

**BAZI FLAVOİDLERİN
ANTİTROMBOTİK ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Elif SÜMBÜL

Yüksek Lisans Tezi

**BAZI FLAVOİDLERİN
ANTİTROMBOTİK ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Elif SÜMBÜL

Yüksek Lisans Tezi

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakoloji Anabilim Dalı

Eskişehir, Ağustos 2016

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Rana ARSLAN

Bu tez çalışması Anadolu Üniversitesi BAP Komisyonunca kabul edilen AUBAP-1306F254 nolu proje ile desteklenmiştir.

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Elif SÜMBÜL' ün '*Bazı Flavonoidlerin Antitrombolitik Etkilerinin Değerlendirilmesi*' başlıklı, Farmakoloji Anabilim Dalı'ndaki Yüksek Lisans tezi, 3 Ağustos 2016 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

	Adı-Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı)	Doç. Dr. Rana ARSLAN Anadolu Üniversitesi	
Üye	Prof.Dr. Kevser EROL. Osmangazi Üniversitesi.	
Üye	Prof. Dr. Yusuf ÖZTÜRK Anadolu Üniversitesi	



Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 31.08.2016 tarih ve 35 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı Soyad : Elif SÜMBÜL
Doğum Tarihi ve Yeri : 1988, Havza
Uyruğu : Türkiye Cumhuriyeti
Medeni Durumu : Bekar
İletişim Adresi : Ulu Önder Mah. İsmet İnönü 2 Cad.Özdergah
Sitesi F Blok NO:7 Tepebaşı/ESKİŞEHİR
Telefon : 05543199451
e-posta : elf.8826@gmail.com

Eğitim Durumu

İlköğretim : 1994-2000, Altınova İlköğretim İlkokulu
: 2000-2002, Sarayönü İlköğretim İlkokulu
Lise : 2002-2003, Sarayönü Anadolu Lisesi
: 2003-2006, Hacı Fatma Erdemir
Anadolu Lisesi
Lisans : 2006-2011, Anadolu Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi
Yüksek Lisans : 2011-2016, Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmakoloji Anabilim Dalı

Yabancı Diller

: İngilizce

Mesleki Deneyim

2011-2015 : Özel Ümit Hastanesinde Eczacı
2015-..... : Bilecik Devlet Hastanesinde Eczacı

Bilimsel Etkinlikler

Projeler : Bazı Flavonoidlerin Antitrombotik
Etkilerinin Değerlendirilmesi 2012-2015
Katılan Kurslar ve Eğitim : Eskişehir Osmangazi Üniversitesi,
Programları : Deney Hayvanları ile İlgili Eğitim
Programı, 08-19 Nisan 2013

ÖNSÖZ

Günümüzde kalp-damar sistemi hastalıkları son derece yaygın olarak görülmektedir. Tromboz ise kalp damar sistemi hastalıklarının temel nedenlerinden birisidir. Ven ve arterlerdeki trombozlar ve bunun sonucunda gelişen embolik olaylar, gelişmiş ülkelerde hastalık ve ölümün en önemli nedenlerinin başında sayılmaktadır. Bu nedenle bu hastalıkların tedavisi büyük önem taşımaktadır. Halen kullanmakta olduğumuz antitrombotik-antikoagülan ajanların çeşitli yan etkileri ve komplikasyonları vardır. Bu nedenle yeni ajanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Binlerce yıl öncesinde tedavi edici amaçla kullanılmaya başlanan bitkiler modern tıp ilaçlarının gelişmesinde büyük rol oynamıştır. Bitkilerin tedavi edici özellikleri içerdikleri etken maddelerden kaynaklanmaktadır. Bu etken maddeler tedavide kullanılabilmesi için farmakolojik açıdan değerlendirilmelidir. Bu aktif metabolitlerin yan etkileri ve toksik etkileri açısından oldukça önemlidir. Daha önce yapılan çalışmalarda alıç bitkisinin farklı türlerinin antitrombotik etkileri olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma kapsamında *Crataegus* türlerinin etken maddesi olan apigenin, viteksin, kersetin, hiperozit maddelerinin trombus üzerine olası etkilerini doza bağlı olarak incelemeyi amaçlamaktayız.

Tez çalışmamın planlanmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve yardımlarıyla her zaman yanımda olan, engin bilgi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren, çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren, hoşgörüsünü, anlayışını ve sabrını eksik etmeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Rana ARSLAN'a,

Deneysel çalışmalarımda her türlü konuda bilgi ve tecrübeleriyle bana yardımcı olan Sayın Yrd. Doç. Dr. Nurcan BEKTAŞ'a,

Eğitimim süresince bana emeği geçen başta Farmakoloji A.B.D. Başkanı Sayın Prof. Dr. Yusuf ÖZTÜRK olmak üzere tüm hocalarıma,

Deneysel çalışmalarımda bana yardımcı olan teknisyen yardımcısı Sadettin Neşet AKTAŞ'a,

Hayatımın her aşamasında gerek maddi gerek manevi destekleriyle her zaman yanımda olan aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

BAZI FLAVOİDLERİN ANTİTROMBOTİK ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ÖZET

Tromboz oluşumu pek çok kardiyovasküler hastalığın oluşumuna neden olmaktadır. Çeşitli tıbbi bitkiler kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır ve *Crataegus* türleri bunlardan biridir. Apigenin, viteksin, kersetin ve hiperozit pek çok tıbbi bitkinin bileşiminde yer almaktadır ve farklı analjezik, antiinflamatuvar ve kardiyoprotektif gibi farmakolojik etkiler gösterdikleri bildirilmektedir. Tromboz oluşumunun engellenmesi ve tedavisi bu hastalıkların önlenmesinde büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada seçilmiş olan flavonoidlerin antitrombotik etkilerinin karegen ile indüklenen kuyruk tromboz testi kullanılarak araştırılması amaçlanmıştır.

Apigenin, viteksin, kersetin ve hiperozit 50, 100 ve 200 mg/kg dozda intraperitoneal olarak farelere uygulanmıştır. Madde enjeksiyonundan 45 dakika sonra 40 µl (1%) karegen (tip 1) farenin arka pençesine enjekte edilmiştir. Daha sonra farelerin kuyruğunda oluşan koyu renkli bölge 24., 48. ve 72. saatlerde ölçüldü.

Sonuçlar tüm flavonoidlerin antitrombotik etki potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. 200 mg/kg dozda kersetin ve hiperozitin her üç günde de önemli ölçüde ($P < 0.001$) kuyruk tromboz uzunluğunu azaltmıştır. Apigenin ve viteksin 50 ve 100 mg/kg dozlarda ($P < 0.001$) 200 mg/kg doza ($P < 0.05$) göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. Apigenin ve viteksin tüm dozlarda antitrombotik etki gösterirken, kersetin ve hiperozit sadece yüksek dozlarda etki göstermiştir.

Bu sonuçlara göre, çalışılan flavonoidlerin yeni antitrombotik ilaçlar olarak ya da diğer antikoagülan ajanlarla beraber tamamlayıcı ajanlar olarak kullanılabilceği ümit edilmektedir.

Anahtar kelimeler: Apigenin, Viteksin, Kersetin, Hiperozit, Antitrombotik etki

EVALUATION OF ANTITHROMBOTIC EFFECTS OF SOME FLAVONOIDS

ABSTRACT

Thrombus formation is one of the primary causes of various cardiovascular diseases. Different medicinal plants are used to treatment of cardiovascular diseases and one of them is *Crataegus* species. It is informed that apigenin, vitexin, quercetin and hyperoside flavonoids which found within medicinal plants (*etc. Crataegus*) and exert different pharmacological actions such as analgesic, anti-inflammatory and cardioprotective activities. Inhibition and treatment of thrombosis is of great importance, in the prevention of this diseases. In this research, it is aimed to investigate possible effect of antithrombotic effects of selected flavonoids using a carrageenan-induced tail thrombosis model in mice.

Apigenin, vitexin, quercetin and hyperoside injected to the mice (30-35g) intraperitoneally at the dose of 50, 100 and 200 mg/kg. Flavonoids are dissolved in carboxymethyl cellulose (CMC) and it is used for negative control. 100 IU Heparin is used for positive control. Forty μ l (1%) carrageenan (type I) injected into the mouse hind paw 45 min after drug administration. The wine-colored region at the mouse tail was then measured at 24, 48 and 72th hours.

The results showed that all tested flavonoids have potential antithrombotic effect. At the dose of 200 mg/kg of quercetin and hyperoside decreased the length of tail thrombosis significantly ($P < 0.001$) at three day. Apigenin and vitexin were more effective at the doses of 50 and 100 mg/kg ($P < 0.001$) than at the dose of 200 mg/kg ($P < 0.05$). Apigenin and vitexin showed antithrombotic effects at all tested doses, while quercetin and hyperoside were effective only at the highest doses.

According to these results, it can be suggested that tested flavonoids may be evaluated new antithrombotic agents or could be used as complementary therapy with other anticoagulant drugs in the future.

Keywords: Apigenin, vitexin, quercetin, hyperoside, antithrombotic effect

İÇİNDEKİLER	SAYFA
ÖZGEMİŞ	i
ÖNSÖZ	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ	xi
GİRİŞ ve AMAÇ	1
KAYNAK BİLGİSİ	2
Tromboz	2
Hemostaz	2
Primer Hemostaz	3
Sekonder Hemostaz	4
Pıhtılaşma (Koagülasyon) Mekanizması	4
İntrinsik Yolak	5
Ekstrinsik Yolak	6
Ortak Yolak	6
Fibrinolizis	6
Koagülasyon Sisteminin Düzenlenmesi	7
Antitrombin III (AT III)	7
Protein C	7
Heparin kofaktör II (HK-II)	7
Lipoproteine eşlik eden koagülasyon inhibitörü	7
Trombus Oluşumu ve Risk Faktörleri	7
Etyoloji	7
Tromboz Patogenezi	8
Damar Hasarı (Endotel Yaralanması)	8
Vasküler Staz (Kan akımında yavaşlama)	8
Hiperkoagülabilité (Kanın Pıhtılaşma Yeteneğinin Artması)	9

İÇİNDEKİLER	SAYFA
Trombus Tipleri	9
Antitrombotik İlaçlar	10
Antikoagülan İlaçlar	11
Heparin	11
Düşük Molekül Ağırlıklı Heparin (DMAH)	13
Heparinoidler ve direkt faktör Xa ve trombin inhibitörleri	13
Oral antikoagülanlar	14
Antitrombotik İlaçlar	16
Aspirin	17
Non-steroidal Antienflamatuar İlaçlar (NSAİİ)	17
Dipiridamol	18
ADP Reseptör İnhibitörleri (Tiklodipin ve Klopidoğrel)	18
Glikoprotein IIb/IIIa Reseptör İnhibitörleri	19
Diğeri	20
Trombolitik (fibrinolitik) İlaçlar	20
Streptokinaz	21
Alteplaz (t-PA)	21
Retepfaz	22
Tenekteplaz	22
Ürokinaz	22
Alç	22
Flavonoidler	23
Apigenin	24
Kersetin	26
Hiperozit	27
Viteksin	28
GEREÇLER	30
Hayvanlar	30
Kullanılan Kimyasal madde ve İlaçlar	30
Kullanılan Cihazlar	30

İÇİNDEKİLER	SAYFA
YÖNTEMLER	31
Kullanılan Maddelerin Hazırlanması	31
Antitrombotik Aktivite Deneyi	31
Karegen ile indüklenen kuyruk tromboz testi	31
Verilerin İstatiksel Analizi	31
BULGULAR ve TARTIŞMA	32
SONUÇ ve ÖNERİLER	41
KAYNAKLAR	43
EK 1	51
EK 2	52

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE NO ve ADI

SAYFA

Çizelge 1 *Crataegus monogyna*'nın Kimyasal Bileşikleri

23

Çizelge 2 Flavonodlerin Yüzde Tromboz İnhibisyon değerleri

37

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL NO ve ADI	SAYFA
Şekil 1 Trombus	2
Şekil 2 Hemostaz	2
Şekil 3 Primer Hemostaz	3
Şekil 4 Sekonder Hemostaz	4
Şekil 5 İntrinsik yolak	5
Şekil 6 Ekstrinsik yolak	6
Şekil 7 Antikoagülan İlaçlar	11
Şekil 8 Apigenin Kimyasal Yapısı	24
Şekil 9 Kersetinin Kimyasal Yapısı	26
Şekil 10 Hiperozitin Kimyasal Yapısı	27
Şekil 11 Viteksinin Kimyasal Yapısı	28
Şekil 12 Flavonoidlerin Karegen ile indüklenen kuyruk tromboz testi 24. saat sonuçları	35
Şekil 13 Flavonoidlerin Karegen ile indüklenen kuyruk tromboz testi 48. saat sonuçları	35
Şekil 14 Flavonoidlerin Karegen ile indüklenen kuyruk tromboz testi 72. saat sonuçları	36
Şekil 15 Kontrol grubu %5 CMC-SF (3:7)	38
Şekil 16 100 IU Heparin	38
Şekil 17 Apigeninin Karegen ile İndüklenen Kuyruk Tromboz Test Sonuçları Kuyruk Görüntüleri	38
Şekil 18 Kersetinin Karegen ile İndüklenen Kuyruk Tromboz Test Sonuçları Kuyruk Görüntüleri	39
Şekil 19 Hiperozitin Karegen ile İndüklenen Kuyruk Tromboz Test Sonuçları Kuyruk Görüntüleri	39

ŞEKİL NO ve ADI

SAYFA

Şekil 20 Viteksinin Karegen ile İndüklenen
Kuyruk Tromboz Test Sonuęları
Kuyruk Görüntüleri

40

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

ADP	: Adenozin Difosfat
AMP	: Adenozin Monofosfat
aPTZ	: Aktive Edilmiş Parsiyel Tromboplastin Zamanı
AT III	: Antitrombin III
CMC	: Karboksimetil selüloz
COX 1	: Siklooksijenaz 1
COX-2	: Siklooksijenaz 2
DMAH	: Düşük Molekül Ağırlıklı Heparin
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DVT	: Derin Ven Trombozu
ERK	: Ekstraselüler sinyal ile düzenlenen Protein Kinaz
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
GP	: Glikoprotein
HIT	: Heparine bağlı immün trombositopeni
HK-II	: Heparin kofaktör II
IL-1	: İnterlökin-1
INR	: Uluslararası Normalleştirilmiş Oran
i.p	: İntraperitoneal
i.v	: intravenöz
kg	: kilogram
ml	: mililitre
µl	: mikrolitre
NSAİİ	: Non-steroidal Antiienflamatuar İlaçlar
PAI	: Plazminojen Aktivatör İnhibitör
PPI	: Proton Pompası İnhibitörü
PT	: Protrombin Zamanını
SF	: Serum Fizyolojik
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
TP	: TXA2 reseptörleri

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

t-PA	: Doku plazminojen aktivatörü
TXA2	: Tromboksan A2
UFH	: Yüksek Molekül Ağırlıklı Heparin

GİRİŞ ve AMAÇ

Binlerce yıl öncesinden beri tedavi amacıyla kullanılmakta olan bitkiler modern tıp ilaçlarının gelişmesinde büyük rol oynamıştır. Sentetik ilaçların ilaç endüstrisinde önemli payı olsa bile, doğal ilaç etken maddeleri ve bileşiklerden geliştirilen ilaçlar günümüzde kullanılan ilaçların yaklaşık olarak %50'sini oluşturur.

Tıbbi bitkilerden aktif maddelerinin izole edilmesi çalışmalarının ilk başlangıcında Caventou ve Pelletier'in kınakına ağacı kabuklarından kinin izole etmesi ilaç araştırmalarında dönüm noktası olmuştur. Daha sonra yapılan çalışmalarda *Papaver somniferum L.*'den (Haşhaş) elde edilen morfin ve kodein, *Digitalis türlerinden* (Yüksükotu) yapraklarından digoksin, *Atropa belladonna L.* (Güzel avratotu) yaprak ve kabuklarından elde edilen atropin ve hiyosin gibi maddeler elde edilmiştir ve bu maddeler günümüzde de klinikte kullanılmaktadırlar. Kanser tedavisinde kullanılmakta olan bazı ilaçlarında (paklitaksel, dosetaksel, irinotekan ve topotekan) doğal kaynaklardan elde edilen ilaçlar olduğu bilinmektedir (Çekin ve ark., 2010).

Tıbbi olarak etkinliği bilinen ve dünyanın çeşitli yerlerinde kullanılmakta olan bitkilerden biri de *Rosacea* familyasına ait olan *Crataegus* türüdür (Bahorun ve ark., 2003). Alıç ağacının olgun meyveleri, çiçek ve yaprakları flavonoidler (flavanlar), vitaminler, saponin, organik asitler, eter yağı ve şekerler olmak üzere pekçok madde içermektedir. Alıç bitkisinin özellikle kardiyovasküler hastalıklar başta olmak üzere, analjezik, anti-kanser, kolesterol düşürücü etkileri olduğu bilinmektedir. *Crataegus* türlerinin ana aktif bileşenlerinin hiperozit, rutin, viteksin gibi flavonoidler ve epikateşin, prosiyanidin B₂ gibi oligomerik proantosiyanidinler olduğu gösterilmiştir (Chang ve ark., 2002; Altıntirim, 2012). İn vivo olarak yapılan deneyler *Crataegus* türlerinin karegen ile indüklenen kuyruk tromboz oluşumunu inhibe ettiğini göstermiştir (Arslan ve ark., 2011; Arslan ve ark., 2015). Alıcın antitrombotik etkisinin hangi etken maddesinden/maddelerinden kaynaklandığı tam olarak bilinmemektedir. *Crataegus* türlerinin içerdiği flavonoidlerle ilgili çeşitli in vitro çalışmalar olmakla birlikte in vivo olarak antitrombotik etkinlikleri gösterilmemiştir.

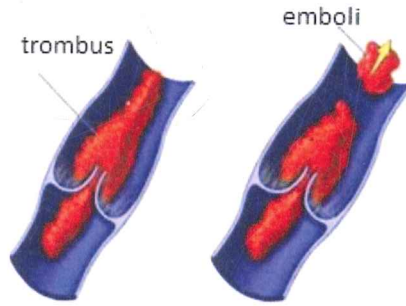
Günümüzde kullanılan antitrombotik-antikoagülan ilaçların kullanımlarını kısıtlayan çeşitli yan etkiler ve bunların neden olduğu komplikasyonlar bulunmaktadır. Kanamaya yol açmaları, mide rahatsızlıklarına, trombositopeni, ürtiker, dermatit ve alopesiye neden olmaları, laboratuvar izlemi gerektirmeleri gibi nedenler kullanımlarını sınırlandırmaktadır (Demir, 2010).

Bu tez kapsamında yukarıda bahsedilen bilgilerden yola çıkılarak *Crataegus* türlerinin içerdiği aktif bileşenleri olan apigenin, viteksinin, kersetinin, hiperozitin antitrombotik etkileri in vivo olarak araştırılıp karşılaştırılacaktır.

KAYNAK BİLGİSİ

Tromboz

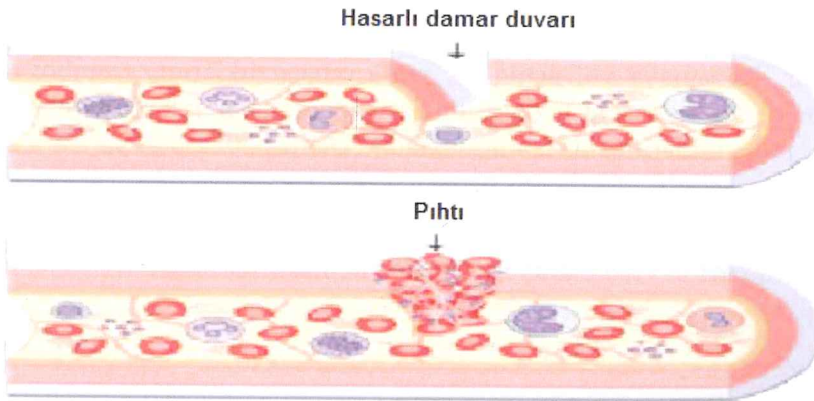
Normal hemostatik mekanizma, kanın damar içinde sıvı durumda akışını sağlar. Bu sistemdeki herhangi bir aksaklık, vasküler hasar sonrası kontrolsüz kanamadan damar içinde istenmeyen pıhtılara kadar çeşitli problemlere neden olur. Çoğunlukla hemostazın aksaması sonucu, bir arter veya vena damarının bir kısmını ya da tümünü tıkayacak şekilde meydana gelen istenmeyen pıhtılara tromboz, pıhtının kendisine trombus adı verilmektedir (Lane ve Grant, 2000). Kanda dolaşan pıhtıya ise emboli denir. Hem tromboz hem de emboli, kan damarlarını tıkararak dokuların beslenmesini ve oksijen perfüzyonunu bozabileceğinden tehlikelidirler (Howland ve Mycet, 2006).



Şekil 1. Trombus (<http-1>)

Hemostaz

Vücudun vasküler hasarı takiben kan akışını kontrol edebilme yeteneği, yaşamın devamı açısından son derece önemlidir. Hemostaz, hasarlı damardan kan kaybının durmasıdır (Brunton ve ark., 2005). Hemostaz sadece kan kaybını ve kan akışında meydana gelen aksaklığı engellemekle kalmaz, aynı zamanda hasarlı dokunun ve damar sisteminin de onarımını sağlar.



Şekil 2. Hemostaz (<http-2>)

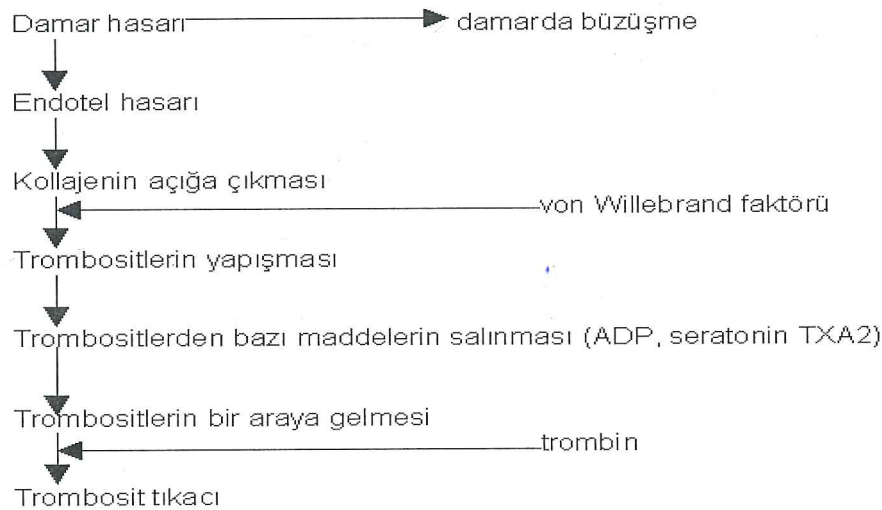
Damar sisteminin delici ve kesici fiziksel yaralanmaları sonucunda trombositler, endotel hücreleri ve pıhtılaşma faktörleri arasında bir dizi karmaşık etkileşimler ortaya çıkar (Mycet ve ark., 2001).

Hemostaz işlemini 3 basamaktan oluşmaktadır:

1. Primer Hemostaz (Damar daralması (vazokonstriksiyon), Trombosit yapışması ve agregasyonu)
2. Sekonder Hemostaz (Fibrin pıhtısı oluşumu)
3. Fibrinolizis

Primer Hemostaz

Primer hemostaz, zedelenen damar çeperinde trombositlerin lokal aktivasyonu yapışması ve agregasyonu sonucu trombosit tıkaçı oluşumudur. Bu komponent endotelin zedelenmesini izleyen saniyeler içinde kısa zamanda meydana gelir.



Şekil 3. Primer Hemostaz (http-3)

Etkin bir primer hemostaz olayı trombositlerle ilişkili şu üç ana olaya dayanır: aktive edilen trombositlerin adezyonu, granüllerini salıvermesi ve agregasyonu (Kayaalp, 2012).

Damar yaralanmasına karşı ilk cevap vazokonstriksiyondur. Vazokonstriksiyon ile kanama azaltılmaya çalışılırken, diğer taraftan bölgesel kan akımı yavaşlatılarak trombositlerin endotel yaralanma sonucu açığa çıkan kollajene yapışması kolaylaştırılır.

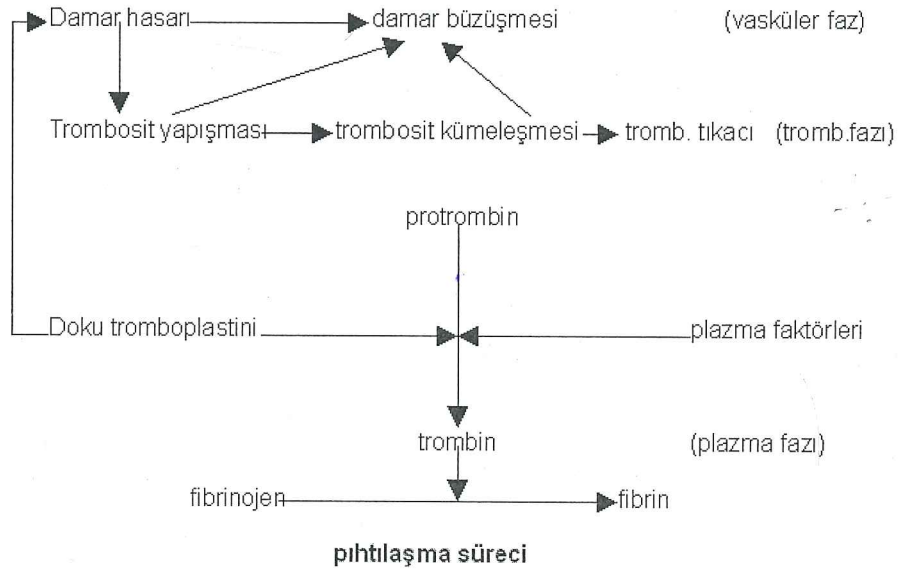
Vasküler hasar sonucu açığa çıkan kollajene trombositler direk glikoprotein Ia/IIa reseptörü aracılığı ile veya glikoprotein Ib-IX/V reseptörü ile endoteldeki von Willebrand faktör'e bağlanarak yapışırlar. Bunu takiben trombositler granül içerisindeki maddelerini salgılayarak yeni trombositleri aktif hale getirirler. Aktive olmuş trombositler glikoprotein IIb/IIIa reseptörleri ve fibrinojen aracılığı ile kümeleşerek primer hemostatik tıkaçı oluştururlar (http-4).

Trombosit aktivasyonunun; primer hemostazın yanında, arteriyel trombus oluşumuna ve yapay yüzeyler (yapay damar greftleri ve kalp kapakçığı protezleri gibi) üzerinde trombus oluşmasına büyük katkısı vardır (Kayaalp, 2012).

Endotel hasarının küçük olduğu durumlarda trombosit tıkaçı kanamayı durdurur, ancak daha büyük hasarlarda koagülasyon proteinlerinin de aktive olması ve sekonder hemostazı başlatması gereklidir (http-4).

Sekonder Hemostaz

Sekonder hemostaz, plazma koagülasyon sisteminin aktivasyonu ile başlar ve bir dizi pıhtılaşma faktörünün belirli bir sıraya göre aktive edilmesi ile sürer ve fibrin oluşumu ile sonlanır. Fibrin, primer hemostatik tıkaçı pekiştirir ve damar çeperindeki defektin tekrar açılarak yeniden kanama oluşturmasını önler. Sekonder hemostaz daha büyük damarlardan olan kanamanın durdurulmasında önemli rol oynar.



Şekil 4. Sekonder Hemostaz (http-3)

Pıhtılaşma (Koagülasyon) Mekanizması

Pıhtılaşma; trombositlerin aktive edilmesine ve onlar ile, çoğu plazmada bulunan pıhtılaşma faktörleri adlı özel proteinlerin etkileşmesine ve ayrıca pıhtılaşma faktörlerinin kendi aralarında belirli hiyerarşik düzene göre etkileşmelerine bağlı kompleks bir olay zinciridir (Kayaalp, 2012).

Trombositler önce hasarlanmış kan damarının subendotelyal bölgelerindeki makromoleküllere yapışır; daha sonra primer hemostatik tıkaçı oluşturmak için kümelenirler. Trombositler plazma koagülasyon faktörlerinin lokal aktivasyonunu stimüle ederek trombosit kümelerini güçlendiren bir fibrin pıhtının oluşumuna yol açarlar. Daha sonra yara iyileşmesi olurken, trombosit kümeleri ve fibrin pıhtı erir (Brunton ve ark., 2005).

Koagülasyon üç ana basamakta meydana gelir:

1. Protrombin aktivatörünün oluşması,

2. Protrombin aktivatörünün kalsiyum iyonlarının varlığında protrombinden trombin oluşturması,

3. Trombinin fibrinojene etki ederek fibrin iplikleri oluşturması. Son aşamanın ardından fibrin iplikleri trombositler, kan hücreleri ve plazmayı da içine alarak pıhtıyı oluşturur.

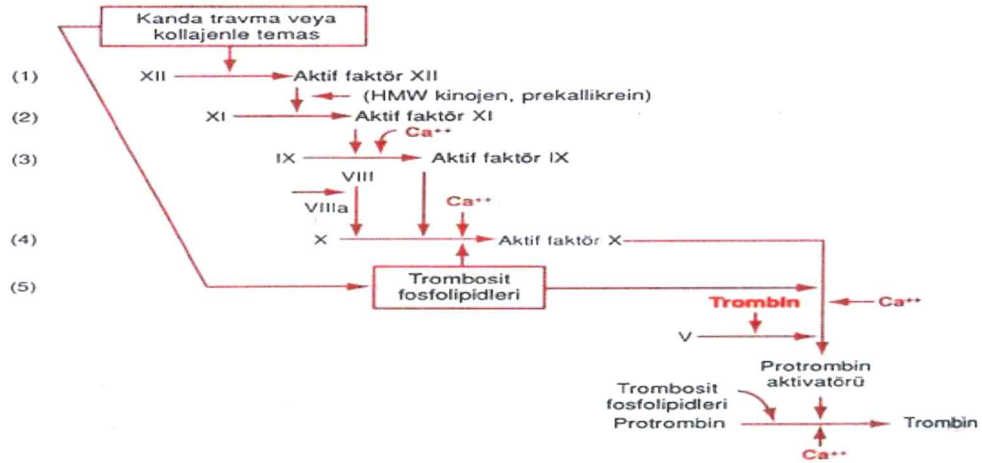
Protrombin aktivatörünün oluşumu genellikle kan pıhtılaşmasında hız sınırlayıcı faktördür, çünkü bu noktadan sonraki basamaklar pıhtı oluşturmak için hızlı bir şekilde gelişir (Guyton ve Hall, 2007).

Pıhtılaşmadaki temel olay çözünen fibrinojenin trombin tarafından çözünmeyen fibrine dönüştürülmesidir (Rang ve ark., 2003). Kan pıhtısının ağ şeklindeki çatısını yapan ve bir glikoprotein olan fibrin oluşumundan sorumlu olan trombin pıhtılaşmada anahtar rolü oynar (Süzer, 2005). Trombin oluşturan pıhtılaşma mekanizması, birbiriyle ilişkili iki ayrı yoldan meydana gelir-intrinsik ve ekstrinsik sistemler (Mycet ve ark., 2001).

Pıhtılaşma olayının başlatılması in vitro ve in vivo durumda farklılık gösterir, olay zincirinin başlangıcından sonraki kısmı her iki durumda da aynıdır. Bu nedenle pıhtılaşma kaskadında üç yolak ayırt edilebilir: i) in vitro (tüp içindeki) kanın pıhtılaşmasının başlangıcını teşkil eden intrinsik yolak, ii) in vivo pıhtılaşmanın başlangıcını teşkil eden ekstrinsik yolak, iii) bunları izleyen ortak yolak.

İntrinsik Yolak

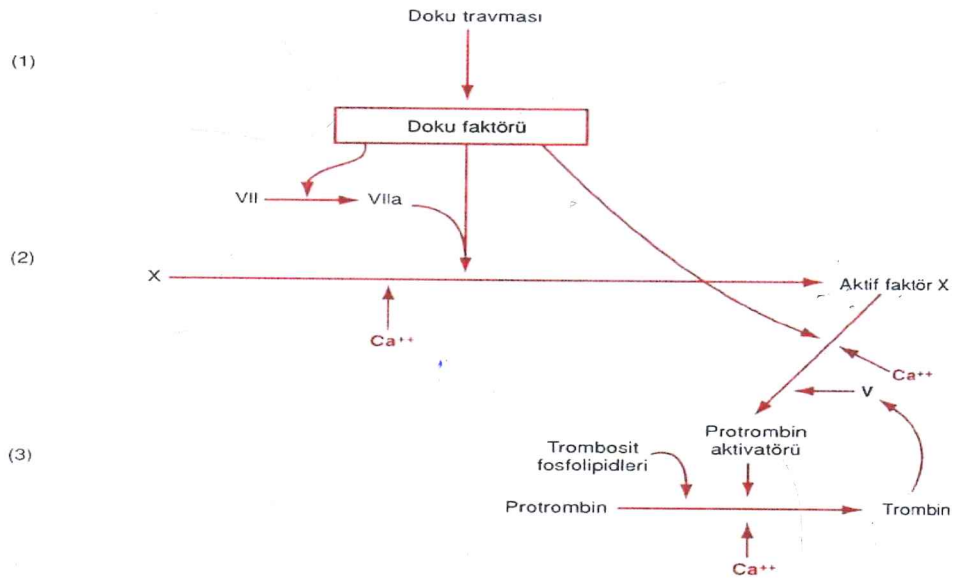
İntrinsik yolak vasıtası ile olan pıhtılaşma in vitro koşullarda XII, prekallikrein ve yüksek molekül ağırlıklı kininojen kaolin, cam veya diğer yüzeylerle etkileşmesiyle başlar ve az miktarda XIIa oluşur (Brunton ve ark., 2005). Faktör XIIa; Ca^{++} ve basamağa özgü kofaktör ve yüzeylerin katkısı ile faktör XI'i, faktör XIa'ya çevirir. Daha sonra faktör XIa; faktör IX'u, faktör IXa'ya çevirir. Bu şekilde oluşan faktör IXa; faktör X'u, faktör Xa'ya çevirir. Kaskad, bundan sonra ortak yolakla devam eder (Kayaalp, 2012).



Şekil 5. İntrinsik yolak (http-5)

Ekstrinsik Yolak

Pıhtılaşma in vivo olarak ekstrensek yolakla başlatılır (Brunton ve ark., 2005). Ekstrensek sistem, doku kaynaklı bir lipoprotein (faktör III, doku tromboplastini) etkisiyle faktör VII'nin (serum protrombin konversiyon akseleratörü, prokonvertin) faktör VIIa'ya dönüşümü ile başlar (Lüllmann ve ark., 2005). Faktör VII karaciğerde yapılan K vitaminine bağımlı bir faktördür. Faktör VIIa doku faktörünün yardımıyla faktör X'u, faktör Xa'ya dönüştürür. İntrinsik yolak üzerinden oluşan koagülasyon dakikalarca sürerken, ekstrinsik yolak üzerinden oluşan saniyelerle ölçülecek kadar kısa zamanda tamamlanır (Kayaalp, 2012). Doku faktörü, faktör X'un VIIa, fosfolipidler ve Ca^{+2} aracılığı ile olan aktivasyonunu yaklaşık 30000 kat hızlandırılır. Aynı zamanda VIIa, doku faktörü varlığında IX'u aktive edebilir ve böylece ekstrensek ve intrinsik yollar arasında bir yakınlaşa sağlar (Brunton ve ark., 2005).



Şekil 6. Ekstrinsik yolak (http-5)

Ortak Yolak

Her iki mekanizma da faktör X (Stuart faktörü) üzerinden ortak bir yolda birleşir (Lüllmann ve ark., 2005). FXa, aktive FV, kalsiyum ve fosfolipid (protrombinaz kompleks) varlığında protrombin trombin'e dönüştürülür. Trombin ise fibrinojenin fibrine dönüşmesini sağlar (http-4).

Fibrinolizis

Fibrinoliz (tromboliz), pıhtılaşma sonucu oluşan fibrin'in kimyasal parçalanması suretiyle pıhtının erimesi olayıdır. Fibrinin eritilmesi plazmin (fibrinolizin) adlı proteolitik enzim tarafından yapılır. Normal durumlarda plazmin plazmada plazminojen adı verilen prekürsör halinde bulunur (Kayaalp, 2012). Plazminojen dokuda bulunan plazminojen aktivatörleri ile enzimatik olarak plazmine dönüştürülür. Plazmin pıhtının büyümesini kontrol eder ve yaranın iyileşmesi için fibrin ağını çözer (Howland ve Mycet, 2006).

Koagülasyon Sisteminin Düzenlenmesi

Aktivatör ve inhibitör mekanizmaların koagülasyon kaskadını çok sıkı bir şekilde denetlemesi gereklidir. Aksi halde vücudumuzda bulunan tüm kan, hemostaz mekanizmasının başlamasından sonraki dakikalar içerisinde katılaşır (Rang ve ark., 2003). Hemostazın belirli bir bölgede sınırlı kalmasını bu sistemi inhibe eden faktörlerin devreye girmesi sağlar (http-4).

Antitrombin III (AT III)

AT III alfa-2 globulin olup karaciğerde sentezlenir. Antitrombin III; trombin, faktör Xa, IXa ve XIIa ve kalikrein gibi intrinsik ve ortak yolağa katılan pıhtılaşma faktörlerini inhibe eder. AT III tarafından trombinin ve faktör Xa'nın hızlı bir şekilde inhibisyonu için heparin gereklidir (Kayaalp, 2012). Heparin-AT III kompleksinin bu etkisi heparinin etkin bir antikoagulan ilaç olarak kullanımının temelini oluşturur.

Protein C

Protein C ve S, doğal antikoagulan sistem olarak işlev gören K vitaminine bağımlı plazma proteinleridir (http-6). Protein C , II, VII, IX ve X ile homoloji gösteren bir plazma zimojenidir; aktivitesi amino ucundaki Gla rezidülerine Ca⁺² un bağlanmasına dayanır. Enzimatik olmayan Gla-içeren kofaktörü (protein S) ile aktive edilen protein C, kofaktör Va ve VIIIA'yı yıkarak protrombin ve faktör X aktivasyon oranını büyük ölçüde azaltır (Brunton ve ark., 2005).

Heparin kofaktör II (HK-II)

Spesifik bir trombin antagonisti olan plazma proteinidir. Antitrombin III gibi, aktivasyonu için heparine gereksinim vardır.

Lipoproteine eşlik eden koagülasyon inhibitörü

Plazmanın lipoprotein fraksiyonu içinde bulunur; faktör Xa'yı ve faktör VIII'in aktivasyonunu inhibe ederek antikoagulan etkinlik oluşturur (Kayaalp, 2012).

Trombus Oluşumu ve Risk Faktörleri

Etyoloji

Damar içinde tromboz eğiliminin belirlenmesinde veya trombozun meydana gelmesinde, damar çeperinin durumu yanında, trombositlerin aktivasyonu, pıhtılaşma faktörleri ve bazı reolojik faktörler rol oynar (Kayaalp, 2012).

Diyabet, hipertansiyon, sigara kullanımı, hormonal tedaviler gibi çeşitli faktörler hemostazın bozulmasında rol oynamakta hem arteriyel hem de venöz sistemlerde tromboz oluşum risklerini artırmaktadır (Lane ve Grant, 2000). Vücudumuzdaki koagülasyon sisteminde yer alan elemanlarla ilgili meydana gelen mutasyonlarında tromboza neden olabileceği bilinmektedir (Gülbahar, 2010).

Risk faktörleri şu şekilde sıralanabilir:

Cerrahi girişimden sonra immobilize hastalar (özellikle ortopedik girişimden sonra)

Kronik konjestif kalp yetmezliği

Aterosklerotik kalp hastalıkları

Neoplastik hastalıklar

Gebelik (Kayaalp, 2012).

Demografik risk faktörleri: yaş, cinsiyet ve ırk

Travma

İmmobilizasyon

Geçirilmiş venöz tromboemboli hikayesi

Primer hiperkoagülasyon durumları: Protein C, protein S eksikliği, faktör V Leiden mutasyonu gibi.

Oral kontraseptif kullanımı ve hormonal replasman tedavileri

Diğer (antifosfolipid antikorları, inflamatuvar barsak hastalıkları, obezite, vb)

Tromboz Patogenezi

Trombusun oluşumu hemostaz durumuna benzer ancak damar içinde olur.

Virchow 1856 yılında trombus oluşumunda temel mekanizma olarak damar hasarı, vasküler staz ve hiperkoagülabileiteyi tanımlamıştır.

Damar Hasarı (Endotel Yaralanması)

Damarların iç yüzeyini saran kaygan ve parlak bir epitel olan endotelin, damarda kanın serbestçe akabilmesi için pürüzsüz olması gerekmektedir. Aynı zamanda endotel hücreleri kanın damar içerisinde pıhtılaşmasını önleyen bazı maddeler salgılar. Orta ve birçok arterlerde ateroskleroz oluşması, hipertansiyon, fiziksel etkenler; (travma, elektrik akımı vb), kimyasal etkenler (sigara dumanı deriveleri, hiperkolesterolemi vb), bakteri toksinleri, kalp duvarının beslenememesi sonucu gelişen miyokard infarktüsü gibi etkenler endotel örtüsünde değişikliklere sebep olarak ya da damar duvarında hasar oluşturarak trombus gelişmesine yol açmaktadır. Endotelde hasarına bağlı trombus oluşumundaki ilk sıra arter ve ven duvarlarında oluşan iltihaplar gelmektedir.

Yukarıdaki etkenler sebebiyle bozulan endotelin altındaki dokuya trombositler gelir ve kümeleşmeye başlarlar. Lökositler de bu trombosit kümelerine tutunurlar. Hasar görmüş endotelde ve trombositlerden çıkan bazı maddeler pıhtılaşma mekanizmasını harekete geçirerek trombus oluşumunu hızlandırır.

Vasküler Staz (Kan akımında yavaşlama)

Trombusun oluşmasına sebep olan önemli bir neden de kan akımının yavaşlamasıdır. Kan damarda dolaşırken kanın şekilli elemanları içten dışa doğru sırasıyla lökositler, eritrositler, trombositler olmak üzere sıralanır. Kan akım hızı endotele yakın olan kısımda yavaştır ve burada kanın şekilli elemanları bulunmaz. Laminar akım bu şekilde oluşmaktadır. Çeşitli sebeplerden dolayı kan akım hızı yavaşlar ve oluşan laminar akım bozulur. Trombositler endotel hücrelerine doğru hareket eder ve endotelde bir yaralanma var ise yaralanma olduğu yere toplanmaya başlar ve kümeler oluşturur. Kan akım hızı yavaşladığında en içteki lökositler en dıştaki trombositlere yaklaşır ve yapışır. Trombositler parçalanması sonucu ortaya çıkan maddeler pıhtılaşma mekanizmalarını hızlandırarak trombus oluşumuna sebep olur. Laminar akımda venlerdeki kan akım hızı arterlerdeki kan

akım hızından daha hızlıdır. Kan akımı yavaşladığı zaman venlerdeki akım daha fazla etkilenir ve trombus oluşumu venlerde daha fazla rastlanır

Bacak kaslarının hareketi, alt taraftan kalbe kan gitmesini sağlayan venlerdeki kan akımını etkiler. Herhangi bir sebepten dolayı uzun süre kıpırdamadan yatan hastalarda alt taraf venalarında kan akımının yavaşlaması ven trombozu oluşumuna neden olabilmektedir.

Myokard infarktüsünde ve romatizmal mitral stenozda kan akımının yavaşlaması nedeniyle trombus oluşumuna sık rastlanır. Hem staza ve hem de girdaba bağlı trombus oluşumu ise aorta ve arter anevrizmalarında ve variköz venlerde meydana gelir.

Hiperkoagülabilité (Kanın Pıhtılaşma Yeteneğinin Artması)

Normal kan plazmasının biyokimyasal yapısı ve heparinin varlığı, kanın fibrinolitik aktivitesi vb. kanın pıhtılaşmasına engel olan faktörler sebebiyle damarlarda dolaşan kan pıhtılaşmaz. Damar duvarında hasar gördüğünde kanamayı durdurmak için faktörlerin sebep olduğu birtakım fizyolojik mekanizmalar kanın pıhtılaşmasını sağlar. Kanın pıhtılaşma yeteneğinin artmasıyla beraber trombus oluşumunda kolaylaşmaktadır.

Antitrombin III eksikliği, Protein C ve Protein S eksikliği, aktive protein C rezistansı (Faktör V Leiden polimorfizmi), Protrombin 20210A polimorfizmi, hiperhomosisteinemi, displazminojenemi, disfibrinojenemi, yüksek plazminojen aktivatör inhibitör (PAI) düzeyleri (PAI-1 4G/5G polimorfizmi) ve artmış faktör VIII düzeyleri kalıtsal hiperkoagülabilité oluşumundan sorumlu iken, edinsel hiperkoagülabilité nedenleri arasında ise antifosfolipid antikorların varlığı, trombositemi, disproteinemi, heparinin indüklediği trombositopeni, östrojen tedavisi, malignansi, hamilelik, yatak istirahati, ameliyat, travma sayılabilir (Şamlı ve ark., 2011).

Günümüzde venöz trombus ile kalıtsal faktörler sebebiyle kanın pıhtılaşma yeteneğinin artması arasındaki ilişki kurulmuşken, arteriyel trombozun oluşmasında ise aterosklerozun rolü olduğu öne sürülmektedir (Şamlı ve ark., 2011).

Trombus oluşumuna neden olan faktörler içerisinde en önemlisi endotel yaralanmasıdır. Ancak sayılan bu faktörlerin aynı kişide bir arada bulunması trombozis riskini arttırmaktadır.

Trombus Tipleri

Tromboz düşük kan akışı hızı ve basıncın olduğu venöz sistemde oluşan *venöz tromboz* ve yüksek kan akış hızı ile basıncın olduğu arter sisteminde oluşan *arteriyel tromboz* olmak üzere temelde iki sınıfa ayrılabilir.

Trombusun birleşimini belirleyen faktör, onun oluştuğu yerdeki kan akımının niteliğidir. Bu nedenle venlerde ve arterlerde oluşan trombuslar arasında, oluşma mekanizması, bileşim ve diğer nitelikler bakımından önemli farklar vardır (Kayaalp, 2012). Venöz sistemde meydana gelen trombus fibrin yönünden zenginken arteriyel sistemde meydana gelen trombus trombosit yönünden zengindir ayrıca arteriyel tromboz genelde damar duvarı hasarına yanıt olarak oluşur (Lane ve Grant, 2000).

Kırmızı trombus da denilen venöz trombozda trombositlerin rolü azdır ve pıhtılaşma faktörleri önemli rol oynamaktadır. Damar çeperi hasar görmemiştir (Kayaalp, 2012).

Venöz tromboz, yaş, genetik faktörler ve çevresel faktörlerin etkileşimi ile oluşan multifaktöriyel bir hastalıktır. Hareketsizlik, cerrahi müdahale, travma, oral kontraseptif kullanımı, hormon tedavisi, hamilelik ve malignansiler venöz tromboz oluşumundaki çevresel veya kazanılmış risk faktörleridir (Rogier ve Bertina, 2001).

Venöz trombozun çepere yapışan kafa kısmından başka, lumen içinde sallanan kuyruk kısmı vardır; bu kısım kolayca koparak akciğere taşınır ve orada emboliye neden olur. Kalp boşluklarının çeperinde oluşan trombuslar venöz tiptekine benzer (Kayaalp, 2012).

Venöz trombuslar sıklık sırasıyla, derin baldır venleri, femoral, politeal ve iliak venlerde görülür (Doğruer, 2011).

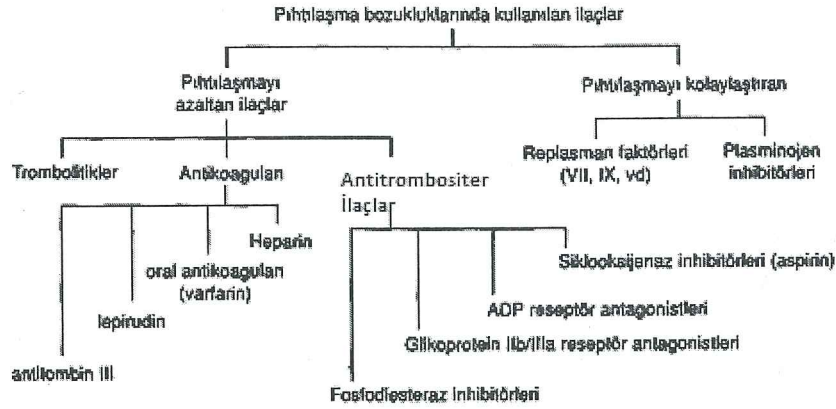
Beyaz trombusta denilen arteriyel trombus (beyaz trombus) oluşmasında, endotel bütünlüğünün bozulması ve arter yüzeyinin ateroskleroza bağlı lezyonlar (ateroskleroz plağının yırtılması ile ülser oluşması gibi) tarafından bozması sonucu trombositlerin aktive olmasıdır. Arteriyel trombus ya bulunduğu segmentte kan akımını kısmen veya tamamen tıkayarak ya da arter içindeki hızlı kan akımının sürtünme kuvvetiyle kopardığı trombus parçalarının ilerideki bir ater dalını tıkaması sonucu kalıcı veya geçici lokal iskemiye neden olur (Kayaalp, 2012).

Arteriyel trombuslar, geniş hacimli kalp boşlukları ya da aortada oluştuğunda bu yapının bir duvarına bitişik olarak yerleşir bunlara *murol trombus* denir. Daha küçük arterlerde trombus, hızla lümeni tıkayacak kadar büyür ve buna da tıkayıcı trombus denir. En sık tutulum yerleri sırası ile koroner, serebral, femoral, iliak, poptelial mezenterik arterlerdir. Arteriyel trombuslar aktif kan akışı olan yerlerde olurlar (Doğruer, 2011).

Arteriyel trombotik hastalıkların başında miyokardiyal infarkt ve inme gelmektedir. Hareketsizliğe alışık fazla kilolu toplumlarda miyokardiyal infarkt vakalarındaki artış, arteriyel trombotik hastalıklar için çevresel etmenleri vurgulasa da genetik yapının da hastalığın ortaya çıkışında rolü olduğu düşünülmektedir.

Antitrombotik İlaçlar

Antikoagülan ve antitrombotik ilaçlar trombus oluşmasını ve gelişmesini inhibe ederken, fibrinolitik ilaçlar pıhtı oluşumunu eritir. Bu ilaç grupları antitrombotik ilaçları oluşturur (Aynacıoğlu ve ark., 2014).



Şekil 7. Antikoagülan İlaçlar (http-7)

Antikoagülan İlaçlar

Antikoagülan faktör etkinliğini artırarak ve pıhtılaşma faktörlerinin etkinliğini veya sentezini bozarak pıhtılaşma olayını inhibe eden ve böylece kanın koagülasyon yeteneğini azaltan ilaçlardır (Kayaalp, 2012).

Antikoagülan ilaçlar, kimyasal, farmakodinamik ve farmakokinetik farklılıkları olan heparin ve benzeri ilaçlar ve oral antikoagülanlar olarak ikiye ayrılırlar (Aynacıoğlu ve ark., 2014).

Bunlardan başka Lepirudin ve insan antitrombin III olmak üzere iki antikoagülan protein vardır. Lepirudin, sülügün salgıladığı hirudinin rekombinant formudur (http-7).

Antikoagülan ilaçlar, dolaşımın yavaş olduğu venlerde, dolaşımın hızlı olduğu ve venlerde oluşan trombuslara göre daha fazla trombosit içeren arterlere kıyasla daha etkilidir. Bu nedenle, bacaklardaki derin ven trombozlarının önlenmesi ve tedavisinde yaygın olarak kullanılırlar (Aynacıoğlu ve ark., 2014; http-7).

Heparin

Heparin düzgün zincirler oluşturan anyonik glikozamin, glukronik ve iduronik asit karışımıdır. Sülfat ve karboksilik asit gruplarının varlığı nedeniyle güçlü asidik özellik gösterir. İlaç olarak kullanılan formu domuz bağırsaklarından veya sığır akciğerlerinden elde edilir (Howland ve Mycet, 2006). Bu özelliğinden dolayı heparin katyonik nitelikteki ilaçlarla veya protein ve diğer doğal maddelerle kolayca birleşip kompleks yapabilir.

Heparini kullanımı bakımında kısıtlayan dört önemli sakıncası vardır:

-Terapötik indeksi düşüktür.

-Antikoagülan etkisi duruma göre değişkenlik gösterir, bu özellik etkisinin öngörülmesini güçleştirir. Bu olayın nedeni; heparinin, plazma proteinlerine ve aktive edilen trombositlerle endotel hücrelerinden salıverilen proteinlere bağlanarak kısmen nötralize edilmesidir. Bunların salıverilmesi tromboembolitik olaylar sırasında artar ve daha fazla heparin etkisiz duruma getirilmiş olur.

-Heparinin, etki mekanizması kısmında açıklandığı gibi zayıf da olsa koagülasyon yapma eğilimi vardır.

-İmmün trombositopenik purpura yapar.

Etki mekanizması

Heparin'in antikoagülan etkisi hem in vivo hem de in vitro koşullarda oluşur ve hemen ortaya çıkar (Kayaalp, 2012).

Heparin hızlı bir şekilde endojen bir plazma proteaz inhibitörü olan antitrombin III'e bağlanarak Faktör X ve II 'nin aktif formlarına karşı indirekt antikoagülan etki gösterir (Howland ve Mycet, 2006).

Böylece heparin aktive ettiği AT III aracılığı ile, trombinin fibrinojen üzerindeki etkisini hem doğrudan doğruya hem de aktif trombin oluşmasını azaltarak inhibe eder; sonuçta fibrinojenin fibrine dönüşmesi engellenmiş olur.

Heparin fizikokimyasal özelliği ve damar endotelinde fazla oranda birikmesi nedeniyle, damar çeperine güçlü bir elektronegatif yük bindirir. Bu da heparinin damar endoteli üzerinde pıhtı oluşmasını engellemesine katkıda bulunur (Kayaalp, 2012).

Heparinin başka özelliği de artık bir sitokin olarak kabul edilen ve inflamasyon mediatörleri arasında yer alan solubl fosfolipaz A₂'nin bazı izoformlarını inaktive etmesidir (Howland ve Mycet, 2006).

Heparin, antitrombin ile birlikte trombositlerin agregasyonlarını önleyebilir. Bu özelliği de onun onun antikoagülan etkisine ikincil bir katkı yapar.

Düşük ya da çok düşük dozda uygulanan heparin'in kan pıhtılaşma zamanında belirgin bir uzama yapmadan antitrombotik etki yaptığı gösterilmiştir.

Heparin Dozunun Titre Edilmesi (İzlenmesi)

UFH (yüksek molekül ağırlıklı heparin) kullanan hastada aktive edilmiş parsiyel tromboplastin zamanı (aPTZ, aPT süresi) yakından izlenmelidir. UFH düzeyi protamin titrasyonu (terapötik düzey 0.2-0.4 ünite/ml) veya anti-Xa ünitesi terapötik düzey 0.3-0.7 ünite/ml) ile de belirlenebilir. DMA heparin dozu vücut ağırlığına göre ayarlandığında, böbrek fonksiyonu normal hastada farmakokinetik etkisi ve plazma düzeyi tahmin edilebilir. Bu nedenle böbrek yetmezliği, obezite ve gebelik gibi durumlar dışında DMA heparin düzeyi genellikle ölçülmez. DMA heparin düzeyi anti-Xa ünitesi ile belirlenebilir. Doruk terapötik düzey günde iki kez verildiğinde, uygulamadan 4 saat sonra yapılan ölçüm sonucunda 0.5-1 ünite/ml arasında, günde tek doz şeklinde verildiğinde ise yaklaşık 1.5 ünite/ml olmalıdır (Katzung ve ark., 2014).

Uygulama Şekilleri

Heparin sindirim kanalından absorbe edilmez. Sadece parenteral yoldan kullanılır (Kayaalp, 2012). Heparinin tedavi uygulaması subkutan (DMAH'lerde) ve intravenöz yolla olmaktadır (http-8).

Heparin, hemen başlayan antikoagülasyon sağlamak için i.v. verilir. Derin ven trombozu (DVT) ve ona bağlı akciğer embolizmi ile benzeri tromboembolik olayların tedavisi için genelde, heparin, düşük molekül ağırlıklı heparinlere tercih

edilir. Bu durumlarda heparin başlangıçta 5000 ünitelik yükleme dozunda (ağır olgularda 10000 U) i.v. enjeksiyonla verilir, ardından hemen 15-25 ünite/kg/saat hızında sürekli i.v. infüzyona başlanır ve infüzyon istenilen sürece devam edilir (Kayaalp, 2012).

Cilt altına enjekte edildiğinde, aynı dozun i.v. verilmesine göre etkisi daha az olabilir. Cilt altına uygulama profilaksi için kullanılabilir.

Düşük Molekül Ağırlıklı Heparin (DMAH)

Ortalama molekül ağırlığı 5000 Da olup anfraksiyone heparinin depolimerizasyonu ile elde edilir (antikoagülan). DMAH'ler standart heparinin yararlılığını artırmak ve sakıncalarını azaltmak amacıyla 1980'lerde yapılmıştır (Kayaalp, 2012).

Trombini Faktör X_a'ya göre daha az inhibe etmeleri, subkutan olarak kullanıldığında biyoyararlanımlarının yüksek olması, yarılanma ömürlerinin daha uzun olması, plazma proteinleri ve endotel hücrelerine, makrofajlara daha az bağlanmaları, günde tek veya iki doz olarak kullanılabilmeleri, özel koşullar dışında laboratuvar izlemi gerektirmeden devamlı antitrombotik etki göstermeleri, trombosit Faktör 4'e daha az bağlanmaları, HIT (Heparine bağlı immün trombositopeni) daha az sıklıkla görülmesi, osteoklast aktivasyonu ve osteopeni sıklığının daha az olması, DMAH'lerin (dalteparin, enoksaparin, nadroparin, parnaparin, tinzaparin, bemiparin, reviparin ve sertoparin) standart heparine üstünlükleridir (http-8, Kayaalp, 2012).

Venöz tromboembolinin önlenmesi ve tedavisinde DMAH'ler oldukça etkilidirler. Pek çok tromboemboliye bağlı kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde yararlanılmaktadırlar (http-8).

Heparinoidler ve direkt faktör X_a ve trombin inhibitörleri

Heparinoidler

Yarı sentetik olarak üretilen heparin benzeri ilaçlardır. Bu gruptan halen klinik kullanıma girmiş olan, danaparoid sodyum'dur. Genel ve ortopedik cerrahide derin ven trombozu profilaksisi için, çapraz reaktivite olduğunu gösteren bir kanıt bulunmaması koşuluyla tip 2 trombositopeni oluşturan hastalarda heparinler yerine kullanılır.

Fondaparinuks

Faktör X_a 'nın sentetik ve spesifik inhibitörüdür. Antitrombin III' ün faktör X_a 'yı inhibe etme gücünü 300 kez artırır (Süzer, 2005). Bacaklarda yapılacak büyük ameliyatlarda, karında büyük ameliyat yapılanlarda ve akut hastalıklara bağlı olarak uzun süreli immobilizasyon yapılacak dahiliye hastalarında, venöz tromboembolizmin önlenmesi için ameliyattan sonra başlanarak cilt altına enjeksiyonla 6 saatte bir 2.5 mg verilir. Uygulama 5-9 gün sürdürülür (Kayaalp, 2012).

Hirudin

Hirudo medicinalis (sülük) uzun yıllar cerrahlar tarafından tromboliz için kullanılmıştır. Bu etkinin aktif maddesi hirudin bir spesifik trombin inhibitörüdür.

Hirudin rekombinant olarak üretilmiş ve lepirudin adıyla ilaç olarak parenteral kullanım için piyasaya sunulmuştur (Süzer, 2005).

Lepirudin antikoagülan tedavi gereken, ancak heparine bağlı tip II (immün tipe) trombotopeni olduğu için heparin uygulanamayan hastalarda kullanılır (Kayaalp, 2012). Lepirudin trombotopeniye ve kanama zamanına etkisi yoktur (Süzer, 2005).

Dabigatran eteksilat

Ağız yolundan verilen bir direkt trombin inhibitörüdür. Etkisi çabuk başlar ve izleme yapmak gerekmez. Erişkinlerde total kalça ve total diz replasmanı ameliyatından sonra venöz tromboembolizm profilaksisi için günde bir kez ağızdan 110-220 mg dozunda 9 gün kullanılır. En sık görülen yan tesiri kanamadır (Kayaalp, 2012).

Melagratın ve ksimelegratın

Tromboembolitik hadiselerin tedavisinde oral yolla kullanılmak üzere araştırılmakta olan bir trombin inhibitörüdür. Ksimelegratın, melagratının ön ilacıdır.

Argatroban ve bivalirudin

Antitrombin III 'e gereksinimi olmadan trombini inhibe ederler. Hem trombine hem de fibrine bağlı (pıhtılaşmış) trombine bağlanırlar, iv infüzyonla kullanılırlar (Süzer, 2005).

Oral antikoagülanlar

Heparin'den farklı olarak pıhtılaşma faktörlerinin fonksiyonlarını değil, onların karaciğerde yapılanlarının sentezini bozarlar ve bu şekilde dolaylı antikoagülan etki yaparlar. Heparine göre üstünlükleri ağız yolundan alınmaları ve sentez suretiyle üretildiklerinden görece ucuz olmalarıdır. Koagülasyonun hemen inhibisyonu gereken durumlarda işe yaramazlar; etkileri tedaviye başladıktan sonra en az 24 saatlik bir latent sürenin ardından belirlemeye başlar. Aynı şekilde, tedavi kesildikten sonra etkileri hemen kaybolmayıp bir kaç gün daha devam eder (Kayaalp, 2012).

Oral antikoagülan tedavi için başlıca indikasyon derin ven trombozu'dur. Oral antikoagülanlar, beyin trombozunda veya periferik arter tıkanmasında birinci sıradaki tedavi olarak kullanılmamalıdır (Aynacıoğlu ve ark., 2014).

Oral antikoagülanlar kimyasal yapılarına göre kumarin türevleri ve indandion türevleri olarak iki gruba ayrılırlar. Kumarin türevi ilaçlar varfarin, dikumarol, nikumalon etilbiskumasetat, fenprokumandır ve bunlardan en çok tercih edilen varfarindir (Süzer, 2005). İndandion türevi ilaçlar ise fenindion ve difenadion'dur (Kayaalp, 2012).

Etki mekanizması

Faktör II, VII, IX ve X karaciğerde sentezlenirler, ancak sentezlendikleri zaman inaktiftirler. Bu pıhtılaşma faktörlerinin aktif hale geçebilmeleri için glutamik asit rezidülerinin karboksillenmesi gerekir. γ -karboksilasyon denilen bu reaksiyonda redükte K vitamini kofaktördür ve reaksiyon tamamlandığında K vitamini epoksit formuna dönüşür. Vitamin K epoksit redüktaz, K vitamini epoksit formuna

dönüşür. Vitamin K epoksit redüktaz, K vitaminini eski redükte haline dönüştürür. Varfarin, epoksit redüktazın inhibitörüdür (Süzer, 2005).

Bu ilaçlarla tedavi edilenlerde plazmada, koagülasyon faktörlerinin karboksillenmemiş prekürsörlerinden oluşan ve PIVKA (proteins induced by vitamine K absence) denilen proteinler ortaya çıkar.

Oral antikoagülan uygulanmaya başlandığı zaman, plazmadaki daha önce sentez edilip tam olarak karboksillenmiş pıhtılaşma faktörleri bu ilaçtan etkilenmezler. Bu nedenle önceden sentezlenmiş faktörler yıkılıp belirli bir düzeyin altına inene kadar antikoagülan etki ortaya çıkmaz.

Dozlamın Ayarlanması ve İzlenmesi

Bu ilaçların antikoagülan etkisi doza bağımlı olarak gelişir. Antikoagülan etkinin ve dolayısıyla dozun yeterli olup olmadığı plazmada protrombin ve diğer pıhtılaşma faktörlerinin konsantrasyonunu ölçmeye olanak veren testlerle kantitatif olarak değerlendirilir. İlaçların güvenlik indeksi ufak olduğu ve dozun biraz fazla olması bile spontan kanamalara neden olduğu için dozun iyi titre edilmesi ve izlenmesi gerekir.

Değerlendirme, kan protrombin zamanı (PZ) üzerinden yapılır. Pz'yi ölçmek için en sık kullanılan test tek- basamaklı protrombin zamanı testi (Quick testi)'dir. Bu test esas olarak faktör VII düzeyindeki değişmeyi yansıtır. Normalde tek basamaklı Quick testi ile protrombin zamanı yaklaşık olarak 12 saniye kadardır. Eğer sözkonusu testi yapmak için yeterli laboratuvar olanağı yoksa oral antikoagülanlara kesinlikle başlanmamalıdır.

Oral antikoagülanlarla tedavi sırasında protrombin zamanındaki artma oranının, uluslararası normalleştirilmiş oran (INR) üzerinden değerlendirilmesi yoluna gidilir.

INR= (İlaç alan hastadaki PZ/ortalama normal kontrol PZ) ^{uluslararası duyarlılık indeksi}

Farmakokinetik özellikleri

Bu ilaçlarla tedavide önemli olan, hastaların ilaca çok farklı cevaplar vermeleridir. Bu farklılığın nedeni, ilaçların farmakokinetiğinin kişiler arasında fazlaca değişkenlik göstermesidir.

Farmakokinetikteki değişkenliğin nedenleri şunlardır:

Varfarinin ortalama oral biyoyararlanımı %90'nın üstünde olması ve oldukça fazla değişkenlik göstermesi, bu ilaçların, karaciğerde büyük ölçüde metabolize edilmek suretiyle inaktive edilmesi, enzimlerle yıkılma hızları bireyler arasında fazla değişkenlik göstermesi, biyotransformasyonları karaciğerde CYP2C9 ve daha küçük bir oranda CYP3A4 ve CYP1A2 enzimleri tarafından yapılması, ilk enzimin belirgin genetik polimorfizm göstermesi, bazı kimselerde genetik kaynaklı ilaç rezistansı durumu bulunması farmakokinetik değişkenliğin nedenlerdendir.

Yukarıda açıklanan sebeplerden dolayı oral antikoagülanlarla tedavide doz bireye göre ayarlanmalıdır (Kayaalp, 2012).

Varfarinin sodyum tuzu oral yolla alındıktan sonra tam olarak ve hızla emilir. Gıdalar emilimi geciktirebilirler ancak emilim oranına etki olmaz. Varfarin %99

oaranında plazma albuminine bağlanır ve bu nedenle serebrospinal sıvı, idrar ve anne sütüne geçemez. Ancak sülfonamidler gibi varfarinin bağlanma bölgesine daha yüksek afinitesi olan ilaçlar ilacı albuminden ayırarak geçici olarak etkisini artırabilirler. Plasental bariyeri rahatlıkla geçer.

Varfarin, inaktif ürünlere dönüşür ve glukronik aside bağlandıktan sonra idrar ve bağırsaklar yoluyla atılırlar (Süzer, 2005).

Yan Tesirleri

Kanama (aşırı dozda), alopesi, dermatit ve ürtiker yapabilir (Aynacıoğlu ve ark., 2014). En sık görülen kanama şekillerinden biri hematüridir (Kayaalp, 2012). Hafif kanamalar ilacın bırakılmasıyla ve oral K vitamini uygulamasıyla tedavi edilebilir; ağır kanamalar intravenöz yüksek dozlarda K vitamini gerektirir. Kanamayı durdurmak amacıyla tam kan, taze donmuş plazma veya konsantre pıhtılaşma faktörleri uygulanabilir (Süzer, 2005). Gebelerde teratojenik etkileri nedeniyle kontrendikedir (Aynacıoğlu ve ark., 2014).

İlaç Etkileşimleri

CYP2C9, CYP3A4 ve CYP1A2 enzimlerini indükleyen barbitüratlar, fenitoin, karbamazepin ve diğer bazı antiepileptik ilaçlar, kumarin türevi antikoagülanların etkilerini azaltırlar. Ayrıca bazı asidik ilaçlar (aspirin, fenilbutazon, diklofenak, azopropazon ve diğer bazı nonsteroidal anti-inflamatuvar ilaçlar, sülfonilüreler, uzun etki süreli sülfonamidler gibi) kumarin türevi oral antikoagülanları plazma albümin molekülleri üzerinden atarak serbestleştirirler; antikoagülan etkinin şiddetini artırır, süresini kısaltırlar. Kloramfenikol, ketakonazol ve diğer azol antifungaller, makrolid antibiyotikler, SSRI tipi antidepresanlar, verapamil, diltiazem, amiodaron, simetidin ve omeprazol karaciğer enzimlerini inhibe ederek kumarin türevlerinin yıkımını azaltır. Ayrıca kloramfenikol, tetrasiklinler, ampisilin ve diğer geniş spektrumlu antibakteriyel ilaçlar barsak florasını azaltarak, buradaki bakterilerin yaptığı sentezden sağlanan K vitamini azaltır. Adı geçen inhibitör ilaçlar ve antibakteriyeller antikoagülan etkiyi artırır. Kolestramin oral antikoagülanların mide-barsak kanalından absorpsiyon oranını düşürür. Oral kontraseptifler, oral antikoagülanların etkinliğini fizyolojik antagonizma ile (pıhtılaşma faktörlerinin sentezini artırarak) azaltır. Testosteron, anabolizan ilaçlar ve aşırı alkol ise etkinliği artırır.

Kumarin türevi ilaçlarla tedavi altındaki hastalara ağrı kesici gerektiğinde, aspirin yerine parasetamol ve uyku ilacı gerektiğinde barbitüratlar yerine bir benzodiazepin türevi veya antihistaminik hipnotik tavsiye edilir (Kayaalp, 2012).

Antitrombotik İlaçlar

Trombositleri inaktive ederek, onların agregasyonunu ve adezyonunu önleyen ilaçlardır (Aynacıoğlu ve ark., 2014).

Trombosit agregasyonu arteriyel dolaşımında oluşan pıhtılar açısından çok önemlidir. Trombositlerin özellikle koroner ve serebral arter tıkanmalarında önemli olduklarına inanılmaktadır (http-7).

Arter çeperinde trombus oluşumunu antitrombotik ilaçlar önemli derecede önlerler. Bu etkinlik bakımından, kombine kullanıldıklarında aralarında aditif nitelikte sinerjistik etkileşme olur (Kayaalp, 2012).

Sınıflama ve Prototipler

Antitrombotik ilaçlar; aspirin, steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), dipiridamol, ADP reseptör inhibitörleri (tiklodipin ve klopidogrel) ve glikoprotein IIb/IIIa reseptör inhibitörleridir (absiksimab, tirofiban ve eptifibatid). Bu ilaçlar kanama zamanını uzatırlar, kanama zamanı aynı zamanda etkilerini izlemek için kullanılan bir testtir (http-7).

Aspirin

Analjezik ve antipiretik etkili bir ilaçtır (Kayaalp, 2012). Günümüzde aspirin, geçici iskemik atakların profilaktik tedavisinde, rekürren miyokard infarktüsü sıklığının azalmasında ve miyokard infarktüsü sonrası mortalitenin azaltılmasında kullanılmaktadır. Kronik kullanımda günlük 75-150 mg doz bunun için yeterlidir (Süzer, 2005).

Etki Mekanizması

Ufak dozlarda (günde 1 kez 75-300 mg p.o.) alındığında trombositlerin yapısal (konstitütif) bir enzimi olan siklooksijenaz 1 (COX 1, prostaglandin G/H sentez 1) enzimini selektif ve güçlü bir şekilde inhibe eder; inhibisyonun moleküler mekanizması, enzimin peptid zincirinin 529 sayılı konumundaki tek bir serin rezidüsünün hidroksil grubunun aspirinden transfer edilen asetil grubu tarafından geri-dönüşsüz olarak asetillenmesidir. Bu nedenle aspirin tarafından trombosit siklooksijenazı geri-dönüşsüz olarak inhibe edilir (Kayaalp, 2012). Aspirin, enzimi geri dönüşsüz olarak bloke ettiğinden özellikle çok etkilidir. Çünkü trombositler yeni protein sentezleyemezler ve aspirinle inhibisyon yeni trombositler oluşuncaya kadar devam eder (http-7). Bu durum aspirin gibi sistemik dolaşımdaki yarılanma ömrü 20 dakika olan bir ilacın neden günde tek doz verilmesi ile bile, terapötik etki yaptığını ve günde bir verilen düşük aspirin dozlarının neden kümülatif etki oluşturduğunu açıklar (Kayaalp, 2012). İnhibisyon için, aspirin'in analjezik dozuna (bir kezde 0.5 g) göre çok düşük dozda (günde bir kez 70-80 mg) verilmesi yeterlidir; 160-320 mg'lık dozla tam bir inhibisyon olur. Adezyonu önlemez. Kanama süresini uzatır; kanamaya eğilim yaratabilir (http-7).

Yan Etkileri

Aspirin düşük dozda bile gastrointestinal kanalda zedelenme, ülser, kanama ve beyinde hemorajik inme riskini az da olsa artırır (Aynacıoğlu ve ark., 2014).

Kulak çınlaması, baş dönmesi, bulantı, kusma, mental konfüzyon gibi pek çok belirtiyile karakterize olan salisilizme neden olabilir (Yalçınkaya, 2012).

Aspirin Direnci

Hastaların yaklaşık %8-35'i aspirinin antiagregan etkilerine dirençlidir. Bu hastalarda kanama zamanları yeteri kadar uzatılamaz. Aspirin direnci mekanizmaları henüz bilinmemektedir ve hastaların kardiyovasküler olaylara karşı korunabilmeleri için antiagregan tedavinin bireyselleştirilmesi ve tedaviye aspirinden farklı etki mekanizmalara sahip ilaçların kullanılması gerekmektedir (Süzer, 2005).

Non-steroidal Antiinflamatuvar İlaçlar (NSAİİ)

Bütün aspirin benzeri non-steroidal anti-inflamatuvar ilaçlar/NSAİ'lar (ibuprofen, naproksen, indometasin ve diğerleri) trombositlerde tromboksan A₂ sentezini ve buna

bağlı olarak trombositlerin agregasyonunu inhibe ederler. Ancak bu inhibitör etki aspirinin yaptığı aksine geri dönüşlüdür ve ilaç elimine edilince ortadan kalkar. Antitrombotik olarak aspirin kullananlarda beraberinde NSAİİ'ler kullanılırsa bunların çoğu, aspirinin antitrombotik etkinliğini önlerler; bu, olasılıkla, aspirinin COX-1 enzim molekülündeki etki yerine ulaşmasını engellemelerine bağlıdır. Ancak NSAİİ tek dozda kullanılacaksa ve aspirin ondan en az 2 saat önce verilirse bu engelleme olmaz ve antitrombotik etki azalmaz. NSAİİ sürekli veriliyorsa engelleme olur. Diklofenak ve COX-2 selektif NSAİİ'ler (selekoksib ve diğerleri) ve parasetamol birlikte verilen aspirinin söz konusu etkisini önlemez (Kayaalp, 2012).

Dipiridamol

Bir koroner vazodilatör olan dipiridamol anjina pektorisin profilaktik tedavisinde kullanılır. Ancak bu amaçla kullanılan nitratlara göre belirgin derecede fazla koroner çalma fenomenine neden olduğu için tercih edilmez (Süzer, 2005). Trombositlerin adezyonunu ve agregasyonunu inhibe eder. Bu etkisi, trombositlerde fosfodiesterazı inhibe etmesi sonucu siklik AMP düzeyini artırmaya bağlı olabilir (Kayaalp, 2012). Tek başına kullanıldığında yararlı etkisi çok azdır ya da hiç yoktur. Bu nedenle serebrovasküler iskemiyi önlemek amacıyla aspirin ile birlikte kullanılır (Katzung, 2014). Dipiridamol ağızdan günde 300-600 mg dozunda 3 veya 4'e bölünerek aç karna verilir (Kayaalp, 2012). Ayrıca kalp kapağı protezi olan hastada tromboembolinin primer profilaksisinde varfarin ile birlikte kullanılabilir (Katzung, 2014). Kusma, bulantı, hipotansiyon ve cilt reaksiyonları Dipiridamolün yan etkileridir (http-9). Nadiren anjina nöbetlerini sıklaştırıp şiddetlendirebilir (Kayaalp, 2012).

ADP Reseptör İnhibitörleri (Tiklodipin ve Klopidoğrel)

ADP reseptör inhibitörleri, ADP'yi antagonize ederek trombosit agregasyonunu ve damar çeperinde pıhtı oluşmasını önlerler (Kayaalp, 2012). Ön ilaçlardır. CYP2C19 enzimi tarafından metabolize edilerek aktif metabolitlerine dönüşürler (Aynacıoğlu ve ark., 2014). Dönüşüm karaciğerde yapılır; bu enzim genetik polimorfizm gösteren bir enzimdir. Enzim etkinliği düşük olan kimselerde söz konusu ilaçların etkinliği azalır. Etkileri verilmeye başlandıktan sonra hemen değil, gecikmeyle ortaya çıkar. Koroner kalp hastalığı, iskemik inme, reversibl iskemik nörolojik defisit veya geçici iskemik atak ya da periferik arter hastalığı bulunan veya öyküsü olan hastalarda iskemik olayları önlemek için kullanılırlar. Aspirin alamayan hastalarda antitrombotik olarak alternatifidirler (Kayaalp, 2012). Aspirin ile sinerjistik etkileşme gösterirler (Aynacıoğlu ve ark., 2014).

Tiklodipin

Oral yoldan kullanılan güçlü bir trombosit agregasyon inhibitörüdür. Fakat nadir de olsa kemik iliğinde ciddi toksik etki yapar ve trombosit agregasyonu üzerindeki etkisi irreversibldir. Antitrombotik etki tedavi bırakılmasından en az 72 saat sonra devam eder. 1-2 hafta içinde trombosit fonksiyonu normale döner (http-9). Tiklopidinin önemli ilaç etkileşimleri şunlardır; antipirin ve teofilinin yarı ömrünü uzatırken, digoksin düzeyini azaltır. Antiasitler ise tiklopidinin düzeyini azaltır (http-10).

Klopidogrel

Yapısı ve etki mekanizması tiklodipine benzeyen bu ilaç daha sonra bulunmuştur (Süzer, 2005).

Düşük doz aspirin ile kombine edilerek aşağıdaki indikasyonlarda kullanılır:

1. ST-yükselmez akut koroner sendromun tedavisi ve tromboembolitik olayların önlenmesi (bu durumda aspirinle kombine olarak 12 aya kadar verilir, 12 ayın ötesinde yararı olduğuna dair halen kanıt yoktur).
2. ST-yükselmeli akut myokard infarktusunun tedavisi (bu indikasyonda en az 4 hafta verilir, optimum tedavi süresi saptanmamıştır).
3. Perkütan koroner girişim yapılacak hastalarda tromboembolitik olayların önlenmesi (hasta daha önce klopidogrel almıyorsa, 300 mg yükleme dozu ile uygulamaya başlanır).
4. Varfarin uygulanmasının uygun olmadığı atriyum fibrilasyonu hastalarında aterotrombotik ve tromboembolik olayların önlenmesi
5. Periferik arter hastalığında ve myokard infarktusu ve inmeden sonra, aterotrombotik olayların önlenmesi (Kayaalp, 2012).

Klopidogrel üstün güvenilirliğe sahip olup biyoyararlanımı besinle ve antiasit ilaçlar ile etkilenmemektedir (http-10). Pantoprazol dışındaki diğer Proton Pompası İnhibitörlerinin (PPI) klopidogrel ile beraber kullanılması gerektiği durumlar en aza indirilmelidir. Asit azaltıcı tedavi gerektiren hastalar için uygun bir alternatif, H2 reseptör antagonisti olabilir. PPI gerekli ise, aynı anda klopidogrel alan hastalarda tercihen pantoprazol kullanılmalıdır (http-11). Aspirin, gibi ilaçlar ile etkileşimi olmamakta, hafif ve orta derecede karaciğer yetmezliği ve böbrek yetmezliği olan hastalarda doz ayarlaması gerekmemektedir (http-10).

Glikoprotein IIb/IIIa Reseptör İnhibitörleri (Absiksimab, Tirofiban ve Eptifibatid)

Arter çeperinde trombus oluşumunda önemli rolü olan trombosit agregasyonu olayının son basamağını inhibe ederler. Bu nedenle agregasyonda kısmi inhibisyon yapan aspirin ve klopidogrel'den daha fazla etkilidirler. Çünkü bu basamakta agregasyon için paralel bir yolak yoktur (Kayaalp, 2012). Glikoprotein IIb/IIIa'nın uyarılması ile trombositler yabancı cisimlere ve birbirine yapışırlar (Süzer, 2005).

Glikoprotein IIb/IIIa reseptör antagonistleri pahalı ilaçlardır. Sadece stabil olmayan anginada ve ST yükselmez myokard infarktusunda, tam tıkanmalı akut myokard infarktüsünü gelişmesini önlemek için, en son göğüs ağrısınınöbetini izleyen 24 saat içinde kullanılır. Ayrıca mortalitesi ve başarısızlık riski yüksek koroner arter üzerindeki girişimlerde trombus ve damar tıkanmasını önlemek için verilebilir. Genellikle düşük doz heparin ve aspirin ile birlikte kullanılırlar.

Ortak yan tesirleri büyük ve küçük kanamalar, buna bağlı intrakranyal kanama, inme ve trombositopenidir (Kayaalp, 2012).

Absiksimab

Piyasada bulunan tek non-kompetitif inhibitörü ve insan fare kimerik antikorun F(ab) fragmentidir. Bu antikor, trombosit agregasyonunu Glikoprotein (GP) IIb/IIIa reseptörünü irreversibl olarak bloke ederek önler. Bu sebepten dolayı ilacın yan

etkilerinin açığa çıkması ya da kanama olması durumunda, trombosit verilerek bu etki geri çevrilebilir. Ayrıca GP IIb/IIIa reseptörünün yanı sıra endotel hücreleri üzerindeki vitronektin ve beyaz küreler üzerindeki MAC-1 reseptörlerini de bloke eder (http-12).

Antikor oluşturması nedeniyle bir kezden fazla kullanılamaz.

Tirofiban

Küçük moleküllü peptid olmayan bir antagonistir. İntravenöz infüzyonla başlangıçta 30 dakika boyunca dakikada 0.4 µg/kg hızında, daha sonra 0.10 µg/kg hızında toplam 48 saat verilir (maksimum süre 108 saat) (Kayaalp, 2012).

Kardiak iskemi, akut miyokard enfarktüsü, instabl anjinada kullanılır. İntravenöz kullanılır. Kanama, ateş, hipotansiyon ve baş dönmesi yapabilir (http-9).

Eptifibatid

Küçük moleküllü ajanlar içinde FDA tarafından onayı bulunan peptid inhibitörüdür (http-12).

Akut koroner sendromlarda 180 µg/kg i.v. injeksiyonla, ardından 2 µg/kg dakika hızında genellikle 72 saat kadar i.v. infüzyonla verilir. Perkütan koroner girişimlerde daha düşük dozda kullanılır (Kayaalp, 2012).

Diğerleri

Epoprostonal (prostasiklin)

Böbrek hastalarında diyaliz sırasında diyaliz boruları içinde trombositlerin çepere yapışmasını önlemek için tek başına veya heparinle birlikte i.v. infüzyon şeklinde kullanılan, yan etkileri yüzde kızarma, sıcaklık duyumsama, hipotansiyon ve baş ağrısı olan güçlü bir antitrombotik ve vazodilatör prostaglandindir.

Dekstranlar

Trombositlerin adezivitesini azaltarak ve vasküler stazı önleyerek antitrombotik etki yaparlar. Venöz tromboembolizm riski olan ameliyatlardan sonra iv. infüzyonla verilebilirler. Antitrombotik etkinlikleri, heparine ve oral antikoagülanlara göre daha düşüktür (http-7).

Trombolitik (fibrinolitik) İlaçlar

Fibrinoliz, pıhtılaşma sonucu oluşan fibrinin parçalanmasına bağlı olarak pıhtının erimesidir. Fibrinoliz olayı, plazmada inaktif durumda olan plazminojen (profibrinolizin)'in aktivasyonu sonucu oluşan plazmin (fibrinolizin) adlı proteolitik enzim tarafından katalize edilir (http-7). Plazmin, normal durumda plazmada, plazminojen (profibrinolizin) adı verilen bir prekürsör glikoprotein halinde bulunur. Salgilandıktan sonra plazmadan çabuk uzaklaşır; kalan kısmı plazminojen aktivatör inhibitörü-1 ve -2 adlı proteinle bağlanmıştır. Fibrinolitik ilaçlar ve diğer bazı etkenler, plazminojenin 560 sayılı arginini üzerindeki peptid bağı koparır ve plazminojenin plazmine dönüşmesini aktive ederler; böylece plazmanın fibrinolitik etkinliğinin artmasına neden olurlar. Bu durumda, fibrinolitik ilaç verilmeden önce oluşmuş pıhtılar eriyebilirler ve ayrıca, yeni oluşan fibrin'in hemen erimesi nedeniyle pıhtılaşma engellenmiş olur (Kayaalp, 2012).

Bu ilaçlar olayın başlangıcına ne kadar erken uygulanırlarsa pıhtının parçalanması ve reperfüzyon o kadar etkili olur çünkü trombus zamanla parçalanmaya dirençli hale gelmektedir (Süzer, 2005).

Vücutta sentez edilen Doku plazminojen aktivatörü (t-PA) ve ürokinaz endojen plazminojen aktivatörüdür. Damar endotel hücrelerinde sentezlenen t-PA, hem fibrini hem de fibrinojeni yıkar ve plazma düzeyini azaltır (defibrinasyon). Sadece böbrek tubuluslarında sentezlenen Ürokinaz, idrar yolunda fibrinolitik etki yapar (http-7).

İdeal bir trombolitik ajan; uygulanan hastaların %100'ünde TIMI-3 akım sağlamalı, trombolitik etkinlik hızlı başlamalı, intravenöz bolus şeklinde uygulanabilir olmalı, olabildiğince yüksek düzeyde fibrin selektivitesine ve düşük kanama komplikasyonu ve reoklüzyon oranına sahip olmalıdır (http-13).

Damardaki trombusu eriten ve erittiği trombus sayesinde tıkanmış damarı açan ilaçlar trombolitik veya fibrinolitik ilaçlar olarak adlandırılır. Günümüzde streptokinaz, alteplaz başta olmak üzere reteplaz ve tenekteplaz ve ürokinaz kullanılmaktadır (Kayaalp, 2012). Fibrine özgül ilaçlardan alteplaz, reteplaz, tenekteplaz ve ürokinazın tek-zincirli şekli, trombusda, fibrine yapışmış olan plazminojeni aktivasyonunu sağlarken plazmadaki serbest plazminojenin aktivasyonuna sebep olmazlar. Hem Streptokinaz hem de ürokinaz çift zincirli şekli fibrine özgül değildir. Streptokinaz yaşamı tehdit eden ven trombozu ve pulmoner embolizm tedavisinde kullanılır; ancak tedaviye hemen başlamak gerekir (http-7).

Streptokinaz

Streptokinaz Grup C β - hemolitik Streptococcus kültürlerinden elde edilmiş ve saflaştırılmış bir ekstrasellüler proteindir. Streptokinazın enzimatik aktivitesi yoktur, bunun yerine plazminojen ile bire bir kompleks oluşturarak plazminojeni aktif enzim plazmine dönüştürür. Fibrin tıkaçlarının parçalamasının yanında oluşan bu kompleks aynı zamanda fibrinojen ve faktör V ve VII'yi de degrade eder (Süzer, 2005).

Streptokinaz akut miyokard infarktüsünü erken prognozuna olumlu etkileri olan bir trombolitik ajandır (http-14). Aşağıdaki endikasyonlarda da kullanılır; derin ven trombozu, akciğer embolizmi, periferik arterlerdeki akut arter tromboembolizmi ve santral retinal venöz ya da arteriyel trombozdur (Kayaalp, 2012).

Streptokinaz antijen oluşumuna neden olur, daha önceden bu ilacın kullanılmış olması veya streptokok infeksiyonu geçirilmesi gibi nedenlerle oluşan antikorlar, bu ilaca karşı farklı reaksiyonlar gösterilmesine sebep olmaktadır. Streptokinazın anaflakrik reaksiyonlara sebep olduğu bildirilmiştir (http-15).

Alteplaz (t-PA)

Başlangıçta doku plazminojen aktivatörü (tPA) olarak adlandırılmış olan alteplaz insan melanom hücre kültüründen elde edilmiş bir proteazdır. Günümüzde rekombinant DNA tekniği ile üretilmektedir.

Alteplazın serbest plazminojene afinitesi düşüktür ancak bir trombus veya hemostatik tıkaçtaki fibrine bağlandığı zaman hızla plazminojeni aktive eder. Bu nedenle alteplaz düşük dozlarda fibrin selektif olarak adlandırılır, diğer proteinleri etkilemeden, sadece fibrini parçalayabilme avantajı vardır.

Alteplaz miyokard infarktüsü, masif pulmoner emboli ve akut iskemik felçlerin tedavisinde kullanılmaktadır.

İlacın yarılanma ömrü çok kısadır ($t_{1/2} = 5$ dakika) bu nedenle 100 mg'ın 10 mg'ı iv bolus ve geriye kalanı da 1 mg/dakikalık infüzyon şeklinde verilmektedir (Süzer, 2005).

Reteplaz

Alteplaz'ın glikozillenmemiş delesyon mutant formudur. Yapısal değişiklikler, fibrin bağlama özelliğinin beş kat azalmasına ve yarılanma ömrünün uzamasına (14-18 dakika) neden olur. Alteplaz ve reteplaz plazminojen aktivatör inhibitörleri tarafından benzer derecede inhibe olurlar. Alteplaz ile karşılaştırıldığında reteplaz'ın endotel hücrelerine ve monositlere bağlanma afinitesi azdır. Bu, kanda dolaşan seviyelerinin artmasına neden olur (http-13).

Tenekteplaz

Fibrin selektivitesi yüksek olan bir t-PA mutantıdır. Değişiklikler yarı ömrü uzatmış (15 - 19 dakikaya), fibrin spesifitesini, plazminojen aktivatör inhibitörüne karşı rezistansı, arteriyel trombus üzerine olan litik etkiyi artırmıştır (http-13).

Ürokinaz

Ürokinaz fibrin ve fibrinojeni her ikisini de yıkma kapasitesi olan bir enzimdir. Ürokinaz streptokinazdan daha pahalıdır ve genellikle streptokinaza duyarlılığı olan kişilerde kullanılır. Ürokinaz vücuda yabancı bir protein olmadığı için antijenik özelliği yoktur. Streptokinaz gibi ürokinaz da pulmoner emboli ve derin ven trombusü tedavisinde etkilidir. Bu ilaçla tedavinin en önemli yan etkisi kanama komplikasyonlarıdır (Süzer, 2005). Ürokinaz, immünojen olmamasına karşın, Türkiye dışında birçok ülkede kullanımdan kaldırılmıştır. Ancak, ABD'de yeniden kullanıma girmiştir (http-7).

Alıç

Alıç olarak bilinen *Crataegus* bitkisinin meyveleri ve çiçekleri gülgiller familyasına aittir (Baytop, 1984). Anadolu'da alıç, beyazdiken, edran, ekşi muşmula, enişen, geviş, gırgat, kocakarı yemişi, öküz göbeği, sürsülük, yemişen, yemişgen, yemişken, yemşen gibi birçok isimle tanınır (Demirezer, 2007). *Crataegus* cinsi dünyada yaklaşık 280 türle temsil edilmektedir (Chang ve ark., 2002). Tıbbi türler olarak özellikle *Crataegus monogyna*, *C. laevigata* (*C. oxyacantha*) ve *C. pentagyna* kullanılmaktadır. Türkiye'de 17 *Crataegus* türü yetişmektedir ve bunlardan 5 tanesi endemiktir (Meriçli, 1989).

Crataegus türlerinin ana aktif bileşenleri hiperozit, rutin, viteksin gibi flavonoidler ve epikateşin, prosiyanidin B₂ gibi oligomerik proantosiyanidinlerdir (Chang ve ark., 2002).

Çiçekleri daha yüksek miktarda flavonoit içerirken, yapraklarındaki oligomerik proantosiyanidin miktarları daha fazladır (Mills ve Bone, 2000). *Crataegus* meyveleri yararlı etki gösteren ürün olan polifenollerce (epikateşin, prosiyanidin B₂, prosiyanidin B₅, prosiyanidin C₁, hiperozit, isokersetin ve klorojenik asid gibi) zengindir (http-16). Diğer bileşenleri oleanoik asit, ursolik asit ve krataegolik asit gibi triterpenler, klorojenik asit ve kafeik asit gibi fenolik asitler,

kolin gibi aminler, ksantinler ve çoğunluğu potasyum tuzları olan minerallerdir (Fong ve Bauman, 2002).

Çizelge 1. *Crataegus monogyna*'nın Kimyasal Bileşikleri

Aminler	β -Feniletilamin, Tiramin, Asetilkolin
Flavonoit ve Glikozitleri	Kersetin, Hiperozit, Rutin, Viteksin, İzoviteksin, Orientin, İzorientin, Apigenin
Triterpen Saponinler	Oleanolik asit, Ursolik asit, Krataegolik asit
Oligomerik Proantosiyanidinler	Prosiyanidin dimerleri B1, B2, B5, Trimer C1, Oligomerler ve polimerler
Kateşinler	(+)Kateşin , (-) Epikateşin

Melikoğlu ve arkadaşlarının yaptığı araştırmanın (1999) sonuçlarına göre *Crataegus orientalis*'in 300 g yaprak ekstresinden yüksek miktarda hiperozit (kersetin-3-O-galaktozit) (1550 mg) olmak üzere apigenin (30 mg), apigenin 7-glikozit (45 mg), viteksin (55 mg), viteksin 4'-ramnozid (66 mg) izole edilmiştir.

Anadolu'da çeşitli adlarla adlandırılan (keçi alıcı, sürsülük, yemşen gibi) bilimsel adı *Crataegus monogyna* Jacq. olan türün halk arasında da kullanımı vardır. Alıcın çiçekleri suda kaynatılıp içildiğinde kalp çarpıntısına iyi gelirken, alıç ağacının yaprak ve ince dalları da suda kaynatılıp aç karna içildiğinde şeker hastalığına iyi gelir. Alıç bitkisinin sinir sistemini yatıştırıcı, spazm giderici, kalp atış hızını yavaşlatıcı, tansiyon düşürücü ve müdrir ile kabızlık etkileri bilimsel olarak araştırılmıştır. Alıcın, Avrupa'da tıbbi preparatları ilaç olarak kullanılır (Üçer, 1991).

Flavonoidler

Flavonoidler; kimyasal yapılarına göre antosiyanidinler, flavanoller (kersetin), flavanonlar, flavonoller, flavonlar (apigenin) ve izoflavonlar olarak ayrılan, bitkiler tarafından üretilen polifenolik bileşiklerdir (Shukla ve Grupta, 2010).

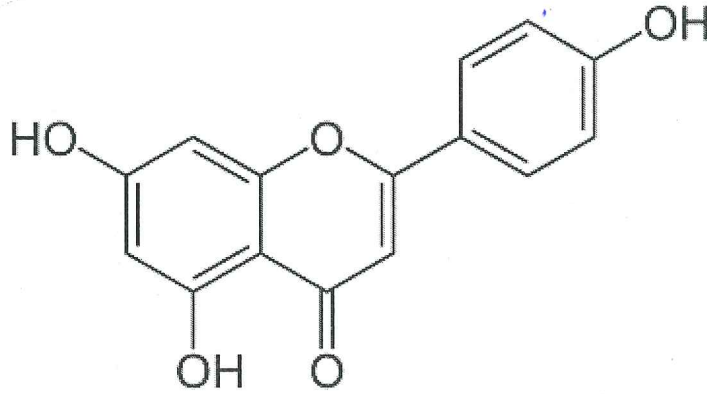
Flavonoidler meyve, sebze, tahıl gibi çeşitli bitkilerin kök, gövde ve çiçeklerinde ayrıca çay ve şarapta bulunurlar (Middleton, 1998). Genellikle ester, eter ya da glikozid türevleri bulunur. 5000' den fazla farklı flavonoid tanımlanmıştır (Ross ve Kasum, 2002). Fonksiyonel besinlerden biri olan "flavonoidler" antioksidan özellikleri olan yani vücuda zarar veren öğeleri etkisiz hale getiren bitkisel maddelerdir (Feredioon ve Janitha, 1992). Flavonoidler aynı zamanda meyve ve çiçeklere renklerini veren, çevresel stres faktörlerine karşı bitkilerde koruma sağlayan maddelerdir (Tsujiimoto ve ark., 1993). Flavonoidlerin kimyasal yapı ve şekillerinden kaynaklanan farklılıklar nedeniyle bu değişik türlerin vücuttaki etkileri de farklıdır. En aktif antioksidanlar fenolik ve polifenolik bileşiklerdir (Feredioon ve ark., 1992; Rice-Evans ve ark., 1996).

Bir hesaplama göre; flavonoller ve flavonlar olarak ortalama flavonoidlerin alımı Finlandiya' da 6 mg' dan Japonya' da 64 mg' kadar değişebilmekte iken, Birleşik Devletler (13 mg/gün), İtalya (27 mg/gün) ve Hollanda (33 mg/gün)' da alım orta düzeydedir. Bu hesaplamalar, Yedi Ülke Çalışmasından elde edilen karma besin örnekleri içinde 5 bitkisel flavonoidin (Kersetin, Kaemferol, Mirisetin, Luteolin ve Apigenin) analizine dayanmaktadır. Diğer bir çalışmaya göre Macar halkında flavonoid alımı, Hollanda halkından (23 mg/gün), Danimarka halkından (28 mg/gün) ve Finlandiya halkından (55 mg/gün) azdır. Hesaplanan en düşük alım Güney Afrika' da (1-9 mg/gün) iken en yüksek alım İskandinav diyetindedir (75-81 mg/gün). Flavonoid alımına ek olarak flavonollerin ve flavonların diyetel kaynağı da ülkelere göre değişiklik göstermektedir, Japonya' da (% 95) ve Hollanda' da (%64) ana kaynağı çaydan, İtalya' da (%46) kırmızı şarap ve biradan, Finlandiya ve Birleşik Devletler' de sebze ve meyvelerdedir (Shukla ve Grupta, 2010).

Apigenin

Flavon sınıfına ait bir flavonoid olan apigenin, kimyasal olarak 4',5,7-trihidroksi flavon olarak bilinir (Seyitoğlu, 2001).

Apigenin; alıç, greyfurt, maydanoz, papatya, buğday filizi gibi bir çok bitkide, bitkisel kökenli içeceklerde ve bir takım baharat gibi bitkisel kökenli yiyeceklerde bol miktarda bulunur (Shukla ve Grupta, 2010).



Şekil 8. Apigenin Kimyasal Yapısı (Merck İndex).

Yüzyıllardır, apigenin geleneksel ve alternatif bir ilaç olarak kullanılmıştır. Örnek olarak, yüksek derecede apigenin ihtiva eden çarkıfelek çiçeği; astım, inatçı uykusuzluk, Parkinson hastalığı, nöralji ve zona tedavisinde başarıyla kullanılmıştır. Papatyanın ana bileşeni olan apigenin, antifogistik, antispazmodik ve antibakteriyel etkileri tanımlanmıştır. Ek olarak, papatya ürünleri cilt bakım ürünlerinin içerisinde yaygınca kullanılmakta ve kutanöz inflamasyonu ve diğer dermatolojik hastalıkları azaltmaktadır (Patel ve ark., 2007).

Diane ve ark., (2001) Sıçan fibroblastı L-929 hücrelerinde apigeninin, tümör nekroz faktör-alfa (TNF) sitotoksitesini arttırarak apoptozise neden olduğu, luteolinin ise bu etkiyi azalttığını göstermiştir.

Birt ve ark. (1986), sebzelerde bulunan ve kanserleşme oranını azalttığı tespit edilen apigenin'in, *Salmonella typhimurium* üzerinde antimutajenik aktivitesini tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmalar neticesinde mutajenitenin apigenin ile % 62 oranında inhibe edildiği tespit edilmiştir. Kuo ve ark. (1992), doğal olarak elde edilen apigenin ile 1-nitropyrene veya 1,6-dinitropyrene karşı hem Salmonella test sisteminde hem de Chinese hamster ovaryum hücrelerinde genotoksik çalışmalar yapmışlardır. Salmonella test sisteminde yaptıkları çalışmada apigenin'in güçlü bir şekilde bakteriyel mutagenezi azalttığı tespit edilmiştir. Bunun yanısıra genotoksik çalışmalarda ise apigeninin antimutajenik mekanizmasıyla nitropirenlerin metabolizmalarını inaktive ettiğini göstermişlerdir. Aynı zamanda Chinese hamster ovaryum hücrelerinde de doza bağlı olarak sitotoksik olduğu ve kardeş kromatid değişimlerini azalttığı ve apigenin'in DNA'ya zarar vermediği ve SOS sisteminde yalnızca zayıflığa sebep olduğunu tespit etmişlerdir. Buna ilave olarak karaciğer aktivasyon sistemlerinde de apigeninin mutajenik etkiyi artırmadığı bildirilmiştir (Czeczot ve Kuzstlak, 1993).

Apigenin'in imatinib duyarlı ve imatinib dirençli kronik myeloid lösemi hücreleri üzerine apoptotik etkileri incelenen bir çalışmada, apigenin' in doza ve zamana bağımlı olarak antiproliferatif etkinlik gösterdiği belirlenmiştir. İmatinib dirençli hücre hattında daha yüksek IC₅₀ değerlerine ulaşılma ile beraber Apigenin, imatinib direnci olan bu hücre hattında da etkin olarak bulunmuştur. Apigenin insan kronik myeloid lösemi K562 hücrelerinde kaspaz-3 aktivitesini artırarak apoptozu tetiklediği söylenmektedir (Solmaz S., 2012).

Apigenin, renal fonksiyonu 30 µm IC₅₀ değerli geliştirilen glomerulonefritli rat modellerinde apigenin ve kersetinin lenfosit proliferasyonuna neden olan Concanavalin A'yı inhibe ettiği gösterilmiştir. Ayrıca apigenin; SW480, Caco-2 ve HT-29 hücre kültürlerinde, hücre siklusunu G2/M fazında durdurmasının p53 ya da ras genleri ile ilişkili olabileceği, gen mutasyonuna uğramış ve kanserleşme gösteren hücrelerin apigenine duyarlı olduğunun gösterilmesiyle anlaşılmıştır. Sıçan fibroblastı L-929 hücrelerinde apigeninin, tümör nekroz faktör-alfa (TNF) sitotoksitesini artırarak apoptozise neden olduğu, luteolinin ise bu etkiyi azalttığını göstermiştir (Diane ve ark., 2001).

Son zamanlarda Apigeninin hücre siklusunun düzenlenmesi, apoptozis, androjen sentezinin inhibisyonu veya onkojenik protein kinazların inhibisyonuyla prostat kanserini önleme potansiyeli olduğu gösterilmiştir (Hu ve ark., 2003).

Yapılan diğer çalışmalarda ise apigeninin, antioksidan (Medjroubive ark., 2005), antimikrobiyal (Bylka ve ark., 2004) antitümöral (Lee ve ark., 2008) ve anti-inflamatuvar (Ha ve ark., 2008) etkilere sahip olduğu saptanmıştır. Apigenin, H3N2 influenza virüsü üzerinde yüksek antiviral etkiye sahip bir bileşiktir (Ma ve ark., 2008).

Alzheimer (12 hasta), Parkinson (17 hasta) ve MS (13 hasta) hastalarında yapılan bir çalışmada hastalara 12 saatte bir apigenin içeren karışım verilmiştir. 3 ayda bir klinik değerlendirmesi yapılan tüm hastalarda klinik stabilizasyon sağlandığı ve yine aynı çalışmada MS hastalarının 4'ünde Expanded Disability Status Scalasında, Parkinson hastalarının 15'inde Unified Parkinsons Disease Rating Scalasında Alzheimer hastalarının 9'unda mini mental testlerinde ilerleme kaydedildiği tespit edilmiştir (Millington ve ark., 2014). Zhao ve arkadaşları

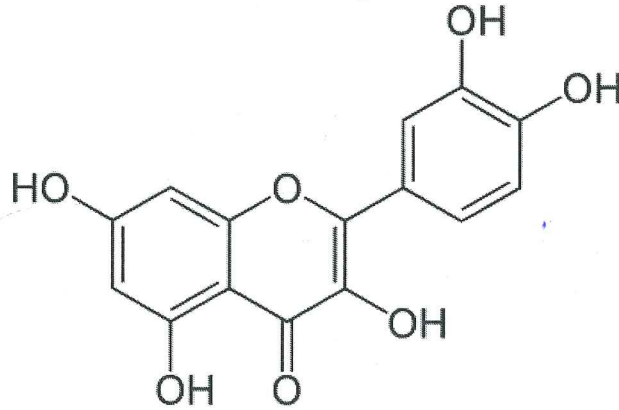
(2013) ise Alzheimer hastası 4 yaşındaki yaşlı farelere 3 ay boyunca oral olarak 40 mg/kg apigenin vermiş ve farelerin öğrenmelerinde ve hafızalarında gelişme olduğunu saptamışlardır.

Apigenin osteoblastogenez ve osteoklastogenezini inhibe eder ve ovariectomi yapılmış farelerde kemik kaybını önlemektedir (http-17).

Apigenin tromboksan sentezi inhibitörüdür (Teng ve ark., 1991). Farelerde kuyruk kanama zamanı ölçülerek yapılan bir çalışmada noratriol, protopin, osthole ve magnolol etken maddelerinin apigenine göre kuyruk kanama zamanı doza bağlı olarak belirgin bir şekilde uzamıştır. Bu etken maddeler 200 mg/kg üzerinde verildiğinde farelerde akut tromboembolik ölüm önlenememiştir (http-18).

Kersetin

Günümüzde kırmızı şarap, greyfurt, soğan, elma, siyah çay, ve az miktarlarda yapraklı yeşil sebzelerde ve fasulyede çeşitli bitki çaylarının içinde bulunan kersetin flavonoidlerin flavon grubunda olup, biyokimya, gıda kimyası, tıp ve ilaç yapımı alanlarında kullanılmaktadır (Hodek ve ark., 2002).



Şekil 9. Kersetinin Kimyasal Yapısı (http-19)

Kersetinin antiviral (Wu ve ark., 2007; Yu ve ark., 2007), antineoplastik (Maso ve ark., 2014; Verschoyle ve ark., 2007; Rietjens ve ark., 2005), antiinflamatuvar (Balabolkin ve ark., 1992; http-20) ve antioksidan etki gösterdiği çalışmalar bulunmaktadır. Kersetin, antioksidan etkinliği ile oksidatif strese bağlı doku hasarını azaltarak global iskemi sonrası reperfüzyonda miyokardiyal iyileşmeyi artırdığı belirtilmektedir. Bu koruyucu etki özellikle kronik tedavi uygulanan izole sıçan kalplerinde belirgin olarak izlenmiştir (İkizler ve ark., 2007). Yapılan çalışmalar, kersetinin mast hücre inhibitörü olması veya güçlü antiinflamatuvar etkisi nedeniyle fibromiyalji tedavisinde etkili olabileceğini göstermiştir (Lucas ve ark., 2006).

Kersetin, kalsiyumun intraselüler mobilizasyonu ve protein tirozin fosforilasyonunu uyaran kollajeni ve aynı zamanda kollajen reseptör GPVI tarafından oluşturulan sinyalizasyondaki çeşitli olayları inhibe ettiği bulunmuştur (Hubbard ve ark., 2003).

Metoprolol ve kersetin eş zamanlı olarak oral verildiğinde metoprolol'ün plazma konsantrasyonunun düştüğü gösterilmiştir (Challa ve ark., 2014).

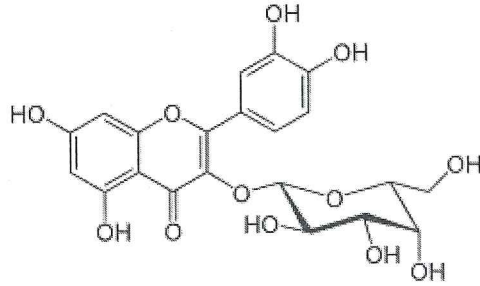
Kersetinin radyasyona bağı hücre hasarını önlediğini gösteren bir çalışmada, kersetin günde 1 kez 5 gün boyunca Swiss albino farelere oral olarak 10 mg/kg ve 20 mg/kg verilmiştir ve 5. günün sonunda fareler 3 Gy gamma radyasyon almıştır. Antigenotoksik potansiyeller mikronükleus testi ve kromozomal anomaliler yönünden değerlendirilmiştir. Bu çalışma sonucunda kersetin ile tedavi sonrası yapılan ışınlamada tek başına ışınlanmaya göre DNA hasarının önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir (Patil ve ark., 2014).

Zhu ve arkadaşları (2014) tarafından kersetin ile beslenen ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada kersetinin CaOx kristal birikimini önlediğini ve böbrek taşı oluşumunu engellediğini gösterilmiştir. Kersetin bazı antibiyotiklerle kontrendikedir. Fluorokinolonlar, bakteriyel DNA jiraza kersetin ile kompetitif olarak bağlanır. İnhibitör etkisi ya da etkisini artırıp artırmadığı kesin değildir (Hilliard ve ark., 1995).

Kersetin, ADP'nin, kollajenin veya trombinin neden olduğu serotonin salgılanmasını ve insan trombosit agregasyonunu inhibe ettiğini gösteren çalışmalar vardır (Beretz ve ark., 1982). Mosawy ve arkadaşları (2013), kersetinin trombosit granül ekzositozunu azaltarak arteriyel kan akımını artırdığını gösteren çalışmalar yapmıştır.

Hiperozit

Hiperozit, *Hypericum* ve *Crataegus* bitkilerinde bulunan antiviral (Chen ve ark., 2012; Wu ve ark., 2007), antioksidan (Ji ve ark., 2016), antitrombotik (Ku ve ark., 2012), antitümoral (Ting ve ark., 2016), antiapoptotik aktivite (Zhang ve ark., 2010) ve antidepresan benzeri etki (Haas ve ark., 2011) gösterdiği bildirilen bir flavonoiddir.



Şekil 10. Hiperozitin Kimyasal Yapısı (Merck İndex).

Aynı zamanda hiperozit ekstraselüler sinyal ile düzenlenen protein kinaz (ERK)'nin aktivasyonu yoluyla oluşan oksidatif stres ile indüklenen iskemik reperfüzyon (I/R)'dan kardiyomiyositleri koruyabildiği bildirilmektedir (Li ve ark., 2013).

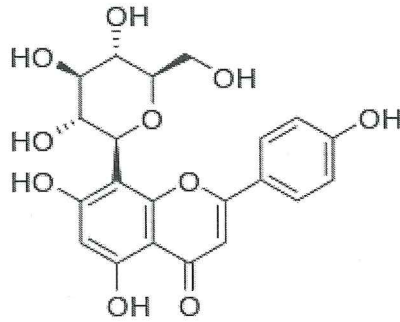
Hipertansif sıçanlarda yürütülen bir çalışmada ise *Crataegus* ekstresinin ve onun hiperozit fraksiyonunun kan basıncı, lipid seviyeleri ve koroner arter duvar yapısı üzerindeki kronik etkileri incelenmiştir. *Crataegus* ekstresinin özellikle de hiperozit flavonoidinin eNOS aktivitesini artırmak suretiyle hipertansiyonlu sıçanlarda gözlenen yüksek kan basıncını azalttığı ayrıca hiperlipidemi, arter duvarının kalınlaşmasını ve damar lümeninin daralmasını belirgin bir şekilde önlediği ortaya konmuştur (Koçyıldız ve ark., 2006).

Ku ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (2012), hiperozit ile tedavide parsiyal trombosit zamanını (aPTZ) ve protrombin zamanını (PZ) anlamlı olarak uzattığını ve faktör Xa ve trombin aktivasyonunu inhibe ettiği sonucuna varılmıştır. Aynı zamanda bu çalışmada hiperozitin antikoagülan aktivitesinin heparinden daha düşük olduğu göstermiştir. aPTZ 'nin uzamasını gösteren sonuçlar intristik veya genel yolağın inhibisyonu hakkında, PZ'nin uzamasını gösteren sonuçlar ise ekstrinsik koagülasyon yoloğının inhibisyonu hakkında fikir vermiştir. Hiperozit 50 µM'dan yüksek konsantrasyonlarda hücrenel yaşamı etkilememiştir. Aynı zamanda bu çalışmada C-3'te metoksil grubu bulunan kersetin tipi galaktozidler yüksek antikoagülan etki sergileyebileceği gösterilmiştir.

Hiperozitin antitrombotik ve antifibrinolitik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, hiperozit ile tedavide Faktor Xa ve trombinin aktivasyonun inhibe edildiği ve protrombin zamanının (PZ) ve aktive edilmiş parsiyel tromboplastin zamanının (aPTZ) azaldığı gösterilmiştir ve yine aynı çalışmada hiperositin ekstrinsik ve intristik koagülasyon yolağını ve plazminojen doku aktivatör inhibitörü-1'in salınımına bağlı TNF-α'yı inhibe ederek antitrombotik etki gösterdiği anlaşılmıştır (Ku ve ark., 2012).

Viteksin

Viteksin, apigenin-8-CD-glukopiranozit olarak adlandırılan doğal bir flavonoiddir (Yang ve ark., 2012).



Şekil 11. Viteksinin Kimyasal Yapısı (Merck İndex).

Antihipertansif, antiinflamatuvar, antispazmodik, (http-21; Zunoliza ve ark., 2009), antimikrobiyal ve antioksidan (Picerno, 2003; Praveena ve ark., 2012) etkiler gösteren viteksin (8-beta-D-glucopyranosyl-apigenin) etken maddesine ait bir çok çalışma mevcuttur (Prabhakar, 1981). Viteksinin antihipertansif etkisi gangliyon blokajı özelliğinden kaynaklandığı düşünülürken antiinflamatuvar etkisi ise viteksinin antihistaminik, antibradikinin, antiserotonin özelliklerinin olduğu ileri sürülmektedir (http-21). Viteksin aynı zamanda sinaptik boşluktaki katekolaminlerdeki artışa aracılık ederek antidepresan benzeri etki gösterir (Can ve ark., 2012). Viteksinin insan göğüs kanser hücresi üzerinde apoptotik etkileri olduğu bildirilmektedir (Lee ve ark., 2012).

Bununla birlikte, Hoffmann-Bohm'un çalışmalarında (1992) izoviteksin ve viteksin gibi C-glikozilflavonların bu fonksiyonu taşımadığı görülmüştür. Budzianowski ve arkadaşları (1991) tarafından orientin, izoorientin, viteksin, izoviteksini de içeren 10 adet C-glikozilflavonun antioksidan aktivitesi çalışılmış

ve sadece bir iki tanesinin belirgin bir aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Lin ve arkadaşları (2002), ksantin oksidaz sistemi üstünde sadece izoviteksin'in zayıf bir antioksidan aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Viteksinin guatrda rol oynayan tiroid peroksidazı inhibe ettiğini gösteren çalışmalar vardır (http-22).

Bu tez kapsamında *Crataegus* türlerinin içerdiği aktif bileşenlerinden olan apigenin, viteksinin, kersetinin, hiperozitin antitrombotik etkilerinin in vivo olarak karegen ile indüklenen kuyruk tromboz testi kullanılarak araştırılıp karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇLER

Hayvanlar

Deneylemizde Anadolu Üniversitesi Deneysel Hayvanları Araştırma ve Uygulama Birimi'nden ve Üsküdar Üniversitesi Deneysel Araştırma Birimi alınmış olan her iki cinsten seçilmiş yaklaşık 30-40 g ağırlığında, 12 saat gece/gündüz aydınlatmalı, 18-25°C'de, iyi havalandırılmış odalarda barındırılan Swiss albino fareler kullanılmıştır. Beslenme amacıyla verilen standart yem peletlerini ve suyu istedikleri kadar tüketmelerine izin verilmiştir. Deneysel hayvanları ile yapılacak çalışmalar için Anadolu Üniversitesi Deneysel Hayvanları ve Uygulama Birimi'nden Etik Kurul onayı alınmıştır (EK-1 Karar No: 2013-3; EK-2 Karar No: 2014-7).

Kullanılan Kimyasal madde ve İlaçlar

Karegenin Tip 1(Sigma –Aldrich)

Heparin 25.000 IU (Sanofi Aventis)

Serum fizyolojik (Polifarma)

Karboksimetil selüloz (Sigma –Aldrich)

Apigenin (Sigma –Aldrich)

Hiperozit (Sigma –Aldrich)

Kersetin (Sigma –Aldrich)

Viteksin (Sigma –Aldrich)

Kullanılan Cihazlar

Hassas terazi (OHAUS)

Dijital kumpas (Aydal) (ölçme kapasitesi: 0-300mm)

YÖNTEMLER

Kullanılan Maddelerin Hazırlanması

Test maddelerini çözmek için kullanılan karboksimetil selüloz (CMC), serum fizyolojik (SF) ile seyreltildi. Test maddelerinin tümü %5'lik CMC+SF (3ml CMC+7ml SF) karışımında çözüldü.

CMC çözeltileri; etkili kalınlaştırıcı, yapıştırıcı, bağlayıcı, stabilizatör ve su solüsyonları için süspansiyon faktörü olması, yağlara ve organik çözeltilere dayanıklı olan mükemmel film oluşturması, tepkimelerde fizyolojik olarak tesirsiz ve anyonik olması, mükemmel ayırıcı ve emülsiyon oluşturucu özelliği ile hem soğuk suda hem de sıcak suda çözünebilir olması gibi özelliklere sahiptir. Eczacılıkta uçucu olmayan göz damlalarının içeriklerinde yağlandırıcı, kremlerde, merhemlerde ve losyonlarda kıvamlaştırıcı, sabitleyici ve film oluşturucu, jel ürünlerde jelleştirici, koyulaştırıcı, koloit engelleyici ve film oluşturucu, yüksek dayanıklılık özelliği ile tablet haplarda bağlayıcı, ishal haplarının içeriğinde su bağlayarak hacim artırma özelliği yüzünden tercih edilir. Şuruplarda koyulaştırıcı olarak ve süspansiyonlarda koyulaştırıcı ve yapı koruyucu olarak kullanılır (http-24).

Antitrombotik Aktivite Deneyi

Karegen ile indüklenen kuyruk tromboz testi

Deney grupları dişi ve erkek Swiss-albino farelerden oluşturuldu (n=7-8) Kontrol grubuna % 5 karboksimetil selüloz (CMC) (3CMC:7 SF oranında) 0.1 ml olarak uygulandı. Pozitif kontrol grubuna 100 I.U (ml/kg)⁻¹ heparin enjekte edilmiştir. Test gruplarına ise sırasıyla 50, 100 ve 200 mg/kg test maddeleri (apigenin, viteksin, kersetin, hiperozit) i.p yolla verilmiştir. Test maddesinin enjeksiyonundan 1 saat sonra farelerin her birine serum fizyolojik ile hazırlanarak %1'lik karegenin 40 µl olarak subplantar yolla enjekte edilmiştir. Fareler karegenin enjeksiyonundan sonraki 24., 48. ve 72. saatlerde kuyruklarında meydana gelen tromboz uzunlukları (koyu pembeden-mora doğru değişen renk farklılığına göre) ölçülmüş ve fotoğraflanmıştır (Hagimori ve ark., 2009; Yan ve ark., 2009).

Verilerin İstatiksel Analizi

Hayvanlardan elde edilen tüm değerler, tek tek deneysel verilerin aritmetik ortalamasıdır. Kontroller ve test maddeleri (apigenin, viteksin, hiperozit, kersetin) uygulanan hayvanlar arasında görülen farklılıklar One-way ANOVA testi uygulanarak istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir. Deney sonuçları olarak elde edilen tüm verilerin istatistik analizleri için GraphPad Prism 5.0 istatistik programı kullanılmıştır.

Karegen ile indüklenen kuyruk tromboz testinden elde edilen kuyruk tromboz uzunluk değerleri aşağıdaki formülde yerine konularak % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır:

$$\% \text{ inhibisyon} = \left[\frac{\text{Kuyruk Tromboz Uzunluğu}_{\text{kontrol}} - \text{Kuyruk Tromboz Uzunluğu}_{\text{test maddesi}}}{\text{Kuyruk Tromboz Uzunluğu}_{\text{kontrol}}} \right] \times 100$$

BULGULAR ve TARTIŞMA

Tez kapsamında, viteksin, kersetin, apigenin ve hiperozitin antitrombotik etkilerinin araştırılması amacıyla yapılan karegenin ile indüklenen kuyruk tromboz testinin 24-72 saatlik zamana bağlı sonuçları grafiklerde verilmiştir (Şekil 12-13-14). Çizelge 2’de ise test maddelerinin ve pozitif kontrol olarak kullanılan heparinin tromboz yüzde inhibisyon değerleri görülmektedir.

Çizelge 2’de ve grafiklerde verilen sonuçlara göre, 24. saatte 50, 100 ve 200 mg/kg apigenin kontrol grubuna göre trombus oluşumunu anlamlı derecede inhibe etmiştir (sırasıyla: $P < 0.001$, $P < 0.001$, $P < 0.05$). Apigeninin her üç dozda da 24. saatte gösterdiği anlamlı etkiyi, 48. ve 72. saatlerde de devam ettirdiği gözlenmiştir (Şekil 12-13-14). 50 ve 100 mg/kg dozlarda apigeninin her üç günde de daha etkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 2). Sonuçlar değerlendirildiğinde apigeninin antitrombotik etkisinin en yüksek olduğu doz 100 mg/kg’dır ($P < 0.001$). Bu dozdaki apigeninin yüzde tromboz inhibisyon oranı heparinin yüzde tromboz inhibisyon oranı ile her üç gün için karşılaştırıldığında apigeninin heparine göre daha yüksek oranda antitrombotik etkisinin olduğu görülmektedir. 72. saatte 200 mg/kg apigeninin heparine göre yüzde tromboz inhibisyon oranının ise daha düşük olduğu belirlenmiştir.

50, 100 ve 200 mg/kg dozlarda kontrol grubuna göre trombus oluşumunu anlamlı derecede inhibe eden diğer bir etken madde olan viteksin 50 ve 100 mg/kg dozlarda 200 mg/kg dozuna göre daha etkili olduğu gözlenmiştir (sırasıyla: $P < 0.001$, $P < 0.001$, $P < 0.05$). Viteksin 50 mg/kg’ın yüzde tromboz inhibisyon etkinliğinin ölçüm yapılan her üç günde de heparinden daha güçlü olduğu görülmektedir. 200 mg/kg dozda viteksin her üç günde de heparine göre yüzde tromboz inhibisyon oranının daha düşük olduğu tespit edilmektedir.

Kersetinin 50 ve 100 mg/kg dozlarda gösterdiği antitrombotik etki kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir etki elde edilememiştir. Ancak 200 mg/kg dozda her üç günde de anlamlı ($P < 0.001$) trombozu inhibe edici etkinlik göstermiştir. Kersetinin 50, 100 ve 200 mg/kg dozlardaki antitrombotik etkisi, heparinin yüzde tromboz inhibisyon oranları ile karşılaştırıldığında, kersetin 50 ve 100 mg/kg dozlarda heparine göre daha düşük bir inhibisyon oranına sahipken kersetinin 200 mg/kg dozda heparinin antitrombotik etkisine benzer etki gösterdiği görülmektedir. Ayrıca kersetinin 200 mg/kg dozunda antitrombotik etkinlik azalmadan üç gün boyunca devam etmektedir (Çizelge 2).

Hiperozit 200 mg/kg dozda her üç günde de anlamlı ($P < 0.001$) bir antitrombotik etkinlik gösterirken 50 ve 100 mg/kg dozlarda gösterdiği etki kontrole göre anlamlı bulunmadı (Şekil 12,13, 14). 200 mg/kg dozda hiperozidin her üç günde de yüzde tromboz inhibisyon oranlarının heparinin yüzde inhibisyon oranlarına yakın olduğu görülmektedir (Çizelge 2). 100 UI heparin uygulaması yapılan grupta antitrombotik etkinliğin üç gün boyunca benzer şekilde devam ettiği gözlenmiştir ($P < 0.01$).

Bu çalışma kapsamında apigenin, hiperozit, kersetin ve viteksin etken maddelerinin farelerde in vivo olarak antikoagülan etkisi incelendi. Hiperozit ve kersetin sadece yüksek dozda etki gösterirken (200mg/kg), apigenin ve viteksin tüm dozlarda etki göstermiştir (50, 100, 200mg/kg).

Fizyolojik olarak tromboz ve hemostaz birbirine benzer, fakat tromboz patolojik bir olayken hemostaz metabolizmanın fizyolojik bir reaksiyonudur. Tromboz dolaşım sisteminde kan akışını engeller ve farklı kardiyovasküler hastalıklara sebep olur. Bu yüzden antikoagülan ajanlar kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde önemli bir yer tutar. Araştırmacılar günümüzde kullanılan ilaçların yan etkilerinin fazla ve aynı zamanda dar terapötik aralığa sahip olması nedeniyle yeni ajanlar geliştirmeye yönelmiştir.

Karegen ile indüklenen kuyruk tromboz testinde kullanılan karegenin kırmızı yosundan elde edilen polisakkarit bir polimerdir. Bu çalışmada tromboz oluşumuna katkısının daha fazla olduğu düşünülen kappa karegen içeriği yüksek olan tip 1 karegen kullanılmıştır. Farelerde kuyruk trombozu 24 saat içinde belirgin bir şekilde oluşmuş ve kuyrukta meydana gelen tromboz pembeden mora doğru değişen bir renkte meydana gelmiştir. Bu süre içerisinde kuyruk trombozuna bağlı nekroz gözlenmiştir. Karegen bu etkisini inflamatuvar faktörleri açığa çıkarmasıyla gösterdiği düşünülmektedir (Hagimori ve ark., 2009).

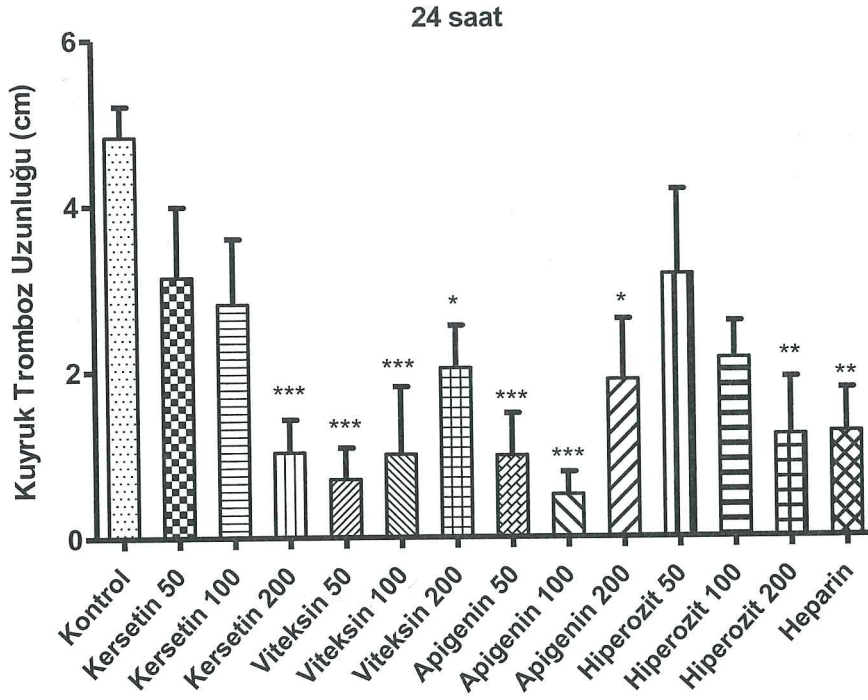
Çeşitli flavanoid içeren bir bitki olan *Crataegus* kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. *Crataegus oxycantha* ve *Crataegus aronia* syn. *azarolus* (L)'nin antitrombotik etkileri in vitro olarak gösterilmiştir (Ku ve ark., 2012). *Crataegus* türlerinin trombosit agregasyonunu inhibe ederek anritrombotik etki gösterdiği düşünülmüştür. *Crataegus* türleri hiperozit, apigenin, apigenin-7-glukozit, viteksin ve kersetin gibi çeşitli flavonoidleri içermektedir (Bor, 2010). Tüm bu sebeplerden dolayı çalışmamızda apigenin, hiperozit, viteksin ve kersetinin trombotik etkileri araştırıldı ve bu flavonoidlerin farelerde farklı dozlarda etkili olduğu tespit edildi.

Flavonoidlerin antitrombotik aktivitesinde TXA₂ salınımının inhibisyonu, trombositlerdeki Ca⁺² basamağındaki azalış, glikoprotein IIb/IIIa reseptörlerinin bloke edilmesi gibi farklı mekanizmaların rol oynadığı düşünülmektedir (Buckı ve ark., 2003). Apigenin ve kersetin, plazmadan zenginleştirilmiş in vitro ortamda trombosit agregasyonuna bağlı kollajeni inhibe ettiği gösterilmiştir. Apigenin, genistein, luteolin ve kersetin TXA₂ reseptörlerini (TP), TP reseptör antagonisti SQ29548'ye benzer şekilde bloke etmektedir. TXA₂ yolağını baskılayan aspirin, apigenin ile birlikte kullanıldığında daha güçlü antitrombosit etki göstermektedir (Navarro-Núñez ve ark., 2015).

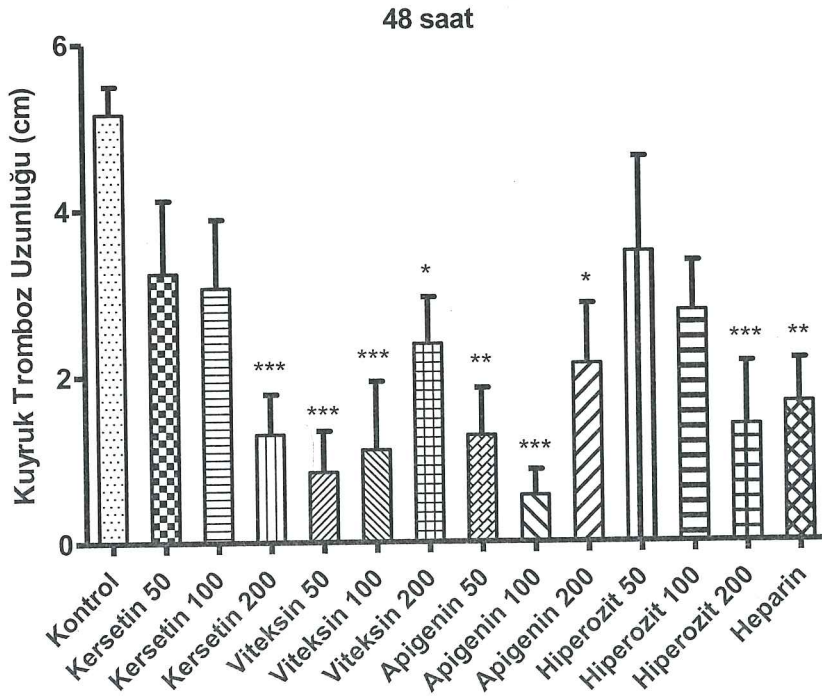
Deneilerimizde tromboz karegen ile oluşturulmuştur. Karegenin trombotik aktivitesi, aynı zamanda faktör XII olarak bilinen Hageman faktörünün aktivasyonu sonucu oluşturduğu rapor edilmiştir (Bekemeier ve Hirschelmann, 1988). Karegen ile tromboz oluşumu için düşünülen bir diğer mekanizması ise karegenin vazokonstriktör faktörleri artırması ve vazodilatör faktörleri azaltmasıyla oluşan endotel hücre hasarına bağlı tromboz oluşumunu sağlayan tümör nekroz faktör (TNF)'ün ve interlökin-1 (IL-1)'in salıverilmesiyle oluşan kan damarlarındaki inflamasyona bağlı olarak normal endotel hücrelerinin işleyişini bozması sonucu gerçekleşmektedir (Yan ve ark., 2009). Karegen ile indüklenen tromboz oluşum testi ile yapılan bu çalışmada apigenin, hiperozit, viteksin ve kersetin, trombozu başlatan Hageman faktörü ve TXA₂'ye antagonist etki gösterip trombosit agregasyonunu inhibe ederek veya inflamasyonu başlatan

TNF ve IL1 basamaklarının etkinliğini azaltarak tromboz oluşumunu önlediği düşünölmektedir.

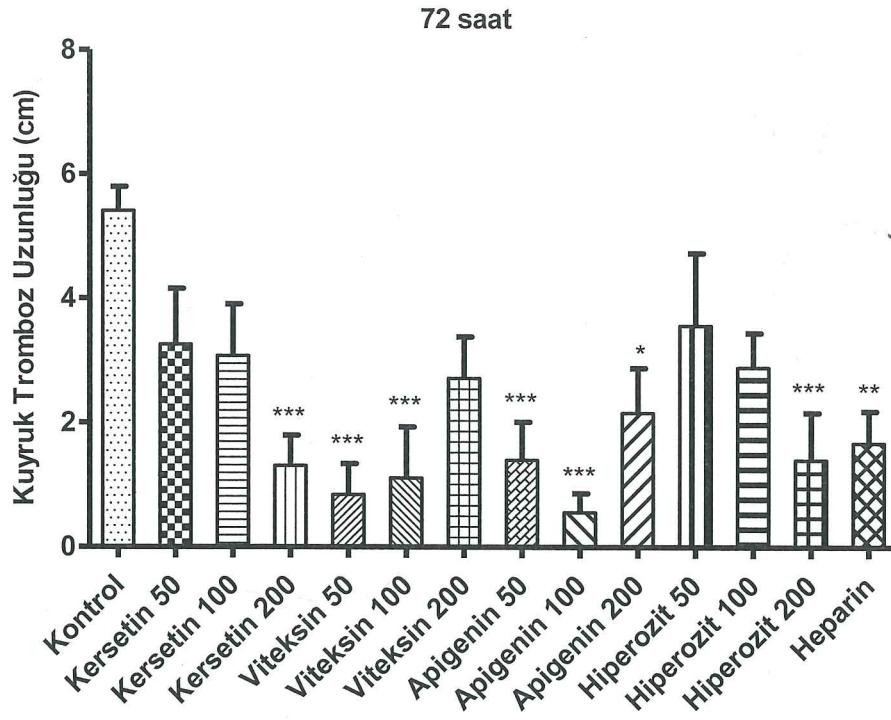
Flavonoidlerin antitrombotik etkisini gösteren in vivo olarak yaptığımız bu çalışmamızda tüm test edilen etken maddeler antitrombotik etkiye sahiptir. Bu flavonoidlerin diğer antikoagölan ajanlarla birlikte tamamlayıcı ilaç veya tromboz tedavisinde güçlü proflaktik bir ajan olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Sonuçlarımıza göre, bu flavonoidlerin antitrombotik ve/veya antikoagölan ajanlar geliştirmek için kullanılabileceğini düşünmekteyiz ve bu etken maddeler daha fazla detaylı ve klinik çalışmalarla değerlendirilmelidir. Ayrıca bu flavonoidlerden yola çıkılarak sentetik kimyasal ilaçların keşfinde rol oynayabileceğini düşünmekteyiz.



Şekil 12. Flavonoidlerin Karegen ile indüklenen kuyruk tromboz testi 24. saat sonuçları (n=7-8) Kontrol grubuna göre karşılaştırma * $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$.



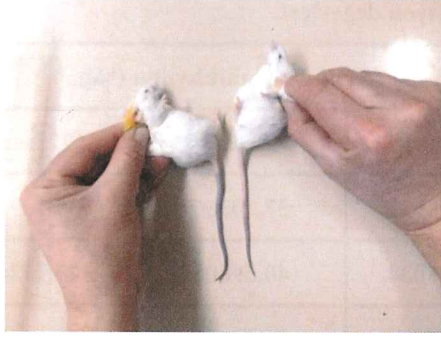
Şekil 13. Flavonoidlerin Karegen ile indüklenen kuyruk tromboz testi 48. Saat Sonuçları (n=7-8) Kontrol grubuna göre karşılaştırma * $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$.



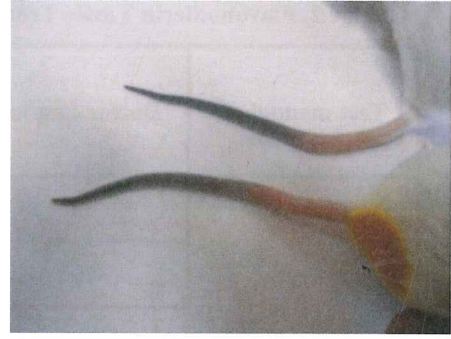
Şekil 14. Flavonoidlerin Karegenin ile indüklenen kuyruk tromboz testi 72. saat sonuçları (n=7-8) Kontrol grubuna göre karşılaştırma * $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$.

Çizelge 2. Flavonodlerin Yüzde Tromboz İnhibisyon değerleri.

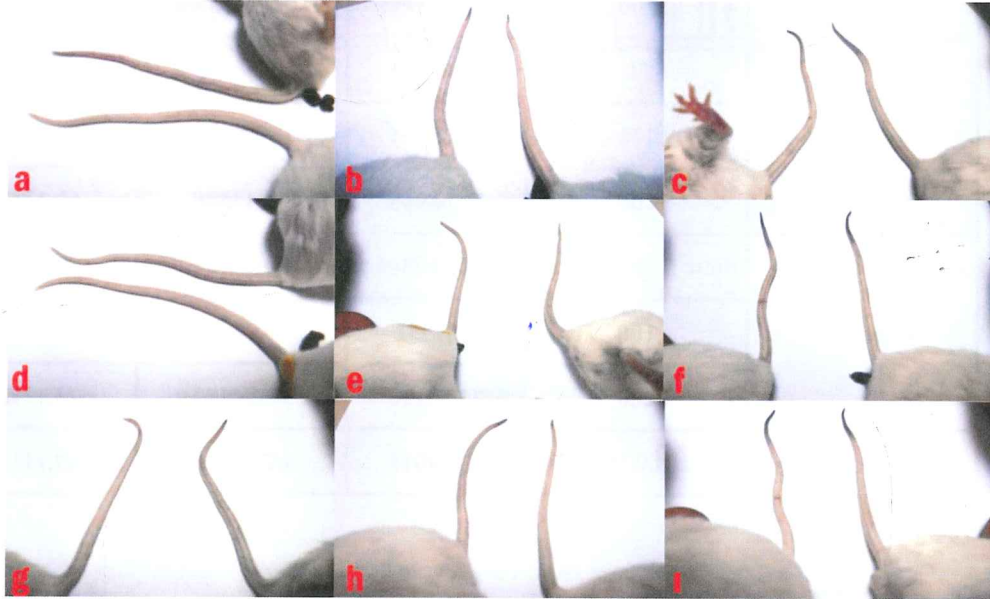
Test maddeleri	Dozlar (mg/kg)	Tromboz inhibisyonu (%)		
		24. saat	48. saat	72. saat
Kersetin	50	35,08621	37,20366	39,70739
	100	41,81034	40,59806	43,17248
	200	78,7931	74,78448	75,74435
Viteksin	50	85,51724	83,65148	84,42358
	100	79,31034	78,42134	79,44045
	200	57,73399	53,72537	49,83866
Apigenin	50	79,60591	75,06158	74,12731
	100	89,35961	89,19335	89,70373
	200	60,68966	58,43596	60,13494
Hiperozit	50	34,31034	32,35453	34,163243
	100	48,7931	46,17457	46,63758
	200	74,58128	72,84483	74,12731
Heparin	100 IU	73,99015	67,58005	69,11118



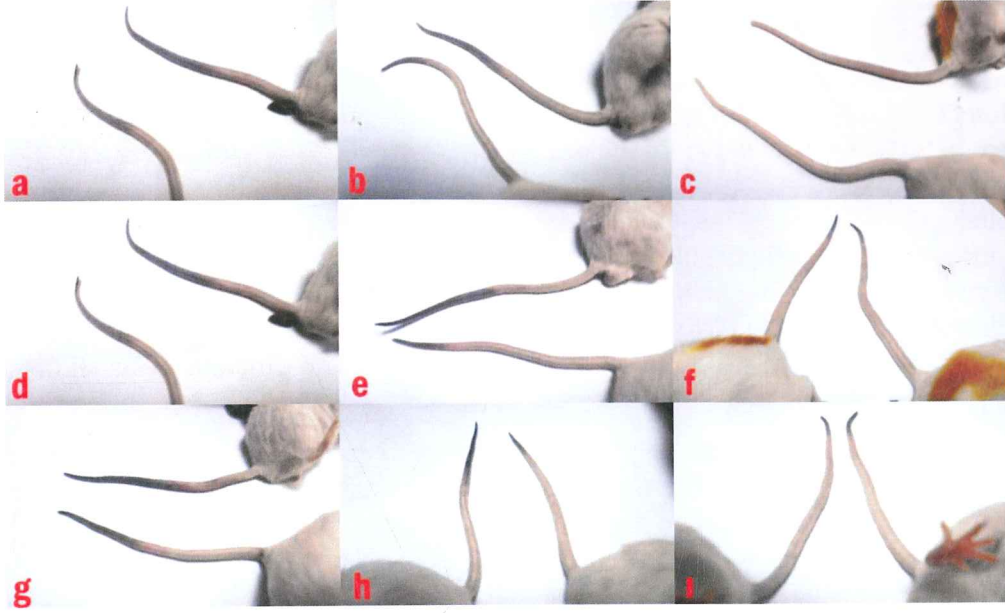
Şekil 15. Kontrol grubu %5 CMC-SF (3:7)



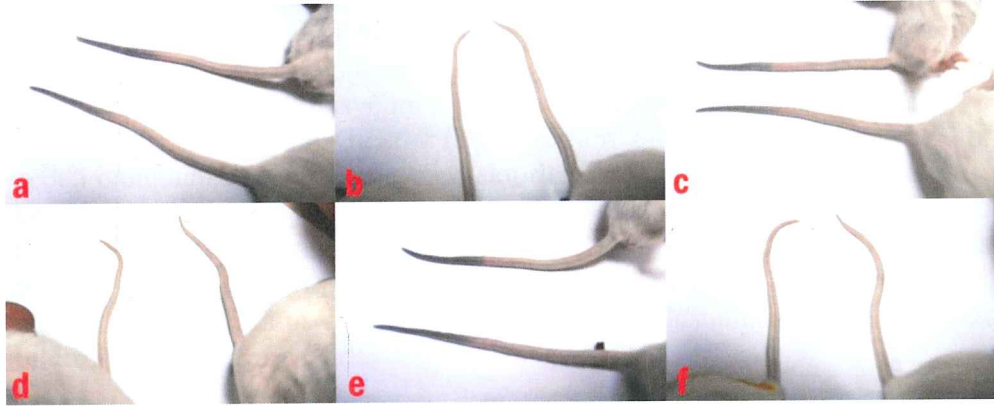
Şekil 16. 100 IU Heparin



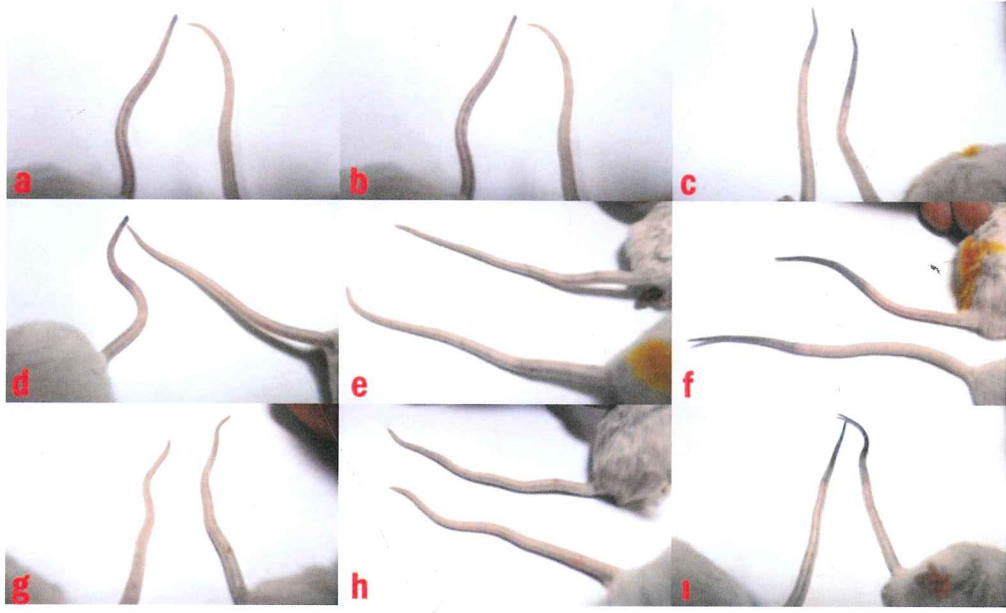
Şekil 17 Apigeninin Karegen ile İndüklenen Kuyruk Tromboz Test Sonuçları Kuyruk Görüntüleri: a: Apigenin 50 mg/kg 24. saat; b: Apigenin 100 mg/kg 24. saat; c: Apigenin 200 mg/kg 24. saat; d: Apigenin 50 mg/kg 48. saat; e: Apigenin 100 mg/kg 48. saat; f: Apigenin 200 mg/kg 48.; g: Apigenin 50 mg/kg 72. saat; h: Apigenin 100 mg/kg 72. saat; ı: Apigenin 200 mg/kg 72. saat; Fotoğraflar her gruptan ikişer deney hayvanını içermektedir.



Şekil 18. Kersetinin Karegen ile İndüklenen Kuyruk Tromboz Test Sonuçları Kuyruk Görüntüleri: a: Kersetin 50 mg/kg 24. saat; b: Kersetin 100 mg/kg 24. saat;c: Kersetin 200 mg/kg 24. saat; d: Kersetin 50 mg/kg 48. saat; e: Kersetin 100 mg/kg 48. saat; f: Kersetin 200 mg/kg 48.; g: Kersetin 50 mg/kg 72. saat; h: Kersetin 100 mg/kg 72. saat; i: Kersetin 200 mg/kg 72. saat; Fotoğraflar her gruptan ikişer deney hayvanını içermektedir.



Şekil 19. Hiperozitin Karegen ile İndüklenen Kuyruk Tromboz Test Sonuçları Kuyruk Görüntüleri: a: Hiperozit 100 mg/kg 24. saat; b: Hiperozit 200 mg/kg 24. saat;c: 100 Hiperozit mg/kg 48. saat; d: Hiperozit 200 mg/kg 48. saat; e: Hiperozit 100 mg/kg 72. saat; f: Hiperozit 200 mg/kg 72. saat; Fotoğraflar her gruptan ikişer deney hayvanını içermektedir. 50 mg/kg dozda hayvanların kuyrukları kopmuştur.



Şekil 20. Viteksinin Karegen ile İndüklenen Kuyruk Tromboz Test Sonuçları Kuyruk Görüntüleri: a: Viteksin 50 mg/kg 24. saat; b: Viteksin 100 mg/kg 24. saat;c: Viteksin 200 mg/kg 24. saat; d: Viteksin 50 mg/kg 48. saat; e: Viteksin 100 mg/kg 48. saat; f: Viteksin 200 mg/kg 48.; g: Viteksin 50 mg/kg 72. saat; h: Viteksin 100 mg/kg 72. saat; ı: Viteksin 200 mg/kg 72. saat; Fotoğraflar her gruptan ikişer deney hayvanını içermektedir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Ülkemiz tıbbi bitkiler açısından oldukça zengindir. Bu bitkilerin yararlı etkileri içerdikleri çeşitli fenolik ve benzeri maddelerden kaynaklanmaktadır. Fenolik bileşiklerin en büyük grubunu oluşturan flavonoidler meyve ve sebzeler, çay, kahve ve şarap gibi bitkisel kaynaklı yiyecek ve içeceklerde önemli oranda yer almaktadır. Günümüzde flavonoidlerin çok çeşitli sağlık sorunları üzerindeki etkileri nedeniyle araştırma konusu oldukları bilinmektedir. Projemiz kapsamında pekçok bitkinin yapısında bulunmakta olan apigenin, vitexin, hiperozit ve kersetinin antitrombotik etkinliği farelerde karegen ile indüklenen kuyruk tromboz testi ile araştırılmıştır.

Flavonoidlerin, analjezik, antiinflamatuvar, antioksidan ve antitrombotik etkiler gösterdikleri bilinmektedir. Etki mekanizmaları tamamen aydınlatılamasa da *in vivo* etkileriyle ilgili çeşitli mekanizmalar öne sürülmüştür (Nijveldt ve ark., 2001). Flavonoidlerin gösterdiği antitrombotik etkilerin, trombosit sAMP konsantrasyonunu artırarak, siklikfosfodiesteraz aktivitesini inhibe ederek, trombosit agregasyonunu önleyerek, eikozonoid metabolizmasındaki reaksiyonları birçok noktada etki ederek (örneğin prostoglandin I₂ aktivitesini artırarak, tromboksan sentezini inhibe ederek, tromboksan reseptörlerini bloke ederek, siklooksigenaz ve lipoksigenazi inhibe ederek) gösterdikleri ileri sürülmektedir (Burak ve Çimen 1999; Kahraman ve ark., 2002).

Trombus oluşturmak için kullanılan karegenin kırmızı deniz yosunlarından elde edilen bir çeşit amiloz sulfat maddesidir. Karegen ile indüklenen kuyruk tromboz testi için kappa içeriği yüksek olan Tip 1-karegen kullanılmıştır. Karegen türleri arasında trombojenik etkinliği en yüksek olan κ-karegenidir. Karegenin trombus oluşturucu etkisinde mast hücrelerinden salınan histamin ve serotonin gibi mediatörlerin yanı sıra tromboksan/PGI₂ dengesinin ve kısmen de trombosit aktive edici faktörün (PAF) rolü olduğu düşünülmektedir (Bekemeier ve Hirschelmann, 1988; Hagimori ve ark., 2009). Bazı araştırmacılar ise karegenin, kan damarlarının inflamasyonuna ve endotel hücrelerinin hasarlanmasına bağlı olarak intörlökin-1, tümör nekroz faktör gibi inflamasyon faktörlerinin salınımına neden olduğunu ve bu inflamasyon faktörlerinin normal endotel hücrelerinin, kan hücrelerinin aglütinasyonu ve fibrinolizi arasında denge sağlama fonksiyonunu bozarak trombus oluşumunu tetiklediğini ileri sürmektedirler. Endotel hasarı sonucu vazodilatör maddelerin salınımının azalması ve vazokonstriktör maddelerin salınımının artması sonucu trombus oluşumuna zemin hazırlandığı bildirilmektedir (Yan ve ark., 2009).

Çalışmamızda, apigenin, hiperozit, kersetin ve vitexin flavonoidlerinin farklı dozlarda ve farklı zamanlarda antitrombotik etki gösterdiği belirlenmiştir ve test ettiğimiz flavonoidlerin yukarıda bahsedilen mekanizmalardan (örneğin; trombosit agregasyonunu önleyerek, eikozonoid metabolizmasındaki reaksiyonları birçok noktada inhibe ederek) bir ya da birkaçını kullanarak antitrombotik etki gösterdiği düşünülmektedir (Sandhar ve ark., 2011). Tromboz oluşumunda, özellikle karegen ile oluşturulan, inflamatuvar faktörlerinde önemli rol oynadığı bilinmektedir (Begum ve ark., 2015). Çalışmamızda kullanılan flavonoidlerin analjezik ve antiinflamatuvar etkileri olduğu da göz önüne alınacak olursa eikozonoid metabolizmasındaki reaksiyonları birçok noktada inhibe etmelerinin

antitrombotik etkilerinde önemli olabileceği düşünülmektedir. Mekanizmalarını tam olarak aydınlatılabilmesi için in vitro detaylı çalışmalar yapılması gerekmektedir. Çalışmamızın, bu flavonoidlerin daha güvenilir bir şekilde tıbbi kullanımını sağlayacağı ve yeni ilaçların geliştirilmesi için ışık tutacağı düşünülmektedir. Bu etken maddelerin tromboz tedavisinde tekli, kombinasyon veya tamamlayıcı ilaç olarak kullanılması düşünülebilir.

Hormetik teori, toksik maddelerin düşük dozlarına canlıların kısa sürelerde yararlı cevaplar üretirken, uzun dönemde ise bunu koruyucu yanıtı dönüştürerek canlıların immün sistemini ve adaptasyonunu güçlendirdiğini ileri sürmektedir. Hormesis olarak adlandırılan bu durum doz –cevap eğrisinde doza bağlı cevabın bifazik olmasıyla ortaya çıkmaktadır. Bifazik cevap, toksik ajanların yüksek dozlarının zararlı ve öldürücü; düşük veya çok düşük dozların yararlı olduğuna işaret eder. Hormetik teoride hücreye/organizmaya yarar sağlayan düşük veya çok düşük dozlar “hormetik uyaran” olarak adlandırılır (Kısım ve Uzunoğlu, 2012).

Apigenin ve vitexin etken maddelerinin ilk anlamlı etkisini 50 ve 100 mg/kg dozda göstermesi ve 200 mg/kg dozda etkinin azalması bu etken maddelerin düşük dozlarda hormetik uyaran olabileceğini işaret etmektedir. Bu etken maddelerin düşük dozlarda kullanımlarının daha yararlı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Altınterim, B., Alıç Bitkisinin (*Crataegus Monogyna*) Kardiyovasküler Etkileri, KSU J. Nat. Sci., 15(3), 16-17, (2012).
- Arslan, R., Bektas, N., Bor, Z., Sener E. Evaluation of the antithrombotic effects of *Crataegus monogyna* and *Crataegus davisii* in the carrageenan-induced tail thrombosis model, Pharm Biol., 53(2), 275-9, (2015).
- Arslan, R., Bor, Z., Bektas, N., Meriçli, A.H., Ozturk, Y., Antithrombotic effects of ethanol extract of *Crataegus orientalis* in the carrageenan-induced mice tail thrombosis model, Thromb Res 127, 210–13, (2011).
- Aynacıoğlu, A. Ş., Özkur, M., Nacak, M., Saracaloğlu, A., Farmabul, Çukurova Nobel Tıp Kitabevi, Adana, 226-230, (2014).
- Bahorun, T., Aumjaud E., Ramphul, H., Rycha, M., Luximon-Ramma, A., Trotin, F., Aruoma, O.I., Phenolic constituents and antioxidant capacities of *Crataegus monogyna* (*Hawtorn*) callus extracts, Nahrung, 47,191-198 (2003).
- Balabolkin, II., Gordeeva, G.F., Fuseva, E.D., Dzhunelov, A.B., Kalugina, O.L., Khamidova, M.M., Use of vitamins in allergic illnesses in children, Vopr Med Khim., 38(5), 36-40, (1992).
- Baytop, T., Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün), ilaveli 2. baskı, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 161-162, (1984).
- Begum, R., Sharma, M., Pillai, K.K., Aeri, V., Sheliya, M.A., Inhibitory effect of *Careya arborea* on inflammatory biomarkers in carrageenan-induced inflammation, Pharm Biol, 53(3), 437–445, (2015).
- Bekemeier, H., Hirschelmann, R., Role of eicosanoids in the cappa carrageenin rat tail thrombosis, Biomed. Biochim. Acta., 47, 260-263, (1988).
- Beret, A., Cazenave, J.P., Anton, R., Inhibition of aggregation and secretion of human platelets by quercetin and other flavonoids: structure-activity relationships, Agents Actions., 12(3), 382 -7, (1982).
- Birt, D.F., Walker, B., Tibbels, M.G., Bresnick, E., Antimutagenesis and anti-promotion by apigenin, robinetin and indole-3-carbinol. Carcinogenesis, 7(6),959-63, (1986).
- Bor, Z., *Crataegus orientalis* etanol ekstresinin antinosiseptif, antiinflamatuvar, antitrombotik ve antioksidan etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, (2010).
- Brunton, L.L., Lazo, J. S., Parker, K.L., Tedavinin Farmakolojik Temeli, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 241-242, (2005).
- Buck, R., Pastore, J.J., Giraud, F., Sulpice, J.C., Janmey, P.A., Flavonoid inhibition of platelet procoagulant activity and phosphoinositide synthesis, Journal of Thrombosis and Hemostasis, University of Pennsylvania, İnstitute for Medicine and Engineering, 1820-1828, (2003).

- Budzianowski, J., Pakulski, G., Robak, J., Studies on antioxidative activity of some Cglycosylflavones, *Polish Journal of Pharmacology and Pharmacy*, 43, 395-401, (1991).
- Burak, M., Çimen, Y., Flavonoidler ve Antioksidan Özellikleri, *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 19, 296-304, (1999).
- Bylka, W., Matlawska, I. Pilewski, N.A., Natural flavonoids as antimicrobial agents, *JANA*, 7, 24-34, (2004).
- Can, Ö.D., Demir Özkay, U., Irfan Üçel, U., Anti-depressant-like effect of vitexin in BALB/c mice and evidence for the involvement of monoaminergic mechanisms, *Eur J Pharmacol.*, 699, (2012).
- Challa, S.R., Challa, V.R., Ragam, S.K., Quercetin declines plasma exposure of metoprolol tartrate in the rat model, *J Adv Pharm Technol Res.*, 5(4), 185-90, (2014).
- Chang, Q., Zuo, Z., Harrison, F., ChoW, M.S., *Hawtorn*, *J Clin Pharmacol.*, 42, 605-12, (2002).
- Chen, S.D., Gao, H., Zhu, Q.C., Wang, Y.Q., Li, T., Mu, Z.Q., Wu, H.L., Peng, T., Yao, X.S., Houttuynoids A-E, anti-herpes simplex virus active flavonoids with novel skeletons from *Houttuynia cordata*, *Org Lett.*, 14(7),1772-5, (2012).
- Czeczot, H., Kusztelak, J., A study of the genotoxic potential of flavonoids using short-term bacterial assays, *Acta Biochim. Pol.*, 40(4), 549-54, (1993).
- Çekin, M.D., Altuncan, F., Yakut, A., Tinnaz, M.Z., Bitkilerle Tedavi Sempozyumu, İstanbul, 45, (2010).
- Demir, M., Tekgündüz, E., Antitrombotik ve antikoagulan kullanım ilkeleri, *Trakya Univ. Tıp Fak. Derg.*, 27, 70-71, (2010).
- Demirezer, Ö., Tedavide Kullanılan Bitkiler, *Medikal & Nobel Kitapevi*, Ankara, 65-70, (2007).
- Diane, F., Birt, S.H., Weiqun, W., Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids, *Pharmacology & Therapeutics*, 90(2-3), 157-177 (2001).
- Doğruer, B., Tromboz oluşum mekanizmaları, bozuklukları ve tedavi yaklaşımları, *Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Eskişehir, (2011).
- Feredioon, S., Janitha, P.K., Wanasundara, P.D., Phenolic Antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32(1),67-1, (1992).
- Fong, H.H., Bauman, J.L., *Hawtorn*, *J Cardiovasc Nurs*, 16, 1-8. (2002).
- Guyton, A. C., Hall, J. E., *Tıbbi Fizyoloji*, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 598-609, (2007).
- Gülbahar, Z.G., Plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) 4G/5G gen değişiminin uzun yaşama etkisi, *Yüksek Lisans Tezi*, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara, (2010).
- Ha, S.K., Lee, P., Park, J.A., Oh, H.R., Lee, S.Y., Park, J.H., Lee, E.H., Ryu, J.H., Lee, K.R., Kim, S.Y., Apigenin inhibits the production of NO and PGE2 in

microglia and inhibits neuronal cell death in a middle cerebral artery occlusion-induced focal ischemia mice model, *Neurochem. Int*, 52, 878-886, (2008).

Haas, J.S., Stolz, E.D., Betti, A.H., Stein, A.C., Schripsema, J., Poser, G.L., Rates, S.M., The anti-immobility effect of hyperoside on the forced swimming test in rats is mediated by the D2-like receptors activation., *Planta Med.*, 77(4), 334-9, (2011).

Hagimori, M., Kamiya, S., Yamaguchi, Y., Arakawa, M., Improving frequency of thrombosis by altering blood flow in the carrageenan-induced rat tail thrombosis model, *Pharmacol. Res.* 60, 320-323, (2009).

Hilliard, J.J., Krause, H.M., Bernstein, J.I., Fernandez, J.A., Nguyen, V., Ohemeng, K.A., Barrett, J.F., A comparison of active site binding of 4-quinolones and new flavone binding gyrase inhibitors, *Exp Med Biol.*, 390, 59-69, (1995).

Hodek, P., Trefil, P., Stiborova, M., Flavonoids-Potent and Versatile Biologically Active Compounds Interacting with Cytochromes P450, *Chemico-Biological Interactions*, 139 (1), 1-21, (2002).

Hoffmann, K., Lotter, H., Seligmann, O., Wagner, H., Antihepatotoxic Cglycosylflavones from the leaves of *Allophylus edulis* var. *edulis* and *gracilis*, *Planta Medica*, 58, 544-548, (1992).

Howland, R. D., Mycek, M.J., *Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology*, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 227-230, (2006).

http-1 <http://www.notsehri.com/tromboz-nedir-39175/> (2015).

http-2 <http://erayco.blogspot.com.tr/2012/04/hemostaz-mekanizmas-damar-yaralanmasna.html> (2015).

http-3 <http://www.cengizcanpolat.com/hastaliklar.asp?id=53> (2015).

http-4 http://www.thd.org.tr/thdData/userfiles/file/tarama_testleri.pdf (2015).

http-5 <http://slideplayer.biz.tr/slide/2461482/> (2015).

http-6 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2959034> (2015).

http-7 web.inonu.edu.tr/~eolmez/antikoagulanlar.doc (2015).

http-8 http://www.thd.org.tr/thdData/userfiles/file/2007thtk_15.pdf (2015).

http-9 <http://www.ivek.org.tr/pihtilasma-mekanizmasina-etki-eden-ilaclar-326h.htm> (2015).

http-10

http://www.totmdergisi.org/articles/2003/volume10/issue3/2003_10_3_12.pdf (2015).

http-11 <http://guncel.tgv.org.tr/journal/31/pdf/335.pdf> (2015).

http-12 http://turkinvasivecard.org/2008_2_12/glycoprotein_IIb-IIIa.pdf (2015).

http-13

http://old.tkd.org.tr/pages.asp?pg=:dergi/dergi_content&plng=tur&id=1297&dosya=126 (2015).

- http-14 http://www.journalagent.com/keah/pdfs/KEAH_4_215_220.pdf (2015).
- http-15 http://www.journalagent.com/keah/pdfs/KEAH_1_4_215_220.pdf (2015).
- http-16 www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23222867 (2015).
- http-17 www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24500394 (2015).
- http-18 www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1685529 (2015).
- http-19 www.cancer.org/treatment/treatmentsandsideeffects/complementaryandalternativemedicine/dietandnutrition/querccetin (2015).
- http-20 <http://www.umm.edu/altmed/articles/querccetin-000322.htm> (2015).
- http-21 <http://www.biomedsearch.com/nih/Pharmacological-investigations-vitexin/17402068.html> (2015).
- http-22 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/67032731> (2015).
- http-23 <http://www.boyaturk.com/Haber/Sodyum-Karboksi-Metil-Seluloz-Na-CMC.html> (2015).
- Hu, M., Chen, J., Lin, H., Metabolism of Flavonoids via Enteric Recycling Mechanistic of Disposition of Apigenin in the Caco-2 Cell Culture Model, *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 307, 314-321, (2003).
- Hubbard, G.P., Stevens, J.M., Cicmil, M., Sage, T., Jordan, P.A., Williams, C.M., Lovegrove, J.A., Gibbins, J.M., Quercetin inhibits collagen-stimulated platelet activation through inhibition of multiple components of the glycoprotein VI signaling pathway, *J. Thromb Haemost.*, 1(5), 1079-88, (2003).
- Ikizler, M., Erkasap, N., Dernek, S., Kural, T., Kaygisiz, Z., Dietary polyphenol quercetin protects rat hearts during reperfusion: enhanced antioxidant capacity with chronic treatment, *Anadolu Kardiyol Derg.*, 7(4), 404-10, (2007).
- Ji, Y.P., Xia, H., Mei, J.P., Min, C.O., Pattage, M.D.J.F., Kyoung, A. K., Yea, S. R., Uhee, J., In, G.K., Jin, W. H., Hyperoside Induces Endogenous Antioxidant System to Alleviate Oxidative Stress, *Journal of Cancer Prevention*, 4(2), 89-96, (2016).
- Kahraman, A., Serteser, M., Koken, T., Flavonoidler, *Kocatepe Tıp Dergisi*, 3: 01-08, (2002).
- Katzung, B.G., Masters, S., Trevor, A.J., *Temel ve Klinik Farmakoloji, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul*, 601-617, (2014).
- Kayaalp, O., Akılcı Tedavi yönünden Tıbbi Farmakoloji, *Pelikan Yayıncılık, Ankara*, 509-536, (2012).
- Kısım, A., Uzunoglu, S., Hormesis: Toksik ajanların Düşük Dozlarına Uyum Sağlamada Öncül Fenomen, *Adli Tıp Dergisi*, 180-190, (2012).
- Koçyıldız, Z.C., Birman, H., Olgaç, V., Akgün-Dar, K., Melikoğlu, G., Meriçli, A.H., *Crataegus tanacetifolia* leaf extract prevents L-NAME-induced hypertension in rats: a morphological study, *Phytother Res*, 20, 66-70, (2006).

- Ku, S.K., Kim, T.H., Lee, S., Kim, S.M., Bae, J.S., Antithrombotic and profibrinolytic activities of isorhamnetin-3-O-galactoside and hyperoside, *Food Chem Toxicol.*, 113(9), 2877-83, (2012).
- Ku, S.K., Kim, T.H., Lee, S., Kim, S.M., Bae, J.S., Antithrombotic and profibrinolytic activities of isorhamnetin-3-O-galactoside and hyperoside, *Food Chem Toxicol.*, 53, 197-204, (2013).
- Kuo, M.L., Lee, K.C., Lin, J.K., Genotoxicity of nitropyrenes and their modulation by apigenin, tannic acid, ellagic acid and indole-3-carbinol in the Salmonella and CHO systems, *Mutat. Res.*, 270(2), 87-95, (1992).
- Lane, D.A., Grant, P.J., Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease, *Blood*, 195(5), 1517-32, (2000).
- Lee, C.Y., Chien, Y.S., Chiu, T.H., Huang, W.W., Lu, C.C., Chiang, J.H., Yang J.S., Apoptosis triggered by vitexin in U937 human leukemia cells via a mitochondrial signaling pathway, *Oncol Rep.*, 28(5), 1883-80, (2012).
- Lee, S.H., Ryu, J.K., Lee, K.Y., Woo, S.M., Park, J.K., Yoo, J.W., Kim, Y.T., Yoon, Y.B., Enhanced anti-tumor effect of combination therapy with gemcitabine and apigenin in pancreatic cancer, *Cancer Lett*, 259, 39-49, (2008).
- Li, Z.L., Hu, J., Li, Y.L., Xue, F., Zhang, L., Xie, J.Q., Liu, Z.H., Li, H., Yi, D.H., Liu, J.C., Wang, S.W., The effect of hyperoside on the functional recovery of the ischemic/reperfused isolated rat heart: potential involvement of the extracellular signal-regulated kinase 1/2 signaling pathway, *Free Radic Biol Med.*, 57, 132-40, (2013).
- Lin, C.M., Chen, C.S., Chen, C.T., Liang, Y.C., Lin, J.K., Molecular modeling of flavonoids that inhibits xanthine oxidase, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 31, 167-172, (2002).
- Lucas, H.J., Brauch, C.M., Settas, L., Theoharides, T.C., Fibromyalgia--new concepts of pathogenesis and treatment, *Int. J. Immunopathol Pharmacol.*, 19(1), 5-10, (2006).
- Lüllmann, H., Mohr, K., Hein, L., Bieger, D., *Color Atlas of Pharmacology*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 144-145, (2005).
- Ma, X., Li, Y.F., Gao, Q., Ye, Z.G., Lu, X.J., Wang, H.P., Jiang, H.D., Bruce, I.C., Xia, Q., Inhibition of superoxide anion-mediated impairment of endothelium by treatment with luteolin and apigenin in rat mesenteric artery, *Life Sci*, 83, 110-117, (2008).
- Maso, V., Calgarotto, A.K., Franchi, G.C. Jr., Nowill, A.E., Filho, P.L., Vassallo, J., Saad, S., Multitarget effects of quercetin in leukemia, *American Association for Cancer Research*, 7(2), 1240-1250, (2014).
- Medjroubi, K., Benayache, F., Bermejo, J., Sesquiterpene lactones from *Centaurea musimomum*: Antiplasmodial and cytotoxic activities, *Fitoterapia*, 76, 744-746, (2005).
- Melikoğlu, G., Meriçli, F., Meriçli, A.H., Flavonoids of *Crrataegus orientalis*, *Boll. Chim. Farm.*, 138, 351-352, (1999).

- Meriçli, A.H., *Crataegus* türlerinin kimyasal bileşikleri ve farmakolojik etkileri, *pharmacia-JTPA*, 29, 63 (1,2,3), 26-30, (1989).
- Middleton, E. Jr., Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 439, 175-82, (1998).
- Millington, C., Sonogo, S., Karunaweera, N., Rangel, A., Aldrich-Wright, J. R., Campbell, I.L., Gyengesi, E., Münch, G., Chronic Neuroinflammation in Alzheimer's Disease: New Perspectives on Animal Models and Promising Candidate Drugs, *Biomed Res Int.*, 309129, (2014).
- Mills, S., Bone, K., Principles and Practice of Phytotherapy, Modern Herbal Medicine, Churchill Livingstone, 439-447, (2000).
- Mosawy, S., Jackson, D.E., Woodman, O.L., Linden, M.D., Inhibition of platelet-mediated arterial thrombosis and platelet granule exocytosis by 3',4'-dihydroxyflavonol and quercetin, *Platelets*, 24(8), 594-604, (2013).
- Mycek, M.J., Harvey, R.A., Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology. Penerjemah Azwar Agoes. Edisi II. Jakarta, Widya Medika, Halaman, 227-244, (2001).
- Navarro-Núñez, L., Lozano, M.L., Palomo, M., Martínez, C., Vicente, V., Castillo, J., Benavente-García, O., Diaz-Ricart, M., Escolar, G., Rivera, J., Apigenin inhibits platelet adhesion and thrombus formation and synergizes with aspirin in the suppression of the arachidonic acid pathway, *J. Agric Food Chem.*, 56(9), 2970-6, (2015).
- Nijveldt, R.J., van Nood, E., van Hoorn, D.E., Boelens, P.G., van Norren, K., van Leeuwen, P.A., Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications, *Am J Clin Nutr*, 74(4), 418-425, (2001).
- Patel, D., Shukla, S., Gupta, S., Apigenin and cancer chemoprevention: progress, potential and promise, *Int J Oncol.*; 30, 233-245, (2007).
- Patil, S.L., Rao, N.B., Somashekarappa, H.M., Rajashekhar, K.P., Antigenotoxic potential of rutin and quercetin in Swiss mice exposed to gamma radiation, *Biomed J.*, 37(5), 305-13, (2014).
- Picerno, P., Mencherini, T., Lauro, M.R., Barbato, F., Aquino, R., Phenolic constituents and antioxidant properties of *Xanthosoma violaceum* leaves, *J. Agric. Food Chem.*, 22, 6423-6428, (2003).
- Prabhakar, M.C., Hassina, B., Kumar, I., Shansi, M.A., Khan, M.S.Y., Pharmacological investigations on vitexin, *Planta Medica*, 43, 396-403, (1981).
- Praveena, R., Sadasivam, K., Kumaresan, R., Deepha, V., Sivakumar, R., Experimental and DFT studies on the antioxidant activity of a C-glycoside from *Rhynchosia capitata*, *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, pii: S1386-1425(12)01092-X., (2012).
- Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J., Moore, P.K., Pharmacology, Churchill Livingstone, U.K., 314-319, (2003).

- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G., Structure-Antioxidant Activity Relationships of Flavonoids and Phenolic Acids, *Free Radic Biol Med*, 20(7), 933-56, (1996).
- Rietjens, I.M., Boersma, M.G., van der Woude, H., Jeurissen, S.M., Schutte, M.E., Alink, G.M., Flavonoids and alkenylbenzenes: mechanisms of mutagenic action and carcinogenic risk, *Mutat Res.*, 1;574(1-2), 124-38, (2005).
- Ross, J.A., Kasum, C.M., Dietary flavonoids: Bioavailability, Metabolic Effects and Safety, *Annu. Rev. Nutr.*, 22, 19-34, (2002).
- Sandhar, H.K., Kumar, B., Prasher, S., Tiwori, P., Salhan, M., Sharmo, P., A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids, *Internotionale Pharmaceutica Scientia*, 25-41, (2011).
- Seyitoğlu, B., Apigenin'in I-131 ile İşaretlenmesi ve Radyofarmasötik Potansiyelin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, (2001).
- Shukla, S., Gupta, S., Apigenin: a promising molecule for cancer prevention. *Pharm Res*, 27:962-978, (2010).
- Solmaz, S., Kronik Myeloid Lösemi Hücreleri Üzerinde Apigenin'in Etkileri: İmatinib Duyarlı ve İmatinib Dirençli Durumlarda Olası Mekanizmalar, Yan Dal Uzmanlık Tezi, Başkent Üniversitesi Hematoloji Anabilim Dalı, Ankara, (2012).
- Süzer, Ö., Farmakoloji ders kitabı, İstanbul üniversitesi yayınları, İstanbul, 563-572, (2005).
- Şamlı, M., Doğulu, Ç., Demirhan, N., Unilateral Renal Tromboz ve Hiperkoagülabilité Olgu Sunumu, *Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, Cilt:2 Sayı:3, (2011).
- Teng, C.M., Ko, F.N., Wang, J.P., Lin, C.N., Wu, T.S., Chen, C.C., Huang, T.F., Antihaemostatic and antithrombotic effect of some antiplatelet agents isolated from Chinese herbs., *J Pharm Pharmacol.*, 43(9), 667-9, (1991).
- The Merck Index, Thirteenth Edition, Merck & Co Inc., White House Station, New Jersey, 737, (2001).
- Ting, F., Ling, W., Xiang-nan, J., Hai-juan, S., Zhou, L., Ying, J., Hyperoside induces both autophagy and apoptosis in non-small cell lung cancer cells in vitro, *Journal of cancer prevention* 37, 505-518 122, (2016).
- Tsujimoto, Y., Hashizume, H., Yamazaki, M., Superoxide radical scavenging activity of phenolic compounds, *Int J Biochem.*, 25(4), 491-4, (1993).
- Üçer, M., Halk Kültürümüzde Alıç, *Kızılırmak Dergisi*, 7, 34, (1991).
- Verschoye, R.D., Steward, W.P., Gescher, A.J., Putative cancer chemopreventive agents of dietary origin-how safe are they?, *Nutr Cancer*, 59(2), 152-62, (2007).
- Wu, L.L., Yang, X.B., Huang, Z.M., Liu, H.Z., Wu, G.X., In vivo and in vitro antiviral activity of hyperoside extracted from *Abelmoschus manihot (L) medik.*, *Acta Pharmacol Sin.*, 28(3), 404-9, (2007).

- Yan, F., Yan, J., Sun, W., Yao, L., Wang, J., Qi, Y., Xu, H., Thrombolytic effect of Subtilisin QK on carrageenan induced thrombosis model in mice, *J Thromb Thrombolysis*, 28, 444–448, (2009).
- Yu, Y.B., Miyashiro, H., Nakamura, N., Hattori, M., Park, J.C., Effects of triterpenoids and flavonoids isolated from *Alnus firma* on HIV1 viral enzyme, *Arch Pharm Res.*, 30(7), 820-6, (2007).
- Zhang, X.N., Li, J.M., Yang, Q., Feng, B., Liu, S.B., Xu, Z.H., Guo, Y.Y., Zhao, M.G., Anti-apoptotic effects of hyperoside via inhibition of NR2B-containing NMDA receptors, *Pharmacol Rep.*, 62(5), 949-55, (2010).
- Zhao, L., Wang, J., Liu, R., Li, X.X., Li, J., Zhang, L., Neuroprotective, anti-amyloidogenic and neurotrophic effects of apigenin in an Alzheimer's disease mouse model. *Molecules*, 18 (8), 9949–9965, (2013).
- Zhu, W., Xu, Y.F., Feng, Y., Peng, B., Che, J.P., Liu, M., Zheng, J.H. Prophylactic effects of quercetin and hyperoside in a calcium oxalate stone forming rat model., *Urolithiasis.*, 42(6), 519-26, (2014).
- Zunoliza, A., Khalid, H., Zhari, I., Rasadah, M.A., Anti-inflammatory Activity of Standardised Extracts of Leaves of Three Varieties of *Ficus deltoidea*, *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, (3), 100-105, (2009).

EKLER

EK : 1



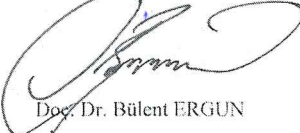
TOPLANTI TARİHİ : 25.04.2014
TOPLANTI SAYISI : 41
DOSYA KAYIT NUMARASI : 14 - 07
KARAR NUMARASI : 2014 - 07
ARAŞTIRMACILAR : Doç. Dr. Rana ARSLAN, Y. Doç. Dr. Nurecan BERTAŞ TÜRKMEN,
Ecz. Elif SÜMBÜL
HAYVAN TÜRÜ VE SAYISI : 30 adet Swiss Albino Dişi

Sayın Doç.Dr. Rana ARSLAN;

21.03.2014 tarihli başvurunuz 25.04.2014 tarihinde Etik Kurul Gündem Maddesi olarak değerlendirilmeye alınmıştır. İlgili dilekçede 2013 - 3 protokol no'lu " Bazı flavonoidlerin Antitrombolitik Etkilerinin Değerlendirilmesi " başlıklı çalışmanız için taleplerde bulunmuşsunuz.

Başvurunuz AHADYEK tarafından değerlendirmeye alınmış ve deney koşullarının düzeldiğini göstermek üzere 30 adet fare (kontrol, heparin kontrol, klopidogrel kontrol ; n = 10) ile ön çalışma yapmanıza karar verilmiştir. Ön çalışmanın sonuçlarına göre hayvan talebiniz kurulunuz tarafından değerlendirilecektir.

Bilgilerinize.


Doç. Dr. Bülent ERGUN
Başkan


Doç. Dr. Özgür Devrim CAN (Üye)


Yard. Doç. Dr. Sinem ILGIN (Üye)

Zuhal ERYILMAZ (Üye)
(KATILMADI)

Prof. Dr. Hülya SIVAS (Üye)
(KATILMADI)


Vet. Hek. Erdem ERKUŞ (Üye)

Adem MUSLUK(Üye)
(KATILMADI)

Anadolu Üniversitesi, Yunusemre Kampüsü, 26470 ESKİŞEHİR
e-posta: hayvanevi@anadolu.edu.tr

Tel:0.222.3350580/ 3788

EK : 2



T.C.
ANADOLU ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 11.06.2014
TOPLANTI SAYISI : 44
DOSYA KAYIT NUMARASI : 14-7
KARAR NUMARASI : 2014-7
ARAŞTIRMACILAR : Doç.Dr. Rana ARSLAN, Yard.Doç.Dr. Nurcan BEKTAŞ,
Ecz.Elif SÜMBÜL
HAYVAN TÜRÜ VE SAYISI : Swiss 150

Sn. Doç. Dr. Rana ARSLAN,

12.03.2013 tarihinde AÜHADYEK tarafından onaylanan 'Bazı Flavonoidlerin Antitrombolitik Etkilerinin Değerlendirilmesi' adlı çalışmanız ile ilişkili olarak vermiş olduğunuz 21.03.2014 tarihli dilekçenizde, kullandığınız kimyasal maddenin bozuk olması ve laboratuvar koşullarımızın uygun olmaması nedeniyle deney sonuçlarımızın hatalı çıktığını beyan etmiş; kontrol grubu (DMSO), pozitif kontrol grubu (heparin) ve 4 adet test maddesi için deney tekrarı yapmak istediğinizi belirterek toplam 150 swiss albino fare için etik kurul onayı talep etmişsiniz.

Talebiniz AÜHADYEK'in 28.05.2014 tarihli toplantısında gündeme alınmış ve 30 adet Swiss albino fare ile çalışma koşullarınızın düzeltilmesini gösteren bir ön çalışma yapmanıza karar verilmiştir.

25.04.2014 tarihli dilekçenizde ise, Anadolu Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Birimi'nde, bu birimden temin etmiş olduğunuz hayvanlar ile gerçekleştirmiş olduğunuz ön çalışmanızda ilgili aksaklıkların düzeltilmesini ve verimli sonuçlar elde edildiğini belirtmişsiniz. Başvurunuz 11.06.2014 tarihli AÜHADYEK toplantısında gündeme alınmış ve 21.03.2014 tarihli başvurunuzda talep etmiş olduğunuz 150 swiss albino fare ile deney tekrarı yapmanız uygun görülmüştür. Bilgilerinize.

Doç.Dr. Bülent ERGÜN (Başkan)

Doç.Dr. Özgür Devrim CAN (Üye)

(Kaf. İnceletti)
Prof.Dr. Hülya SIVAS (Üye)

Yard.Doç.Dr. Sinem ILGIN (Üye)

Vet.Hek.Erdem ERKUŞ (Üye)

Zuhal ERYILMAZ (Üye)

Adem MUSLUK (Üye)