME.....	31
İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME.....	31
BULGULAR.....	32
TARTIŞMA.....	54
SONUÇLAR.....	61
ÖZET.....	65
SUMMARY.....	67
KAYNAKLAR.....	69
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	79
ÖZGEÇMİŞ.....	82
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

ARE	: Arilesteraz
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HMG-KoA	: 3-Hidroksi-3-Metil Koenzim-A
IDL	: Orta Yoğunluklu Lipoprotein
LCAT	: Lesitin Kolesterol Açıl Transferaz
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LPL	: Lipoprotein Lipaz
MDA	: Malondialdehid
MM-LDL	: Minimal Modifiye LDL
NO	: Nitrik Oksit
PON1	: Paraoksonaz
VLDL	: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

GİRİŞ VE AMAÇ

Ateroskleroz, kolesterol metabolizması düzensizliği ve damar duvarı içinde düz kas hücrelerinin ve makrofajların birikiminin eşlik ettiği vasküler bir hastalıktır (1). Aterosklerozun patogeneğinde birden çok faktör bulunmakla beraber oksidatif stresin önemli bir rolü olduğu bilinmektedir. Ateroskleroz oluşumu sırasında hem arteriyel makrofajlarda hem de lipoproteinlerde lipid peroksidasyonunun gerçekleştiği gösterilmiştir (2). Yüksek kolesterol ile ateroskleroz oluşturulan deney hayvanlarında da lipid peroksidasyon ürünlerinin düzeyinde bir artış olduğu bildirilmiştir (2,3).

Yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) düşüklüğünün koroner kalp hastalığının en önemli risk faktörlerinden biri olduğu bilinmektedir (3). HDL'nin koroner kalp hastalığı gelişimine karşı koruyucu etkisi oldukça kompleks olmakla beraber son yıllarda HDL'nin, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) ve hücre membranlarını, lipid peroksidleri tarafından uyarılan hasara karşı koruyabileceği ve böylece ateromatöz lezyonların başlamasını ve gelişimini engelleyebileceği ileri sürülmüştür. HDL'nin bu etkisinin yapısındaki enzimlerden kaynaklandığı gösterilmiştir. Özellikle, HDL'nin yapısında yer alan paraoksonaz 1 (PON1), HDL'nin lipid peroksidleri metabolize edebilme ve LDL üzerinde birikmelerine karşı koruyabilme yeteneği ile yakından ilişkilidir. PON1'in fosfolipid hidroperoksidlerin ve trombosit aktive edici faktörün yıkılımını hızlandırabileceği gösterilmiştir (3-5). HDL'nin lipid peroksidleri metabolize etme kapasitesi, tüm membranları ve LDL'yi oksidatif modifikasyondan koruyabilmesine olanak sağlamaktadır (5).

Diğer yandan oksidatif stresin, özellikle de okside LDL'nin PON1'i inaktive ettiği gösterilmiş ve bu inaktivasyonun, LDL oksidasyonu sırasında oluşan lipid peroksidler ile

PON1'in etkileşiminden kaynaklandığı bildirilmiştir (5,6). Antioksidanlar, hem LDL'nin oksidasyonunu önleyerek hem de lipoproteinle ilişkili lipid peroksidleri ortadan kaldırarak ateroskerozu önlemede fayda sağlayabilirler (7,8). Lipid peroksidasyon ürünlerinden biri olan malondialdehid (MDA), lipoproteinlerle reaksiyona girebilme yeteneğinden dolayı oksidatif hasarın göstergesi olarak yaygın biçimde kullanılmaktadır (9).

Yarı esansiyel ve bazik bir amino asit olan L-arginin, hücrede nitrik oksid sentaz aracılığı ile nitrik oksit (NO) oluşumunda öncül madde olarak rol oynar. L-Argininin oksijen radikallerini uzaklaştırarak miyokardial hasarı önleyebileceği gösterilmiştir (8,10). NO'in hidrojen peroksid aracılıklı hücre hasarına karşı koruyucu etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (11). L-Argininin ateroskerozu önlemede faydalı bir etkiye sahip olduğu bilinmekle beraber literatürde paraoksonaz aktivitesine etkisi ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmanın amacı, L-argininin, deneysel olarak ateroskleroz oluşturulmuş sıçanlarda paraoksonaz aktivitesine etkisini incelemek ve aterosklerozu önlemedeki rolünü irdelemektir.

GENEL BİLGİLER

ATEROSKLEROZ

Tanım

Ateroskleroz, büyük ve orta büyüklükteki arterlerdeki makrofajlarda kolesterol birikimi ile karakterize bir hastalıktır (12).

Epidemiyoloji

Ateroskleroz, çoğunlukla gelişmiş ülkelerde ortaya çıkar. Hastalık prevalansının Orta ve Güney Amerika, Afrika ve Asya'da daha düşük olduğu gözlenmiştir. Amerika'da iskemik kalp rahatsızlığından ölüm oranı Japonya'ya göre altı kat daha fazladır. Fakat Japonya'dan Amerika'ya göç eden kişilerde hastalık oranı Amerikan nüfusuna yaklaşmaktadır. Bu da aterosklerozun genetik faktörlerden çok çevresel faktörler ile artış gösterdiğini kanıtlar (13).

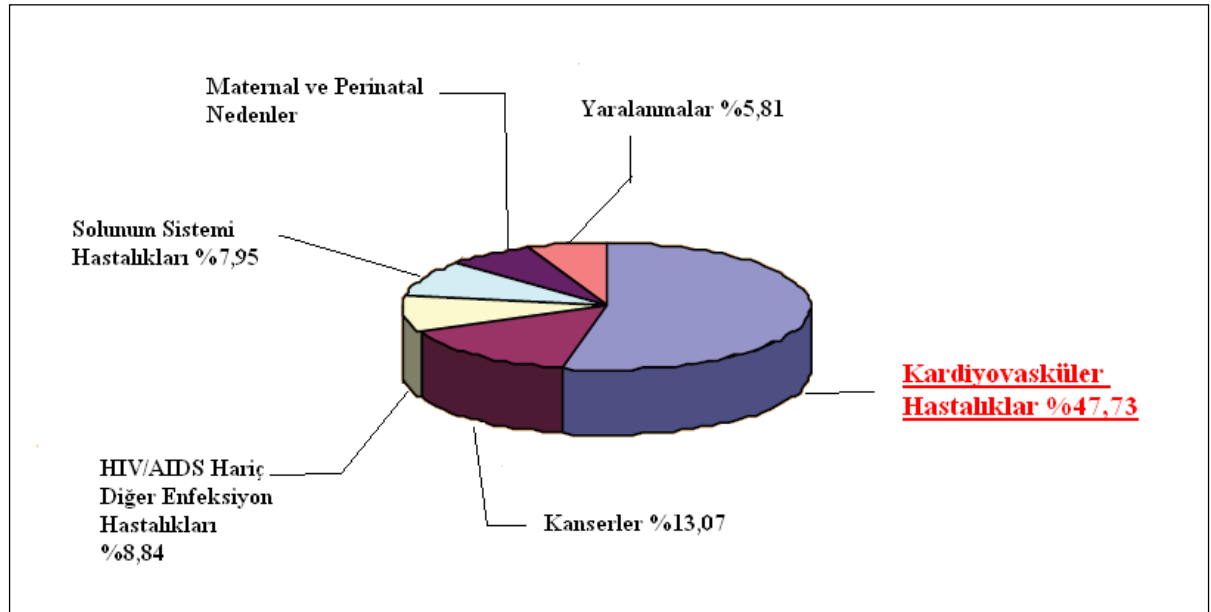
Dünya Sağlık Örgütü'nün 2008 yılında yaptığı çalışmada global ölüm nedenlerinin %12,2'si yani 7,60 milyon ölüm, koroner kalp hastalıklarından kaynaklanmaktadır (Tablo 1) (14).

Tablo1. Global Ölüm Nedenleri (14).

	Ölüm (milyon)	Ölüm (%)
Koroner Kalp Hastalıkları	7,60	12,2
İnme ve Diğer Serebrovasküler Hastalıklar	5,71	9,7
Alt Solunum Yolu Enfeksiyonu	4,18	7,1
KOAH	3,02	5,1
İshalle Seyreden Hastalıklar	2,16	3,7
HIV/AIDS	2,04	3,5
Tüberküloz	1,46	2,5
Trafik Kazaları	1,27	2,2
Prematüre ve Düşük Doğum Ağırlığı	1,18	2,0

KOAH: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı; **HIV:** İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü; **AIDS:** Edinsel immün yetmezlik sendromu

T.C. Sağlık Bakanlığı tarafından yapılan 2003 yılı Ulusal Hastalık Yükü – Maliyet Çalışması'na göre ölümlerle sonuçlanan nedenler, temel hastalık gruplarına göre değerlendirildiğinde kardiyovasküler hastalıklar %47,73'lük bir oranla birinci sırada yer almaktadır (Şekil 1) (14,15).



Şekil 1. Ulusal düzeyde ölüm nedenlerinin temel hastalık gruplarına göre dağılımı (14).

HIV: İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü; **AIDS:** Edinsel immün yetmezlik sendromu

Türk erişkinlerde kalp hastalıkları ve risk faktörleri üzerine yapılan çalışmalar, koroner kalp hastalığı mortalitesinin 45-74 yaş grubu erkeklerde %0,82 ve kadınlarda %0,43

olduğunu ortaya koymuştur. Diğer Avrupa ülkeleri ile kıyaslandığında, Türkiye’de koroner mortalite erkeklerde dördüncü sırada, kadınlarda ise birinci sıradadır (15,16).

Etiyoloji ve Patogenez

Aterosklerozda rol oynayan risk faktörleri Tablo 2’de gösterilmiştir (17).

Tablo 2: Ateroskleroz Risk Faktörleri (17).

Değiştirilemez	Değiştirilebilir
1)Aile Hikayesi	1) Total ve LDL Kolesterol
2) Cinsiyet	2) HDL Kolesterol
3)Yaş	3) Hipertansiyon
	4) Diyabet
	5) Sigara
	6) Sedanter yaşam
	7) Şişmanlık ve insülin rezistansı
	8) Duygusal stres
	9) Homosistein

HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein; **LDL:** Düşük yoğunluklu lipoprotein

Erkek nüfusunda koroner ateroskleroz hastalığı görülme oranı kadın nüfusuna göre daha fazladır. Yaş (erkek 45, kadın 55 üzeri veya kadının prematüre menapoza girmesi), cinsiyet, ileri yaş ile birlikte serum lipoprotein anormallikleri, hipertansiyon (kan basıncını 140/90 mmHg üzeri olması), sigara ve diyabet majör risk faktörleridir. Anormal serum lipid düzeyleri aterogenez için majör bir risk faktörüdür. Yüksek kolesterol, total ve doymuş yağ, yüksek şeker oranı ile birlikte yüksek kalorili diyet erken koroner ateroskleroz tehlikesini artırır. Hipertansiyon, sigara ve diyabette koroner ateroskleroz sıklığını arttıran önemli risk faktörlerindedir. Obezite, sedanter yaşam, psikososyal gerginlikler, plazma homosistein yüksekliği gibi faktörler de minör çevresel risk faktörleridir (17,18).

Kardiyovasküler hastalıkların başlıca nedeni aterogenez ve buna eklenen trombozudur. Sonradan edinilen aterosklerozla ilişkili hiperlipidemi, hipertansiyon, sigara ve diabetes mellitusa bağlı olan klinik sonuçların önlenmesi mümkündür (18,19).

Ateroskleroz, arter intimasında plazma kaynaklı aterojenik lipoprotein birikmesine bağlı oluşan inflamatuvar-fibroliferatif bir yanıttır. Aorttan başlayıp epikardiyal koroner arterlere kadar tüm sistematik arterleri etkileyebilir. Aterosklerozun karakteristik lezyonu intimal plaklardır. Bu plakların yerleşimi daha çok lümen yüzeyi ile arter dallanma

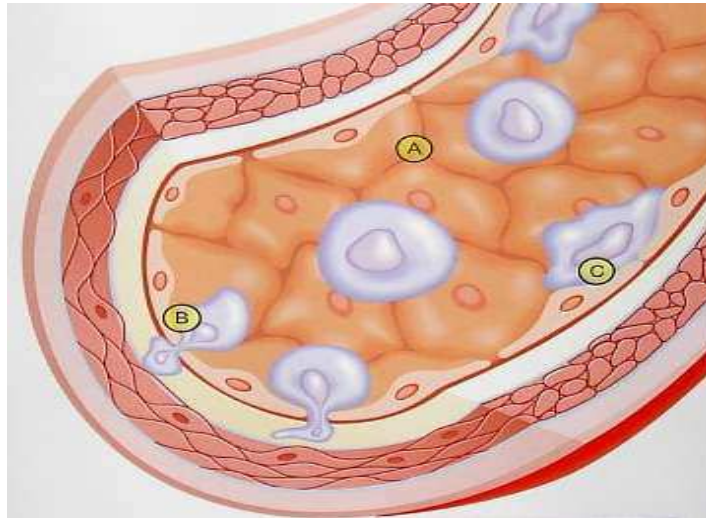
bölgelerine yakın kısımlarda görülür. Bu dallanma bölgelerinde LDL gibi partiküllerin etkileşim süresi daha fazladır. Bu durum lipoproteinlerin transendotelyal difüzyonunda artış ve hiperlipidemi varlığında subendotelyal matrikste lipid birikiminde artış ile ilgilidir (19).

Ateroskleroz patogeneğinde çeşitli faktörlerin yanısıra mikroorganizmaların ve yüksek homosistein düzeylerinin rolü olabileceği ileri sürülmüştür. Homosisteinin yüksek düzeyleri endotel tabakasında hasara yol açarak vasküler permeabilityi artırır (18-20).

Histopatoloji

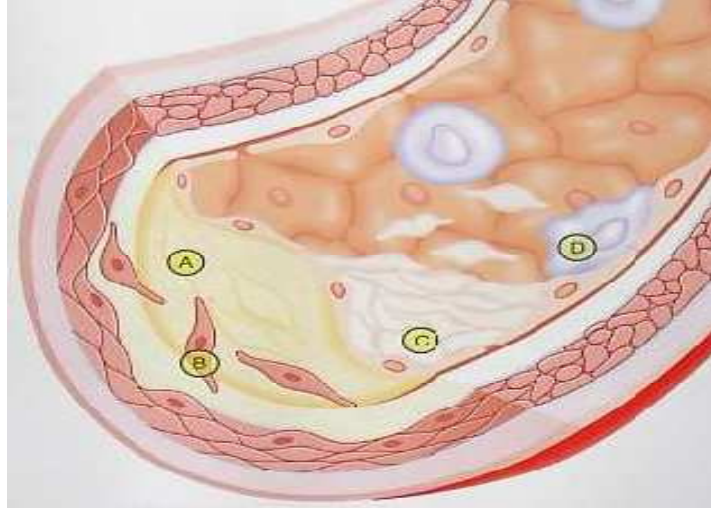
Koroner ateroskleroza bağlı morbidite ve mortalite esas olarak komplike lezyonlara bağlıdır. American Heart Association lezyon tiplerinin gelişimine göre şu sınıflandırmayı önermektedir (19,20).

Tip 1 lezyon: Bu lezyonu endotel yüzeyine yapışıp arter lümeninden intimaya geçen monositler oluşturur (Şekil 2).



Şekil 2. Tip I aterosklerotik lezyonun gelişimi (20).
(A endotel geçirgenliği, B lökosit göçü, C lökosit adhezyonu)

Tip 2 lezyon: Monosit kökenli olan lipid yüklü köpük hücrelerinin sağlam endotel altında bölgesel kümelenmelerinden oluşan yağlı çizgilenmelerdir. Yağlı çizgilenmeler çok sayıda lipid yüklü makrofajın intimal birikimi ile oluşurlar ve bunlara köpük hücre denir (Şekil 3).

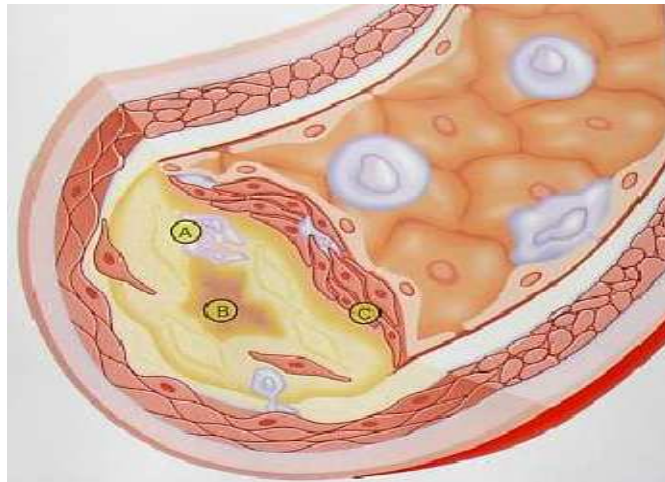


Şekil 3. Tip II aterosklerotik lezyonların gelişimi (20).

- A- Köpük hücre gelişimi
- B- Kas hücresi göçü
- C- Trombosit adhezyon ve agregasyonu
- D- Lökosit adhezyonu ve girişi

Tip 3 lezyon: Az miktarda ekstrasellüler lipid hücreleri içeren lezyon tipidir. Tip 1-3 lezyonlar daha ileri lezyonların öncüleri olmasına rağmen klinik semptomlar göstermezler.

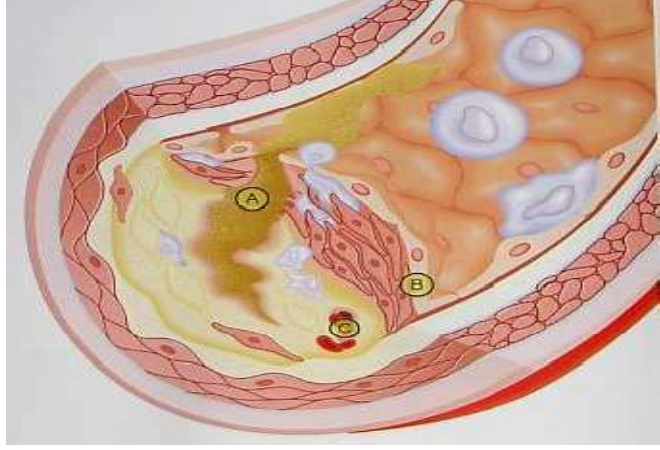
Tip 4 lezyon: Lezyon içerisinde düz kas hücreleri belirir ve ekstrasellüler lipid kümeleri bir araya gelerek bir lipid çekirdek oluştururlar. Genellikle yarım ay şeklinde olup damar duvarı kalınlığını arttıran lezyon tipidir. Bu duruma karşılık lümen çapının korunması için arter yeniden yapılandırılır (Şekil 4).



Şekil 4. Tip IV atrosklerotik lezyonların gelişimi (20).

- A- Makrofaj birikimi
- B- Nekrotik çekirdek oluşumu
- C- Fibroz tabaka oluşumu

Tip 5 lezyon: bağ dokusunda yoğun bir birikim olur. Lipid çekirdeği çevreleyen fibröz bir kapsül oluşur. Çekirdeği lümeninden ayıran kapsül kısım plak başlığıdır. Bu tip lezyonlar çok büyük olduğundan arter duvarında yeniden yapılanma ile kompensasyon gelişemez ve lümen çapı daralır (Şekil 5).



Şekil 5. Tip V aterosklerotik lezyonların gelişimi (20).

- A- Plak rüptürü
- B- Fibroz plak kalınlaşması
- C- Plak kanaması

Tip 6 lezyon: Bu lezyon genellikle tip 5 lezyonda gelişen trombozun veya kanamanın eşlik ettiği lezyondur. Bu lezyonun gelişmesinin nedeni plak yırtılmasıdır ve subendotelial fibröz dokuda füsürler, erozyonlar ve ülserasyonlar sık olarak görülür .

Genellikle iskemik kalp hastalığında bulunan plaklar tüm bu morfolojik özellikleri sergilerler. Fakat akut miyokart infarktüsü ve kararsız angina gibi klinik olaylar tip 6 lezyona bağlıdır (19-22).

LİPİDLER

Lipidler, hidroliz edildiklerinde yağ asitleri ortaya çıkaran veya yağ asitleriyle birleşerek esterler oluşturan kompleks alkollerdir. Organik çözücülerde çözünmelerine karşın suda çözünmezler. Lipidlerin sınıflandırılması Tablo 3’de görülmektedir (23,24).

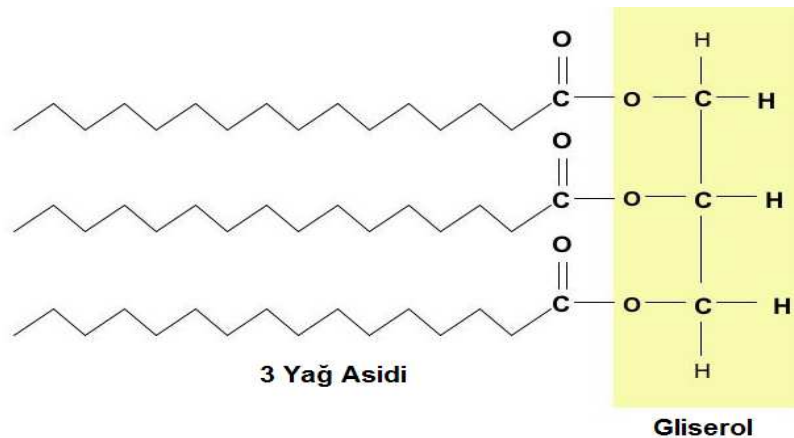
Tablo 3. Klinik önemi olan lipidlerin sınıflandırılması (23).

Klinik Önemi Olan Lipidlerin Sınıflandırılması				
Sterol Türevleri	Kolesterol ve kolesterol esterleri	Steroid hormonlar	Safra asitleri	Vitamin D
Yağ Asitleri	Kısa zincirli(2-4 karbon atomlu)	Orta boy zincirli (6-10 karbon atomlu)	Uzun zincirli (12-26 karbon atomlu)	Prostaglandinler
Gliserol Esterleri	Trigliseridler, digliseridler, monogliseridler (açılgliceroller)		fosfolgliseridler	
Sifingozin Türevleri	Sifingomiyelin		glisofingolipidler	
Terpenler (İzopren Polimerleri)	Vitamin A	Vitamin E	Vitamin K	

Trigliserid

Gliserolün üzerinde bulunan üç alkol grubunun yağ asitleri ile esterleşmesinden trigliserid oluşur. Yağ ya da nötral yağ olarak adlandırılırlar. Tamamı organik çözücülerde çözünür, suda çözünmezler (23,25).

Açılglicerollerin sınıflandırması sahip olduğu yağ sayısına göre yapılır. Gliserole bağlı bir yağ asidi varsa monogliserid (monoaçılglicerol), iki yağ asidi varsa digliserid (diaçılglicerol), üç yağ asidi varsa trigliserid (triaçılglicerol) adını alır (Şekil 6) (23,24).

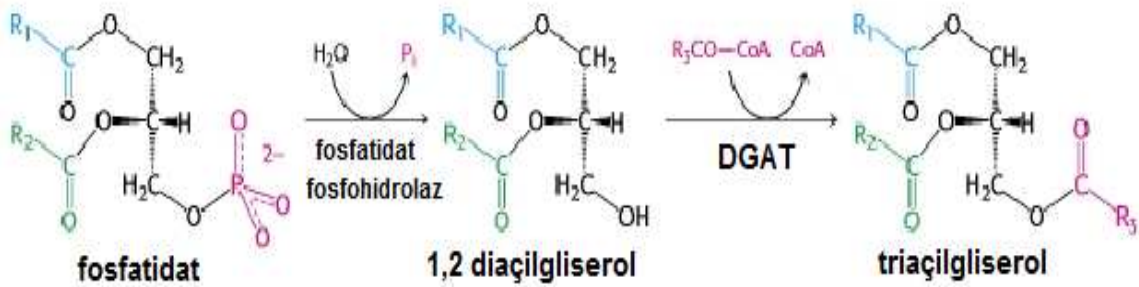


Şekil 6. Trigliserit yapısı (26).

Besinlerle alınan triaçilgliserol miçel oluşturulduktan sonra ince barsaktan absorbe olur. İlk basamakta gerçekleşen miçel oluşumu ince barsakta suda çözülmüş lipazların moleküller ile etkileşimini artırır, lipaz etkisi ile trigliseridler yağ asidi ve gliserole kadar parçalanır. İkinci basamakta lipaz etkisiyle oluşan ürünler difüzyonla barsak yüzeyindeki epitelyum hücresine girer. Son basamaktayeniden trigliserid oluşur. Bu trigliseridler diyetle alınan kolesterol ve özgül proteinlere bağlanarak şilomikronları oluştururlar (24).

Bir organizmada yağ asitlerinin çoğu ya triaçilgliserole sentezine ya da membran fosfolipidlerine katılırlar. Trigliseridler enerji olarak kullanılmak üzere depolanırlar. Fazla alınan karbonhidrat, protein ve yağlar da trigliserid şeklinde depolanır (23,24).

Triaçilgliserol sentezinin ilk basamağında diaçilgliserol-3-fosfat (fosfotidik asit) oluşturmak üzere D-gliserol-3-fosfatın serbest iki hidroksil grubu, iki yağ açil-koA ile birleşir. Fosfotidik asit hayvan hücrelerinde eser miktarda bulunmakla birlikte lipit biyosentezinde ortak bir ara üründür. Fosfotidik asit önce fosfotidik asit fosfohidrolaz enzimiyle 1,2-diaçilgliserole çevrilir. Daha sonra 1,2-diaçilgliserol, üçüncü bir yağ açil-koA ile esterleşerek trigliseride dönüşür (Şekil 7) (24).



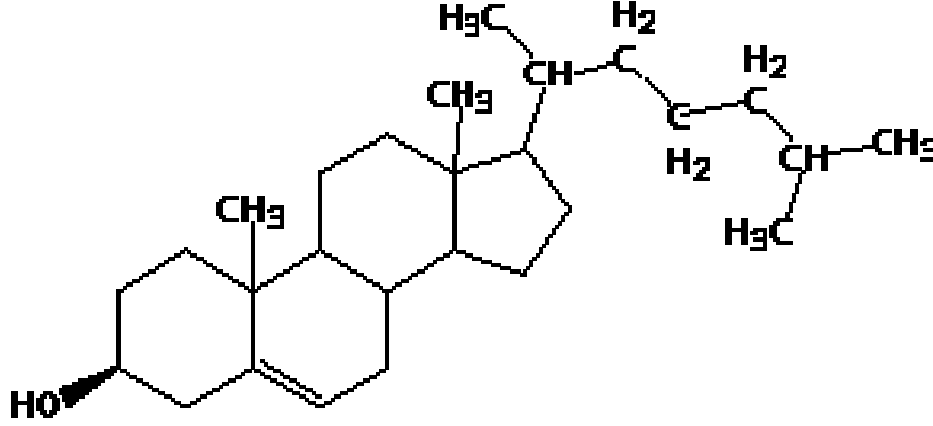
Şekil 7. Triaçilgliserol sentezi (24).

R₃CO-CoA: Yağ asidi açil koenzim A; **DGAT:** Diaçil gliserol açil transferaz

Yapılan birçok çalışma serum trigliserid düzeyi ile ateroskleroz arasında pozitif bir ilişkinin varlığını ortaya koymuştur. Serum trigliserid düzeyini arttıran durumlar; obezite, sedanter yaşam, sigara, aşırı alkol tüketimi, yüksek karbonhidratlı diyet, tip II diabetes mellitus, nefrotik sendrom, kronik böbrek yetmezliği, ilaçlar ve genetik faktörlerdir (23,25).

Kolesterol

Tüm hayvan hücreleri ve sıvılarında bulunan kolesterol 27 karbon atomlu steran halkası içeren steroid bir alkoldür (Şekil 8) (24,26).



Şekil 8. Kolesterolün yapısı (26).

Kolesterol diyet ya da safra salgısı yoluyla barsağa girer. Diyetteki kolesterol esterleri, barsakta, pankreastan salgılanan kolesterol esterazlar tarafından serbest kolesterol ve yağ asidine hidroliz edilir. Serbest kolesterolün barsaktan emilebilmesi için çözünür formda olması gerekir. Bu çözünürlük serbest kolesterol, yağ asitleri, monoaçilgliserol, fosfolipidler ve konjuge safra asitlerini içeren miçel oluşumu ile sağlanır. Miçel oluşumu hem kolesterolün çözünmesine yardım eder hem de lüminal hücre yüzeyinden kolesterolün transportunu kolaylaştırır. Barsakta mukoza hücresine girdikten sonra kolesterol, trigliserid ve fosfolipidlerle birleşerek şilomikron haline gelir ve lenf dolaşımıyla sistematik dolaşıma aktarılır (24).

Kolesterol özellikle asetil koA'dan karaciğer ve diğer dokularda endojen olarak sentezlenir. Tüm dokuların kolesterol sentezleme yeteneği olmasına rağmen sentezin % 90' ı karaciğer, barsak ve periferik hücrelerde olur . Kolesterol sentezi dört evrede gerçekleşir (23,24,26).

İlk evrede asetil koA'dan mevalonatın sentezi gerçekleşir. Asetil-koA'dan, altı karbonlu bir tiyoester olan 3-hidroksi-3-metilglutaril Koenzim A (HMG-KoA) oluşur. Bu oluşum iki aşamada gerçekleşir. Birinci aşama tiyolaz enzimi aracılığıyla iki asetil KoA'nın üçüncü bir asetil KoA ile HMG-KoA sentez eşliğinde HMG-KoA'yı oluşturmasıdır. İkinci aşamada HMG-KoA, HMG-KoA redüktaz enzimiyle mevalonata indirgenir (23,24).

İkinci evrede üç adet adenozin trifosfat (ATP)'tan fosfat grubu mevalonata aktarılır ve 3-fosfo-5-pirofosfo mevalonat oluşur. Bu molekül önce Δ^3 -izopentil pirofosfata, o da izomerleşerek ikinci aktif izopren olan dimetilallilpirofosfata dönüşür (23,26).

Üçüncü evrede izopentil pirofosfat ve dimetilallilpirofosfat baş ve kuyruk birleşmesine uğrar ve pirofosfat grubu yerinden ayrılarak geranil pirofosfat oluşur. Geranil pirofosfat ile izopentil pirofosfat kondensasyonundan farnezil pirofosfat açığa çıkar. Son basamakta da iki farnezil pirofosfatın birleşmesinde bir pirofosfat uzaklaşır ve skualen oluşur (23,24,26).

Kolesterol sentezinin son evresinde, skualen molekülü skualen monooksijenaz enzimi katalizörlüğünde bir dizi oksidasyon tepkimesi ardından lanosterole dönüşür. Bu madde de bazı metil gruplarının ayrılması ve yer değiştirmesi ile kolesterole dönüşür (23).

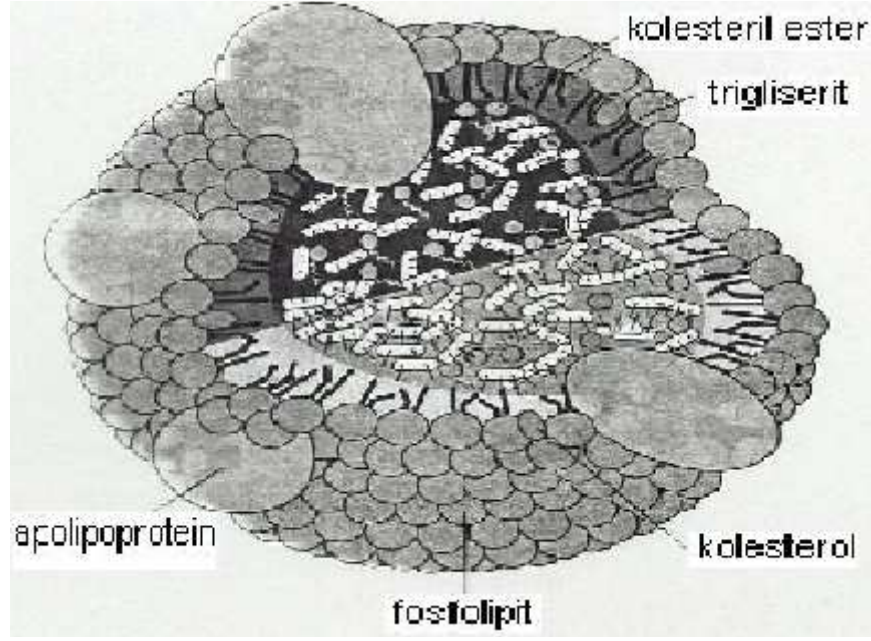
Çalışmalar yüksek kolesterol düzeyi ile koroner kalp hastalığı insidansı ve prevalansı arasında bir ilişki olduğunu kanıtlamıştır. Alınan kolesterol, safra tuzlarının, membranların ve steroid hormonların sentezi için gereklidir. Gereğinden fazla kolesterol ise damarlarda birikerek aterosklerotik plak oluşumuna ve buna bağlı damar tıkanıklığına sebep olur (23,24).

Aterosklerotik koroner hastalık ve kolesterol arasındaki ilişki doğrusal değildir. Kolesterol düzeyi 200 mg/dL iken risk 1,0 ise 250 mg/dL de 2,0 ve 300 mg/dL de ise risk 4,0 olmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda normal veya ılımlı yüksek kolesterol düzeyi olan (185-240 mg/dL) kişilerde ve koroner ateroskleroz hastalığı saptanmış kişilerde kolesterol düzeyinin düşürülmesinin fayda sağladığı gösterilmiştir (23).

Lipoproteinler

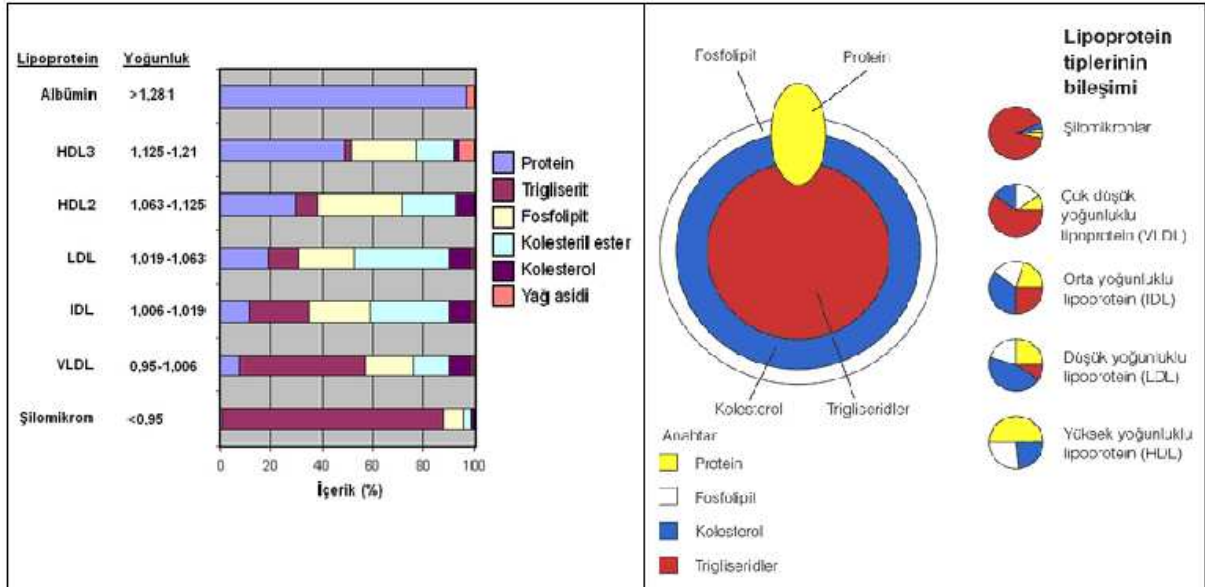
Diyetle alınan ya da karaciğer tarafından sentezlenen lipidler sulu ortamda çözünemedikleri için plazma içerisinde lipoprotein olarak adlandırılan makromoleküller yardımıyla taşınırlar (23,27).

Lipoproteinlerin merkezinde polar olmayan trigliserid ve kolesterol esterleri bulunurken, yüzeye yakın kısımlarında daha polar olan fosfolipid ve serbest kolesterol bulunmaktadır. Su ile teması en aza indirmek için küresel bir şekilde bir arada dururlar. Yüzeylerinde de bir ya da daha fazla apolipoprotein adı verilen özgün proteinler bulunur (Şekil 9) (23,28,29).



Şekil 9. Lipoprotein yapısı (29).

Ultrasantrifüjde lipoproteinler yoğunluklarına göre şilomikronlar, çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL), orta yoğunluklu lipoprotein (IDL), LDL ve HDL olarak ayrılır. HDL'nin HDL₂ ve HDL₃ diye adlandırılan iki alt sınıfı da bulunmaktadır (Şekil 10) (23,28).



Şekil 10. Lipoproteinlerin yoğunluk ve bileşimleri (28).

Lipoproteinlerin protein kısmına apolipoprotein veya apoprotein (apo) adı verilmektedir. Apolipoproteinler HDL yapısında %50-60, şilomikronlarda ise %1 oranında bulunmaktadır (23).

Plazma lipidlerinin çözünür hale gelmesini sağlayan ve lipoprotein metabolizmasıyla ilgili olan anahtar enzimler olan lipoprotein lipaz (LPL) ve lesitin kolesterol açıl transferaz (LCAT)'ın tepkime hızlarını düzenleyen apolipoproteinler, lipoprotein reseptörleri için ligand görevi görürler (23,24). Çeşitli fonksiyonları olan apoproteinler büyüklüklerine, özgül antikolar ile tepkimelerine ve lipoprotein sınıflarındaki karakteristik dağılımlarına göre sınıflandırılırlar (Tablo 4) (27).

Tablo 4. İnsan plazması lipoproteinlerinin apolipoproteinleri (27).

Apolipoprotein	Molekül Ağırlığı	Lipoprotein Sınıfı	İşlevi
Apoprotein A-I	28,331	HDL	LCAT'ı aktifleştirir; ABC taşıyıcısı ile ilişki kurar
Apoprotein A-II	17,380	HDL	Bilinmiyor
Apoprotein A-IV	44,000	Şilomikronlar, HDL	Bilinmiyor
Apoprotein B-48	240,000	Şilomikronlar	Bilinmiyor
Apoprotein B-100	513,000	VLDL, HDL	LDL reseptörüne bağlanır
Apoprotein C-I	7,000	VLDL, HDL	Bilinmiyor
Apoprotein C-II	8,837	Şilomikronlar, VLDL, HDL	Lipoprotein lipazı aktifleştirir
Apoprotein C-III	8,751	Şilomikronlar, VLDL, HDL	Lipoprotein lipazı inhibe eder
Apoprotein D	32,500	HDL	Bilinmiyor
Apoprotein E	34,145	Şilomikronlar, VLDL, HDL	VLDL' nin ve şilomikron kalıntılarının klirensini tetikler

HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein; **LDL:** Düşük yoğunluklu lipoprotein; **VLDL:** Çok düşük yoğunluklu lipoprotein; **LCAT:** Lesitin kolesterol açıltransferaz

Düşük dansiteli lipoprotein biyokimyasal kompozisyonu: Plazmadaki majör kolesterol taşıyıcı partiküldür. LDL, %80 lipid ve %20 proteinden oluşur. Protein içeriğinin artması nedeniyle partikül çapı düşer (22-28.5 nm) ve dansite artar (1.019-1.063 g/mL). Elektroferezde β - fraksiyonu içinde göç eder. Lipid içeriğinin %47'sini kolesterol, %23'ünü

fosfolipid ve %9'unu trigliserid oluşturur. LDL kolesterol içeriği en yüksek olan lipoprotein olup major apoproteini apo B-100 dür. Her LDL partikülü bir molekül apo B-100 içerir. Dolayısıyla plazmadaki ölçümü aterojenik lipoprotein partiküllerinin bir ölçütü olup aterosklerozun göstergesi olarak kabul edilmektedir (23,24,30,31).

LDL yapısındaki fosfolipit, trigliserid ve ester kolesteroldeki yağ asitleri oksitlenebilmektedir. Oksitlenmiş LDL'nin aterom plakları oluşumunda etkin bir rol oynadığı kabul edilmektedir (4,32,33).

LDL oksidasyonunda rol oynayan etkenler: Metal iyonları varlığında LDL partikülü okside olmaktadır. Doku ve hücre kültürlerinde metal bağlayan iyonların kullanılması ile LDL oksidasyonunun azaldığı gösterilmiştir. Tiyollerin otooksidasyonuyla süperoksit radikalleri oluşur (34,35).

Makrofaj, endotel hücreleri ve düz kas hücrelerinde bulunan lipooksijenazlar da, LDL'nin yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini direkt olarak okside ederler (33,36).

NO, endotel hücrelerinden salgılanır ve arterlerde vasküler tonusu etkiler. Süperoksitle birleşerek güçlü bir oksidan olan peroksinitriti oluşturur. Ayrıca, asidik ortamda NO' den oluşan ara ürünler de LDL oksidasyonunu hızlandırır (37).

Yüksek dansiteli lipoprotein biyokimyasal kompozisyonu: En küçük molekülü, en yüksek oranda protein içeren ve trigliserid içeriği en az olan lipoproteindir. %50'si protein, %30'u fosfolipid, %20'si kolesterolden oluşur. HDL'nin yoğunluğu 1.063-1.21 g/mL, çapı ise 7.5-12 nm arasındadır. Apo A-I ve A-II HDL'nin temel apoproteinleridir. HDL ayrıca apo C ve özellikle apo E içermektedir (23,24,30,38).

Ester kolesterol periferik dokulardan karaciğere HDL ile taşınmaktadır. Bu taşıma şekline "tersine kolesterol taşınımı (RCT)" adı verilmektedir (39).

Lipoproteinlerin metabolizması: Lipoproteinler değişik yollarla metabolize olabilirler.

Eksojen yol: Diyetle alınan lipoproteinlerin metabolizmasını içerir. Diyetle alınan trigliserid ve kolesterol golgi aygıtı ve salgı veziküllerinde bir araya getirilerek şilomikron oluşturulur. Oluşan şilomikron barsak villüslerinden dolaşıma verilir. Yeni sentezlenen şilomikronun lipid içeriğinin büyük bir kısmı trigliserid, protein içeriğinin büyük bir kısmı ise apoprotein B-48 ve apolipoprotein A'lardan oluşur. Dolaşıma katılan şilomikronlar, HDL'den

apolipoprotein C ve E'yi alırlar. Şilomikron üzerindeki apo C-II, endotel yüzeyindeki LPL'yi aktifleştirir. Aktifleşen LPL de hızla trigliseridleri yağ asitlerine hidroliz eder. Dolaşımda albümine bağlı olarak hareket eden yağ asitleri enerji için kas ya da depo edilmek için yağ hücrelerine alınır. HDL'ye bir miktar fosfolipid ve apoA taşınır. Yeni oluşan şilomikron kalıntısı baştaki şilomikronun trigliserid içeriğinin %80-90 kadarını içerir. Yüzeyinde bulunan apo 48 ve apo E, karaciğere özgü kalıntı reseptörleri aracılığıyla dolaşımdan alınır. Şilomikron kalıntıları karaciğerde, içerdikleri kolesterolü bırakarak lizozomda parçalanır (23,24,27).

Endojen yol: Karaciğer trigliserid ve kolesterol sentezini yapan başlıca organdır. Diyetle alınan fazla yağ asitleri karaciğerde trigliseride çevrilmektedir. VLDL kolesterol endojen olarak sentezlenir, trigliserid ve kolesteroller golgi aygıtının salgı vesiküllerinde paketlenir, hücreler arası boşluğa verilir (23).

Trigliseridce zengin çok düşük yoğunluklu lipoprotein başlıca apo B-100, apo E ve az miktarda apoprotein C'ler (apo C-I, apo C-II ve apo C-III) içerir. Apo C'lerin kalan kısmı dolaşımdaki HDL'den sağlanır. VLDL üzerindeki apo C-II endotel hücreleri üzerindeki LPL'yi aktifleştirerek trigliseridlerin hidrolizini ve serbest yağ asitlerinin salgılanmasını sağlar (23,24).

Çok düşük yoğunluklu lipoproteindeki trigliseridlerin hidrolizi ve apo C'lerin HDL'ye geri taşınmasıyla VLDL partikülleri, VLDL kalıntısına dönüşür. Bu kalıntıların çoğu karaciğer tarafından alınırken geri kalanları IDL'ye dönüşmektedir. IDL partiküllerinde bulunan bir miktar apo E, IDL'nin hepatik kalıntı reseptörlerine bağlanarak dolaşımdan uzaklaştırılır. İnsanda hepatoresptörler, IDL'nin %50'sini dolaşımdan uzaklaştırabilir (23).

Çok düşük yoğunluklu lipoprotein partikülü üzerindeki apo C-II tarafından aktive edilen LPL ile trigliseridlerin parçalanması sonucu IDL oluşur. IDL daha ileri hidrolize uğrayarak geri kalan trigliseridlerin ve apo B-100 hariç tüm apolipoproteinlerin diğer lipoproteinlere taşınması ile LDL'ye dönüşür (23,24,27).

Düşük yoğunluklu lipoprotein yolu: Kolesterol ihtiyacı olan hücrelerin yüzeyindeki özgül LDL reseptörleri apo B-100'ü bağlarlar. LDL bağlanması sonrası kltrin fibröz proteini ile LDL-reseptör kompleksinin etrafı çevrilir ve endositik veziküller oluşturularak hücre içine alınırlar. LDL partikülleri endozomun asidik ortamından dolayı reseptörlerinden ayrılır. Ayrılan reseptörler tekrar kullanılmak üzere hücre yüzeyine döner. Endozom lizozomla

birleşir. LDL lizozoma geçtikten sonra apo B-100 aminoasit ve peptitlere parçalanır. Kolesterol esterlerinin hidrolizi ile açığa çıkan kolesterol aynı dokularda hücre zarı ve steroid hormon sentezi, hepatositlerde ise safra asidi sentezinde kullanılır (23,24).

Hücreler kendi kolesterol içeriklerini düzenleyebilirler. HMG-KoA redüktaz baskılanması kolesterol sentezinde azalmaya, Açıl koA kolesterol açıl transferaz (ACAT) tarafından katalizlenen kolesterol esterleri sentezinde artışa ve yeni LDL sentezinin, LDL reseptör gen yazılım inhibisyonuyla baskılanmasına yol açar (23,24,27)

Yüksek yoğunluklu lipoprotein tersine kolesterol taşınım yolu: Karaciğer ve barsaktan salınan öncül HDL birimleri, az miktarda kolesterol ve başlıca apo A-I'den oluşan yüksek miktarda protein içerirler. LCAT, şilomikron ve VLDL kalıntılarında bulunan kolesterol ve fosfotidilkolini, apo A-I yardımıyla kolesterol esterlerine çevirir. Başlangıçta disk şeklinde olan HDL, büyüdükçe sferik bir şekil alır. LCAT aktivitesi ile HDL içinde biriken kolesterol HDL boyutunda etkilidir. HDL'nin taşıdığı kolesterol esterleri karaciğere 3 farklı biçimde alınabilir. Bunlardan ilkinde HDL reseptörleri aracılığıyla HDL'den kolesterol esterleri alınır. HDL'ler taşıma işlemini sürdürmek üzere dolaşıma geri dönerler. Bir diğer yol HDL'den apo B-100 içeren lipoproteinlere kolesterol ester proteini aracılığıyla kolesterol esterlerinin taşınmasını ve karaciğere alınmasını içerir. Ayrıca HDL'deki apo E, karaciğer scavenger (çöpçü) reseptör sınıf B tip I tarafından tanınır.

Bu yollar, lipoprotein ve hücrel kolesterolün tekrar kullanımı veya atılımı için karaciğere döndüğü ters kolesterol taşınım yolunu oluştururlar (23,24).

Lipoprotein - ateroskleroz ilişkisi: Plazma kolesterol ve özellikle de LDL kolesterol düzeyinin yüksek olması, arter endotelinde bozulmaya, aterosklerotik plağın gelişimine ve damar lümeninin tam ya da tama yakın tıkalılaşabilen trombüs oluşumuna neden olur. Kandaki miktar yükseldikçe damar sertliği olasılığı da artar. LDL düzeyinde 1 mg/dL'lik bir artış koroner kalp hastalığı riskini %2 civarında arttırır (32,40).

Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol, LDL kolesterolün tersi bir etkiye sahiptir. Kanda dolaşan kolesterolü toplar ve atılması için karaciğere taşır. Böylece kan damarlarının kolesterol ile etkileşimini azaltır. HDL kolesterol seviyesinin düşük olması koroner kalp hastalığı için önemli bir risk faktörüdür. Ortalama 1 mg/dL HDL kolesterolü düşmesi koroner kalp hastalığı riskini erkeklerde %2, kadınlarda %3 oranında arttırmaktadır (32,40-43).

LDL oksidasyonu ve aterosklerozdaki rolü : Endotel hücreleri LPL, kolesterol esteraz, lipooksijenaz gibi enzimleri içerir. LDL'nin içerdiği kolesterol esterlerinin hidrolizi ile serbest kolesterol ve serbest yağ asitleri oluşur. Lipooksijenazların etkisiyle serbest yağ asitlerinin oksidasyonu gerçekleşir (40,43-45).

LDL oksidasyonu hipotezine göre aterosklerozda lezyon oluşumu ve gelişiminden lipid ve protein oksidasyon ürünleri sorumludur. Oksidasyonun asıl hedefi intimada bulunan LDL partikülüdür. Bu hipotez, in vitro şartlarda oksitlenmiş LDL molekülünün proaterojenik özelliklerinin bulunmasıyla desteklenmiştir. Bu özellikler kemotaksisin uyarılması, makrofajlarda kolesterol birikimi, endotel hücrelerinde adhezyon molekülü ekspresyonu ve bazı hücre türlerinin apoptozudur. LDL oksidasyonu aterogenezde kilit rol oynar (45).

Oksidasyon hipotezinin geçerliliği LDL'nin endotel hücreleri ile inkübasyonu sonrası makrofajlar tarafından alınımının artmasının gösterilmesiyle kanıtlanmıştır. Ortalama bir LDL partikülünde bir molekül apolipoprotein-B, 600 molekül serbest kolesterol, 1600 molekül esterleşmiş kolesterol, 700 molekül fosfolipid, 180 molekül triaçilgliserol ve 10 molekül α - tokoferol bulunur. LDL'nin modifikasyonu sırasında tüm bileşenler oksidasyona uğrar. Ester ve serbest kolesterolün oksitlenmesiyle 7-hidroksiperoksikolesterol ve 7-ketokolesterol oluşur. Fosfolipidler ve triaçilgliserollerdeki çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA)'nin oksitlenmesiyle önce hidroperoksitler ve daha sonra malondialdehid, heksanal gibi kısa zincirli, reaktif aldehydler meydana gelir. Tüm bu değişiklikler lipoprotein partikülünde molekül içi çapraz bağların oluşmasına ve partikülün agregasyonuna yol açar. LDL'de meydana gelen bütün bu yük ve konfigürasyon değişiklikleri partikülün makrofajlar tarafından alınımını kolaylaştırır. Oksitlenmiş LDL'nin hücre içine alınması scavenger ve CD-36 reseptörleri aracılığı ile olur. Bu reseptörler hücre içindeki kolesterol düzeyi tarafından regüle edilmez ve subendotelial yerleşimli makrofajlar okside LDL'yi kontrolsüz bir biçimde hücre içine alarak köpük hücreleri meydana getirirler (31,45-48).

HDL'nin antiaterosklerotik etkisi: HDL'nin koruma mekanizmasındaki rolü tersine kolesterol taşınımı ve bunun sonucu olarak kolesterolün ekstrahepatik dokulardan uzaklaştırılmasıyla ilgilidir. HDL öncüllerinin üretimi arttıkça, tersine kolesterol taşınımı artar ve aterogenez oranı azalır (39,49).

Son yıllarda HDL'nin tersine kolesterol taşınımı dışında başka antiaterojenik özellikleri olduğu anlaşılmıştır. HDL ile ilişkili enzimlerden PON1 ve Trombosit Aktive Edici Faktör Asetil Hidrolaz (PAF-AH), lipid peroksidasyonu sonucu oluşan okside fosfolipidleri detoksifiye eder (39,50). HDL'nin bu etkisi, büyük ölçüde HDL ile taşınan PON1 enzimiyle

gerçekleşir. In vivo koşullarda, PON1 yokluğunda, LDL oksidasyonunun arttığı ve buna paralel olarak aterosklerozun ilerlediği gösterilmiştir (51). HDL ile taşınan diğer bir enzim olan LCAT'ın da okside lipidlerin birikimini önlediği gösterilmiştir ancak orta derecede okside LDL ortamda bulunduğu, LCAT aktivitesi inhibe olur ve HDL metabolizmasıyla birlikte tersine kolesterol taşınımı işlevi bozulur (32,39,51).

Oksidatif stres altında HDL de oksidasyona maruz kalmaktadır. HDL'nin oksidatif modifikasyonu aterosklerotik sürecin gelişimine katkıda bulunabilir. Okside HDL'nin aterojenik özelliklerinin, kolesterolü dokulardan alma kapasitesinin düşmesine ve LCAT aktivitesinde oluşan azalmaya bağlı olduğu sanılmaktadır (50).

MALONDİALDEHİD (MDA)

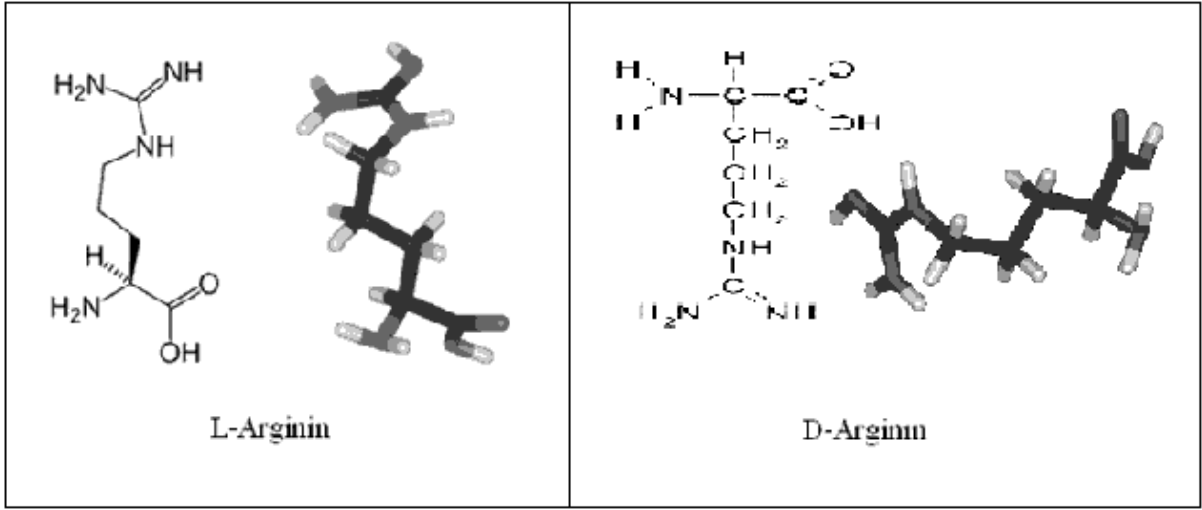
Organizmada normal koşullarda ya da çeşitli dış etkenlerle meydana gelebilen serbest oksijen radikalleri, ortaklanmamış bir elektron taşıyan, kimyasal olarak reaktif moleküllerdir. Oksijen radikallerinin yarı ömrü çok kısadır. Normal şartlarda ekstrasellüler ve intrasellüler savunma mekanizmaları yardımıyla kontrol altında tutulurlar (52,53).

Serbest oksijen radikallerindeki artış, lipid peroksidasyonuna veya protein, karbonhidrat ve nükleik asitlerin oksidasyonuna neden olur. Membrandaki poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu oluşan MDA, lipid peroksidasyonun en önemli göstergesidir. MDA yalnızca lipid peroksidasyonu ile oluşur ve konsantrasyonu lipid oksidasyonu değişikliklerini yansıtır. Malondialdehid oluşumunu açıklayan çeşitli hipotezler vardır. Bunlardan biri okside lipidlerin dekompozisyon ürünü olarak MDA oluşumudur. Mekanizma iki ya da daha fazla çifte bağ içeren çoklu doymamış yağ asitlerinden prostaglandin benzeri endoperoksitlerin oluşumu ile ilişkilidir. Diğer mekanizma ise birbirini izleyen hidroperoksit oluşumu ve çoklu doymamış yağ asitlerinin β -yarılması temeline dayanır. In vivo MDA'nın başlıca kaynağı çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonudur. Diğer kaynakları ise prostaglandin biyosentezinin ve iyonize radyasyona bağlı serbest radikal oluşumunun yan ürünleridir (53,54).

Serbest oksijen radikallerinin hücrelerde oluşturacakları hasarı önleyen veya meydana gelen hasarın onarımında görev alan maddelere antioksidan adı verilir. Serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması sonucu oksidatif stres ortaya çıkar. Aterosklerozun patogenezinde oksidatif stresin önemli rol oynadığı bilinmektedir (53-55).

ARGİNİN

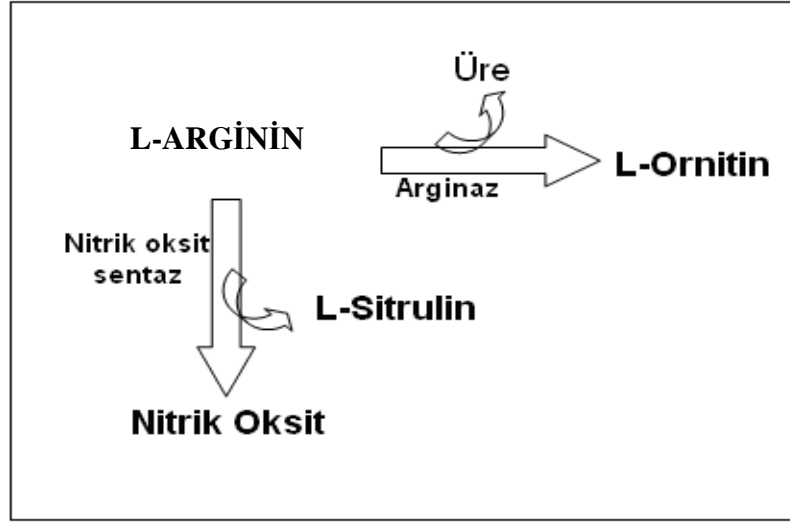
Molekül ağırlığı 174,2 gram olan pozitif yüklü ve bazik R grubuna sahip bir aminoasit olan argininin genel formülü $C_6H_{14}N_4O_2$ dir. Çocukluk ve gençlik dönemlerinde esansiyel bir aminoasit olan L-Arginin, yetişkinler için esansiyel değildir. Gelişme çağında travma veya infeksiyonda arginin gereksinimi artar. Polarize ışığın düzlemini çevirme yeteneğine göre D- ve L- olarak adlandırılan iki izomeri vardır (Şekil 11) (56-62).



Şekil 11. L ve D arginin izomerleri (60,61).

Besinlerdeki protein sindirim kanalında hidrolize uğrar ve eksojen olarak oluşan L-arginin enterositlere geçer. Karaciğere taşınmak üzere L-arginin enterositlerden aktif taşıma yoluyla portal sisteme geçer. Oral yolla alınan arginin düzeyi 1-2 saat sonra plazmadaki en yüksek düzeyine ulaşır. Böbreklerde glomerular filtrasyona uğrayan argininin tamamına yakını reabsorbe edilir. Plazma argininin %10'luk kısmı endojen olarak, ince barsak, böbrek ve karaciğerde glutamat ve sitrullinden sentezlenir. Diyetle alınan glutamat ince barsakta sitruline, sitrulin ise sistematik dolaşıma alındıktan sonra böbrek proksimal tübüllerinde arginine çevrilir (57,63,64).

Arginin iki farklı metabolik yolun iki farklı enzimi için ortak substrattır. Birinci yol üre döngüsünün son basamağındaki arginaz enzimi ile üre ve ornitine dönüşümdür. İkincisi ise nitrik oksit sentaz enzimi ile nitrik oksit sentezidir (Şekil 12) (57,64,65). Hem arginin hem de nitrik oksidin radikal toplayıcısı olarak fonksiyon gördüğü bildirilmiştir (10,11,58).



Şekil 12. L-Argininin metabolik yolları (65).

Arginaz enzimi katalizörlüğünde argininden ornitin ve üre oluşur. Ornitin üre döngüsü dışında hücre proliferasyonunda ve gelişiminde yer alan poliaminlerin ve prolin aminoasidinin sentezinde öncül madde olarak görev yapar. Poliamin sentezinde ornitin, ornitin dekarboksilaz enzimiyle putresine dönüşür (63-66).

Putresin, spermidin sentaz enzimiyle spermidine, spermidin de spermin sentaz enzimi vasıtasıyla spermine dönüşür (Şekil 13) (67,68).



Şekil 13. Ornitinden poliamin sentezi (67).

Ornitin dekarboksilaz enziminin katalizlediği basamak hız sınırlayıcı basamaktır. Spermin ve spermidin, hücrelerin büyümesi ve gelişmesi için önemlidir (68).

PARAOKSONAZ

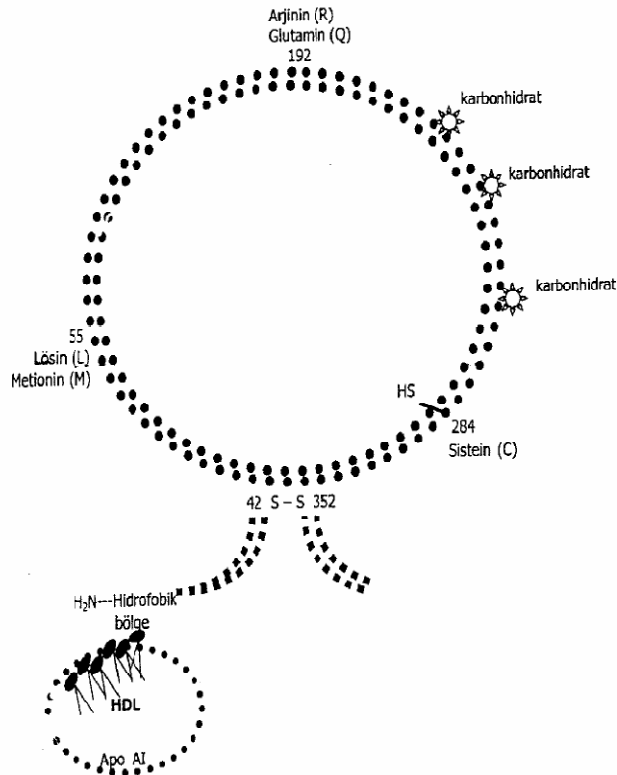
Paraoksonaz, hem arilesteraz (ARE) (E.C. 3.1.1.2) hem de paraoksonaz (arildialkil fosfataz; organofosfat hidrolaz; paraokson hidrolaz; E.C.3.1.8.1) aktivitesine sahip bir ester hidrolazdır (69,70).

PON, glikoprotein yapısında 354 aminoasitten oluşan, 43-45 kDa ağırlığında bir enzimdir. PON'u kodlayan gen, 7.kromozomun q 21.3 ile 21.6 bölgesine yerleşmiştir. PON

gen ailesinin tümü antioksidan özellik göstermekte ve PON1, PON2 ve PON3 olarak adlandırılmaktadırlar. PON1 ve PON3, HDL ile ilişkili olup LDL oksidasyonunu önlemede etkilidir fakat PON2 enziminin böyle bir özelliği yoktur (71).

PON1 enzimi 42, 284 ve 352. konumlarında üç adet sistein kalıntısı içerir (Şekil 14). Bu üç sistein kalıntısı enzimin, serin esterazların katalitik merkezlerinde serin aminoasitlerin yerine sistein aminoasitleri kullanan bir sistein esteraz olduğu hipotezini kanıtlar (72). Bu sistein kalıntılarında 284. pozisyondaki serbest iken, diğer konumlardakilerin arasında disülfid bağı vardır. Serbest sülfidril grubu içeren 284. pozisyondaki sisteinin, LDL'yi oksidasyondan korumada rolü olmasına rağmen orgonafosfat hidrolizinde görev almaz. Bu aminoasidin mutasyonu PON1 aktivitesini azaltmaktadır (73).

PON1 enziminin N-terminal ucunda bulunan hidrofobik yapıya sahip sonlanma bölgesi HDL ile etkileşimi sağlamaktadır. Bu hidrofobik bölge, PON1'in lipoprotein ve fosfolipidleri bağlamasını sağlar. PON1'in fosfolipidlere bağlanmasında apo A-I de rol alır. Apo A-I, PON1 enziminin aktivitesini stabilize eder (Şekil 14) (74-76).



Şekil 14. PON1 Enziminin Yapısı (76).

HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein

PON1 Enziminin Sentez ve Sekresyonu

PON enzimi başta karaciğer, böbrek, ince barsak olmak üzere birçok doku ve serumda bulunmaktadır. PON1 gen ürünü, plazmada bulunurken, diğer fraksiyonlarının gen ürünleri hücre içinde bulunur (77).

HDL kolesterol düzeyleri cinsiyetler arasında fark göstermesine rağmen, PON1 aktivitesinde cinsiyetler arası fark gözlenmez. Buna rağmen bireyler arasında farklılıklar gözlemek mümkündür. Yenidoğanlarda serum enzim aktivitesi erişkinlere göre yarı düzeydedir. Yenidoğan düzeyleri 1 yıl içerisinde erişkin düzeyine ulaşır ve yaşam boyu aynı kalmaktadır (78,79).

PON1, insanlarda başlıca karaciğerde sentez edilir. Enzim aktivitesi fetüs karaciğeri ve dalağı, erişkin karaciğerinde gösterilmiştir. Akciğer, beyin, pankreas ve plasentada bulunduğu yönünde bulgular varolmasına rağmen henüz izole edilememiştir. Hayvanlarda özellikle karaciğer, böbrek, ince barsak ve plazmada bulunur (78). PON1 enziminde polimorfizm de söz konusudur. Enzimin 192. pozisyonundaki glutamin, arginin ile yer değiştirince birinci polimorfizm; 55. pozisyondaki metiyonin, lösin ile yer değiştirince ikinci polimorfizm oluşmaktadır. Enzimin 192. pozisyonda glutamin olduğunda PON1 A tipi (Q izoenzimi), 192. pozisyonda arginin olduğunda B tipi (R izoenzimi) olarak isimlendirilir (79-85).

PON1 alloenzimleri, Q (A) ve R (B), LDL'yi oksidasyona karşı korur. PON1 R izoenzimlerinin LDL'yi oksidasyondan koruma yeteneği daha düşüktür (82,83).

PON1 Enziminin Etki Mekanizması

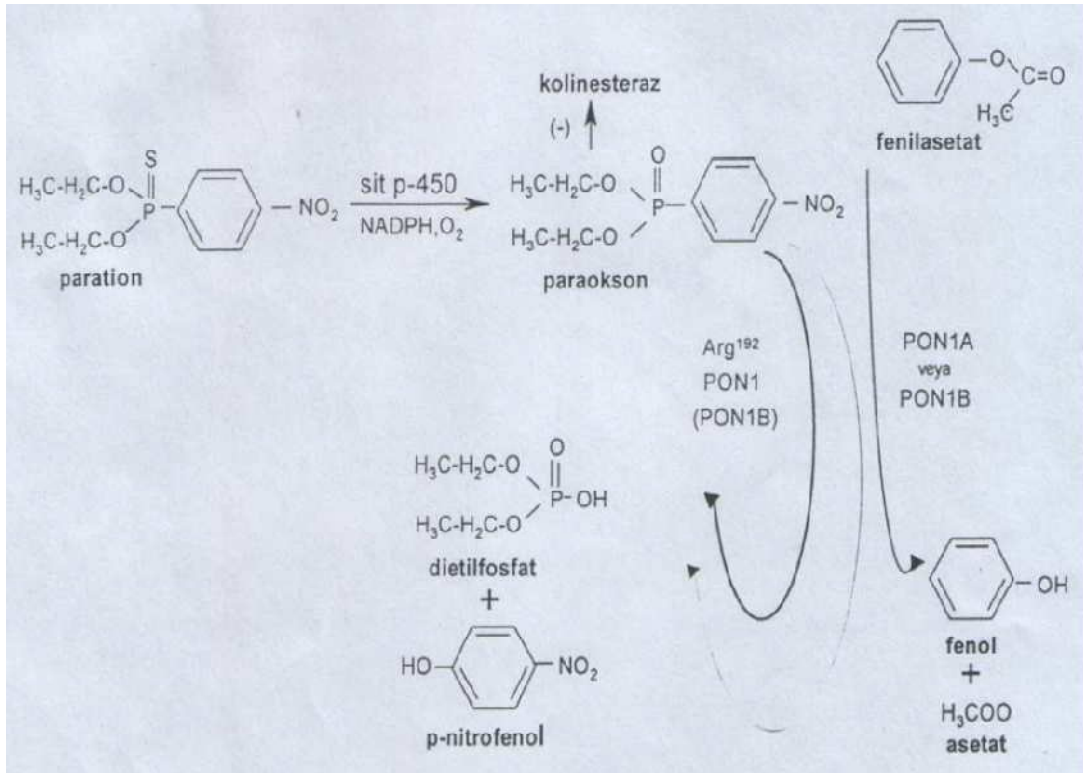
PON, insektisit ve sinir gazı yapımında yaygın olarak kullanılan organofosfat bileşiklerinin hidrolizini katalizlemektedir. PON1'in fizyolojik substratı henüz bilinmemektedir (84).

PON1; paraokson, diazokson, sarin ve soman gibi organofosfat türevlerinin yanısıra lipid peroksidasyon ürünlerini de hidroliz etmektedir (Şekil 15). Bu özelliği ile PON1 aterosklerozun ilerlemesini önlemektedir (85,86).

Paratiyonun karaciğer ve diğer dokularda mikrozomal sitokrom p-450 enzim sistemi ile oksidatif desülfürasyonu sonucu paraokson oluşur. PON1, paraoksonaz aktivitesi ile

paraoksonu dietilfosfat ve p-nitrofenole hidroliz eder. Diğer yandan PON1, ARE aktivitesi ile fenilasetatı fenol ve asetata hidroliz eder. Paraoksonun hidrolitik ürünleri paraoksonun kendisine göre daha az zararlıdır. Paraokson, asetilkolini yıkan kolinesterazlar için potent bir inhibitördür (76).

PON enziminin B fenotipi, A fenotipine göre paraoksonu daha hızlı hidroliz eder. Hidroliz mekanizması tiyoester açıl enzim kompleksinin oluşmasını ve alkol ürününün ayrılması ile asit ürünler ve enzimin serbest kalmasını içerir. A ve B fenotiplerinin paraoksonu hidroliz etme yetenekleri farklı olmasına rağmen, okside fosfolipid düzeyleri üzerine etkileri benzer bulunmuştur (87).



Şekil 15. PON enziminin etki mekanizması (87).

NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat; **sit p-450:** sitokrom p-450; **PON:** Paraoksonaz; **Arg 192:** Arginin192

PON1–Ateroskleroz İlişkisi

Düşük PON1 aktivitesinin ve LDL oksidasyonunun ateroskleroz riskini arttırdığı gösterilmiştir. Dolaşımdaki HDL'nin yapısında bulunan PON1'in in vitro LDL oksidasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (70,88).

HDL'nin yapısındaki PON1 enziminin LDL oksidasyonunu önleyici etkisi, oksidasyonun her aşamasında gözlemlenir. Bu oksidasyondaki konjuge dien, peroksit ve aldehit oluşum safhaları PON1 enzimiyle engellenir. PON1 minimal modifiye LDL (mm-

LDL) deki aktif lipidleri yıkarak arter duvarındaki hücrelerde inflamatuvar yanıtı baskılar ve böylece koruyucu etki gösterir (76,88,89).

PON1'in lipid peroksitleri, kolesterol linoleat hidroperoksitleri ve hidrojen peroksidi hidroliz ederek LDL'nin oksidasyonunu önlediği bildirilmiştir (74,89).

Aterogeneizde LDL oksidasyonuna neden olan başlıca etken endotelde üretilen hidrojen peroksitin oksidatif koşullarda daha etkin ürünlere dönüşmesidir. Aterogenez sırasında, arter duvarlarında oluşan majör reaktif oksijen radikali hidrojen peroksittir. Oksidatif stres varlığında hidrojen peroksit daha güçlü radikallere dönüşerek LDL oksidasyonuna sebep olur. HDL üzerindeki PON1 enzimi hidrojen peroksit ve diğer peroksitleri hidroliz ederek aterosklerozda rol oynayan güçlü oksidan ajanlarını ortamdan uzaklaştırabilir (74,88,89).

Oksidatif stres durumunda HDL'nin yapısındaki lipidler de oksidasyona yatkın hale gelir. HDL insan serumunda, lipid hidroperoksidlerin majör taşıyıcısıdır. HDL'nin oksidatif modifikasyonu, bu lipoproteinlerin hücreden kolesterol alma özelliğini bozar. HDL oksidasyonunun PON1 tarafından inhibe edilmesi ve HDL'nin tersine kolesterol taşınması, antiaterojenik özellik göstermesini ve LDL'nin oksidasyondan korunmasını sağlar (76,89).

Familyal hiperkolesterolemili ve insüline bağımlı diabetes mellitusta serum paraoksonaz aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir (90). Sigara içilmesi de koroner arter hastalığı olan bireylerde azalmış serum paraoksonaz aktivitesi ile ilişkili bulunmuştur (91).

İnsanlarda düşük PON1 aktivitesinin koroner kalp hastalığı için bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (92).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Araştırmada Trakya Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Birimi'nden sağlanan toplam 40 adet sağlıklı yetişkin erkek Wistar albino sıçan kullanıldı. Hayvanlar oda sıcaklığında, 12 saat ışık 12 saat karanlık siklusu ile barındırıldı. Çalışmanın başlangıcında ve sonunda hayvanların tartımları alındı. Malondialdehit ölçümü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'nda yapıldı. Paraoksonaz enzim aktivitesi, total kolesterol, trigliserit ve HDL kolesterol Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında gerçekleştirildi. Aort dokularının histopatolojik incelemesi Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

ATEROSKLEROZ MODELİNİN OLUŞTURULMASI

Kolesterolün deneysel ateroskleroz oluşturduğu farklı araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (93). Deneysel ateroskleroz modeli oluşturulan bu çalışmada Wistar albino ratlar, eşit sayıda ve rastgele seçilerek kontrol grubu, L-arginin grubu, kolesterol grubu ve kolesterol+L-arginin grubu olmak üzere dört gruba ayrıldı.

Kontrol grubu: Hayvanlara iki ay süresince normal diyet ve içme suyu verildi.

L-Arginin grubu: Hayvanlara iki ay süresince normal diyet ve %3 oranında L-arginin içeren içme suyu verildi.

Kolesterol grubu: Hayvanlara iki ay süresince normal içme suyu ve %3 oranında kolesterol içeren diyet verildi.

Kolesterol+L-arginin grubu: Hayvanlara iki ay süresince %3 kolesterol içeren diyet ve %3 L-arginin içeren içme suyu verildi.

KAN ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

Tüm gruplardan ikinci ayın sonunda anestezi altında kardiyak kan örnekleri alındı. Anestezik ilaç olarak 5 mg/kg rompun (Ksilazin) ve 50 mg/kg ketalar (Ketamin) kullanıldı. Serum lipid, lipoprotein, malodialdehid ve paraoksonaz enzim aktivitesi analizi için kanlar biyokimya tüplerine alındı. Alınan kan örnekleri 11000 rpm' de 10 dk santrifüj edildi. Serumlar tüplüklere konularak analiz gününe kadar -80° C' de saklandı.

SAKRİFİKASYON VE DOKU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

Tüm hayvanlar, kardiyak kanlarının alınmasını takiben sakrifiye edildi ve aort dokuları çıkartıldı. Dokular histopatolojik olarak incelenmek üzere formol ile tespit edilip Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na gönderildi.

ANALİZLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Asetik asid (Sigma)

n-Butanol (Sigma)

Piridin (Sigma)

Tiyobarbitürik asid (Merck)

L-Arginin (Sigma)

Kolesterol (Sigma)

ANALİZLERDE KULLANILAN LABORATUAR MALZEMELERİ

Santrifüj (Rotofix-32,Hettich)

Otomatik pipetler (Eppendorf, Socorex, Microlit)

Hassas terazi (Sartorius)

Su banyosu (GFL 1083)

Vorteks (VELP)

Manyetik karıştırıcı (IKA)

Spektrofotometre (Unicam)

Distile su cihazı (Nüve NS245)

Deney tüpleri

Balon jojeler

Erlen

Baget

Puar

Portüp

PARAOKSONAZ AKTİVİTESİ ÖLÇÜMÜ

Serum paraoksonaz düzeyleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda Siemens Advia 1800 markalı otoanalizörle Rel Assay Paraoksonaz Test Kiti kullanılarak ölçüldü.

Prensip

Tam otomatik paraoksonaz aktivitesi ölçüm metodunda iki farklı reaktif ardışık olarak kullanılır.

Birinci reaktif, PON1 enziminin kofaktörü olan kalsiyum iyonu içeren TRİS tamponu, ikinci reaktif ise yeni geliştirilmiş stabil substrat solüsyonudur.

Örnek, birinci reaktif ile karıştırılıp üzerine ikinci reaktif olan substrat solüsyonu eklenir. PON1'in enzimatik hidrolizi sonucu oluşan ve paraokson ürünü olan p-nitrofenol'ün oluşumu 412 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülerek, paraoksonaz aktivitesi incelenir (90).

TRİGLİSERİT ÖLÇÜMÜ

Serum trigliserit düzeyleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda Siemens Advia 1800 markalı otoanalizörle orjinal kitleri kullanılarak ölçüldü.

Prensip

Serum trigliseridi lipazın etkisi ile gliserol ve serbest yağ asidine dönüşür. Oluşan gliserol gliserol kinaz etkisi ile gliserol-3-fosfat'a dönüşür ve bunu takiben oluşan gliserol-3-fosfat, gliserol-3-fosfat oksidaz varlığında hidrojen peroksida çevrilir. Oluşan hidrojen peroksit, 4-klorofenol ve 4-aminofenazon varlığında peroksidazın katalizlediği bir reaksiyonla renkli bir kompleks oluşturur. Kompleksin absorbansı 505/694 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. .

TOTAL KOLESTEROL ÖLÇÜMÜ

Serum total kolesterol düzeyleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda Siemens Advia 1800 markalı otoanalizörle orjinal kitleri kullanılarak ölçüldü.

Prensip

Serum total kolesterol ölçümünde, ester kolesterollerinin sırasıyla kolesterol esteraz ve kolesterol oksidaz tarafından katalizlenen ardışık reaksiyonları sonucu hidrojen peroksid oluşur. Oluşan hidrojen peroksit, 4-aminoantitiprin ve fenol varlığında peroksidazın katalizlediği bir reaksiyonla renkli bir kompleks oluşturur. Kompleksin absorbansı 505/694 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür.

HDL KOLESTEROL ÖLÇÜMÜ

Serum HDL kolesterol düzeyleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda Siemens Advia 1800 markalı otoanalizörle orjinal kitleri kullanılarak ölçüldü.

Prensip

Serum HDL kolesterolü ölçümünde, ester kolesterollerinin sırasıyla kolesterol esterase ve kolesterol oksidaz tarafından katalizlenen ardışık reaksiyonları sonucu hidrojen peroksit oluşur. Oluşan hidrojen peroksit, 4-aminoantiprin ve N-(2-hidroksi-3-sülfopropil)-3,5-dimetoksianilin varlığında peroksidazın katalizlediği bir reaksiyonla renkli bir kompleks oluşturur. Kompleksin absorbanansı 596 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür

LDL ve VLDL KOLESTEROLÜN HESAPLANMASI

LDL ve VLDL kolesterol düzeyleri Friedewald formülü kullanılarak hesaplandı (94).

LDL kolesterol: Total kolesterol -(HDL kolesterol+trigliserit/5)

VLDL kolesterol: Trigliserit/5

ATEROSKLEROZ İNDEKSİNİN HESAPLANMASI

Ateroskleroz indeksi hesabı aşağıdaki formülle yapılmıştır (95).

Ateroskleroz indeksi: Total kolesterol / HDL kolesterol

MALONDİALDEHİD TAYİNİ

Prensip

Poliansatüre yağ asidlerinin peroksidasyonu ile oluşan son ürünlerden biri olan MDA'nın sıcak ortamda tiyobarbitürik asid ile oluşturduğu bileşiğin pembe-kırmızı renginin 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır (96).

Deney

200 µl serum üzerine %20'lik asetik asid ve %0,8'lik tiyobarbitürik asit eklendi. Tüpler 60 dakika su banyosunda bekletildikten sonra soğutulularak üzerlerine n-butanol/piridin karışımı eklendi. Tüpler 1700xg'de 10 dakika santrifüj edilerek, butanol/piridin fazı ayrıldıktan sonra butanol/piridin körüne karşı 532 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçüldü.

Tüm örneklerde çalışma ikişer kez tekrarlandı. Malondialdehidin 532 nm'deki molar absorptivitesi kullanılarak serumdaki MDA değerleri hesaplandı, sonuçlar nmol/mL olarak ifade edildi.

PATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Arcus ve abdominal aorta dokuları %10'luk formol solusyonunda bekletildi. Arcus ve abdominal aortadan uzun eksenine paralel olarak alınan kesitler yan-dik olarak rutin doku takibine alındı. Rutin doku takibi sonucu parafine gömüldü. Parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında alınan kesitler Hematoksilen Eosin ile boyandı ve ışık mikroskopunda değerlendirildi.

İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

İstatistiksel değerlendirme için Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'na kayıtlı STATISCA 7.0 (Lisans no: 31N6YUCV38) istatistik programı kullanılarak yapıldı.

Her grupta verilerin parametrik varsayımları yerine getirip getirmediğini inceleyebilmek için normal dağılıma uygunluk ve varyans homojenliği testleri yapıldı. Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verildi. Sonuçların değerlendirilmesinde parametrik olan verilerin gruplar arası karşılaştırması yapılırken One-way ANOVA testi kullanıldı. Veriler, gruplar arası farklılıklar yönünden değerlendirildi. Değişkenler arasındaki ilişkinin yönünü, derecesini ve önemini ortaya koymak amacıyla Pearson korelasyon analizi yapıldı. Anlamlılık $p<0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

BULGULAR

Kontrol grubu, L-arginin grubu, kolesterol ve kolesterol+L-arginin gruplarına ait sıçanların başlangıç ağırlıkları Tablo 5'te, deney sonu ağırlıkları Tablo 6'da, serum PON düzeyleri Tablo 7'de, trigliserid düzeyleri Tablo 8'de, kolesterol düzeyleri Tablo 9'da, HDL kolesterol düzeyleri Tablo 10'da, LDL kolesterol düzeyleri Tablo 11'de, VLDL kolesterol düzeyleri Tablo 12'de, malondialdehid düzeyleri Tablo 13'te, ateroskleroz indeksi Tablo 14'te gösterilmiştir.

Tablo 5. Sıçanların ilk ağırlıkları

İlk Ağırlık (g)				
No \ Grup	Kontrol	L-Arginin	Kolesterol	Kolesterol+L-Arginin
1	341	362	347	359
2	319	331	352	371
3	330	301	370	342
4	387	359	309	345
5	325	341	395	355
6	325	350	347	336
7	327	296	379	375
8	348	308	380	392
9	302	331	338	326

Tablo 6. Sıçanların son ağırlıkları

Son Ağırlık (g)				
No \ Grup	Kontrol	L-Arginin	Kolesterol	Kolesterol+L-Arginin
1	380	416	384	389
2	355	320	391	437
3	377	331	391	375
4	370	407	375	391
5	375	378	418	450
6	348	397	353	377
7	378	336	410	424
8	404	355	414	460
9	343	352	360	380

Tablo 7. Sıçanların serum PON düzeyleri

PON (U/L)				
No \ Grup	Kontrol	L-Arginin	Kolesterol	Kolesterol+L-Arginin
1	7.14	12.62	13.2	10.76
2	7.32	11.14	14.03	14.25
3	6.31	9.83	17.09	11.48
4	5.17	12.04	15.16	11.77
5	10.71	12.32	18.88	10.25
6	8.50	12.53	18.87	11.90
7	8.50	9.45	10.98	13.70
8	11.18	11.14	14.57	11.90
9	12.08	9.17	13.69	11.56

Tablo 8. Sıçanların serum trigliserit düzeyleri

Trigliserit (mg/dL)				
No \ Grup	Kontrol	L-Arginin	Kolesterol	Kolesterol+L-Arginin
1	83	88.40	88	51
2	69	88.40	74	68
3	62	78	96	55
4	75	103.50	93	55
5	71	89	75	73
6	73	64	107	89
7	64	74.50	76	64
8	71	107	88	68
9	71	103	95	88

Tablo 9. Sıçanların serum total kolesterol düzeyleri

Total Kolesterol (mg/dL)				
No \ Grup	Kontrol	L-Arginin	Kolesterol	Kolesterol+L-Arginin
1	54	65	81	48
2	48	54	70	61
3	49	55	61	61
4	56	64	60	47
5	52	63	70	49
6	52	49	72	57
7	46	51	80	54
8	60	51	80	51
9	53	46	58	50

Tablo 10. Sıçanların serum HDL kolesterol düzeyleri

HDL Kolesterol (mg/dL)				
No \ Grup	Kontrol	L-Arginin	Kolesterol	Kolesterol+L-Arginin
1	16.80	20.10	17.50	15.20
2	14.00	15.10	16.10	15.60
3	13.80	18.50	13.90	15.90
4	15.70	18.4	17.60	15.20
5	19.60	17.00	13.30	14.20
6	15.70	17.00	18.15	14.80
7	15.70	15.10	18.85	16.20
8	14.50	15.90	20.15	14.20
9	15.30	15.50	16.50	15.30

HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein

Tablo 11. Sıçanların serum LDL Kolesterol Düzeyleri

LDL Kolesterol (mg/dL)				
No \ Grup	Kontrol	L-Arginin	Kolesterol	Kolesterol+L-Arginin
1	20.60	27.22	45.90	22.60
2	20.20	21.22	39.10	31.80
3	22.80	20.90	27.90	34.10
4	25.30	24.90	23.80	20.80
5	18.20	28.20	41.7	20.20
6	21.70	19.20	32.45	24.40
7	17.50	21.00	45.95	25.00
8	31.30	13.70	42.25	23.20
9	23.50	9.90	22.50	17.10

LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein

Tablo 12. Sıçanların serum VLDL kolesterol düzeyleri

VLDL Kolesterol (mg/dL)				
No \ Grup	Kontrol	L-Arginin	Kolesterol	Kolesterol+L-Arginin
1	16.60	17.68	17.60	10.20
2	13.80	17.68	14.80	13.60
3	12.40	15.60	19.20	11.00
4	15.00	20.70	18.60	11.00
5	14.20	17.80	15.00	14.60
6	14.60	12.80	21.40	17.80
7	12.80	14.90	15.20	12.80
8	14.20	21.40	17.60	13.60
9	14.20	20.60	19.00	17.60

VLDL: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein

Tablo 13. Sıçanların serum malondialdehid düzeyleri

Malondialdehid (nanomol/ml)				
No \ Grup	Kontrol	L-Arginin	Kolesterol	Kolesterol+L-Arginin
1	3.00	3.63	4.93	4.01
2	3.00	3.16	5.06	4.34
3	4.30	2.33	5.38	3.94
4	3.63	3.12	4.52	4.74
5	3.22	3.63	4.95	4.50
6	2.84	3.27	5.67	4.01
7	2.60	3.51	5.06	4.30
8	2.60	2.60	4.88	4.52
9	1.85	3.20	5.07	4.74

Tablo 14. Sıçanların serum ateroskleroz indeksi

Ateroskleroz indeksi				
No \ Grup	Kontrol	L-Arginin	Kolesterol	Kolesterol+L-Arginin
1	3.21	3.23	4.63	3.16
2	3.43	3.58	4.35	3.91
3	3.55	2.97	4.39	3.84
4	3.57	3.48	3.41	3.09
5	2.65	3.71	5.26	3.45
6	3.31	2.88	3.97	3.85
7	2.93	3.38	4.24	3.33
8	4.14	3.21	3.97	3.59
9	3.46	2.97	3.52	3.27

Sıçanların ilk ağırlıklarının ortalaması kontrol grubunda 333.78±23.79 g, L-arginin grubunda 331.00±24.65 g, kolesterol grubunda 357.44±26.25 g ve kolesterol+L-arginin grubunda 355,67±20.94 g olarak bulundu (Tablo 15). Grupların arasında ilk ağırlıkları bakımından istatistiksel olarak fark yoktu (p>0.05).

Tablo 15. Sıçan gruplarının ilk ağırlıklarının karşılaştırılması

Gruplar	n	İlk Ağırlık (g)	
		Ort.±SD	min-max
Kontrol	9	333.78±23.79	302.00-387.00
L-Arginin	9	331.00±24.65	296.00-362.00
Kolesterol	9	357.44±26.25	309.00-395.00
Kolesterol+L-Arginin	9	355.67±20.94	326.00-392.00

Sıçanların son ağırlıklarının ortalaması kontrol grubunda 370.00±18.81 g, L-arginin grubunda 365.78±35.08 g, kolesterol grubunda 388.44±23.10 g ve kolesterol+L-arginin grubunda 409.22±33.60 g olarak bulundu (Tablo 16). Grupların arasında son ağırlıkları bakımından istatistiksel olarak fark yoktu (p>0.05).

Tablo 16. Sıçan gruplarının son ağırlıklarının karşılaştırılması

Gruplar	n	Son Ağırlık (g)	
		Ort.±SD	min-max
Kontrol	9	370.00±18.81	343.00-404.00
L-Arginin	9	365.78±35.08	320.00-416.00
Kolesterol	9	388.44±23.10	353.00-418.00
Kolesterol+L-Arginin	9	409.22±33.61	375.00-460.00

Sıçanların serum PON düzeyleri kontrol grubunda 8.54 ± 2.34 U/L, L-arginin grubunda 11.14 ± 1.36 U/L, kolesterol grubunda 15.16 ± 2.65 U/L ve kolesterol+L-arginin grubunda 11.95 ± 1.28 U/L olarak bulundu (Tablo 17).

Tablo 17. Sıçan gruplarının serum PON düzeylerinin karşılaştırılması.*

Gruplar	n	PON (U/L)	
		Ort. \pm SD	min-max
Kontrol	9	8.54 ± 2.34 †	5.17-12.08
L-Arginin	9	11.14 ± 1.36	9.17-12.62
Kolesterol	9	15.16 ± 2.65 ‡	10.98-18.88
Kolesterol+L-Arginin	9	11.95 ± 1.28	10.25-14.25

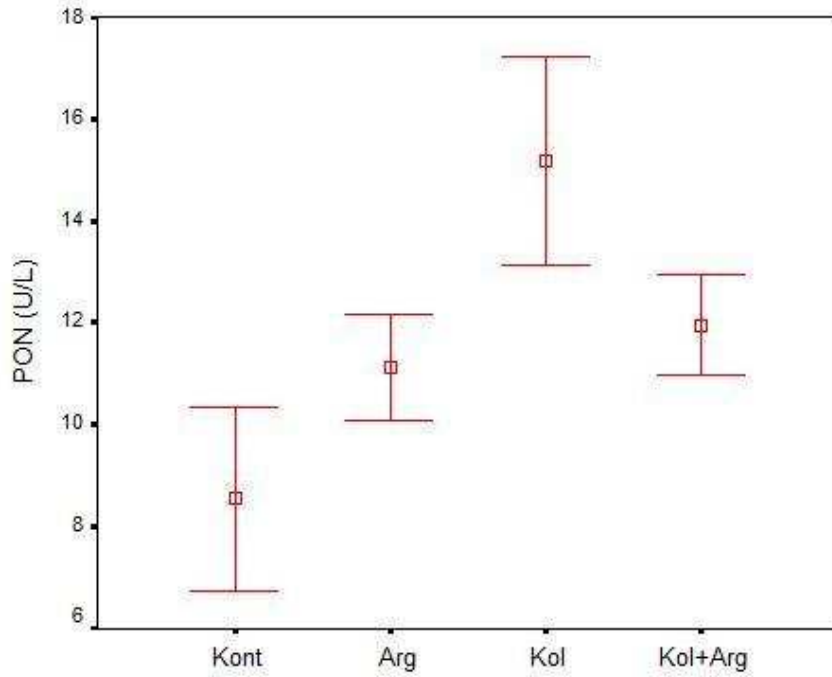
PON: Paraoksonaz

*: One-Way ANOVA

†: Kontrol grubu, post-hoc Tukey HSD yöntemine göre L-Arginin grubu ($p=0.046$), Kolesterol grubu ($p=0.000$) ve Kolesterol+L-Arginin grubu ($p=0.005$) ile karşılaştırıldığında istatistiksel yönden anlamlı fark.

‡: Kolesterol grubu post-hoc Tukey HSD yöntemine göre L-Arginin grubu ($p=0.001$) ve Kolesterol+L-Arginin grubu ($p=0.009$) ile karşılaştırıldığında istatistiksel yönden anlamlı fark.

Kontrol grubunun serum PON düzeyleri, L-arginin grubu ($p=0.046$), kolesterol grubu ($p=0.000$) ve kolesterol+L-arginin grubunun ($p=0.005$) PON düzeylerinden anlamlı olarak düşüktü. Ayrıca kolesterol grubunun PON düzeyleri, L-arginin ($p=0.001$) ve kolesterol+L-arginin grubunun ($p=0.009$) PON düzeylerinden anlamlı olarak yüksek bulundu. Bununla birlikte L-arginin ve kolesterol+L-arginin gruplarının PON düzeyleri arasında anlamlı bir fark yoktu ($p=0.824$) (Şekil16).



Şekil 16. Sıçan gruplarının serum PON düzeylerinin karşılaştırılması.

PON: Paraoksonaz **Kont:** Kontrol; **Arg:** L-Arginin; **Kol:** Kolesterol; **Kol+Arg:** Kolesterol+L-Arginin

Sıçanların serum trigliserit düzeyleri, kontrol grubunda 71.00 ± 6.10 mg/dL, L-arginin grubunda 88.42 ± 14.51 mg/dl, kolesterol grubunda 88.00 ± 11.22 mg/dL ve kolesterol+L-arginin grubunda 67.89 ± 13.73 mg/dL olarak bulundu (Tablo 18).

Tablo 18. Sıçan gruplarının serum trigliserit düzeylerinin karşılaştırılması. *

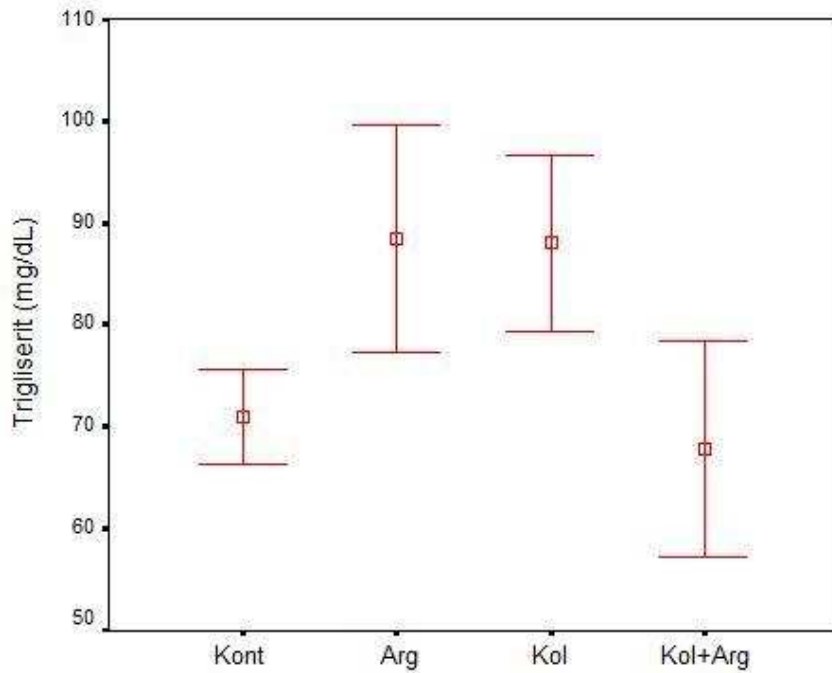
Gruplar	n	Trigliserit (mg/dL)	
		Ort.±SD	min-max
Kontrol	9	71.00 ± 6.10 †	62.00-83.00
L-Arginin	9	88.42 ± 14.51	64.00-107.00
Kolesterol	9	88.00 ± 11.22	74.00-107.00
Kolesterol+L-Arginin	9	67.89 ± 13.73 ‡	51.00-89.00

*: One-Way ANOVA

†: Kontrol grubu, post-hoc Tukey HSD yöntemine göre L-Arginin grubu ($p=0.019$), Kolesterol grubu ($p=0.023$) ile karşılaştırıldığında istatistiksel yönden anlamlı fark.

‡: Kolesterol+L-Arginin grubu post-hoc Tukey HSD yöntemine göre L-Arginin grubu ($p=0.005$) ve Kolesterol grubu ($p=0.006$) ile karşılaştırıldığında istatistiksel yönden anlamlı fark.

Kontrol grubunun serum trigliserit düzeyleri, L-arginin grubu ($p=0.019$) ve kolesterol grubundan ($p=0.023$) anlamlı olarak daha düşüktü. Ayrıca kolesterol+L-arginin grubu trigliserit düzeyleri hem L-arginin grubu ($p=0.005$) hem de kolesterol grubu ($p=0.006$) trigliserid düzeylerinden anlamlı olarak daha düşüktü. Bunun yanında kontrol grubunun trigliserit düzeyleri kolesterol+L-arginin grubunun ($p=0.944$) trigliserit düzeylerinden farklı değildi. Aynı şekilde L-arginin grubu ile kolesterol grubu arasında da trigliserit düzeyleri bakımından fark yoktu ($p=1.000$) (Şekil 17).



Şekil 17. Sıçan gruplarının serum trigliserit düzeylerinin karşılaştırılması

Kont: Kontrol; **Arg:** L-Arginin; **Kol+Arg:** Kolesterol+L-Arginin
Kol: Kolesterol;

Sıçanların serum total kolesterol düzeyleri kontrol grubunda 52.22 ± 4.26 mg/dL, L-Arginin grubunda 55.33 ± 7.02 mg/dL, kolesterol grubunda 70.22 ± 9.01 mg/dL ve kolesterol+L-arginin grubunda 53.11 ± 5.42 mg/dL olarak bulundu (Tablo 16).

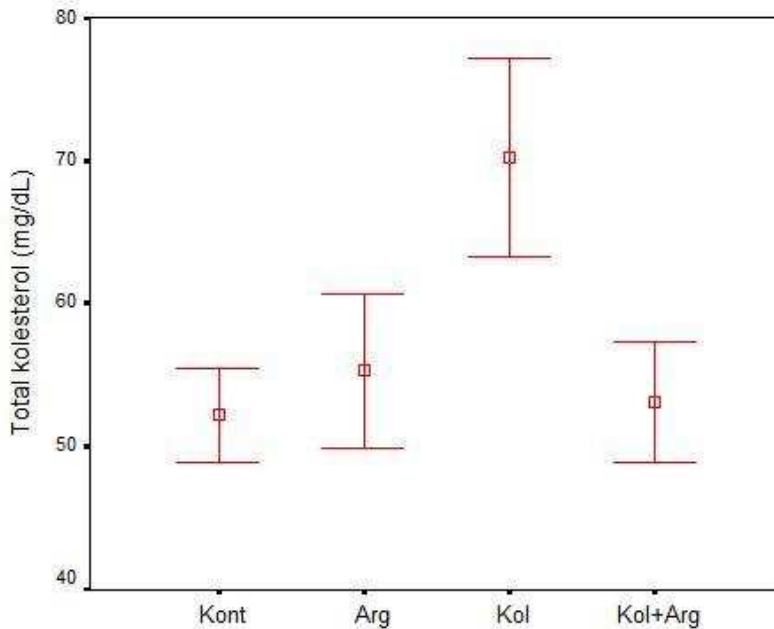
Tablo 19. Sıçan gruplarının serum total kolesterol düzeylerinin karşılaştırılması. *

Gruplar	n	Total Kolesterol (mg/dL)	
		Ort.±SD	min-max
Kontrol	9	52.22±4.26	46.00-60.00
L-Arginin	9	55.33±7.02	46.00-65.00
Kolesterol	9	70.22±9.01†	58.00-81.00
Kolesterol+L-Arginin	9	53.11±5.42	47.00-61.00

*: One-Way ANOVA

†: Kolesterol grubu, post-hoc Tukey HSD yöntemine göre Kontrol grubu L-Arginin grubu ve Kolesterol+L-Arginin grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel yönden anlamlı fark, (tümü için p=0.000)

Kolesterol grubunun serum total kolesterol düzeyleri, hem kontrol grubundan hem L-arginin grubundan hem de kolesterol+L-arginin grubundan anlamlı olarak daha yüksekti (p=0.000). Bununla beraber kontrol grubunun total kolesterol düzeyleri, L-arginin grubu (p=0.756) ve kolesterol+L-arginin grubundan (p=0.992) farklı değildi. Aynı şekilde L-arginin grubu ile kolesterol+L-arginin grubu arasında da total kolesterol düzeyleri bakımından fark yoktu (p=0.894) (Şekil 18).



Şekil 18. Sıçan gruplarının serum total kolesterol düzeylerinin karşılaştırılması

Kont: Kontrol; **Arg:** L-Arginin; **Kol:** Kolesterol; **Kol+Arg:** Kolesterol+L-Arginin

Sıçanların serum HDL kolesterol düzeyleri, kontrol grubunda 15.68 ± 1.75 mg/dL, L-arginin grubunda 16.95 ± 1.75 mg/dL, kolesterol grubunda 16.89 ± 2.22 mg/dL ve kolesterol+L-arginin grubunda 15.18 ± 0.69 mg/dL olarak bulundu (Tablo 20).

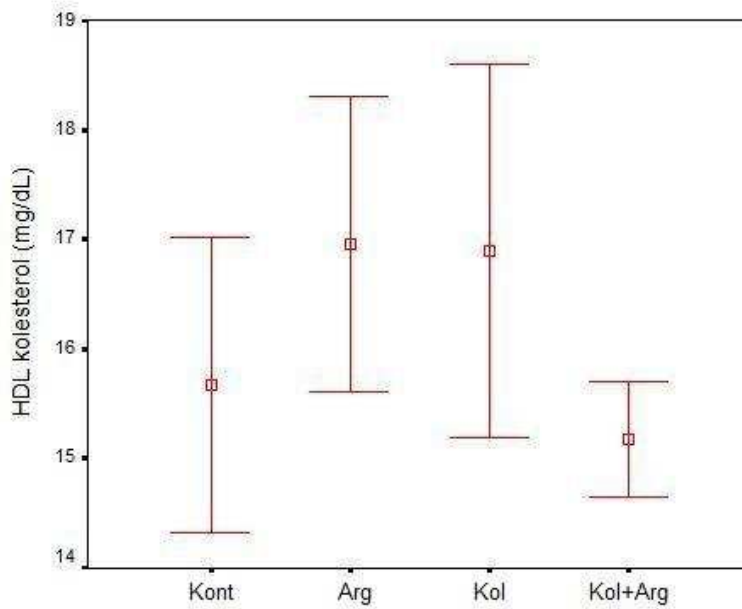
Tablo 20. Sıçan gruplarının serum HDL kolesterol düzeylerinin karşılaştırması .*

Gruplar	n	HDL Kolesterol (mg/dL)	
		Ort. \pm SD	min-max
Kontrol	9	15.68 ± 1.75	13.80-19.60
L-Arginin	9	16.95 ± 1.75	15.10-20.10
Kolesterol	9	16.89 ± 2.22	13.30-20.15
Kolesterol+L-Arginin	9	15.18 ± 0.69	14.20-16.20

Kont: Kontrol; **Arg:** L-Arginin; **Kol:** Kolesterol; **Kol+Arg:** Kolesterol+L-Arginin; **HDL:** Yüksek yoğunluklu lipoprotein

*: One-Way ANOVA

Grupların arasında HDL kolesterol düzeyleri bakımından istatistiksel olarak fark yoktu ($p > 0.05$) (Şekil19).



Şekil 19. Sıçan gruplarının serum HDL kolesterol düzeylerinin karşılaştırılması.

Kont: Kontrol; **Arg:** L-Arginin; **Kol:** Kolesterol; **Kol+Arg:** Kolesterol+L-Arginin; **HDL:** Yüksek yoğunluklu lipoprotein

Sıçanların LDL kolesterol düzeylerinin ortalaması kontrol grubunda 22.34 ± 4.17 mg/dL, L-arginin grubunda 20.69 ± 5.96 mg/dL, kolesterol grubunda 35.73 ± 9.26 mg/dL ve kolesterol+L-arginin grubunda 24.35 ± 5.45 mg/dL olarak bulundu (Tablo21).

Tablo 21. Sıçan gruplarının serum LDL kolesterol düzeylerinin karşılaştırılması. *

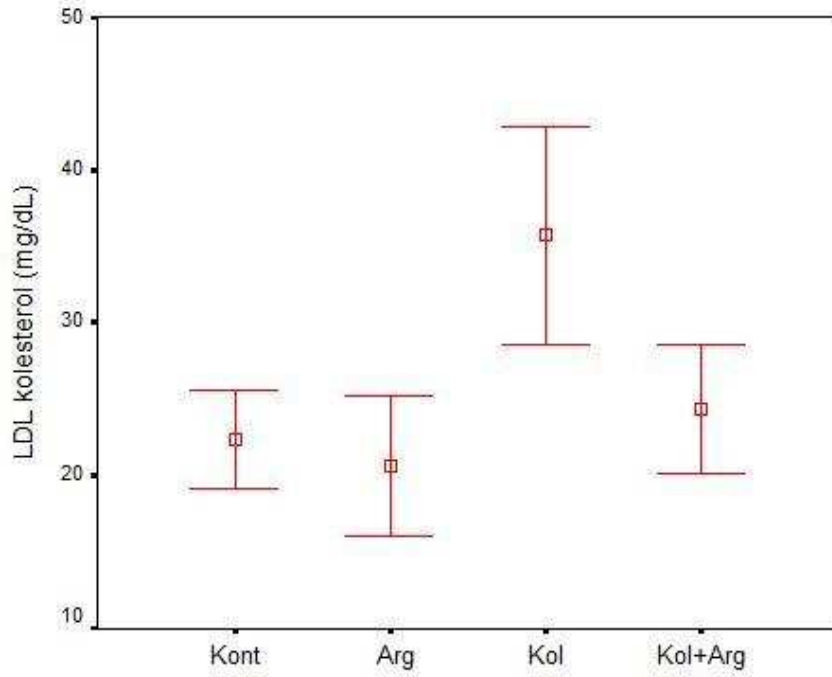
Gruplar	n	LDL Kolesterol (mg/dL)	
		Ort. \pm SD	min-max
Kontrol	9	22.34 ± 4.17	17.50-31.30
L-Arginin	9	20.69 ± 5.96	9.90-28.20
Kolesterol	9	35.73 ± 9.26 †	22.50-45.95
Kolesterol+L-Arginin	9	24.35 ± 5.45	17.10-34.10

LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein

*: One-Way ANOVA

†: Kolesterol grubu, post-hoc Tamhane's testine göre Kontrol grubu ($p=0.013$), L-Arginin grubu ($p=0.007$) ve Kolesterol+L-Arginin grubu ($p=0.043$) ile karşılaştırıldığında istatistiksel yönden anlamlı fark

Kolesterol grubunun LDL kolesterol düzeyleri, hem kontrol grubundan ($p=0.013$) hem L-arginin grubundan ($p=0.007$) hem de kolesterol+L-arginin grubundan ($p=0.043$) anlamlı olarak daha yüksekti. Bununla beraber kontrol grubunun LDL kolesterol düzeyleri, L-arginin grubu ($p=0.986$) ve kolesterol+L-arginin grubundan ($p=0.950$) farklı değildi. Aynı şekilde L-arginin grubu ile kolesterol+L-arginin grubu arasında da LDL kolesterol düzeyleri bakımından fark yoktu ($p=0.724$) (Şekil20).



Şekil 20. Sıçan gruplarının serum LDL kolesterol düzeylerinin karşılaştırılması.

Kont: Kontrol; **Arg:** L-Arginin; **Kol:** Kolesterol; **Kol+Arg:** Kolesterol+L-Arginin;
LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein

Sıçanların VLDL kolesterol düzeylerinin ortalaması kontrol grubunda 14.20 ± 1.22 mg/dL. L-arginin grubunda 17.68 ± 2.90 mg/dL. kolesterol grubunda 17.60 ± 2.24 mg/dL ve kolesterol+L-arginin grubunda 13.58 ± 2.75 mg/dL olarak bulundu (Tablo 22).

Tablo 22. Sıçan gruplarının serum VLDL kolesterol düzeylerinin karşılaştırılması. *

Gruplar	n	VLDL Kolesterol (mg/dL)	
		Ort.±SD	min-max
Kontrol	9	14.20 ± 1.22 †	12.40-16.60
L-Arginin	9	17.68 ± 2.90	12.80-21.40
Kolesterol	9	17.60 ± 2.24	14.80-21.40
Kolesterol+L-Arginin	9	13.58 ± 2.75 ‡	10.20-17.80

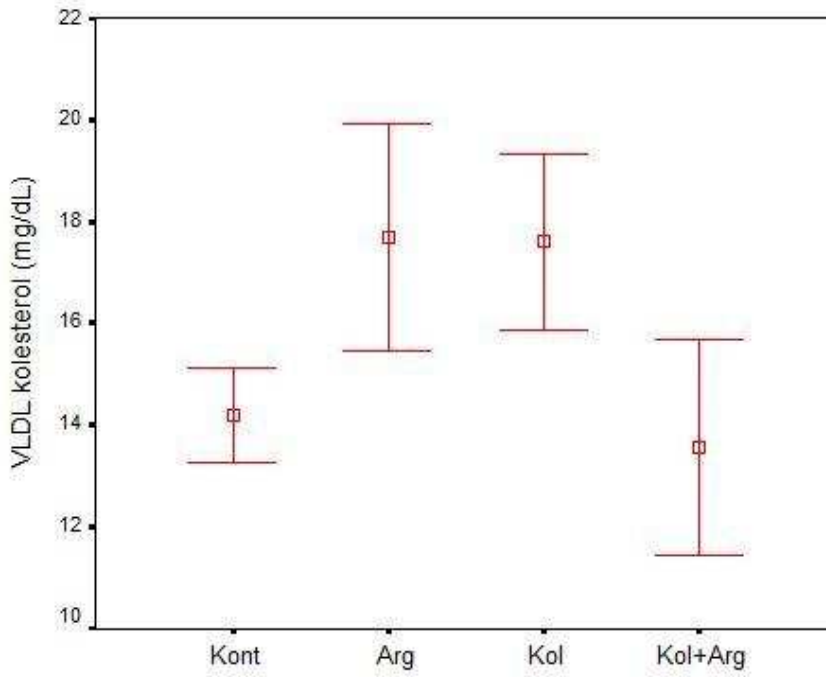
VLDL: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein

*: One-Way ANOVA

†: Kontrol grubu, post-hoc Tukey HSD yöntemine göre L-Arginin grubu ($p=0.019$), Kolesterol grubu ($p=0.023$) ile karşılaştırıldığında istatistiksel yönden anlamlı fark.

‡: Kolesterol+L-Arginin grubu post-hoc Tukey HSD yöntemine göre L-Arginin grubu ($p=0.005$) ve Kolesterol grubu ($p=0.006$) ile karşılaştırıldığında istatistiksel yönden anlamlı fark.

Kontrol grubunun VLDL kolesterol düzeyleri, L-arginin grubu ($p=0.019$) ve kolesterol grubunun ($p=0.023$) VLDL kolesterol düzeylerinden anlamlı olarak düşüktü. Aynı şekilde kolesterol+L-arginin grubunun VLDL kolesterol düzeyleri, hem L-arginin grubu ($p=0.005$) hem de kolesterol grubunun ($p=0.006$) VLDL kolesterol düzeylerinden anlamlı olarak düşüktü. Kontrol grubu ile kolesterol+L-arginin grubu ($p=0.944$) ve L-arginin grubu ile kolesterol grubu arasında ($p=1.000$) VLDL kolesterol düzeyleri bakımından fark yoktu (Şekil 21).



Şekil 21. Sıçan gruplarının serum VLDL kolesterol düzeylerinin karşılaştırılması

Kont: Kontrol; **Arg:** L-Arginin; **Kol:** Kolesterol; **Kol+Arg:** Kolesterol+L-Arginin; **VLDL:** Çok düşük yoğunluklu lipoprotein

Sıçanların MDA düzeylerinin ortalaması kontrol grubunda 3.00 ± 0.69 nanomol/ml, L-arginin grubunda 3.16 ± 0.44 nanomol/ml, kolesterol grubunda 5.06 ± 0.32 nmol/ml ve kolesterol+L-arginin grubunda 4.34 ± 0.31 nanomol/ml olarak bulundu (Tablo 23).

Tablo 23. Sıçan gruplarının serum malondialdehid düzeylerinin karşılaştırılması. *

Gruplar	n	Malondialdehid (nanomol/ml)	
		Ort.±SD	min-max
Kontrol	9	3.00±0.69†	1.85-4.30
L-Arginin	9	3.16±0.44‡	2.33-3.63
Kolesterol	9	5.06±0.32§	4.52-5.67
Kolesterol+L-Arginin	9	4.34±0.31	3.94-4.74

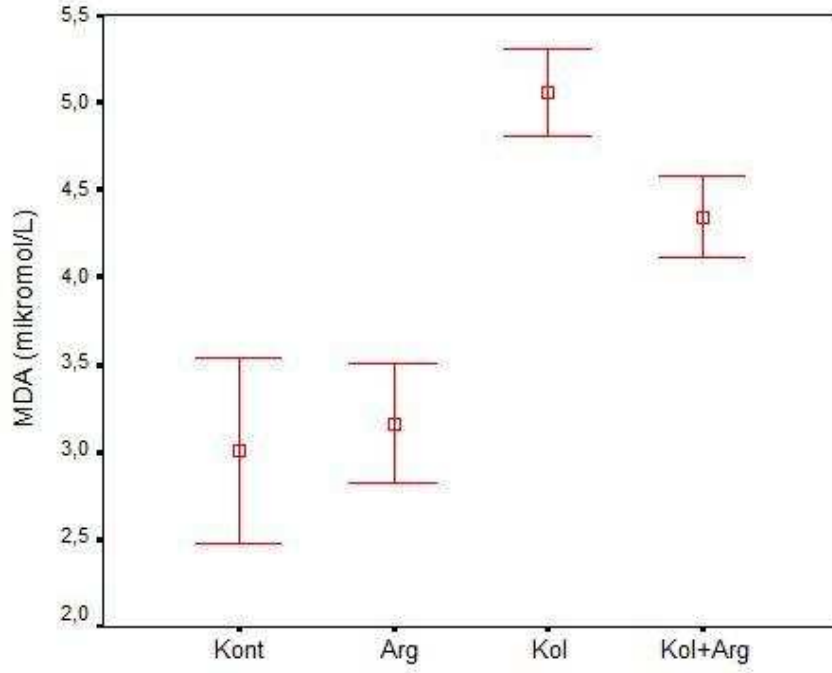
*: One-Way ANOVA

†: Kontrol grubu, post-hoc Tukey HSD yöntemine göre, Kolesterol grubu ve Kolesterol+ L-Arginin grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel yönden anlamlı fark, p=0.000

‡: L-Arginin grubu post-hoc Tukey HSD yöntemine göre Kolesterol grubu ve Kolesterol+ L-Arginin grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel yönden anlamlı fark, p=0.000

§: Kolesterol grubu post-hoc Tukey HSD yöntemine göre Kolesterol+ L-Arginin grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel yönden anlamlı fark, p=0.014

Kontrol grubunun MDA düzeyleri, kolesterol grubu ve kolesterol+L-arginin grubu MDA düzeylerinden anlamlı olarak düşüktü (her ikisi için p=0.000). Aynı şekilde L-arginin grubunun MDA düzeyleri, kolesterol grubu ve kolesterol+L-arginin grubunun MDA düzeylerinden anlamlı olarak düşüktü (her ikisi için p=0.000). Bunun yanı sıra kolesterol grubunun MDA düzeyleri kolesterol+L-arginin grubunun MDA düzeylerinden anlamlı olarak yüksekti (p=0.014). Kontrol ve L-arginin grupları arasında MDA düzeyleri bakımından anlamlı bir fark bulunamadı (p=0.892) (Şekil 22).



Şekil 22. Sıçan gruplarının serum MDA düzeylerinin karşılaştırılması.

Kont: Kontrol; **Arg:** L-Arginin; **Kol+Arg:** Kolesterol+L-Arginin;
MDA: Malondialdehid; **Kol:** Kolesterol

Sıçanların ateroskleroz indeksi kontrol grubunda 3.36 ± 0.42 , L-arginin grubunda 3.27 ± 0.29 , Kolesterol grubunda 4.19 ± 0.56 ve kolesterol+L-arginin grubunda 3.50 ± 0.31 olarak bulundu (Tablo 24).

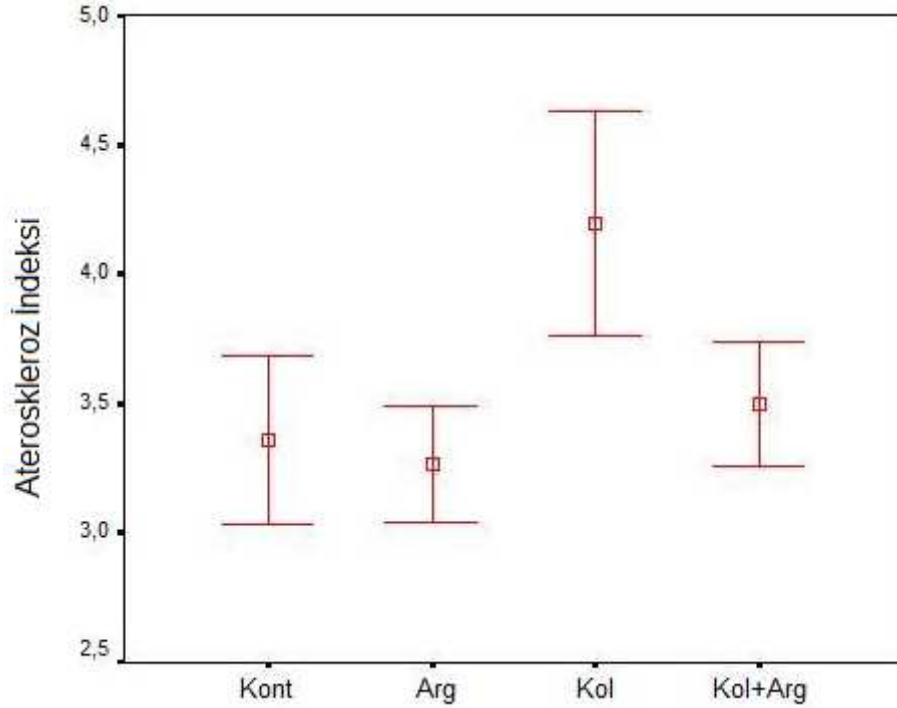
Tablo 24. Sıçan gruplarının ateroskleroz indekslerinin karşılaştırılması. *

Gruplar	n	Ateroskleroz indeksi	
		Ort.±SD	min-max
Kontrol	9	3.36 ± 0.42	2.65-4.14
L-Arginin	9	3.27 ± 0.29	2.88-3.71
Kolesterol	9	4.19 ± 0.56 †	3.41-5.26
Kolesterol+L-Arginin	9	3.50 ± 0.31	3.09-3.91

*: One-Way ANOVA

†: Kolesterol grubu, post-hoc Tukey HSD yöntemine göre, Kontrol grubu ($p=0.001$), L-Arginin grubu ($p=0.000$) ve Kolesterol+L-Arginin grubu ($p=0,006$) ile karşılaştırıldığında istatistiksel yönden anlamlı fark

Kolesterol grubunun ateroskleroz indeksi, hem kontrol ($p=0.001$) hem L-arginin ($p=0.000$) hem de kolesterol+L-arginin ($p=0.006$) gruplarının ateroskleroz indekslerinden anlamlı olarak daha yüksekti. Diğer gruplar arasında ateroskleroz indeksi bakımından anlamlı bir fark bulunamadı (tüm gruplar için $p>0.05$) (Şekil 23).



Şekil 23. Sıçan gruplarının ateroskleroz indekslerinin karşılaştırılması.

Kont: Kontrol; **Arg:** L-Arginin; **Kol:** Kolesterol; **Kol+Arg:** Kolesterol+L-Arginin

Kontrol grubunda, PON aktivitesi ile MDA düzeyleri arasında anlamlı negatif korelasyon bulundu ($r=-0.746$, $p=0.021$). L-arginin grubunda ise PON aktivitesi ile ilk ve son ağırlıkları arasında anlamlı pozitif korelasyon bulundu (sırasıyla $r=0.775$, $p=0.014$ ve $r=0.766$, $p=0.016$) (Tablo 25) .

Tablo 25. PON aktivitesinin diğer parametrelerle korelasyonu

Parametre \ Grup	Kontrol		L-arginin		Kolesterol		Kolesterol+L-arginin	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Trigliserid (mg/dL)	-0.066	0.866	-0.071	0.855	0.391	0.298	0.031	0.937
Kolesterol (mg/dL)	0.252	0.513	0.636	0.066	-0.322	0.399	0.565	0.113
HDL (mg/dL)	0.263	0.493	0.528	0.144	-0.514	0.157	0.577	0.104
LDL (mg/dL)	0.167	0.668	0.628	0.070	-0.284	0.459	0.473	0.199
VLDL (mg/dL)	-0.066	0.866	-0.071	0.855	0.391	0.298	0.031	0.937
Ateroskleroz indeksi	-0.015	0.970	0.285	0.458	0.284	0.459	0.349	0.357
MDA (nanomol/ml)	-0.746	0.021*	0.369	0.328	0.412	0.270	0.006	0.988
İlk Ağırlık (g)	-0.574	0.106	0.775	0.014*	0.138	0.723	0.399	0.288
Son Ağırlık (g)	-0.016	0.967	0.766	0.016*	-0.151	0.698	0.216	0.576

*: p<0.005 (Pearson Korelasyon Analizi)

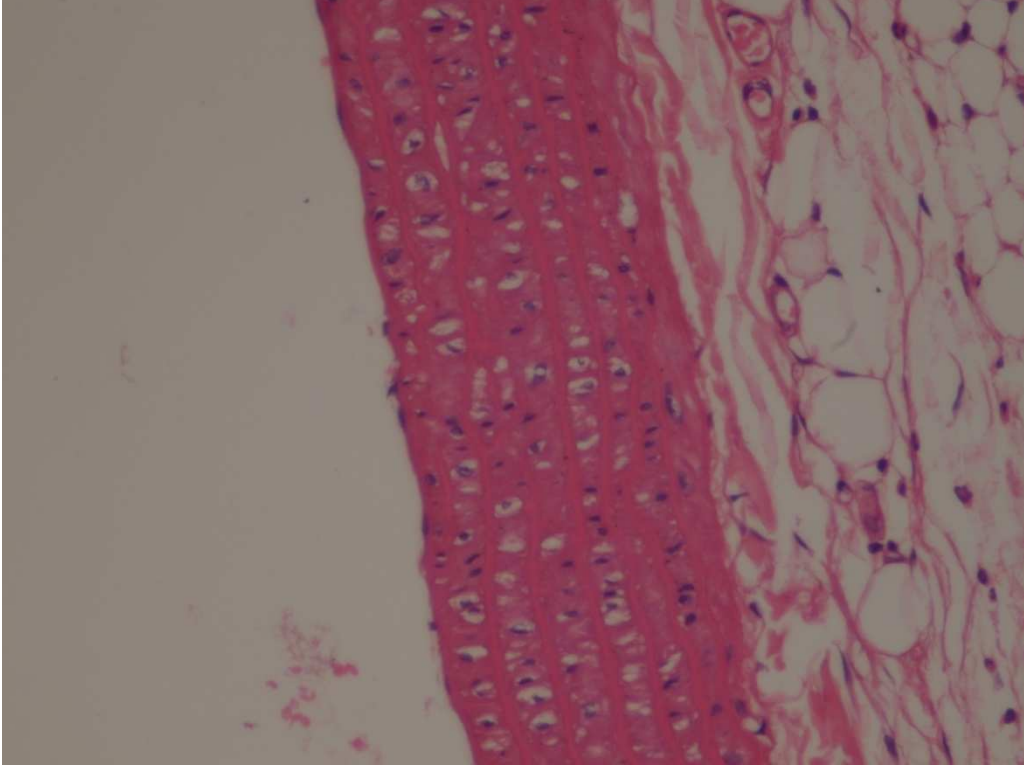
Kontrol grubunda, ateroskleroz indeksi ile HDL kolesterol arasında negatif, LDL kolesterol düzeyleri arasında ise pozitif korelasyon bulundu (sırasıyla $r=-0.745$, $p=0.021$ ve $r=0.924$, $p=0.000$). Kolesterol grubunda ise ateroskleroz indeksi ile ilk ağırlık arasında anlamlı pozitif korelasyon bulundu ($r=0.728$, $p=0.026$). Kolesterol+L-arginin grubunda ise ateroskleroz indeksi ile total kolesterol ve LDL kolesterol düzeyleri arasında anlamlı pozitif korelasyon bulundu (sırasıyla $r=0.893$, $p=0.001$ ve $r=0.740$, $p=0.023$) (Tablo 26) .

Tablo 26. Ateroskleroz indeksinin diğer parametrelerle korelasyonu

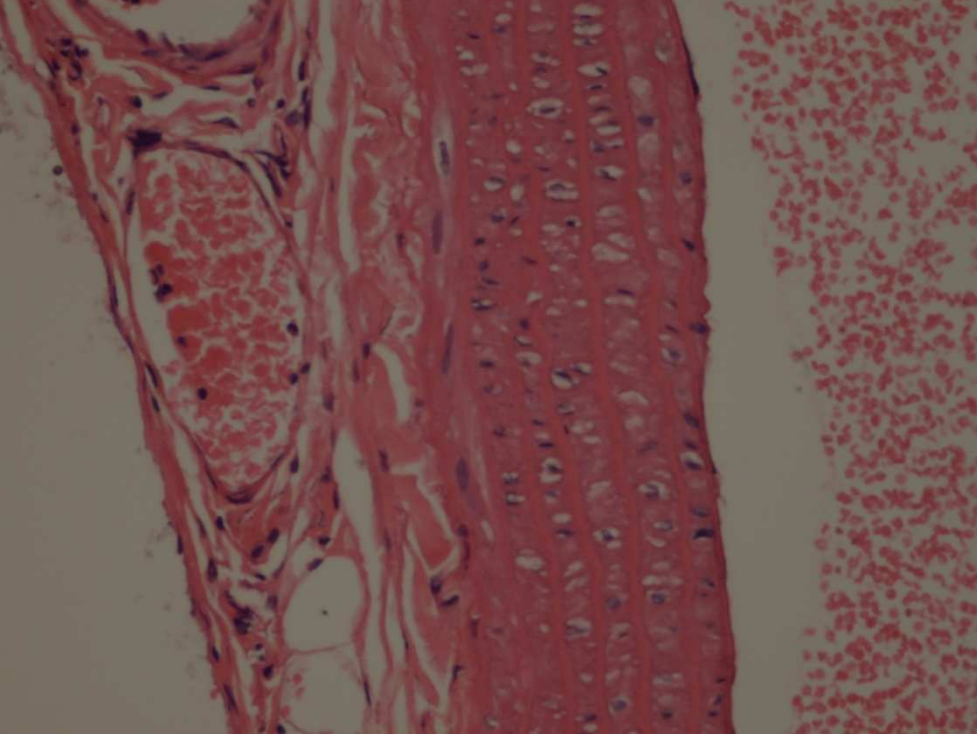
Parametre \ Grup	Kontrol		L-arginin		Kolesterol		Kolesterol+L-arginin	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Trigliserid (mg/dL)	0.005	0.990	0.267	0.488	-0.550	0.125	0.287	0.454
Kolesterol (mg/dL)	0.599	0.088	0.582	0.100	0.410	0.273	0.893	0.001*
HDL (mg/dL)	-0.745	0.021*	-0.138	0.724	-0.545	0.129	0.017	0.966
LDL (mg/dL)	0.924	0.000*	0.595	0.091	0.663	0.052	0.740	0.023*
VLDL (mg/dL)	0.005	0.990	0.267	0.488	-0.550	0.125	0.287	0.454
Ateroskleroz indeksi	-0.015	0.970	0.285	0.458	0.284	0.459	0.349	0.357
MDA (nanomol/ml)	-0.010	0.979	0.429	0.249	0.144	0.712	-0.494	0.176
İlk Ağırlık (g)	0.323	0.397	0.142	0.716	0.728	0.026*	0.092	0.813
Son Ağırlık (g)	0.264	0.493	-0.029	0.940	0.606	0.084	0.114	0.771

*: p<0.005 (Pearson Korelasyon Analizi)

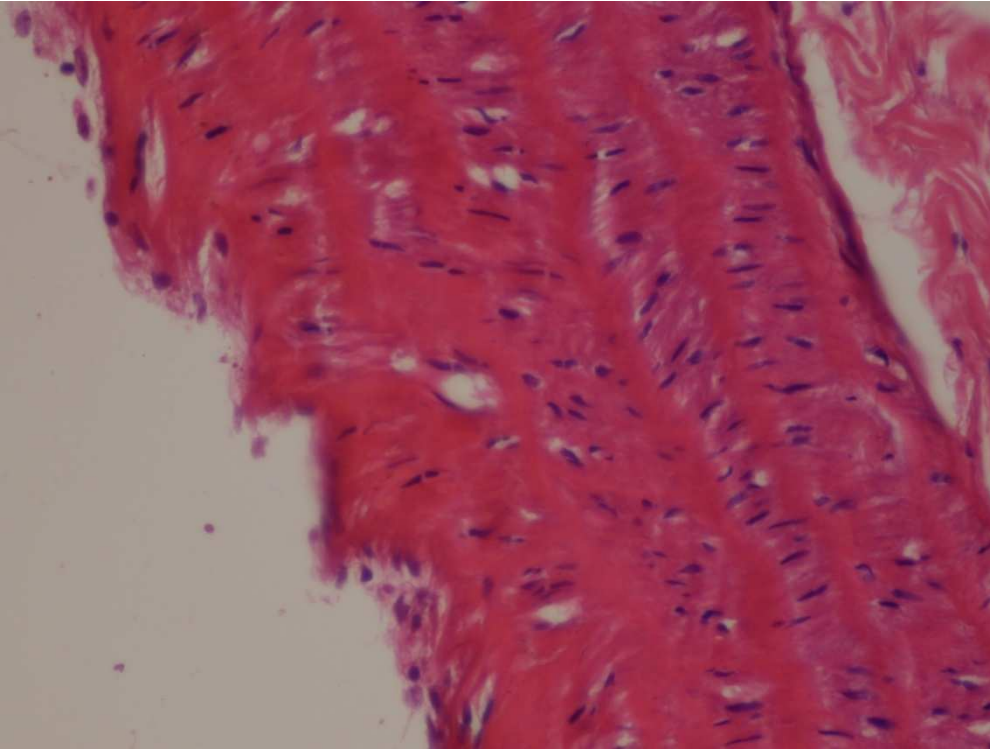
İncelenen bütün gruplarda aterosklerotik plak oluşumu izlenmedi. Buna karşın kolesterol grubunda endotelde aterosklerozun ilk bulgularından olan endotel düzensizliği ve hyalin veya mukoid dejenerasyon izlendi. Kolesterol+L-arginin grubunda kontrol grubuna yakın bulgular izlendi. Değişiklikler sadece endotel ve hemen onun altındaki subendotelyal alanda sınırlı olup kas tabakasında değişiklikler izlenmedi (Şekil 24-27).



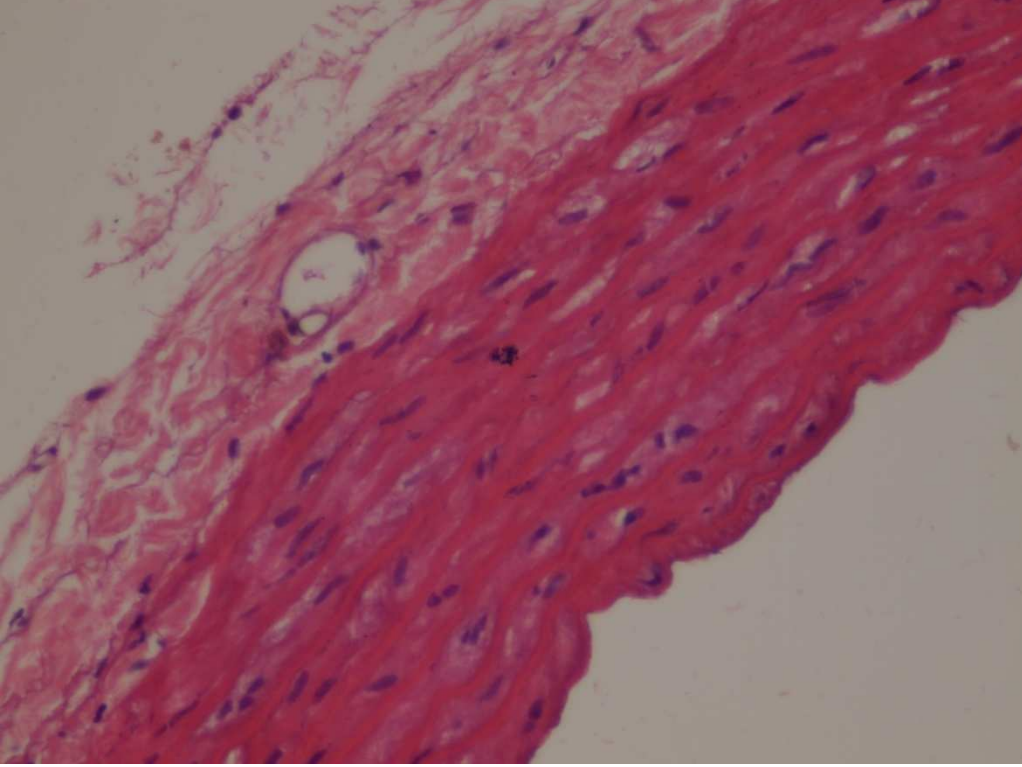
Şekil 24. Kontrol grubunda düzenli damar endoteli ve müsküler yapı (H+E, X400)



Şekil 25. L-arginin grubunda düzenli damar endoteli ve müsküler yapı (H+E, X400)



Şekil 26. Kolesterol grubunda endotelde düzensizlik, epitel altında mukoid dejenerasyon (H+E, X200)



Şekil 27. Kolesterol+L-arginin grubunda endotelde kolesterol grubuna göre daha düzenli yapı (H+E, X200).

TARTIŞMA

Ateroskleroz, özellikle sanayi ülkelerinde mortalite ve morbiditenin önde gelen nedenlerinden biridir (97). Ateroskleroz, yaşamın erken dönemlerinde arteriyel duvarda yağlı çizgilenme olarak başlayan patolojik bir süreçtir (98). Ateroskleroz, en çok koroner arter hastalığı olarak ortaya çıkmaktadır. Batı toplumlarında koroner arter hastalığı, en belirgin morbidite ve mortalite nedenidir (99) .

Yapılan araştırmalar ateroskleroz patogenezinde rol oynayan risk faktörlerini iki grupta toplamaktadır. Bunlardan ilki; aile hikayesi, cinsiyet ve yaşı kapsayan değiştirilemez risk faktörleri, ikincisi ise total kolesterol ve LDL kolesterol yüksekliği, HDL kolesterolün düşük olması, sigara kullanımı, sedanter yaşam, hipertansiyon, obezite, insülin rezistansı ve diyabet değiştirilebilir risk faktörleridir (17,100).

Aterosklerozun patogenezinde rol oynayan faktörlerden biri de oksidatif strestir. Ateroskleroz gelişiminde hem arteriyel makrofajlarda hem de lipoproteinlerde lipid peroksidasyonu gerçekleşir. Kolesterolde zengin diyetle beslenen deney hayvanlarında lipid peroksidasyon ürünlerinin düzeyinde bir artış olduğu bildirilmiştir (1,2).

LDL, aterosklerotik lezyonların meydana geldiği endotel hücrelerinde, düz kas hücrelerinde, makrofajlarda ve lenfositlerde okside olabilme özelliğine sahiptir. İlk çalışmalarda okside-LDL'nin makrofajlarda kolesterol toplanmasına neden olarak proaterojenik özellik gösterdiği bildirilmiş ve aterojenizde LDL oksidasyonun önemli bir basamak olduğu ileri sürülmüştür (101,102). Daha sonraki çalışmalarda okside-LDL'nin ateroskleroz patogenezinde rol oynayabilecek başka etkileri de saptanmıştır. Okside- LDL'nin

endotel hücrelerine sitotoksik olduğu da gösterilmiştir. Okside-LDL'nin makrofajlardan makrofaj koloni stimulan faktör (M-CSF) ve monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) serbestleşmesini stimüle ettiği ve bu maddelerin monositlerin toplanmasına neden olarak yağlı çizgi lezyonlarının oluşumunu kolaylaştırdığı tespit edilmiştir (103-105). Biyokimyasal ve immünohistokimyasal çalışmalarda LDL'nin aterosklerotik lezyonlarda okside olduğu gösterilmiştir (104).

Yüksek kolesterol diyeti uygulanmış deney hayvanlarında çeşitli dokularda oksidan-antioksidan dengesinin değiştiği ve LDL'nin oksidasyona duyarlılığının arttığı gösterilmiştir (93,106,107). Dolayısıyla kolesterol düzeylerinde meydana gelen artışa paralel olarak çeşitli kalp damar hastalıklarının seyri artmaktadır (106).

Yarı esansiyel ve bazik bir amino asit olan L-arginin, hücrede nitrik oksid sentaz aracılığı ile NO oluşumunda öncül madde olarak rol oynar (10). NO kardiyovaskular sistemde yaygın bir sinyal moleküldür ve aterosklerozun başlangıcı ve gelişimini engeller. Aynı zamanda önemli bir antioksidan olan NO, reaktif oksijen türlerinin ortadan kaldırılmasını sağlar ve LDL oksidasyonunu önler. Buna bağlı olarak da ateroskleroz gelişimini yavaşlatır (10,11,58).

Oral L-arginin ve L-sitrulin verilen hayvanlarda ateroskleroz gelişiminin yavaşladığı bildirilmiştir (108). Aynı şekilde çeşitli antioksidanların da antiaterosklerotik etki gösterdiği bildirilmiştir (109). Marchesi ve ark. (110) L-arginin'in damar sisteminde koruyucu bir etkiye sahip olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Yapılan bir çok çalışmada serum kolesterol düzeyi, diyet ve ilaç tedavisi ile düşürüldüğünde koroner arter hastalığı riskinin azaldığı ve aterosklerotik lezyonların gerilediği gösterilmiştir (111,112).

%1 kolesterol içeren diyetle 8 hafta boyunca beslenen sıçanlarda total kolesterol düzeylerinin yükseldiği bildirilmiştir (113). Yine benzer bir çalışmada hiperkolesterolemik diyet ile beslenen ratlarda total kolesterol düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (114). Kabiri ve arkadaşları da benzer şekilde yüksek kolesterol içerikli diyetle beslenen tavşanların total kolesterol düzeylerini normalden yüksek bulmuştur (115).

L-argininin deneysel olarak ateroskleroz oluşturulmuş sıçanlarda serum paraoksonaz aktivitesine etkisini incelemeyi ve ateroskleroza önlemedeki rolünü irdelemeyi amaçlayan bu çalışmada yukarıdaki çalışmalara paralel olarak biz de %3 kolesterolle beslenen sıçanların serum total kolesterol düzeylerini kontrol grubu, L- arginin grubu ve kolesterol+L-arginin gruplarından anlamlı derecede yüksek bulduk.

Yapılan çalışmalarda yüksek kolesterol diyeti ve antioksidan uygulanmış hayvanlarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Birçok çalışma kolesterol verilen hayvanlara uygulanan antioksidanın total kolesterol seviyelerini düşürdüğünü göstermektedir (113). Arginin verilisinin kolesterol düzeyini düşürdüğünü gösteren bulgumuz bu çalışmalarla paraleldir. Bunun dışında kolesterolden zengin diyetle beslenen hayvanlarda antioksidan uygulanmasının total kolesterolü değiştirmediğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (116).

Lipid peroksidasyon ürünlerinden biri olan MDA, lipoproteinlerle reaksiyona girebilme yeteneğinden dolayı oksidatif hasarın göstergesi olarak yaygın biçimde kullanılmaktadır (9). Bayır ve arkadaşlarının (113) yaptığı bir çalışmada kolesterolden zengin diyetle beslenen hayvanların MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yükseldiği bildirilmiştir. Kolesterolden zengin diyetle beslemenin deney hayvanlarında lipid peroksidasyonunu artırdiğı gösterilmiştir (93). Çalışmamızda kolesterol verilen gruplarda MDA düzeylerinin artması da bunu kanıtlamaktadır.

Kolesterolle beslenen hayvanlarda N-asetil sistein verilisinin MDA düzeylerini azalttığı gösterilmiştir (113). Bu çalışmayı destekler biçimde çalışmamızda içme suyuna %3 oranında katılan L-arginin, kolesterolle beslenen hayvanlarda serum MDA düzeylerini anlamlı olarak azalttı.

Kolesterol içerikli diyetle beslenen deney hayvanlarında LDL kolesterol düzeyinin yükseldiği gösterilmiştir (117,118). Bu çalışmalara paralel olarak bizim çalışmamızda da yüksek kolesterol diyetinin LDL kolesterol düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttırdiğı bulunmuştur.

El-Krish ve arkadaşlarının (119) yaptıkları bir çalışmada antioksidan olarak L-arginin ya da L-sitrulin verilisinin kolesterolden zengin diyetle beslenen sıçanlarda LDL kolesterol seviyelerini önemli derecede düşürdüğünü göstermişlerdir. Bu çalışmaya paralel olarak biz de kolesterolle beslenen sıçanlara L-arginin verilisi ile LDL kolesterolün anlamlı derecede düştüğünü gösterdik.

HDL dkl de koroner kalp hastalnn en önemli risk faktörlerinden biridir (3). Yapılan alımalarda HDL kolesterol düzeyinde 1 mg/dl'lik artn, koroner arter hastal riskini % 2-4 azalttn bildirmilerdir.

Yapılan çalışmalarda kolesterolle beslenme süresine bağlı olarak HDL kolesterol düzeylerinin farklılık gösterdiği bildirilmiştir. Örneğin Mahfouz ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada bir ve iki ay süresince kolesterolle beslenmenin HDL kolesterol düzeylerini deitirmedei fakat 4 ay süre ile beslenmenin HDL kolesterol düzeylerini anlamlı derecede drd bildirilmiştir (93). Sıçanlara iki ay boyunca %3 kolesterol vererek oluturduumuz ateroskleroz modelinde kontrol grubu ile diğer gruplar arasında HDL kolesterol düzeyleri bakımından fark bulamadık.

L-arginin gibi antioksidanların, yüksek kolesterol içerikli diyetle beslenen deney hayvanlarında HDL kolesterol düzeylerini anlamlı derecede yükselttiği bildirilmiştir (119). Ancak alımamızda L-arginin verilii serum HDL kolesterol düzeylerini etkilemedi. Literatürde ateroskleroz modelinde serum HDL kolesterol düzeyleri bakımından çelişkili sonuçların bulunmasında verilen kolesterolün dozu, süresi, kullanılan hayvanın ateroskleroza direnci gibi faktörler rol oynayabilir.

Total kolesterolün HDL kolesterole olan oranına ateroskleroz indeksi adı verilmektedir. Bu indeks koroner kalp hastallarıyla güçlü bir ba göstermektedir. Aterosklerozun derecelendirmesinde kullanılan bir orandır. (95,119,120). Bu indeksin kullanıldığı çalışmalarda histopatolojik olarak incelenmiş hayvanlarda gözlenen ateroskleroz gelişimine paralel olarak ateroskleroz indeksi de artmaktadır. (119,120). Yaptığımız çalışmada literatürdeki bilgilere paralel olarak kolesterol verilen grupta ateroskleroz indeksinin arttn bulduk.

Kolesterolde zengin diyetle beslenen deney hayvanlarına antioksidan veriliinin ateroskleroz indeksini sadece kolesterolle beslenen hayvanlara göre anlamlı oranda drd bildirilmiştir (119). Bu çalışmaya paralel olarak çalışmamızda kolesterol ve L-argininin birlikte verilmesinin sadece kolesterol ile beslenen hayvanlara göre ateroskleroz indeksini anlamlı derecede drdn gösterdik.

Deney hayvanlarıyla yapılan bir çok çalışma kolesterolde zengin diyetle beslenmenin trigliserid düzeylerini arttırttn göstermiştir (93,117,119). Çalışmamızda biz de kolesterolde zengin diyetle beslenmenin trigliserid düzeylerini arttırdın bulduk.

El-Kirsh ve ark. (119) kolesterolden zengin diyetle beslenen hayvanlarda L-arginin verilisinin trigliserid düzeylerini azalttığı göstermişlerdir. Bu çalışmaya paralel olarak biz de %3 kolesterolle beslenen sıçanlarda L-arginin verilmesinin serum trigliserid düzeylerini kontrol grubu değerlerine düşürdüğünü kanıtladık. Diğer yandan çalışmamızda sağlıklı sıçanlara %3 L-arginin verilmesinin serum trigliserid düzeylerinde anlamlı bir artışa yol açtığını gösterdik. Hayashi ve ark. (100) da yüksek kolesterol diyetiyle beslenen tavşanlarda arginin verilmesiyle istatistiksel olarak anlamlı olmasa bile serum trigliserid düzeylerinde bir artma eğiliminin olduğunu göstermişlerdir. Antioksidan verilmesinin serum trigliserid düzeylerine etkisi ile ilgili bu çelişkili sonuçlar hayvan cinsi, yaşı ve antioksidan dozundaki farklılıklardan kaynaklanmış olabilir.

Diğer yandan Yasuda ve ark. (121) arginin enjeksiyonundan sonra insülin sekresyonunun anlamlı olarak arttığını göstermişlerdir. İnsülin adipoz dokuda triaçilgliserol sentezini uyaran bir hormondur (122). Sağlıklı sıçanlara L-arginin verilmesi ile serum trigliserid düzeylerinde bulduğumuz artış, L-argininin insülin sekresyonunu arttırmasına bağlı trigliserid sentezindeki artıştan kaynaklanmış olabilir.

Yapılan çalışmalarda kolesterolden zengin diyetle beslenmenin VLDL kolesterol düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir (93,117,119). Biz de yaptığımız çalışma da kolesterol verilisinin VLDL kolesterol düzeylerini arttırdığını gözlemledik.

L-Arginin ya da L-sitrulinin antioksidan olarak verilmesi ile kolesterolden zengin diyetle beslenen sıçanlarda VLDL kolesterol seviyeleri önemli derecede düşürülmüştür (119). Bu çalışmaya benzer şekilde biz de kolesterolle beslenen sıçanlara L-arginin verilmesi ile VLDL kolesterolün anlamlı derecede düştüğünü gösterdik. Diğer yandan çalışmamızda sağlıklı sıçanlara %3 L-arginin verilmesinin aynen trigliserid düzeylerinde oldu gibi serum VLDL kolesterol düzeylerinde de anlamlı bir artışa yol açtığını gösterdik.

Serum PON1 ve ARE aktivitelerinde azalma, koroner arter hastalığı için risk olarak görülmektedir. HDL ve HDL ile ilişkili PON1'in, LDL oksidasyonunu engelleyerek kardiyoprotektif etki gösterdiği bilinmektedir. LDL oksidasyonunun konjuge dien, peroksid ve aldehit oluşum safhaları PON1 enzimi ile önlenir. PON1, MM-LDL'deki lipitleri yıkar ve böylece arter duvarında yer alan hücrelerde inflamatuvar yanıtı baskılayarak koruyucu etki gösterir. PON1'in, LDL oksidasyonu üzerindeki protektif etkilerinin, HDL'ye göre daha etkin olduğu tespit edilmiştir (89).

Heterozigot ailesel hiperkolesterolemili ve tip1 DM'lu olguların yanısıra, balık gözü (123) ve Tangier hastalığında (124) çok düşük, hatta saptanamayacak düzeyde PON1 aktivitesi saptanmıştır. Bu hastalıklarda ateroskleroza yatkınlık da vardır. McElveen ve ark. (125) yaptıkları bir vaka kontrol çalışmasında akut miyokard infarktüsli hastalarda serum PON1 aktivitesinin sağlıklı kontrol grubuna göre önemli derecede düşük olduğunu saptamışlardır. Mackness ve ark. (126) koroner arter hastalığı (+) olgularda, PON1 düzeyinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu bildirmişlerdir. Watson ve ark. (127) PON1'in, MM-LDL oluşumunda rol oynayan monosit endotelial hücre etkileşimi ile alakalı proinflamatuvar olayları azalttığını göstermişlerdir. Aviram ve ark (89) PON1 aktivitesi ile HDL oksidasyonu arasında negatif yönde bir ilişki olduğunu göstermişlerdir. Deneysel verilere göre PON1, koroner arter hastalığı riskini aterosklerotik lezyon ilerlemesinde gerekli proinflamatuvar molekülleri yıkarak azaltır. Akut faz reaksiyonu sırasında da PON1 aktivitesinde belirgin kayıp ile birlikte HDL'nin koruyucu fonksiyonunda yetersizlik izlenmiştir (89).

Kolesterol ile beslenen hayvanlarda PON1 aktivitesinde azalmanın meydana geldiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (128,129). PON1 ekspresyonunun oksidatif stresle baskılandığı da gösterilmiştir (71).

Çalışmamızda %3 kolesterol ile 2 ay süresince beslenen sıçanlarda endotelde düzensizlik ve epitelyum altında mukoid dejenerasyon gözlenmiş ancak plak oluşumu görülmemiştir. Aterosklerozun ilk evresi olarak kabul edilen bu evrede çalışmamız PON1 aktivitesinde bir artışın bulunduğunu göstermiştir. Çalışmamız, kolesterolden zengin diyetle beslenen domuzlarda PON1 aktivitesinde anlamlı bir artış olduğunu ancak PON1 ekspresyonunun değişmediğini gösteren Keyzer ve ark. (130) nın çalışmasına paraleldir. Thomas-Moya ve ark. (131) da yağlı diyetle beslenen erkek sıçanlarda PON1 aktivitesinin değişmediğini göstermişlerdir. Aterosklerozun ilk evresinde PON1 aktivitesinde bulduğumuz artış, kolesterolden zengin diyetle beslenen hayvanlarda dereceli olarak artan oksidatif strese karşı organizmanın bir yanıtı ya da savunma mekanizması olabilir.

Antioksidan verilişi ile serum PON1 aktivitesinin arttığını bildiren çalışmalar mevcuttur (132,133). Bu çalışmalara paralel olarak biz de L-arginin verilişinin PON1 aktivitesinde anlamlı bir artışa yol açtığını gösterdik. Bununla birlikte antioksidan verilişinin PON1 aktivitesini veya ekspresyonunu etkilemediğini ileri süren çalışmalar da mevcuttur (128,129).

Çalışmamız, iki ay süresince %3 kolesterol içeren diyetle beslenen sıçanlarda serum trigliserid, total kolesterol, LDL kolesterol, VLDL kolesterol, MDA ve PON1 düzeylerinde ve ateroskleroz indeksinde bir artış olduğunu, ancak HDL düzeylerinin değişmediğini gösterdi.

Kolesterol verilişi ile PON1 aktivitesinin uyarılması, kolesterol ile beslenen hayvanlarda dereceli olarak artan oksidatif strese karşı organizmanın yanıtı ya da savunma mekanizması olarak değerlendirildi.

Diğer yandan çalışmamız %3 kolesterol içeren diyetle beslenen sıçanlara 2 ay süresince %3 L-arginin içeren çeşme suyu verilmesinin serum trigliserid, total kolesterol, LDL kolesterol, VLDL kolesterol ve ateroskleroz indeksindeki artışı önlediğini ancak HDL kolesterol ve PON1 düzeylerini değiştirmedeğini gösterdi. Bu bulgular L-argininin aterosklerozlu bireylerde antioksidan olarak faydalı olabileceğini göstermektedir.

Çalışmamız ayrıca sağlıklı sıçanlara %3 L-arginin içeren çeşme suyu verilmesinin serum trigliserid, VLDL kolesterol ve PON1 düzeylerinde artışa neden olduğunu gösterdi.

Sağlıklı sıçanlarda L-argininin PON1 aktivitesinde artışa yol açtığını gösteren bulgumuz, sağlıklı bireylerde aterosklerozun önlenmesi için L-argininin antioksidan olarak faydalı olabileceğine işaret etmektedir. Bununla birlikte sağlıklı sıçanlarda L-argininin serum trigliserid ve VLDL kolesterol düzeylerinde artışa yol açabilmesi L-argininin sağlıklı bireylerde antioksidan olarak kullanılmasını sınırlayabilir. Değişik L-arginin dozları ile yapılacak yeni çalışmaların bu konuyu daha iyi aydınlatacağını düşünüyoruz.

SONUÇLAR

Bu çalışmada, L-argininin, deneysel olarak ateroskleroz oluşturulmuş sıçanlarda paraoksonaz aktivitesine etkisinin araştırılması amaçlanmış olup, içme suyunda %3 oranında L-arginin uygulamasının paraoksonaz enzim aktivitesine, total kolesterol, trigliserit, LDL kolesterol, VLDL kolesterol, HDL kolesterol ve lipit peroksidasyonunun göstergesi olarak malondialdehid düzeylerine etkisi incelenmiştir. Wistar albino cinsi erkek ratlarla yaptığımız bu çalışmada;

1. Kontrol grubunda damar endoteli ve muskuler yapının düzenli olduğu, altında mukoid dejenerasyon bulunmadığı;
2. L-arginin grubunda damar endoteli ve muskuler yapının düzenli olduğu, altında mukoid dejenerasyon bulunmadığı;
3. Kolesterol grubunda endotelde düzensizlik, epitel altında mukoid dejenerasyon bulunduğu;
4. Kolesterol+L-arginin grubunda damar iç yüzünde endotelin kontrol ve L-arginin gruplarına göre düzensiz fakat kolesterol grubuna göre daha düzenli yapıda olduğu;
5. L-arginin grubunun PON1 düzeylerinin, kontrol grubunun PON1 düzeylerinden düzeylerinden anlamlı olarak yüksek olduğu;
6. Kolesterol grubunun PON1 düzeylerinin, kontrol grubunun PON1 düzeylerinden düzeylerinden anlamlı olarak yüksek olduğu;
7. Kolesterol+L-Arginin grubunun PON1 düzeylerinin, Kontrol grubunun PON1 düzeylerinden düzeylerinden anlamlı olarak yüksek olduğu;

8. Kolesterol grubunun PON1 düzeylerinin, L-arginin grubunun PON1 düzeylerinden anlamlı olarak yüksek olduğu;
9. Kolesterol grubunun PON1 düzeylerinin, kolesterol+L-arginin grubunun PON1 düzeylerinden anlamlı olarak yüksek olduğu;
10. L-arginin grubu ile kolesterol+L-arginin gruplarının PON1 düzeyleri arasında anlamlı bir fark olmadığı;
11. L-arginin grubunun trigliserit düzeylerinin, kontrol grubunun trigliserit düzeylerinden düzeylerinden anlamlı olarak yüksek olduğu;
12. Kolesterol grubunun trigliserit düzeylerinin, kontrol grubunun trigliserit düzeylerinden düzeylerinden anlamlı olarak yüksek olduğu;
13. Kolesterol+L-arginin grubunun trigliserit düzeylerinin, kontrol grubunun trigliserit düzeyleri arasında anlamlı bir fark olmadığı;
14. Kolesterol grubunun trigliserit düzeyleri ile L-arginin grubunun trigliserit düzeyleri arasında anlamlı bir fark olmadığı;
15. Kolesterol grubunun trigliserit düzeylerinin, kolesterol+L-arginin grubunun trigliserit düzeylerinden anlamlı olarak yüksek olduğu;
16. L-Arginin grubunun trigliserit düzeylerinin, kolesterol+L-arginin grubunun trigliserit düzeylerinden anlamlı olarak yüksek olduğu;
17. L-arginin grubunun total kolesterol düzeyleri ile kontrol grubunun total kolesterol düzeyleri arasında anlamlı bir fark olmadığı;
18. Kolesterol grubunun total kolesterol düzeylerinin, kontrol grubunun total kolesterol düzeylerinden anlamlı olarak yüksek olduğu;
19. Kolesterol+L-arginin grubunun total kolesterol düzeyleri ile kontrol grubunun total kolesterol düzeyleri arasında anlamlı bir fark olmadığı;
20. Kolesterol grubunun total kolesterol düzeylerinin, L-arginin grubunun total kolesterol düzeylerinden anlamlı olarak yüksek olduğu;
21. Kolesterol grubunun total kolesterol düzeylerinin, kolesterol+L-arginin grubunun total kolesterol düzeylerinden anlamlı olarak yüksek olduğu;
22. L-arginin grubunun total kolesterol düzeyleri ile kolesterol+L-arginin grubunun total kolesterol düzeyleri arasında anlamlı bir fark olmadığı;
23. Grupların arasında HDL kolesterol düzeyleri bakımından anlamlı bir fark olmadığı;
24. L-Arginin grubunun LDL kolesterol düzeyleri ile kontrol grubunun LDL kolesterol düzeyleri arasında anlamlı bir fark olmadığı;

25. Kolesterol grubunun LDL kolesterol düzeylerinin, kontrol grubunun LDL kolesterol düzeylerinden anlamlı olarak yüksek olduğu;
26. Kolesterol+L-arginin grubunun LDL kolesterol düzeyleri ile kontrol grubunun LDL kolesterol düzeyleri arasında anlamlı bir fark olmadığı;
27. Kolesterol grubunun LDL kolesterol düzeylerinin, L-arginin grubunun LDL kolesterol düzeylerinden anlamlı olarak yüksek olduğu;
28. Kolesterol grubunun LDL kolesterol düzeylerinin, kolesterol+ L-arginin grubunun LDL kolesterol düzeylerinden anlamlı olarak yüksek olduğu;
29. L-arginin grubunun LDL kolesterol düzeyleri ile kolesterol+L-arginin grubunun LDL kolesterol düzeyleri arasında anlamlı bir fark olmadığı;
30. L-arginin grubunun VLDL düzeylerinin, kontrol grubunun VLDL düzeylerinden düzeylerinden anlamlı olarak yüksek olduğu;
31. Kolesterol grubunun VLDL düzeylerinin, kontrol grubunun VLDL düzeylerinden düzeylerinden anlamlı olarak yüksek olduğu;
32. Kolesterol+L-arginin grubunun VLDL düzeylerinin, kontrol grubunun VLDL düzeyleri arasında anlamlı bir fark olmadığı;
33. Kolesterol grubunun VLDL düzeyleri ile L-arginin grubunun VLDL düzeyleri arasında anlamlı bir fark olmadığı;
34. Kolesterol grubunun VLDL düzeylerinin, kolesterol+L-arginin grubunun VLDL düzeylerinden anlamlı olarak yüksek olduğu;
35. L-arginin grubunun VLDL düzeylerinin, kolesterol+L-arginin grubunun VLDL düzeylerinden anlamlı olarak yüksek olduğu;
36. L-arginin grubunun MDA düzeyleri ile kontrol grubunun MDA düzeyleri arasında anlamlı bir fark olmadığı;
37. Kolesterol grubunun MDA düzeylerinin, kontrol grubunun MDA düzeylerinden düzeylerinden anlamlı olarak yüksek olduğu;
38. Kolesterol+L-arginin grubunun MDA düzeylerinin, kontrol grubunun MDA düzeylerinden düzeylerinden anlamlı olarak yüksek olduğu;
39. Kolesterol grubunun MDA düzeylerinin, L-arginin grubunun MDA düzeylerinden düzeylerinden anlamlı olarak yüksek olduğu;
40. Kolesterol grubunun MDA düzeylerinin, kolesterol+L-arginin grubunun MDA düzeylerinden düzeylerinden anlamlı olarak yüksek olduğu;

41. L-arginin grubunun MDA düzeylerinin, kolesterol+L-arginin grubunun MDA düzeylerinden anlamlı olarak düşük olduğu;
42. L-arginin grubunun ateroskleroz indeksi ile kontrol grubunun ateroskleroz indeksi arasında anlamlı bir fark olmadığı;
43. Kolesterol grubunun ateroskleroz indeksinin, kontrol grubunun ateroskleroz indeksinden anlamlı olarak yüksek olduğu;
44. Kolesterol+L-arginin grubunun ateroskleroz indeksi ile kontrol grubunun ateroskleroz indeksi arasında anlamlı bir fark olmadığı;
45. Kolesterol grubunun ateroskleroz indeksinin, L-arginin grubunun ateroskleroz indeksinden anlamlı olarak yüksek olduğu;
46. Kolesterol grubunun ateroskleroz indeksinin, kolesterol+L-arginin grubunun ateroskleroz indeksinden anlamlı olarak yüksek olduğu;
47. L-Arginin grubunun ateroskleroz indeksi ile kolesterol+L-arginin grubunun ateroskleroz indeksi arasında anlamlı bir fark olmadığı;
48. Kontrol grubunda PON1 aktivitesi ile MDA düzeyleri arasında anlamlı negatif korelasyon olduğu;
49. L-arginin grubunda PON1 aktivitesi ile ilk ve son ağırlıkları arasında anlamlı pozitif korelasyon olduğu;
50. Kontrol grubunda ateroskleroz indeksi ile HDL kolesterol arasında negatif korelasyon olduğu;
51. Kontrol grubunda ateroskleroz indeksi ile LDL kolesterol düzeyleri arasında pozitif korelasyon olduğu;
52. Kolesterol grubunda ateroskleroz indeksi ile ilk ağırlık arasında anlamlı pozitif korelasyon olduğu;
53. Kolesterol+L-arginin grubunda ateroskleroz indeksi ile total kolesterol arasında anlamlı pozitif korelasyon olduğu;
54. Kolesterol+L-arginin grubunda ateroskleroz indeksi ile LDL kolesterol düzeyleri arasında anlamlı pozitif korelasyon olduğu bulundu.

ÖZET

Düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oksidasyonunun aterosklerozda erken bir olay olduğu bilinmektedir. Deneysel çalışmalar yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) ile ilişkili kalsiyuma bağlı bir ester hidrolaz olan paraoksonaz-1 (PON-1)'in LDL oksidasyonunu inhibe eden antioksidan bir enzim olarak fonksiyon yaptığını göstermiştir.

Yarı esansiyel bir amino asit olan L-arginin, nitrik oksit sentezi için bir substrattır. Hem L-argininin hem de nitrik oksidin oksijen kaynaklı serbest radikallerce uyarılan hücre hasarına karşı koruyucu etkilere sahip olduğu bildirilmiştir.

Bu çalışmanın amacı, L-argininin, ateroskleroz oluşturulmuş sıçanlarda paraoksonaz aktivitesine etkisini incelemek ve aterosklerozu önlemedeki rolünü irdelemektir.

Bu çalışmada 36 adet Wistar albino erkek rat eşit olarak dört gruba ayrıldı: Kontrol grubu; Hayvanlara iki ay süresince normal diyet ve içme suyu verildi. L-arginin grubu; Hayvanlara iki ay süresince normal diyet ve %3 oranında L-arginin içeren içme suyu verildi. Kolesterol grubu; Hayvanlara iki ay süresince normal içme suyu ve %3 oranında kolesterol içeren diyet verildi. Kolesterol+L-arginin grubu: Hayvanlara iki ay süresince %3 kolesterol içeren diyet ve %3 L-arginin içeren içme suyu verildi.

Tüm gruplardan ikinci ayın sonunda anestezi altında kardiyak kan örnekleri alındı. Tüm hayvanlar, kardiyak kanlarının alınmasını takiben sakrifiye edildi ve aort dokuları çıkartıldı. Serum paraoksonaz, trigliserit, total kolesterol ve yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol düzeyleri otoanalizörde ticari kitler kullanılarak ölçüldü. Serum düşük dansiteli

lipoprotein ve çok düşük dansiteli lipoprotein düzeyleri Friedewald formülü ile hesaplandı. Malondialdehid düzeyleri Ohkawa metodu ile saptandı. Ateroskleroz varlığı histopatolojik değişiklikler ile kanıtlandı.

Çalışmamızda, iki ay süresince %3 kolesterol içeren diyetle beslenen sıçanlarda serum trigliserid, total kolesterol, LDL kolesterol, VLDL kolesterol, MDA ve PON1 düzeylerinde ve ateroskleroz indeksinde bir artışın olduğu, ancak HDL düzeylerinin değişmediği görüldü.

Kolesterol verilişi ile PON1 aktivitesinin uyarılması, kolesterol ile beslenen hayvanlarda dereceli olarak artan oksidatif strese karşı organizmanın bir yanıtı ya da savunma mekanizması olabilir. Çalışmamızda %3 kolesterol içeren diyetle beslenen sıçanlara 2 ay süresince %3 L-arginin içeren çeşme suyu verilmesi serum trigliserid, total kolesterol, LDL kolesterol, VLDL kolesterol ve ateroskleroz indeksindeki artışı önledi ancak HDL kolesterol ve PON1 düzeylerini değiştirmede. Bu bulgular L-argininin aterosklerozlu bireylerde antioksidan olarak faydalı olabileceğini göstermektedir.

Diğer yandan sağlıklı sıçanlara %3 L-arginin içeren çeşme suyu verilmesinin serum trigliserid, VLDL kolesterol ve PON1 düzeylerinde artışa neden olduğu görüldü. Sağlıklı sıçanlarda L-argininin PON1 aktivitesinde artışa yol açtığını gösteren bulgumuz, sağlıklı bireylerde aterosklerozun önlenmesi için L-argininin antioksidan olarak faydalı olabileceğine işaret etmektedir. Bununla birlikte sağlıklı sıçanlarda L-argininin serum trigliserid ve VLDL kolesterol düzeylerinde artışa yol açabilmesi L-argininin sağlıklı bireylerde antioksidan olarak kullanılmasını sınırlayabilir. Değişik L-arginin dozları ile yapılacak yeni çalışmalar bu konuyu daha iyi aydınlatacaktır.

THE EFFECT OF L-ARGININE ON PARAOXONASE ACTIVITY IN EXPERIMENTAL ATHEROSCLEROSIS IN RATS

SUMMARY

It is known that low-density lipoprotein (LDL) oxidation is an early event in atherosclerosis. Experimental evidences have shown that paraoxonase-1 (PON1), a calcium dependent ester hydrolase tightly associated with high-density lipoprotein (HDL), functions as an antioxidative enzyme that inhibits the oxidation of LDL.

L-Arginine, a semiessential amino acid, is the substrate for the synthesis of nitric oxide. It has been reported that both L-arginine and nitric oxide has protective effects against oxygen-derived free radical-induced cell injury.

The purpose of this study is to investigate the effect of L-arginine on paraoxonase activity in experimental atherosclerosis in rats and to evaluate its role in the prevention of atherosclerosis. Thirty six adult male albino rats of Wistar strain divided into 4 groups for the experiment. Control group; the animals were fed with a normal diet and drinking water during two months, L-arginine group; the animals were fed with a normal diet and drinking water containing %3 L-arginine during two months, cholesterol group; the animals were fed with a diet containing %3 cholesterol and drinking water during two months, cholesterol+L-arginine group; the animals were fed with a diet containing %3 cholesterol and drinking water containing %3 L-arginine during two months.

Intracardiac blood samples were taken at the end of the second month under anesthesia in all groups. All animals were sacrificed after receiving their cardiac blood and then aortic tissues were removed. Serum paraoxonase, triglyceride, total cholesterol and HDL cholesterol levels were measured by autoanalyser using commercial kits. LDL cholesterol and VLDL cholesterol levels were calculated by using Friedewald formula. MDA levels were determined by the method of Ohkawa. Atherosclerosis was confirmed by histopathologic changes.

We found that, in rats which were fed with diet containing %3 cholesterol during two months, serum triglyceride, total cholesterol, LDL cholesterol, VLDL cholesterol, MDA and PON1 levels and the atherosclerosis index are increased but HDL levels are not changed.

Stimulation of PON1 activity with the administration of cholesterol, may be a response or a defense mechanism of the organism against to the gradually increasing oxidative stress in cholesterol fed animals.

Adminstration of %3 L-arginine to the rats fed with diet containing %3 cholesterol durig two months, prevented an increase in serum triglyceride, total cholesterol, LDL cholesterol and VLDL cholesterol levels and the atherosclerosis index but did not change HDL cholesterol and PON1 levels. These findings indicate that L-arginine may be useful as an antioxidant in atherosclerotic people.

On the other hand, we found that adminstration of tap water containing %3 L-arginine to the healthy rats caused an increase in serum triglyceride, VLDL cholesterol and PON1 levels. Our finding, indicating that L-arginine leads to an increase in PON1 activity points out that L-arginine may be useful as an antioxidant in the prevention of atherosclerosis in healthy people. However, in our study, L-arginine caused an increase in serum triglyceride and VLDL cholesterol levels in healthy rats, this may restricted the use of L-arginine as an antioxidant in healthy people. Further studies on different L-arginine doses will be required to clarify the effect of L-arginine on serum triglyceride and VLDL cholesterol levels in healthy people.

KAYNAKLAR

1. Mestas J, Ley K. Monocyte-endothelial cell interactions in the development of atherosclerosis. *Trends Cardiovasc Med* 2008;18(6):228-32.
2. McCord JM. Free radicals and heart disease. *Bibl Nutr Dieta* 1989;(43):327-37.
3. Miller GJ, Miller NE. Plasma high-density lipoprotein concentration and the development of ischaemic heart disease. *Lancet* 1975; 1:16-9.
4. Stocker R, Keaney JF Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev* 2004;84(4):1381-478.
5. Cochrane CG. Cellular injury by oxidants. *Am J Med* 1991;91(3C):23S-30S.
6. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995;41:1819-28.
7. Mackness MI, Durrington PN. HDL, its enzymes and its potential to influence lipid peroxidation. *Atherosclerosis* 1995;115(2):243-53.
8. Loscalzo J. Arginine Metabolism: Enzymology, Nutrition, and Clinical Significance. *American Society for Nutritional Sciences* 2004;134:2798S-800S.
9. Draper HH, Hadley M. A review of recent studies on the metabolism of exogenous and endogenous malondialdehyde. *Xenobiotica* 1990;20(9):901-7.
10. Suessenbacher A, Lass A, Mayer B, Brunner F. Antioxidative and myocardial protective effects of L-arginine in oxygen radical-induced injury of isolated perfused rat hearts. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2002;365(4):269-76.
11. Wink DA, Hanbaer I, Krishna MC, DeGraff W, Gamson J, Mitchell JB. Nitric oxide protects against cellular damage and cytotoxicity from reactive oxygen species. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90(21):9813-7.
12. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005;352(16):1685-95.

13. Burns DK, Kumar V. The Heart. In: Kumar v, Cotran RS, Robbins SL. Robbins Basic Pathology. 7th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2003.329-38.
14. Gögen S. Kalp ve Damar Hastalıklarıyla Mücadelede Avrupa Birliği ve Türkiye'nin Kalp Sağlığı Politikaları.
<http://www.tkd.org.tr/SunuMerkezi/?s=5C365B5957232C575F>.
15. Türk Kardiyoloji Derneği. Kardiyovasküler hastalıktan korunma: hedefler ve öncelik belirleme, örgütlenme ve strateji.
http://www.tkd-online.org/UKSP/UKSP_Bolum04.pdf.
16. Onat A, Keleş İ, Çetinkaya A, Başar Ö, Yıldırım B, Erer B ve ark. On yıllık TEKHARF çalışması verilerine göre Türk erişkinlerinde koroner kökenli ölüm ve olayların prevalansı yüksek. Türk Kardiyol Dern Arş 2001;29:8-19.
17. Sonel A. Kardiyoloji. 4. Baskı. İstanbul: Pelikan Tıp Teknik Yayıncılık 2002:498-524.
18. Falk E, Fuster V. Atherogenesis and its Determinants. In: Fuster V, Alexander RW, O'Rourke RA (Eds.) Hurst's The Heart. 10th ed. USA: International Edition McGraw-Hill Medical Publishing Division; 2001; ch 35, 1065-93.
19. Hansson G, Nilsson J. Pathogenesis of atherosclerosis. In: Crawford MH, DiMarco JP, Paulus WJ (Eds.) Cardiology 1st ed. USA: Elsevier Science Limited; 2001. p. 111-2.
20. Davies MJ. Pathology of Coronary Atherosclerosis. In: Fuster V, Alexander RW, O'Rourke RA (Eds.) Hurst's The Heart. 10th ed. USA: International Edition McGraw-Hill Medical Publishing Division; 2001; ch 36, 1095-105.
21. Kovanen PT, Pentikainen MO. Decorin links low-density lipoproteins (LDL) to collagen: a novel mechanism for retention of LDL in the atherosclerotic plaque. Trends Cardiovasc Med 1999;9(3-4):86-91.
22. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W Jr, Rosenfeld ME, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association Arterioscler Thromb Vasc Biol 1995;15(9):1512-31.
23. Stein EA, Myers GL. Lipids, lipoproteins and apolipoproteins. In: Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Text Book of Clinical Chemistry. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 1994.p.1002-81.
24. Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM. Principles of Biochemistry. 2nd ed. New York: Wort Publishers, 1993: 240-67.
25. Bare Bones Biochemistry.
http://andersonlab.qb3.berkeley.edu/Tutorials/Bare_Bones_Biochemistry.html.
26. Wikimedia. Kolesterol.
<http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cholesterol>.

27. Değer O, Örem A. Lipitlerin taşınması ve depolanması. Onat T, Emerk K, Sözmen EY. (Editörler). İnsan Biyokimyası'nda. Ankara: Palme Yayıncılık; 2002. S.328-39.
28. Wikipedia. Lipoproteinler.
<http://tr.wikipedia.org/wiki/Lipoproteinler>.
29. Wikipedia. Lipoprotein.
http://tr.wikipedia.org/wiki/Dosya:Lipoprotein_comp.PNG.
30. Mayes PA. Lipid Taşınması ve Depolanması (çeviri: Gülriz Menteş, Biltan Ersöz). Editörler Robert K.Murray, Peter A. Mayes, Daryl K. Granner, Victor W. Rodwell (Editörler). Harper'ın Biyokimyası'nda. 22. Baskı. İstanbul: Barış Kitabevi;1993.s.292-310.
31. Rifai N, Bachorik PS, Albers JJ. Lipids, lipoproteins and apolipoproteins. In: Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood (Eds.). Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 1999. P.809-61.
32. Naito HK. Coronary Artery Disease and Disorders of Lipid Metabolism. In: Lawrence Kaplan, Amadeo J.Pesce, Steven C.Kazmierczak (Eds.). Clinical Chemistry. 4th ed. Missouri: Mosby; 2003. p.603-38.
33. Hinder RA, Stein HJ. Oxygen derived free radicals. Arch Surg 1991;126(1):104-5.
34. Del Maestro R. Free radicals as mediators of tissue injury, In Dreosti IE (Ed). Trace elements, micronutrients and free radicals. New York: Humana Press Inc; 1991. p. 25- 51.
35. Heinecke JW, Rosen H, Chait A. Iron and copper promote modification of low density lipoprotein by human arterial smooth muscle cells in culture. J Clin Invest 1984;74:1890-94.
36. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Konya: Mimoza Yayınları, 1995: s.38-60.
37. Chang GJ, Woo P, Honda HH, Ignarro LJ, Berliner JA, Demer LL. Oxidation of LDL to a biologically active form by nitric oxide and nitrite and in the absence of superoxide dependence on pH and oxygen. Arterioscler Thromb 1994;14(11):1804-8.
38. Onaka LI. Lipids. In: Anderson SC, Cockayne S (Eds.). Clinical Chemistry. 1st ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1993. p. 165-82.
39. Barter P. The role of HDL-cholesterol in preventing atherosclerotic disease. Euro Heart J Suppl 2005; 7(Suppl F): 4-8.
40. Dirican M. LDL oksidasyonu ve aterosklerozla ilişkisi. Biyokimya Derg 1999;24(1):41-8.
41. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. Circulation 2005;112(25-17):2735-52.
42. Boyacı B. Türk Kardiyoloji Derneği Koroner Kalp Hastalığı Korunma Kılavuzu ve ATP III: Benzerlikler ve Farklılıklar. Türk Kardiyoloji Derneği Lipid Çalışma Grubu. Lipid Gündemi. 2003.
<http://www.tkd.org.tr/cg/005/p>

43. Ağaçhan B, Yılmaz H, Öztürk O, Ergen HA, İşbir CS. Aterosklerozda apolipoprotein E, okside-LDL ve lipid profilinin araştırılması. *FÜ Sağlık Bil Derg* 2005;19(3):193-7.
44. Cao G, Sofic E, Prior RL. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: Structure-activity relationship. *Free Radic Biol Med* 1997;22(5):749-60.
45. Jessup W, Kritharides L, Stocker R: Lipid oxidation in atherogenesis: An overview, *Biochemical Society Transactions* 2004;32(1):134-8.
46. Binder CJ, Chang M, Shaw PX, Miller YI, Hartvigsen K et al: Innate and acquired immunity in atherogenesis. *Nature Medicine* 2002;8(11):1218-26.
47. Haberland ME, Olch CL, Fogelman AM. Role of lysines in mediating interaction of modified low density lipoproteins with the scavenger receptor of human monocyte macrophages. *J Biol Chem* 1984;259(18):11305-11.
48. Karabinos IK, Koulouris S, Melpidou A, Makris G, Kranidis A et al.: increased Serum Titers of Autoantibodies Against Oxidized LDL in Young Healthy Adults: An evidence of Protective Effect of These Antibodies. *Hellenic J Cardiol* 2003;44:374-84.
49. Musliner TA, Krauss RM: Lipoprotein Subspecies and Risk of Coronary Disease. *Clin Chem* 1988;34/8(B):B78-B83.
50. Bonnefont-Rousselot D, Therond P, Beaudoux JP, Peynet J, Legrande A, Dellatre J. High Density Lipoproteins (HDL) and the Oxidative Hypothesis of Atherosclerosis. *Clin Chem Lab Med* 1999;37(10): 939-48.
51. Aviram M. Modified forms of low density lipoprotein and atherosclerosis.1993;98(1):1-9.
52. Kumari SS, Menon VP. Changes in levels of lipid peroxides and activities of superoxide dismutase and catalase in isoproterenol induced myocardial infarction in rats. *Indian J Exp Biol* 1987;25(6):419-23.
53. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr* 1993;57(5):715-24.
54. Boaz M, Matas Z, Biro A, Katzir Z, Green M, Fainaru M. Serum malondialdehyde and prevalent cardiovascular disease in hemodialysis. *Kidney International* 1999;56:1078–83.
55. Siems W, Quast S, Carluccio F, Wiswedel I, Hirsch D, Augustin W, Hampi H, et al. Oxidative stress in chronic renal failure as a cardiovascular risk factor. *Clin Nephrol* 2002;58 (1 1):12-9.
56. Rodwell VW. Biosynthesis of Amino Acids. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. (Eds.) *Harper's Biochemistry*. 21st ed. California: Appleton and Lange; 1988. p.265-70.
57. Tapiero H, Mathe G, Couvreur P, Tew KD. I. Arginine. *Biomed Pharmacother* 2002;56(9):439-45.

58. Lass A, Suessenbacher A, Wölkart G, Mayer B, Brunner F. Functional and analytical evidence for scavenging of oxygen radicals by L-arginine. *Mol Pharmacol* 2002;61(5):1081-8.
59. Wikipedia. Arginine.
<http://www.en.wikipedia.org/wiki/Arginine>.
60. Wikipedia.L-Arginine.
<http://en.wikipedia.org/wiki/File:L-arginine-3D-stic>.
61. Wikipedia. D arginine.
<http://www.biocheminfo.org/klotho/html/D-arginine.html>
62. Wikipedia.D-Arginine.
<http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Arginine.png>.
63. Berueter J, Colombo JP, Bachmann C. Purification and properties of arginase from human liver and erythrocytes. *Biochem J* 2005;175:449-54.
64. Remesar X, Arola L, Palou A, Alemany M. Arginase activity during pregnancy and lactation. *Horm Metab Res* 1984;16(9):468-70.
65. Rodvell VW. Catabolism of the Carbon Skeletons of Amino Acids. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. (Eds.) *Harper's Biochemistry*. 21st ed. California: Appleton and Lange; 1988. p.281-305.
66. Ash DE. Structure and function of arginases. *J Nutr* 2004;134(10):2760-4.
67. Pegg AE. Mammalian polyamine metabolism and function. *IUBMB Life* 2009;61(9):880-94.
68. Pegg AE, McCann PP. Polyamine metabolism and function. *Am J Physiol* 1982;243:212-21.
69. Gan N, Smolen A, Eckerson W, La Du BN. Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. Evidence for one esterase catalyzing both activities. *Drug Metab Dispos* 1991;19:100-6.
70. Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:473-80.
71. Ng CJ, Wadleigh DJ, Gangopadhyay A, Hama S, Grijalva VR. Paraoxonase-2 is a ubiquitously expressed protein with antioxidant properties and is capable of preventing cell-mediated oxidative modification of low density lipoprotein. *The Journal of Biological Chemistry* 2001;276:4444-9.
72. Cathcart, M.K., A.K. McNally and G.M. Chisolm: Lipoxygenase-mediated transformation of human low density lipoprotein to an oxidized and cytotoxic complex. *J Lipid Res* 1991;32:63-70.
73. Sorenson RC, Primo-Parmo SL, Kuo CL, Adkins S, Lockridge O, La Du BN. Reconsideration of the catalytic center and mechanism of mammalian paraoxonase/arylesterase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:7187-91.

74. Mackness MI, Arrol S, Abbott C, Durrington PN. Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis* 1993;104:129-35.
75. Sorenson RC, Bisgaier CL., Aviram M, Hsu C, Billecke S, La Du BN. Human serum paraoxonase/arylesterase's retained hydrophobic N-terminal leader sequence associated with HDLs by binding phospholipids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:2214-25.
76. La Du BN, Aviram M, Billecke S, Navab M, Primo-Parmo S, Sorenson RC, et al. On the physiological role(s) of the paraoxonases. *Chem Biol Interact* 1999;119-120:379-88.
77. Ali AB, Zhang Q, Lim YK, Fang D, Retnam L, Sai Kiang LIM. Expression of major HDL-associated anti-oxidant, PON-1 is gender-dependent and regulated during inflammation. *Free Radic Biol Med* 2003;34(7):824-9.
78. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connely PW, Hegele RA. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 1996;7:69-76.
79. Geldmacher-von Mallinckrodt M, Diepgen TL, Duhme C, Hommel G. A study of the polymorphism and ethnic distribution differences of human serum paraoxonase. *Am J Phys Anthropol* 1983;62:235-41.
80. Heijmans BT, Westendorp RG, Lagaay AM, Knook DC, Kluft c, Slagboom PE. Common paraoxonase gene variants, mortality risk and fatal cardiovascular events in elderly subjects. *Atherosclerosis* 2000;149:91-7.
81. Karakaya, A, Suzen S, Sardas, S, Karakaya AE, Vural N. Analysis of the serum paraoxonase/arylesterase polymorphism in a Turkish population. *Pharmacogenetics* 1991;1(1):58-61.
82. Aviram, M. Paraoxonase active site required for protection against LDL oxidation involves its free sulfhydryl group and is different than that required for its arylesterase/paraoxonase activities: selective action of human paraoxonae alloenzymes Q and R. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1617-24.
83. Mackness B, Mackness MI, Arrol S, Turkie W, Durrington PN. Effect of the human serum paraoxonase 55 and 192 genetic polymorphisms on the protection by high density lipoprotein against low density lipoprotein oxidative modification. *FEBS Lett* 1998;423:57-60.
84. Aldridge WN. Serum esterases. II. an enzyme hydrolysing diethyl p-nitrophenylphosphate (E600) and its identity with A-esterase of mammalian sera. *Biochem J* 1953;53:117-24.
85. Aviram M, Hardak E, Vaya J, Mahmood S, Milo S, Hoffman A, et al. Human serum paraoxonase (PON1), Q and R selectively decrease lipid peroxides in coronary and carotid atherosclerotic lesions: PON1 esterase and peroxidase-like activities. *Circulation* 2000;101:2510-17.
86. Uzunlulu M, Oğuz A, Tigen K. High-density lipoprotein cholesterol in coronary artery patients: is it as low as expected? *Anadolu Kardiyol Derg* 2005;5:268-70.

87. Cao H, Girard-Globa A, Berthezene F, Moulin P. Paraoxonase protection of LDL against peroxidation is independent of its esterase activity towards paraoxon and is unaffected by the Q R genetic polymorphism. *J Lipid Res* 1999;40:133–9.
88. Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Biol Chem* 1997; 272:20963-6.
89. Aviram M, Rosenblot M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Parmo SL, La Du BN. Paraoxonase inhibits high density lipoprotein oxidation and preserves its function. A possible peroxidative role for Paraoxonase. *J Clin Invest* 1998;101(8):1581-90.
90. Mackness MI, Harty D, Bhatnagar D, Winocour PH, Arrol S, Ishola M, Durrington PN. Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 1991;86:193-9.
91. James RW, Leviev I, Righetti A. Smoking is associated with reduced serum paraoxonase activity and concentration in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2000;101:2252-7.
92. Mackness B, Durrington P, McElduff P, Yarnell J, Azam N, Watt M, Mackness M. Low paraoxonase activity predicts coronary events in the Caerphilly Prospective Study. *Circulation* 2003;107(22):2775-9.
93. Mahfouz MM, Kummerow FA. Cholesterol-rich diets have different effects on lipid peroxidation, cholesterol oxides, and antioxidant enzymes in rats and rabbits. *J Nutr Biochem* 2000;11:293-302.
94. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry* 1972;18:499-502.
95. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95(2):351-8.
96. Mensink P, Zock L, Kester DM, Katan B. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2003;77(5):1146-55.
97. Vaina S, Stefanadis C. Detection of the vulnerable coronary atheromatous plaque. Where are we now? *Int J Cardiovasc Intervent* 2005;7:75-87.
98. Akgül E, Aydemir K. İnflamasyon ve ateroskleroz. *Türk Kardiyoloji Seminerleri* 2003;5:492-505.
99. Hunink MG, Goldman L, Tosteson AN, Mittleman MA, Goldman PA, Williams LW, et al. The recent decline in mortality from coronary heart disease, 1980-1990: the effect of secular trends in risk factors and treatment. *JAMA* 1997;277(7):535-42.
100. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis : a perspective for the 1990s. *Nature* 1993;362:801-9.

101. Raitaki OT, Pitkanen OP, Lethimaki T, et al. In vivo low density lipoprotein oxidation relates to coronary reactivity in young men. *J Am Coll Cardiol* 1997;30:97-102.
102. Holvoet P, Collen D. Oxidation of low density lipoprotein in the pathogenesis of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1998;137 suppl:S33-S38.
103. Mark T, Quin SP, Loren G, Fong DS. Oxidatively modified low density lipoproteins: A potential role in recruitment and retention of monocyte/macrophages during atherogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:29995-8.
104. David SL. Does an acidic pH explain why low density lipoprotein is oxidised in atherosclerotic lesions? *Atherosclerosis* 1997;129:149-57.
105. Joseph LW. Immunological response to oxidized LDL. *Atherosclerosis* 1997;131 suppl:S9-S11
106. Bulur H, Ozdemirler G, Oz B, Toker G, Ozturk M, Uysal M. High cholesterol diet supplemented with sunflower seed oil but not olive oil stimulates lipid peroxidation in plasma, liver, and aorta, of rats. *J Nutr Biochem* 1995;6(10):547-50.
107. Mehmetçik G, Toker G, Uysal M. Endogenous and copperinduced lipid peroxidation and antioxidant activity of serum in hypercholesterolemic subjects. *Horm Metab Res* 1997;29(2):63-5.
108. Hayashi T, Juliet PAR, Matsui-Hirai H, Miyazaki A, Fukatsu A, Funami J etc.al: L-citrulline and L-arginine supplementation retards the progression of high-cholesterol-diet-induced atherosclerosis in rabbits. *PNAS* 2005;102(38): p.13681-6.
109. Balkan J, Kanbađlı Ö, Hatipođlu A, Kűçűk M, Çevikbađ U, Toker G, Uysal M: Taurinin aterosklerotik tavđanlarda antiaterojen ve antioksidan etkisi. *Kocatepe Tıp Derg* 2004;5:37-42.
110. Marchesi S, Lupattelli G, Siepi D, Roscini AR, Vaudo G, Sinzinger H, Mannarino E. Oral L-arginine administration attenuates postprandial endothelial dysfunction in young healthy males. *J Clin Pharm Ther* 2001;26(5):343-9.
111. Levy RI, Brensike JF, Epstein SE, Kelsey SF, Passamani ER, Richardson JM, et al.: The influence of changes in lipid values induced by cholestyramine and diet on progression of coronary artery disease: results of the NHLBI type II coronary intervention study. *Circulation* 1984;69(2):325-37.
112. Yılmaz E: Hiperlipidemi tedavisinde yeni geliřmeler. *Tűrk Klinik Tıp Bil Derg* 1998;18(6):1-10
113. Bayır S, Eskiocak S, Çakır E, Altaner ř. Kolesterolde Zengin Diyetle Beslenen Ratlarda N-Asetilsisteinin Anti-oksidan/Pro-oksidan Etkileri. *Tűrk Klinik Biyokimya Derg* 2006;4(1):15-23.
114. Bayırođlu F, Belge F, Baydađ B, Tűrkdođan K. Hiperkolesterolemik Diyet ile Beslenen Ratlarda Oral Magnezyum Verilmesinin Serum Lipid Profili űzerine Etkisi. *Van Tıp Derg* 1999;6(4):1-4.

115. Kabiri N, Asgary S, Setorki M. Lipid lowering by hydroalcoholic extracts of *Amaranthus Caudatus* L. induces regression of rabbits atherosclerotic lesions. *Lipids Health Dis* 2011;10(81):89 (Epub ahead of print).
116. Jeremy RW, McCarron H, Sullivan D. Effects of dietary L-arginine on atherosclerosis and endothelium-dependent vasodilatation in the hypercholesterolemic rabbit. Response according to treatment duration, anatomic site, and sex. *Circulation* 1996;94(3):498-506.
117. Güven A, Güven A. Hiperkolesterolemi oluşturmuş tavşanlarda kefirin total kolesterol, trigliserid, HDL kolesterol, LDL kolesterol ve lipit peroksidasyonu üzerine etkisi. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 2005;11(2):127-31.
118. Javanmard SH, Nematbakhsh M, Sanei MH. Early prevention by L-Arginine attenuates coronary atherosclerosis in a model of hypercholesterolemic animals; no positive results for treatment. *Nutr Metab (Lond)* 2009;6:13-9.
119. El Kirsh A, El Wahab H, Allah Sayed H. The effect of L-arginine or L-citrulline supplementation on biochemical parameters and the vascular aortic wall in high fat and high cholesterol fed rats *Cell Biochem Funct* 2011 (Epub ahead of print).
120. Wilson PW, Garrison RJ, Castelli WP. Prevalence of coronary heart disease in the framingham offspring study: Role of lipoprotein cholesterols. *Am J Cardiol* 1980;46(4):649-54.
121. Yasuda K, Takashima S, Takagi M, Nishii N, Ohba Y, Kitagawa H. Insulin Responses to Administrations of Amino Acids and Fatty Acids in Healthy Cats. *J Vet Med Sci* 2011 (Epub ahead of print)
122. Granner DK. Hormones of the pancreas. In: Murray RK, Mayes PA, Granner DK, Rodwell VW (Eds.). *Harper's Biochemistry*. 21th ed. California: Appleton and Lange; 1988. p.547-63.
123. Mackness MI, Walker CH, Carlson LA.. Low A-esterase activity in serum of patients with fish-eye disease. *Clin Chem* 1987;33:587-8.
124. Mackness MI, Peuchant E, Dumon MF, Walker CH, Clerc M.. Absence of «A»- esterase activity in the serum of a patient with Tangier disease. *Clin Biochem* 1989;22:475-8.
125. McElveen J, Mackness MI, Colley CM, Peard T, Warner S, Walker CH. Distribution of paraoxon hydrolytic activity in the serum of patients after myocardial infarction. *Clin Chem* 1986;32: 671-3.
126. Mackness B, Mackness MI, Durrington PN, Arrol S, Evans AE, McMaster D, Ferrieres J, Ruidavets JB, Williams NR, Howard AN. Paraoxonase activity in two healthy populations with differing rates of coronary heart diseases. *Eur J Clin Invest* 2000;30:4-10.
127. Watson AD, Navab M, Hama SY, et al. Effect of platelet activating factor acetyl hydrolase on the formation and action of minimally oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest* 1995;95:774-82.

128. Kaur D, Bansal P. Studies on HDL associated enzymes under experimental hypercholesterolemia: possible modulation on selenium supplementation. *Lipids Health Dis* 2009;8:55-64.
129. El-Beshbishy HA, Singab ANB, Sinkkonen J. Hypolipidemic and antioxidant effects of *Morus alba* L. (Egyptian mulberry) root bark fractions supplementation in cholesterol-fed rats. *Life Sciences* 2006;78(23):2724-33.
130. De Keyzer D, Karabina SA, Wei W, Geeraert B, Stengel D, Marsillach J. Increased PAFAH and Oxidized Lipids Are Associated With Inflammation and Atherosclerosis in Hypercholesterolemic Pigs. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009;29(12):2041-6.
131. Thomàs-Moyà E, Gomez-Perez Y, Fiol M, Gianotti M, Lladó I, Proenza M. Gender Related Differences in Paraoxonase 1 Response to High-Fat Diet-induced Oxidative Stress. *Obesity* 2008;16(10):2232-8
132. Hayek T, Fuhrman B, Vaya J, Rosenblat M, Belinky P, Coleman R, Elis A, Aviram M. Reduced progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice following consumption of red wine, or its polyphenols quercetin or catechin, is associated with reduced susceptibility of LDL to oxidation and aggregation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17(11):2744-52.
133. Aviram M. Review of human studies on oxidative damage and antioxidant protection related to cardiovascular diseases. *Free Radic Res* 2000;33 Suppl:S85.

ŞEKİLLER LİSTESİ

ŞEKİLLER

Şekil 1. Ulusal düzeyde ölüm nedenlerinin temel hastalık gruplarına göre dağılımı.	4
Şekil 2. Tip I aterosklerotik lezyonun progresyonu	6
Şekil 3. Tip II aterosklerotik lezyonların progresyonu.	7
Şekil 4. Tip IV aterosklerotik lezyonların progresyonu	7
Şekil 5. Tip V aterosklerotik lezyonların progresyonu	8
Şekil 6. Trigliserid yapısı	9
Şekil 7. Triaçilgliserol sentezi	10
Şekil 8. Kolesterolün yapısı.	11
Şekil 9. Lipoprotein yapısı.	13
Şekil 10. Lipoproteinlerin yoğunluk ve bileşimleri.	13
Şekil 11. L ve D arginin izomerleri	20
Şekil 12. L-Argininin metabolik yolları .	21
Şekil 13. Ornitinden poliamin sentezi.	21
Şekil 14. PON1 enziminin yapısı.	22
Şekil 15. PON enziminin etki mekanizması.	24
Şekil 16. Sıçan gruplarının serum PON değerlerinin karşılaştırılması.	40

Şekil 17. Sıçan gruplarının serum trigliserit değerlerinin karşılaştırılması.	41
Şekil 18. Sıçan gruplarının serum total kolesterol değerlerinin karşılaştırılması.	42
Şekil 19. Sıçan gruplarının serum HDL kolesterol değerlerinin karşılaştırılması.	43
Şekil 20. Sıçan gruplarının serum LDL kolesterol değerlerinin karşılaştırılması	45
Şekil 21. Sıçan gruplarının serum VLDL kolesterol değerlerinin karşılaştırılması	46
Şekil 22. Sıçan gruplarının serum MDA değerlerinin karşılaştırılması.	48
Şekil 23. Sıçan gruplarının ateroskleroz indekslerinin karşılaştırılması.	49
Şekil 24. Kontrol grubu düzenli damar endoteli ve muskuler yapı (H+E, X400)	51
Şekil 25. L-Arginin grubunda düzenli damar endoteli ve muskuler yapı (H+E, X400)	52
Şekil 26. Kolesterol grubunda endotelde düzensizlik, epitel altında mukoid dejenerasyon (H+E, X200)	52
Şekil 27. Kolesterol +L-Arginin grubunda damar iç yüzünde endotelin kolesterol grubuna göre daha düzenli yapı (H+E, X200).	53

TABLolar

Tablo 1. Global Ölüm Nedenleri	4
Tablo 2. Ateroskleroz Risk Faktörleri	5
Tablo 3. Klinik önemi olan lipitlerin sınıflandırılması	9
Tablo 4. İnsan plazması lipoproteinlerinin apolipoproteinleri	14
Tablo 5. Sıçanların ilk ağırlıkları	33
Tablo 6. Sıçanların son ağırlıkları	33
Tablo 7. Sıçanların serum PON düzeyleri	34
Tablo 8. Sıçanların serum trigliserit düzeyleri	34
Tablo 9. Sıçanların serum total kolesterol düzeyleri	35

Tablo10. Sıçanların serum HDL kolesterol düzeyleri	35
Tablo 11. Sıçanların serum LDL kolesterol düzeyleri	36
Tablo 12. Sıçanların serum VLDL kolesterol düzeyleri	36
Tablo 13. Sıçanların serum malondialdehid düzeyleri	37
Tablo 14. Sıçanların serum ateroskleroz indeksi	37
Tablo 15. Sıçan gruplarının ilk ağırlıklarının karşılaştırılması	38
Tablo 16. Sıçan gruplarının son ağırlıklarının karşılaştırılması	38
Tablo 17. Sıçan gruplarının serum PON düzeylerinin karşılaştırılması	39
Tablo 18. Sıçan gruplarının serum trigliserit düzeylerinin karşılaştırılması	40
Tablo 19. Sıçan gruplarının serum total kolesterol düzeylerinin karşılaştırılması	42
Tablo 20. Sıçan gruplarının serum HDL kolesterol düzeylerinin karşılaştırılması	43
Tablo 21. Sıçan gruplarının serum LDL kolesterol düzeylerinin karşılaştırılması	44
Tablo 22. Sıçan gruplarının serum VLDL kolesterol düzeylerinin karşılaştırılması	45
Tablo 23. Sıçan gruplarının serum MDA düzeylerinin karşılaştırılması	47
Tablo 24. Sıçan gruplarının ateroskleroz indekslerinin karşılaştırılması	48
Tablo 25. PON aktivitesinin diğer parametrelerle korelasyonu	50
Tablo 26. Ateroskleroz indeksinin diğer parametrelerle korelasyonu	50

ÖZGEÇMİŞ

09.08.1983 yılı Edirne doğumluyum. İlköğrenimimi Şükrüpaşa İlkokulu, orta ve lise öğrenimimi Edirne Anadolu Lisesi'nde tamamladım. Üniversite öğrenimimi Dokuz Eylül Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde 2003-2007 yılları arasında tamamladım. 2008 yılında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya A.D.' da yüksek lisans öğrenimime başladım ve hala sürdürmekteyim.

EKLER