

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BENTONİT VE BİTKİSEL HAMMADDELER KULLANILARAK DETOKS
FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Rana TURGUT

Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Anabilim Dalı

Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Tezli Yüksek Lisans Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Murat KARTAL

TEMMUZ 2021

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BENTONİT VE BİTKİSEL HAMMADDELER KULLANILARAK DETOKS
FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Rana TURGUT
(195313004)**

Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Anabilim Dalı

Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Tezli Yüksek Lisans Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Murat KARTAL

TEMMUZ 2021

Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün 195313004 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Rana Turgut, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "BENTONİT VE BİTKİSEL HAMMADDELER KULLANILARAK DETOKS FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ" başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Murat KARTAL**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Prof. Dr. Esra AKKOL
Gazi Üniversitesi

Teslim Tarihi : 6 Eylül 2021
Savunma Tarihi : 6 Temmuz 2021



Canım Babama,

ÖNSÖZ

Yüksek lisans sürecim boyunca engin bilgi birikimi ve tecrübeleri ile desteğini eksik etmeyen ve kendisinden öğrendiklerim ışığında her daim yol göstericim olacak olan değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Murat KARTAL'a; tecrübeleri ve katkılarıyla bu zorlu sürecin tamamlanmasında büyük pay sahibi olan Prof. Dr. Esra AKKOL'a; tüm başarılarımın asıl sahibi başta annem olmak üzere sevgili aileme; bana olan inançları ile her zaman yanımda olan kıymetli dostlarıma ve başta Fulya ÖZBAYRAK olmak üzere Kim. Nihal ZORLU, Kim. Kevser SALİHLER, Kim. İlker DEMİRBOLAT ve tüm Bezmialem Vakıf Üniversitesi Fitoterapi Merkezi çalışanlarına tüm katkıları ve öğretileri için teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından 20200921 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Haziran 2021

Rana TURGUT
(Diyetisyen)

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Rana TURGUT

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖNSÖZ.....	v
BEYAN.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR	ix
SEMBOLLER	xi
TABLO LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xv
ÖZET	xvi
SUMMARY	xix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Detoksifikasyon.....	3
2.1.1 Karaciğer, kan dokusu ve hücre içi detoksifikasyon.....	3
2.1.2 İnce bağırsakta detoksifikasyon	10
2.1.3 Böbreklerde detoksifikasyon.....	11
2.1.4 Deride detoksifikasyon	12
2.1.5 Mikotoksinlerin ve ağır metallerin detoksifikasyonuna bakış	14
2.1.5.1 Mikotoksinlerin detoksifikasyonu.....	14
2.1.5.2 Ağır metallerin detoksifikasyonu	17
2.1.6 Detoksifikasyonda beslenmenin düzenlenmesi ve tıbbi ve aromatik bitkilerin etkisi	19
2.2 Kolesterol	27
2.2.1 Kolesterol ve metabolizması	27
2.2.2 Serum lipid hedefleri ve farmakolojik olmayan tedavi yaklaşımları	28
2.2.3 Hipokolesterolemik etkili tıbbi ve aromatik bitkiler ve nütrosötikler.....	31
2.3 Bentonit	37
2.3.1 Bentonit ve sağlık faydaları	37
2.3.2 Bentonitin vücut detoksifikasyon işlevi üzerindeki etkisi	42
2.3.3 Bentonitin kolesterol düşürücü etkisine bakış	44
2.4 Keten (<i>Linum usitatissimum</i> L.) Tohumu	46
3.4.1 Keten tohumunun vücut detoksifikasyon işlevi üzerindeki etkisi	50
3.4.1 Keten tohumunun kolesterol düşürücü etkisine bakış.....	51
2.5 Karnıyarık Otu (<i>Plantago ovata</i> L.) Tohumu	52
3.5.1 Karnıyarık otu tohumunun kolesterol düşürücü etkisine bakış.....	54
2.6 Zerdeçal (<i>Curcuma longa</i> L.).....	56
2.6.1 Zerdeçalın vücut detoksifikasyon işlevi üzerindeki etkisi	57
2.6.2 Zerdeçalın kolesterol düşürücü etkisine bakış	58
2.7 Üzüm (<i>Vitis vinifera</i> L.) Çekirdeği.....	59
2.7.1 Üzüm çekirdeğinin vücut detoksifikasyon işlevi üzerindeki etkisi	62
2.7.2 Üzüm çekirdeğinin kolesterol düşürücü etkisine bakış.....	63
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	64

3.1 Kullanılan Alet ve Kimyasal Maddeler.....	64
3.1.1 Kullanılan kimyasal maddeler	64
3.1.2 Kullanılan aletler	64
3.2 Deney Hayvanları.....	64
3.3 Yöntem	65
3.3.1 Yağ miktar analizi	65
3.3.1.1 Üzüm çekirdeğinde yağ miktar analizi	65
3.3.1.2 Ketan tohumunda yağ miktar analizi	67
3.3.1.3 Karnıyarık otu tohumunda yağ miktar analizi	68
3.3.2 Şişme indisi tayini	69
3.3.2.1 Ketan tohumunda şişme indisi tayini	69
3.3.2.2 Karnıyarık otu tohumunda şişme indisi tayini	69
3.3.3 Üzüm çekirdeği ekstresinin hazırlanması ve fenolik ve flavonoid madde miktar analizi.....	70
3.3.3.1 Üzüm çekirdeği ekstresinin hazırlanması	70
3.3.3.2 Üzüm çekirdeği ekstresinde total fenolik ve total flavonoid madde miktar analizi.....	71
3.3.3.3 Üzüm çekirdeği ekstresinde fenolik bileşik miktar tayini.....	72
3.3.4 Zerdeçal ekstresinde kurkumin miktar analizi	72
3.3.5 Müdahale dozlarının belirlenmesi ve ön hazırlık.....	73
3.3.6 Çalışma grupları	74
3.3.7 Hiperkolesterolemi oluşturulması ve müdahale.....	76
3.3.8 Serumda lipid peroksidasyon seviyesinin ölçülmesi	77
3.3.9 Karaciğer dokusunda antioksidan parametrelerin belirlenmesi	77
3.3.10 Gastrik ülserojenik etki.....	77
3.3.11 Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi	77
3.3.12 Çalışma dışı bırakılma kriterleri	78
4. BULGULAR.....	79
4.1 Yağ Miktar Analizine Ait Bulgular.....	79
4.1.1 Üzüm çekirdeğinde yağ miktar analizine ait bulgular	79
4.1.2 Ketan tohumunda yağ miktar analizine ait bulgular	80
4.1.3 Karnıyarık otu tohumunda yağ miktar analizine ait bulgular	80
4.2 Şişme İndisi Tayinine Ait Bulgular.....	81
4.2.1 Ketan tohumunda şişme indisi tayinine ait bulgular	81
4.2.2 Karnıyarık otu tohumunda şişme indisi tayinine ait bulgular	82
4.3 Üzüm Çekirdeği Ekstresinde Total Fenolik ve Total Flavonoid Madde Miktar Analizine Ait Bulgular	82
4.3.1 Üzüm çekirdeği ekstresinde fenolik bileşik miktar tayinine ait bulgular ..	83
4.4 Zerdeçal Ekstresinde Kurkumin Miktar Analizine Ait Bulgular	83
4.5 İn-Vivo Deneye Ait Bulgular	85
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	91
KAYNAKLAR	94
EKLER.....	132
ÖZGEÇMİŞ.....	135

KISALTMALAR

AFB1	: Aflatoksin B1
AFBO	: Aflatoksin B1-8,9-epoksit
AFM1	: Aflatoksin M1
AFM2	: Aflatoksin M2
AHA	: Amerikan Kalp Derneği
Al	: Alüminyum
ALT	: Alanin aminotransferaz
ApoB	: Apolipoprotein B
ApoE	: Apolipoprotein E
AFBO	: Aflatoksin B1-8,9-epoksit
Ar	: Arsenik
AST	: Aspartat aminotransferaz
Ca	: Kalsiyum
CAT	: Katalaz
Cd	: Kadmiyum
Cu / Zn-SOD	: Bakır / çinko süperoksit dismutaz
Cu	: Bakır
CYP450	: Sitokrom P450
DHA	: Dokosaheksanoik asit
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
EFSA	: Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
EMA	: Avrupa İlaç Kurumu
EPA	: Eikosapentaenoik asit
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
Fe	: Demir
GPx	: Glutatyon peroksidaz
GST	: Glutatyon S-transferaz
H	: Hidrojen
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HDL-C	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol
Hg	: Cıva
IBS	: İrritabl bağırsak sendromu
K	: Potasyum
LDL-C	: Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol
Li	: Lityum
MDA	: Malondialdehit
Mg	: Magnezyum
Mn-SOD	: Manganez süperoksit dismutaz
MonK	: Monakolin K
Na	: Sodyum
NADH	: Nikotinamid adenin dinükleotit

NSAID	: Non steroidal antiinflamatuvarlar
O₂⁻	: Süperoksit anyon radikali
PAH	: Polisiklik aromatik hidrokarbonlar
Pb	: Kurşun
POD	: Peroksidaz
RNA	: Ribonükleik asit
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SDG	: Secoisolariciresinol diglukosit
Se	: Selenyum
SOD	: Süperoksit dismutaz
SULT	: Sülfotransferaz
TAA	: Plazma toplam antioksidan aktivite
TC	: Total kolesterol
TCP	: Tiyol içeren peptit
TG	: Trigliserit
UDP	: Üridin difosfat
UGT	: Üridin difosfat glukuronosiltransferaz
UV	: Ultraviyole ışın
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
Zn	: Çinko

SEMBOLLER

°C	: Derece Santigrat
cm	: Santimetre
g	: Gram
kg	: Kilogram
mM	: Milimolar
m²	: Metrekare
µg	: Mikrogram
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mmol	: Milimol
dg	: Desilitre

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1 : Tıbbi ve aromatik bitkilerin ve/veya etkili bileşiklerin ve probiyotiklerin detoksifikasyon etkisi.	26
Tablo 2.2 : Optimal veya optimale yakın olan, sınırda olan ve yüksek risk taşıyan serum lipid konsantrasyonları [196].	28
Tablo 2.3 : Tıbbi ve aromatik bitkilerin ve/veya etkili bileşiklerin ve nütrosötiklerin hipokolesterolemik mekanizması.	36
Tablo 3.1 : Sabit yağlarda içerik analizi için GC-FID ve GC-MS şartları.	65
Tablo 3.2 : Fenolik bileşik miktar tayini için HPLC ve MS şartları.	72
Tablo 3.3 : Curcumin Analiz Yöntem Bilgileri.	73
Tablo 4.1 : Üzüm çekirdeğinde sabit yağ analizine ait sonuçlar.	79
Tablo 4.2 : Ketan tohumunda sabit yağ analizine ait sonuçlar.	80
Tablo 4.3 : Karnıyarık otu tohumunda sabit yağ analizine ait sonuçlar.	81
Tablo 4.4 : Ketan tohumunda şişme indisi tayini.	82
Tablo 4.5 : Karnıyarık otu tohumunda şişme indisi tayini.	82
Tablo 4.6 : Farklı solventler ile elde edilen üzüm çekirdeği ekstraktlarına ait total fenolik ve flavonoid madde miktarları.	82
Tablo 4.7 : Nihai solvent (%50'lik etil alkol/su) kullanılarak elde edilen üzüm çekirdeği ekstraktlarına ait total fenolik ve flavonoid madde miktarları.	83
Tablo 4.8 : Üzüm çekirdeği ekstraktında tayin edilen fenolik % bileşenleri.	83
Tablo 4.9 : Test materyallerinin serum Total-, HDL-, and LDL-kolesterol ve Trigliserit seviyeleri üzerindeki etkileri.	85
Tablo 4.10 : Test materyallerinin serum glukoz, AST, ALT, MDA, TAA, nitrik oksit ve leptin seviyeleri üzerindeki etkileri.	90
Tablo 4.11 : Test materyallerinin SOD, CAT, LPO, GSH ve GPx seviyeleri üzerindeki etkileri.	90

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1	: Detoksifikasyon yoluna genel bir bakış [9].....	4
Şekil 2.2	: İlaçların veya eksojen toksinlerin metabolizmasında yer alan başlıca CYP450 enzimleri [1].	5
Şekil 2.3	: Nefronun yapısı [70].	12
Şekil 2.4	: Başlıca mikotoksinlerin kimyasal yapıları ve gıda işlenmesine bağlı modifikasyonları [88].	15
Şekil 2.5	: Bentonitte olduğu gibi 2: 1 tabakalı genişleyebilir kilin şematik yapısı [265].	39
Şekil 2.6	: Keten tohumunun yaklaşık bileşimi [323].	47
Şekil 2.7	: Üzümün farklı kısımlarında tanımlanan farklı kimyasal polifenol grupları [441].	60
Şekil 3.1	: İki farklı üzüm çekirdeği numunesinden elde hekzanlı ekstratlar.....	66
Şekil 3.2	: GC sistemine enjekte edilmeye hazır hale getirilen üzüm çekirdeği numunelerinden birisi.	66
Şekil 3.3	: İki farklı keten tohumu numunesinden elde hekzanlı ekstratlar.....	67
Şekil 3.4	: Hekzanlı karniyarik otu tohumu ekstrat elde edilmesinde yapılan üç tekrar.	68
Şekil 3.5	: Öğütülmüş keten tohumunda şişme indisi tayini.	69
Şekil 3.6	: Bütün karniyarik otu tohumunda şişme indisi tayini.	70
Şekil 3.7	: Farklı solventler kullanılarak elde edilen üzüm çekirdeği kuru ekstratları: 1) %100 etil alkol, 2) %50'lik etil alkol/su ve 3) % 70'lik etil alkol/su.	71
Şekil 3.8	: Grup 2 için müdahale öncesi ön hazırlık.....	75
Şekil 3.9	: Grup 3 için müdahale öncesi ön hazırlık.....	75
Şekil 3.10	: Grup 4 için müdahale öncesi ön hazırlık.....	75
Şekil 4.1	: Üzüm çekirdeği sabit yağ kromatogramı.	79
Şekil 4.2.	: Keten tohumu sabit yağ kromatogramı.	80
Şekil 4.3	: Karniyarik otu tohumu sabit yağ kromatogramı.	81
Şekil 4.4	: Kalibrasyon eğrisi.....	84
Şekil 4.5	: Standart maddenin (kurkumin) kromatogramı.....	84
Şekil 4.6.	: Çalışmada kullanılan zerdeçal ekstratında kurkumin miktar analizi HPLC kromatogramı 1.Pik: bisdemetoksikurkumin, 2.Pik: demetoksikurkumin, 3. Pik: kurkumin.	84
Şekil 4.7	: Hiperkolesterolemik grupla kıyaslanan total kolesterol değerleri.....	86
Şekil 4.8	: Hiperkolesterolemik grupla kıyaslanan HDL kolesterol değerleri.....	87
Şekil 4.9	: Hiperkolesterolemik grupla kıyaslanan LDL kolesterol değerleri.....	87
Şekil 4.10	: Hiperkolesterolemik grupla kıyaslanan trigliserit değerleri.....	88

BİTKİSEL HAMMADDELER KULLANILARAK DETOKS FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ

ÖZET

İnsan metabolizmasında yer alan detoksifikasyon enzimleri günlük hayatta sürekli maruz kalınan ksenobiyotik kaynaklı hasar potansiyalini en aza indirmek için çalışmaktadır. Metabolizma içerisindeki detoksifikasyon süreçlerinde oluşabilecek yetersizlikler birçok hastalık ile ilişkili olabileceği gibi toksin birikimi sadece bireyler için değil, epigenetik değişikliklerin kuşaklar arası kalıtımı nedeniyle gelecek nesiller için de tehlikeli olmaktadır. Bu tezin konusu kapsamında detoksifikasyon değerlendirmesi tek boyutlu olarak ele alınmak yerine yapılan müdahalenin kolesterol seviyeleri üzerindeki etkisi de incelendi. İn vivo çalışma öncesinde Swiss albino fareler hiperkolesterolemik yapılarak hem dolaylı olarak bozulmuş detoksifikasyon yanıtı gösteren hem de doğrudan bozulmuş kolesterol değerlerinin elde edildiği çalışma modeli oluşturuldu.

Biyoaktif doğal ürünler kaynaklarından bağımsız olarak, etkili doz ve doğru kullanım alanları belirlendiği takdirde her zaman yeni terapötik ajanlar olarak kullanılabilir. Özellikle birçok bitki ve/veya bileşenleri antioksidan özellikler, hipokolesterolemik etkiler gibi bu çalışma kapsamında yararlanılması istenilen özelliklere sahiptir. İn vivo çalışmada kullanılmak amacıyla seçilen gıda kalitesindeki bentonit kili, zerdeçal (*Curcuma longa* L.) ekstresi, üzüm (*Vitis vinifera* L.) çekirdeği ekstresi, öğütülmüş keten (*Linum usitatissimum* L.) tohumu ve öğütülmüş karnıyarık otu (*Plantago ovata* L.) tohumu için potansiyel etkileri kapsamında geniş literatür taraması yapılmıştır. Bu tezin ana hedefi bitkisel hammaddeler ile bentonitin (özellikle kombinasyon halde) in vivo bir araştırma sonucunda kolesterol seviyeleri ve detoksifikasyon parametreleri üzerindeki eş zamanlı etkisinden yola çıkarak formülasyon veya nütrasötik tasarlaması ve geliştirilmesine öncülük etmektir.

İn vivo araştırma öncesinde keten tohumu ve karnıyarık otu tohumunda şişme indisi tayini ve yağ miktar analizi; üzüm çekirdeğinde yağ miktar analizi, zerdeçal ekstresinde kurkumin miktar analizi yapıldı. Ayrıca üzüm çekirdeğinden ekstre elde edildi ve elde edilen ekstrede total fenolik ve flavonoid madde miktar analizi yapıldı. Bu analizlerin bulguları in vivo araştırma sonucunda etki değerlendirmesi yapmak açısından önemlidir. Kullanılacak hammaddelerin dozları önceki araştırmalar ve raporlar temel alınarak ve insan kullanımlarına eş değer olabilecek şekilde belirlendi. İn vivo araştırma için dokuz adet çalışma grubu oluşturuldu: Kontrol grubu, hiperkolesterolemik grup, referans madde grubu (10 mg/kg Atorvastatin), Grup 1 (60 mg/gün bentonit), Grup 2 (60 mg/gün bentonit + 60 mg/gün gıda bentoniti + 7 mg/gün öğütülmüş keten tohumu + 2,5 mg/gün üzüm çekirdeği ekstresi + 2 mg/gün zerdeçal ekstresi), Grup 3 (60 mg/gün gıda bentoniti + 7 mg/gün öğütülmüş karnıyarık otu tohumu + 2,5 mg/gün üzüm çekirdeği ekstresi + 2 mg/gün zerdeçal ekstresi), Grup 4 (60 mg/gün gıda bentoniti + 2,5 mg/gün üzüm çekirdeği ekstresi + 2 mg/gün zerdeçal ekstresi), Grup 5 (7 mg/gün öğütülmüş keten tohumu), Grup 6 (7 mg/gün öğütülmüş karnıyarık otu tohumu). Deney hayvanlarında 30 gün boyunca %1 kolesterol içeren pellet yem

uygulamasý ile hiperkolesterolemi oluşturuldu. Test grubunda yer alan farelere (kontrol grubu hariç) eř zamanlý olarak test materyalleri uygulandı. 30 günlük deney süresi sonunda tüm gruplardaki farelerden kan örnekle­ri ve karaciğer dokusu alındı. Total kolesterol, yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-C), düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-C), trigliserit, glukoz, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), malondialdehit (MDA), plazma toplam antioksidan aktivite (TAA), nitrik asit, leptin düzeylerine ve glutasyon (GSH), glutasyon peroksidaz (GPx), lipit peroksidasyon (LPO), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) değerlerine bakıldı. Çalışılan test materyallerinden Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'n yüksek kolesterol diyeti ile beslenen farelerde serum total kolesterol konsantrasyonunu sırasıyla %64,8, %57,5 ve %48,9 oranında azalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'te süperoksit dismutaz, katalaz, glutasyon ve glutasyon peroksidaz gibi bazı detoksifikasyon parametrelerinin de istatistiksel açıdan anlamlı derecede tersine çevrildiği tespit edilmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada hiperkolesterolemik grup ile kıyaslandığında hem bazı detoksifikasyon parametreleri üzerinde hem de serum kolesterol değerlerinde bentonit, üzüm çekirdeği ve zerdeçal ekstresi ile öğütülmüş keten tohumu içeren Grup 2 ve bentonit, üzüm çekirdeği ve zerdeçal ekstresi ile öğütülmüş karnıyarık otu tohumu içeren Grup 3'n in vivo olarak anlamlı etkiler sergilediği gösterildi. Kombinasyonlar kardiyovasküler hastalık riskini düşürmede olumlu bir etkiye sahiptir, klinik çalışmalar yapılarak bulgular desteklenebilir ve bu kombinasyonlar kullanarak insan beslenmesine uygun formülasyonlar geliştirilebilir.

Anahtar Kelimeler: Detoksifikasyon, kolesterol, bentonit, *Linum usitatissimum* L. (Keten), *Plantago psyllium* L. (Karnıyarık Otu), *Curcuma longa* L. (Zerdeçal), *Vitis vinifera* L. (zm)

DEVELOPMENT OF DETOX FORMULATIONS USING BENTONITE AND HERBAL RAW MATERIALS

SUMMARY

Detoxification enzymes involved in human metabolism works to minimize the potential for xenobiotic-induced damage that is constantly exposed in daily life. Inadequacies that may occur in detoxification processes in metabolism may be associated with many diseases, and toxin accumulation is dangerous not only for individuals but also for future generations due to the intergenerational inheritance of epigenetic changes. Within the subject of this thesis, the effect of the intervention on cholesterol levels was also examined, instead of considering the detoxification evaluation as one-dimensional. Before the in vivo study, Swiss albino mice were made hypercholesterolemic to create a working model in which both indirectly impaired detoxification response and directly impaired cholesterol values.

Regardless of the source of bioactive natural products, they can always be used as new therapeutic agents if the effective dose and correct usage areas are determined. In particular, many plants and/or their components have properties that are desired to be utilized within the subject of this study, such as antioxidant properties and hypercholesterolemic effects. Food grade bentonite clay, turmeric (*Curcuma longa* L.) extract, grape (*Vitis vinifera* L.) seed extract, ground flax (*Linum usitatissimum* L.) seed, and ground *Plantago ovata* L. seed were selected for use in this research. An extensive literature review was conducted within the scope of potential effects. The main objective of this thesis was to pioneer the formulation or development of nutraceuticals based on the simultaneous effect of herbal raw materials and bentonite (especially in combination) on cholesterol levels and detoxification parameters as a result of this in-vivo research.

Swelling index determination and fixed oil analysis in flaxseed and *Plantago ovata* seeds, the amount of fixed oil analysis in grape seed, and the amount of curcumin content analysis in turmeric extract was analyzed. In addition, an extract was obtained from grape seed and total phenolic and flavonoid content analysis was performed in the obtained extract. The doses of the raw materials to be used were determined based on previous research and reports. Nine study groups were formed for in vivo research: Control group, hypercholesterolemic group, reference substance group (10 mg/kg Atorvastatin), Group 1 (60 mg/day bentonite), Group 2 (60 mg/day bentonite + 7 mg/day ground flaxseed + 2.5 mg/day grape seed extract + 2 mg/day turmeric extract), Group 3 (60 mg/day food bentonite + 7 mg/day ground black cumin seed + 2, 5 mg/day grape seed extract + 2 mg/day turmeric extract), Group 4 (60 mg/day food bentonite + 2.5 mg/day grape seed extract + 2 mg/day turmeric extract), Group 5 (7 mg/day ground flaxseed), Group 6 (7 mg/day ground flaxseed). Hypercholesterolemia was induced in experimental animals by application of pellet feed containing 1% cholesterol for 30 days. The test materials were administered to the mice in the test group (except the control group) simultaneously. At the end of the 30-day experiment period, blood samples and liver tissue were taken from mice in all groups. Total cholesterol, high-

density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), triglyceride, glucose, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), malondialdehyde (MDA), plasma total antioxidant activity (TAA), nitric acid, leptin levels and glutathione (GSH), glutathione peroxidase (GPx), lipid peroxidation (LPO), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) values were measured. As a result, Group 2 (which is containing bentonite, grape seed extract, turmeric extract, and ground flaxseed) and Group 3 (which is containing bentonite, grape seed extract, turmeric extract, and ground *Plantago ovata* seed) has been shown that to significant effects both on some detoxification parameters and serum cholesterol values when compared with the hypercholesterolemic group. These combinations have a positive effect on reducing the risk of cardiovascular disease and formulations suitable for human nutrition can be developed using these combinations.

Keywords: Detoxification, cholesterol, bentonite, *Linum usitatissimum* L. (Flax), *Plantago psyllium* L. (psyllium), *Curcuma longa* L. (Turmeric), *Vitis vinifera* L. (Grape)



1. GİRİŞ

Yaşamımız boyunca çeşitli farmasötikler ve gıda bileşenleri de dahil olmak üzere çok sayıda ksenobiyotiğe maruz kalıyoruz. Buna karşılık, vücudumuzda çevresel maruziyeti yönetmek amacıyla ksenobiyotikleri detoksifiye edecek detoksifikasyon enzim sistemleri bulunmaktadır. Bir bireyin toksinleri vücuttan atma becerisi çeşitli kronik hastalıkların etiyolojisinde veya şiddetlenmesinde rol oynayabilmektedir. Çalışmalar toksinlere maruziyetin ve toksin birikiminin kardiyovasküler hastalık etiyolojisinde de önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur. Benzer şekilde kandaki yüksek kolesterol seviyeleri de kardiyovasküler hastalık riski ile ilişkilidir ve yüksek kolesterol seviyeleri aynı zamanda canlı hücreler için toksik etki oluşturmaktadır [1,2,3,4].

Detoksifikasyon sistemleri oldukça karmaşık olmasının yanı sıra büyük oranda bireysel değişkenlik gösterir ve bir bireyin genetik yapısına ek olarak çevresine ve yaşam tarzına da son derece duyarlıdır. Bu nedenle kişinin beslenme profili de detoksifikasyon sistemlerini etkileyerek kronik hastalık insidansı üzerinde büyük etkiye sahip olabilmektedir. Özellikle biyoaktif doğal ürünler, yeni terapötik ajanlar olarak her zaman insan sağlığında önemli bir rol oynamıştır. Sonuçta, gıdaların etkilerini en üst düzeye çıkaracak ve toksinlerin etkisini azaltacak klinik tavsiyelerin tasarlanması çok önemlidir [5,6].

Bu tezin ana hedefi potansiyel olarak etkili bitkisel hammadde ve gıda kalitesindeki bentonit kili kombinasyonlarının vücudu toksik maddelerden arındırmasının yanı sıra kardiyovasküler hastalıkların önlenmesi amaçlı kan kolesterol seviyelerinin normalize edilmesindeki etkisinin in vivo olarak araştırılması ve etkili formülasyonların geliştirmesidir. Çalışmada bentonit, keten (*Linum usitatissimum* L.) tohumu, karnıyarık otu (*Plantago ovata* L.) tohumu, zerdeçal (*Curcuma longa* L.) ve üzüm (*Vitis vinifera* L.) çekirdeği hammaddeleri literatürdeki araştırmalardan yola çıkılarak potansiyel etkili hammaddeler olarak belirlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

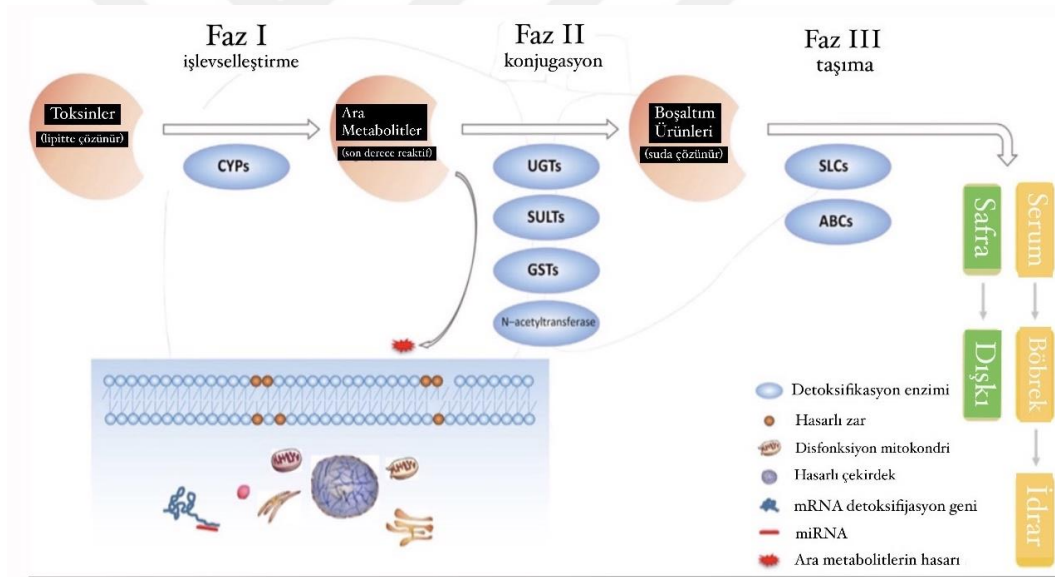
2.1 Detoksifikasyon

Hayvanların tükettiği ksenobiyotiklerin suda çözünen maddelere dönüştüğü ve idrarla atıldığı hipotezi ilk olarak 18. yüzyılın sonlarında ortaya atıldı. Yıllar boyunca, bilim adamları çeşitli hayvanlardan idrar topladılar, vücudun çeşitli ksenobiyotikleri nasıl ortadan kaldırmayı başardığını anlamak için mevcut bileşikleri saflaştırdı ve ardından kimyasal olarak karakterize ettiler. 100 yıldan fazla bir süre boyunca, çeşitli metabolitlerin tanımlanmasına yönelik araştırmalar devam etti ve çeşitli konjugasyon reaksiyonları belirlendi. Bu süre zarfında glukuronik asit, sülfat, glisin, glutamin, taurin, ornitin ve glutatyon konjüge edici maddeler olarak tanımlandı. Konjugasyon reaksiyonları, suda çözünmeyen bir bileşiğin idrarla atılabilecek bir maddeye nasıl dönüştürülebileceğini çözsede başka bir soru ortaya çıkardı. Konjugasyon durumlarında, ksenobiyotiğin konjüge edici kısım ile reaksiyona girebilme, yani konjüge edici kısım ile reaksiyona girecek ve bağlanacak bir aktif merkez veya "fonksiyonel" gruba sahip olması gerekmektedir. Reaktif kısmı olmayan bileşiklerde ne olur? 1947 monografisinde, R.T. Williams detoksifikasyon alanını tanımladı. Williams, reaktif kısmı olmayan bileşiklerin iki aşamada biyolojik olarak dönüştürülebileceğini öne sürdü: Reaktif bir bölge oluşturmak için oksijeni kullanan işlevselleştirme ve reaktif bölgeye suda çözünür bir grubun eklenmesiyle sonuçlanan konjugasyon. Bu iki adım, işlevselleştirme ve konjugasyon sırasıyla Faz I ve Faz II detoksifikasyon olarak adlandırılır. Sonuçta idrarla atılamayan lipofilik bir bileşik, idrar ile atılabilen suda çözünür bir bileşiğe dönüştürülür. Bu nedenle, detoksifikasyon tek bir reaksiyon değil, çoklu reaksiyonları ve çoklu bileşenleri içeren bir süreçtir [1,7,8].

2.1.1 Karaciğer, kan dokusu ve hücre içi detoksifikasyon

Karaciğer; safra ve plazma proteinleri üretimi, karbonhidrat, lipid ve amino asit metabolizması ve üre sentezi gibi çok sayıda fonksiyonda görev alan hayati bir organdır. Ayrıca karaciğer, ilaçlar ve toksik endojen bileşikler de dahil olmak üzere ksenobiyotiklerin detoksifikasyonundan sorumlu olan ana organdır [9].

Ksenobiyotik metabolizması olarak da bilinen detoksifikasyon süreci, farklı reaksiyonlara sahip üç faz içerir: Faz I (enzimatik işlevselleştirme), Faz II (enzimatik konjugasyon) ve Faz III (taşıma). Faz I'de sitokrom P450 (CYP450); faz II'de Üridin difosfat glukuronosiltransferaz (UDP- glukuronosiltransferaz), glutatyon-S-transferazlar (GST) ve faz III'te organik anyon taşıyıcılar (OAT), çoklu ilaca dirençli proteinler (MDR) ve çoklu ilaca dirençle ilişkili proteinler (MRP) gibi enzimler yer almaktadır. Toksinler, faz I enzimleriyle ara ürünlere ayrılır. Ara ürünlerin çoğu oldukça reaktiftir bu sebeple membran, mitokondri ve DNA hasarlarına neden olarak hücre işlev bozukluklarına yol açabilirler. Fizyolojik koşullarda, bu toksik ara ürünlerin çoğu UGT süper ailesinin üyeleri, GST süper ailesi ve N-asetiltransferazlar gibi faz II enzimleri tarafından toksik olmayan suda çözünür ürünlere dönüştürülür. Nihai ürünler, faz III enzimleriyle hücre dışına taşınır ve daha sonra serum ve / veya safra yoluyla elimine edilir [9]. (Şekil 2.1)



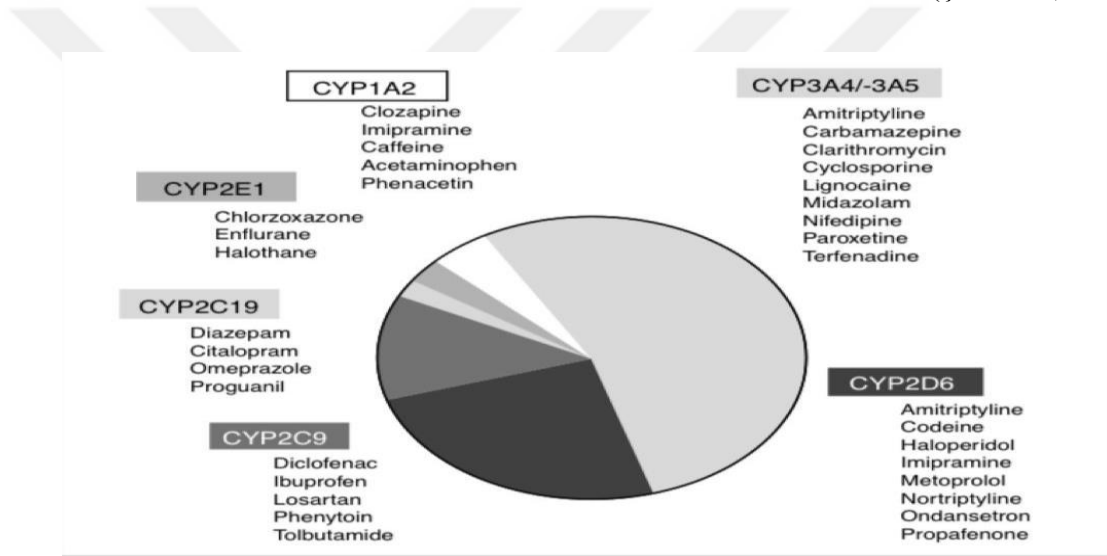
Şekil 2.1: Detoksifikasyon yoluna genel bir bakış [9].

Bu enzimlerin ekspresyonundaki ve / veya aktivitesindeki değişiklikler bireyler arasında ilaç dağılımı ve toksisite değişkenliğine yol açar [10].

Faz I Sistemi: Esas olarak sitokrom P450 (CYP450) süperjen enzim ailesinden oluşan Faz I detoksifikasyon sistemi, genellikle yabancı bileşiklere karşı ilk enzimatik savunmadır. Çoğu farmasötik, Faz I biyotransformasyonu yoluyla metabolize edilir. **CYP450**; ilaçlar, pestisitler, bitki toksinleri, kimyasal karsinojenler ve mutajenler gibi ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu ve / veya aktivasyonunda kritik biyolojik işlevlere sahiptir. Esas olarak karaciğerde bulunmakla beraber aynı zamanda enterositlerde,

böbreklerde, akciğerde ve hatta beyinde bulunan ve mikrozomal membrana bağlı olan yapılar çeşitli endojen ve eksojen substratların oksidasyonundan, peroksidasyonundan ve redüksiyonundan sorumludur. Tipik bir Faz I reaksiyonunda, bir CYP450, hidroksil radikali gibi reaktif bir grup eklemek için oksijen ve bir kofaktör olarak nikotinamid adenin dinükleotit (NADH) kullanır. Detoksifikasyondaki bu adımın bir sonucu olarak, ana molekülden daha toksik olabilen reaktif moleküller üretilir. Bu reaktif moleküller Faz II konjugasyonu ile daha fazla metabolize edilmezse, hücre içindeki proteinlere, ribonükleik asit'e (RNA) ve deoksiribo nükleik asit'e (DNA) zarar verebilirler [11,12,13].

İlaçların veya eksojen toksinlerin metabolizmasında yer alan başlıca P450 enzimleri; CYP3A4, CYP1A1, CYP1A2, CYP2D6 ve CYP2C enzimleridir [1]. (Şekil 2.2)



Şekil 2.2: İlaçların veya eksojen toksinlerin metabolizmasında yer alan başlıca CYP450 enzimleri [1].

CYP450 enzimlerinin sayısındaki herhangi bir değişkenliğin, bir bireyin toksinlerin etkisine nasıl tepki vereceğine ilişkin yararları ve / veya zararları olabileceği kabul edilmektedir. Bir bireyin halihazırda kullandığı ilaçların % 90'ını metabolize etme yeteneği, büyük ölçüde bu enzimlerin genetik ekspresyonuna bağlıdır. Faz I aktiviteleri hakkındaki bilgilerin çoğu, ilaç metabolizması ile ilgili çalışmalardan elde edilmiştir; bununla birlikte Faz I aktiviteleri, steroidler gibi endojen moleküllerin detoksifikasyonunda da yer almaktadır [14,15].

CYP1A ailesi; prokarsinojenlerin, hormonların ve farmasötiklerin metabolize edilmesinde rol oynar. Örneğin düşük CYP1A2 aktivitesi, daha yüksek testis kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, yüksek derecede reaktif ara maddelere hızlı

dönüşmeleri nedeniyle, yeterli faz II desteği olmadığı durumda CYP1A enzimlerinin aşırı aktivitesi, çevresel prokarsinojenlerin yıkıcı etkilerini artırabilir. Bu sitokrom ailesindeki genetik polimorfizmlerin belirli kanserlere yatkınlığı belirleyebilmek için yararlı belirteçler olabileceği düşünülmektedir [14,15,16,17].

Geniş CYP2 enzim ailesi ilaçların, ksenobiyotiklerin, hormonların, ketonların, gliserol ve yağ asitleri gibi diğer bileşiklerin metabolizmasında rol oynar. CYP2D polimorfizmleri, Parkinson hastalığı ve akciğer kanseri ile ilişkili olabilir. CYP2E1 enzimleri halotan, izofluran, klorzoksazon ve etanol gibi sinir sistemi ajanlarını metabolize eder bunun yanında prokarsinojenik nitrozaminleri ve aflatoksin B1'i biyoaktif eder. CYP2E1 polimorfizmleri koroner arter hastalığı riskindeki değişiklik ile ilişkilendirilmiştir [18,19,20,21].

Farklı CYP3A izoformlarının oluşumu dokuya özgüdür. Klinik anlamda bu enzimlerin etkili olanı büyük oranda karaciğerde ve daha az oranda böbrekte eksprese edilen CYP3A4'tür. Kafein, testosteron, progesteron ve androstenedion, polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) ve aflatoksin B1 gibi çeşitli prokarsinojenler CYP3A4 enzim sisteminin substratlarıdır. Bugüne kadar CYP3A4'ün tüm farmasötiklerin yüzde 50'sinden fazlasının metabolizmasında rol aldığı belirlenmiştir [18,19,20,21].

CYP4 enzimlerinin ilaç metabolizmasında daha küçük bir rol oynadığı düşünüldüğü için bu enzim ailesi hakkında daha az şey bilinmektedir. Bununla birlikte klofibrat ve siprofibrat (hipolipidemik ilaçlar), non steroidal antiinflamatuarlar (NSAID), prostaglandinler ve ftalat esterler gibi toksik maddelerle indüklenebilen, özellikle ekstrahepatik bir sitokrom ailesi olduğu bilinmektedir. Bu alt grubun polimorfizmleri ve aşırı ekspresyonu mesane kanseri ve kolit ile ilişkili olabilir [22,23].

Faz II Sistemi: Faz II yapılandırma reaksiyonları genellikle Faz I aktivasyonunu takip eder ve idrar veya safra yoluyla atılabilen suda çözünür bir bileşiğe dönüştürülen ksenobiyotiklerle sonuçlanır. Vücutta glukuronidasyon (glukuronil transferazlar), sülfasyon (sülfotransferazlar), glutatyon (glutatyon transferazlar), amino asit konjugasyonu (amino asit transferazlar), bir asetil grubu (N-asetil transferazlar) ve bir metil grubu (N- ve O-metiltransferazlar) dahil olmak üzere çeşitli tipte konjugasyon reaksiyonları mevcuttur. Bu reaksiyonlar, diyet kaynakları yoluyla yenilenmesi gereken ko-faktörler gerektirir. CYP450 enzimlerine benzer şekilde, genetik polimorfizmler bu enzimlerin işlevi üzerinde de derin bir etkiye sahip olabilir [24].

Glutasyon (L-g-glutamyl-L-sisteinilglisin), antioksidan hücresel savunmada yer alan başlıca protein olmayan tiyoldür. Sistein, glutamik asit ve glisinden oluşan bir tripeptittir. Glutasyon, tüm organlarda özellikle de karaciğerde üretilen hemen hemen tüm memeli dokularında bulunan bir moleküldür. Glutasyon konjugasyonu, birincil Faz II reaksiyonudur. Glutasyon; hidrojen peroksitin, diğer peroksitlerin ve serbest radikal-lerin detoksifikasyonunda işlev görür. Ayrıca, glutasyon ile etkileşime giren ve sonuçta merkaptürik asitler şeklinde idrar veya dışkı ile atılan çeşitli ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda rol oynar [25,26].

Glutasyon peroksidaz (GPx); dört aktif bölgesinin her birinde selenosistein bulunan tetramerik bir selenoprotein ve substrat olarak lipid peroksit kullanılan her yerde bulunan hücre içi bir enzimdir. Peroksinitrit, nitrik oksit ve süperoksit radikalleri arasındaki difüzyon kontrollü reaksiyon ile oluşan sitotoksik bir oksidandır. Artan peroksinitrit oluşumu, birden fazla hastalığın patogeneziyle ilişkilendirilmiştir. GPx; toksik lipid peroksitleri, glutasyon kullanarak daha az toksik hidroksi yağ asitlerine indirger. İki tür GPx mevcuttur: Selenyum bağımlı GPx ve selenyum bağımsız GPx. Selenyuma bağlı GPx, sitozolde ve mitokondride bulunur ve hem hidrojen peroksite hem de organik hidroperoksitlere karşı yüksek reaktivite sergiler [27,28].

Glutasyon S-transferazlar (GST), hem sitozolik hem de mitokondriyal fraksiyonlarda bulunurlar. Genellikle; kanserojenler, çevresel toksinler ve oksidatif stres ürünleri ve ilaçlar gibi reaktif metabolitler, glutasyon ile konjugasyon yoluyla GST'ler tarafından detoksifiye edilir, bu nedenle GST'ler toksikolojik açıdan hayati enzimlerdir. GST'ler, glutasyon transferaz aktivitesine ek olarak selenyum bağımsız GPx aktivitesine de sahiptir ve bu iki aktivite, çok çeşitli tehlikeli maddeleri detoksifiye edebilir. Özellikle kemoterapötik ilaçların ve kanserojenlerin metabolize edilmesi ve detoksifiye edilmesi GST'lerin ana işlevidir. Ayrıca GST, tüm beynin nöronlarında lokalize olmuştur. Lityum veya valproat gibi duygu durum düzenleyicileri, hem GSTM1 hem de GSTA4 ekspresyonunu indükleyebilir ve oksidatif hasarı inhibe ederek beyni ekzotoksiteden korur. Bu sebeple GST polimorfizmi, organizmaların nörolojik problemlere yol açan ksenobiyotiklere duyarlılığına sebep olur [29,30,31,32].

CYP'lere benzer şekilde, Faz II enzimi olan **UDP-glikoziltransferazlar** ilaç metabolizmasında görev alan diğer önemli protein türüdür. Glukuronidasyon olarak adlandırılan işlevleri, UDP- glukuronosiltransferaz, glukuronik asitten glukuronik asit molekülü üzerindeki bir fonksiyonel grubun kovalent bağını katalize etmektir.

Glukuronidasyon esas olarak karaciğerde meydana gelir, ancak ince bağırsak gibi diğer dokularda da meydana gelebilir. Bilirubin, özellikle hepatositlerde UGT1A1 ile konjuge olur ve daha sonra safra ile bağırsak sistemine atılır. Tüm ilaçların % 40-70'inin glukuronidasyon reaksiyonlarına maruz kaldığı tahmin edilmiştir bu da, bu konjugasyon enzim ailesinin önemini vurgulamaktadır. UGT'ler aynı zamanda fitokimyasalları (flavonoid, glukuronid ve sülfat) da metabolize ettiğinden; bunların etkilerindeki değişiklikler ve polimorfizmleri fitokimyasal klirens ve etkililikte değişiklik yaratabilir [33,34,35].

Sülfotransferazlar (SULT'lar) sülfatlama da denilen, bir sülfürlü grubunu özellikle karaciğer, bağırsak, adrenal bez, beyin ve cilt dokularının hidroksil veya amin gruplarına transferinden sorumludur. Bu enzimlerin fonksiyonunun azalmasının tiroid hormonu, östrojen ve androjen seviyelerinde değişim ve değişken polifenol etkinliklerine yol açtığı düşünülmektedir. Bileşikler sülfat ile konjuge olduktan sonra, öncü molekülden daha az reaktivite ve toksisiteye sahip olmaktadır [36,37,38].

Hastalık riskini azaltmak için metilasyon reaksiyonunun önemi anlaşılınca çeşitli tıbbi topluluklarda **Metiltransferazlar** enzim sınıfına göreceli olarak artan bir dikkat söz konusu olmuştur. Metiltransferaz reaksiyonlarında konjuge edici bileşik, S-adenosil-L-metiyoninden gelen bir metiyonin grubudur. Fakat literatürde bu enzim sınıfı hakkında sınırlı araştırma mevcuttur [39].

Faz III Sistemi: Son zamanlarda, antiporter aktivite (p-glikoprotein veya çoklu ilaç direnci) Faz III detoksifikasyon sistemi olarak tanımlanmıştır. Antiporter aktivite, farmasötiklerin ve diğer ksenobiyotiklerin ilk geçiş metabolizmasında önemli bir faktördür. Antiporter, ksenobiyotikleri bir hücreden dışarı pompalayan ve böylece ksenobiyotiklerin hücre içi konsantrasyonunu azaltan enerjiye bağımlı bir akış pompasıdır [40,41].

Kan dolaşımı, mikro besinleri veya bakır (Cu), çinko (Zn) ve selenyum (Se) gibi temel elementleri içeren önemli biyoinorganik detoksifikasyon mekanizmaları içerir. İnsan plazmasındaki selenyumun varlığı; arsenik, cıva ve muhtemelen kan dolaşımındaki diğer toksik metal türlerinin detoksifikasyonunda organ hasarına neden olmalarını önlemek için anahtar bir rol oynamaktadır [42].

Seruloplazmin, esas olarak insan serumunda bulunan Cu içeren bir proteindir ve oksidaz aktivitesi sergiler. İnsan kan serumunun güçlü bir lipid-otooksidasyon inhibitörü

olduğu birkaç yıldır bilinmektedir. Çalışmalarda ayrıca seruloplazmininin normal ve anormal serumda bulunan en güçlü antioksidan fraksiyon olduğuna işaret edilmiştir. Seruloplazmin'in ana işlevi, süperoksit anyon radikalini (O_2^-) stokiyometrik olarak süpürmektir. Al-Timimi ve ark., saflaştırılmış seruloplazmin'in askorbik asit veya inorganik demirin neden olduğu lipid peroksidasyonunu inhibe ettiğini göstermiştir [43,44,45,46].

Eksojen toksinler tarafından veya endojen metabolik süreç sırasında üretilen reaktif oksijen türleri (ROS), oksidasyon enzimleriyle reaksiyona girebilir ve sonunda askorbik asit (C vitamini), alfa tokoferol (E vitamini) ve glutatyon gibi enzimatik olmayan veya katalaz (CAT), peroksidaz (POD) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi enzimatik antioksidan savunmalarla azaltılır. Beyindeki nispeten yüksek oksijen seviyeleri, onu ROS hasarına karşı savunmasız organlardan biri yapar. Bu sebeple Parkinson hastalığı gibi pek çok nörodejeneratif hastalık, oksidatif hasar ile ilişkilendirilmiştir [47,48,49].

Süperoksit dismutaz (SOD); süperoksidin hidrojen peroksite ve oksijene dönüşümünü katalize eden bir enzimdir. Substratı olan süperoksit, insanlarda yaşlanma, inflamatuvar hastalıklar, iskemi-reperfüzyon yaralanması ve ateroskleroz ile ilişkilendirilmiştir. Süperoksit ayrıca, doğrudan veya dolaylı olarak DNA hasarına neden olabilir [50,51,52,53].

Katalaz (CAT), hidrojen peroksitin (H_2O_2) detoksifikasyonunda görev alan en önemli hücre içi enzimlerden biridir. Hidrojen peroksit, süperoksidin süperoksit dismutaz tarafından parçalanmasından türetilir ve yalnızca hücresel solunumunun normal bir yan ürünü olarak değil aynı zamanda yağ asitlerinin oksidasyonu ve belirli bileşiklerin metabolizması sonucunda da oluşabilir. Fizyolojik pH'ta H_2O_2 'nin uzun ömrü, lipid çift katmanlarını geçme yeteneği ve membran veya proteine bağlı demir ile reaktivitesi birleşerek H_2O_2 'yi son derece tehlikeli bir aktif oksijen formu haline getirir. Katalazın modülasyonu, hücrenin bu oksidanın potansiyel toksisitesini azaltmak için kullandığı yöntemlerden biridir. Oksidan strese maruz kalan bir organ sisteminde düşük katalaz aktivitesi, o organı hidrojen peroksit toksisitesine yatkın hale getirecektir. Katalaz omurgalı hayvanlarda çoğunlukla karaciğer ve böbrekte bulunmaktadır. Ayrıca kırmızı kan hücreleri de önemli miktarda katalaz içermektedir. Doğrudan veya dolaylı olarak hidrojen peroksit üreten ksenobiyotiklere tekrar tekrar maruz kalma ile yapılan toksikoloji çalışmaları, genellikle organizmaların toksine direnç geliştirdiğini gösterir. Bu

adaptasyon, çoğu hedef organda katalaz aktivitesinin indüklenmesinden kaynaklanmaktadır [54,55,56,57].

2.1.2 İnce bağırsakta detoksifikasyon

Gastrointestinal sistem vücutta detoksifikasyon için ikinci büyük bölgedir. Karaciğer, hem endojen hem de eksojen bileşikler için detoksifikasyon aktivitesinin çoğunluğunun bulunduğu yer olduğundan, detoksifikasyonla ilgili çoğu literatür karaciğer enzimlerine atıfta bulunur. Bununla birlikte, vücudun ksenobiyotiklerin çoğunluğu ile yaptığı ilk temas gastrointestinal sistemdir. Bir ömür boyunca, gastrointestinal sistem insan vücudunun karşılaştığı en büyük antijen ve ksenobiyotik yükü temsil eden 25 tondan fazla gıdayı işler [58].

Toksik metallerin vücuda girmesinin ana yolu sindirim sistemidir. Farklı metaller ve iyonlar arasındaki rekabet, ince bağırsakta taşınan metallerin miktarını ve türlerini belirler. Bu nedenle demir (Fe) veya Zn eksiklikleri toksik metallerin bağırsak yoluyla kan dolaşımına emilimini artırabilir. Ayrıca, çoğu ilaç ağızdan tüketildiği için, gastrointestinal sistem aynı zamanda birçok ilaç için de ilk temas noktasıdır. Öyleyse, gastrointestinal sistemin bu eksojen bileşik yükünü yönetmek için karmaşık bir dizi fiziksel ve biyokimyasal sistem geliştirmiş olması şaşırtıcı değildir [59,60].

Karaciğer tarafından detoksifikasyon edilmesi gereken bir kimyasalın ne kadarının sisteme girdiğini birkaç faktör etkiler. Gastrointestinal sistem başlangıçta eksojen bileşenlere fiziksel bir bariyer sağlar. İkincil olarak, CYP3A4 gibi detoksifikasyon enzimleri ve antiporter aktivite bağırsaktaki villusların ucunda yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Bağırsaktaki antiporter aktivite, intestinal Faz I CYP3A4 enzimi ile koordine edilmiş gibi görünmektedir. Bu gözlem, antiporter aktivitenin detoksifikasyonu destekleyebileceğini ve teşvik edebileceğini göstermektedir. Muhtemelen metabolize edilmemiş ksenobiyotikleri hücreden dışarı ve tekrar bağırsak lümenine pompalama işlevi, Faz I aktivitesinin ksenobiyotiğin dolaşıma alınmadan önce metabolize edilmesi için daha fazla fırsat sağlayabilir [61,62,63].

Ksenobiyotiklerin gastrointestinal sistem tarafından yeterli ilk geçiş metabolizması, bağırsak mukozasının bütünlüğünü gerektirir. Mukozanın bozulmuş bariyer işlevi, ksenobiyotiklerin detoksifikasyon fırsatı olmadan dolaşıma kolayca geçmesine izin verecektir. Bu nedenle, sağlıklı bağırsak mukozasını teşvik etmek toksik yükü azaltmada etkilidir [64].

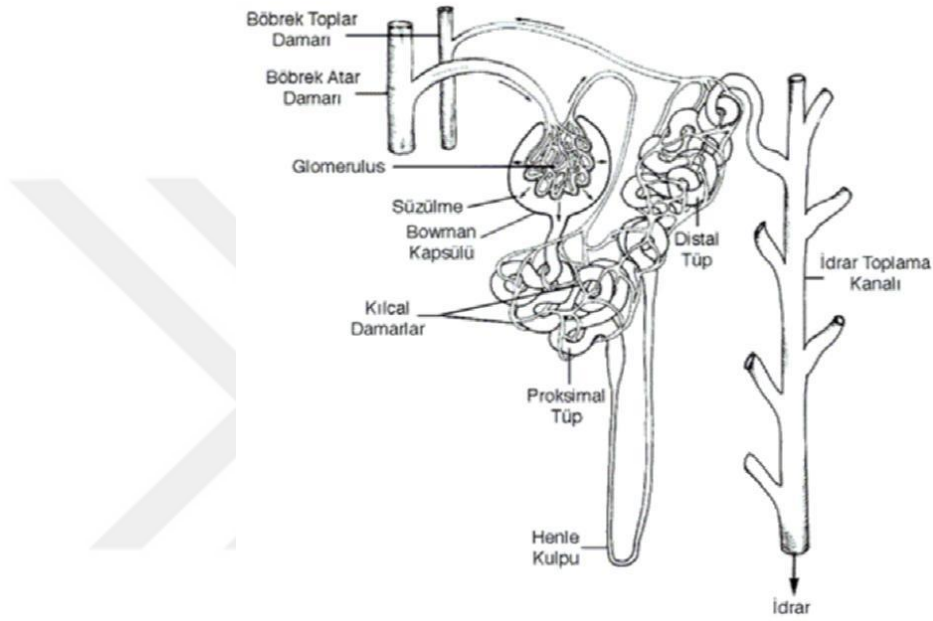
Bağırsak mikrobiyotası, detoksifikasyon enzimlerini veya protein ekspresyonunu düzenler. Patojenik bakteriler dolaşıma girebilen ve toksik yükü artırabilen toksinler üretebilir ve buna karşılık bağırsak mikroflorası, detoksifikasyon aktivitelerini indükleyen veya inhibe eden bileşikler üretmektedir. Örneğin bir probiyotik çeşidi olan *Lactobacillus plantarum*; antioksidan yeteneği, bağırsak bariyerini onarıcı etkisi ve bağırsak mikrobiyota bileşimini dengeleme yeteneği sayesinde toksik maddelerin insan vücudu üzerindeki zararlı etkilerini azaltabilir. Diğer taraftan enterohepatik resirkülasyon adı verilen bir süreçte bağırsak mikroflorası, glukuronosil yan zincirleri gibi bazı konjugasyon parçalarını ortadan kaldırarak ksenobiyotiği orijinal haline dönüştürür ve dolaşıma yeniden girmesine izin vererek artan toksik yüke yol açabilir. Çok sayıda in vitro çalışma, detoksifikasyon özelliklerine ek olarak ağır metal bağlama adayı olarak da probiyotiklerin etkilerini araştırmıştır. Probiyotiklerin bu fonksiyonları ilerleyen bölümde ele alınacaktır [64,65,66,67].

2.1.3 Böbreklerde detoksifikasyon

Tüm canlılarda detoksifikasyon, homeostazı sürdürmek için katabolitlerin ve toksinlerin salınmasını sağlayan temel bir işlevdir. Böbrekler, omurgalıların fizyolojik işlevlerini korumak için su ve elektrolit dengesini koruyan detoksifikasyonun başlıca organlarından [68].

Omurganın her iki yanında gövdenin orta ve alt kısmında bulunan böbrekler kabaca kişinin kendi yumruğu büyüklüğünde, fasulye şeklindeki organlardır. Korteks ve medulla olmak üzere iki ana katmandan oluşurlar. Böbrekler kan filtrasyonunda, çözünen madde geri emiliminde ve metabolik atık atılımında öncü bir rol oynarlar. Böbreklerin işlevsel birimi nefronlardır. Nefronlar, hem korteksi hem de medulla'yı kapsar. Nefronlar, filtrelenmiş sıvıyı değiştirir ve idrar üretir. Her nefron, bir ucu kapalı olan ve glomerulus adı verilen bir kılcal damar kümesini çevreleyen, fincan benzeri bir yapı olan Bowman kapsülüne genişleyen bir tübülden oluşur. Bowman kapsülü ve glomerulus, birlikte renal (veya Malpighian) korpüskülü olarak adlandırılır. Böbrek gövdesi, kanı fizyolojik ipuçlarına yanıt veren özel hücreler aracılığıyla filtreler. Glomerüler kılcal damarlar; sıvılar, iyonlar ve şekerler gibi küçük moleküllerin kanı terk etmesine izin verirken gözenek boyutunu aşan hücreleri, proteinleri, taşıyıcı proteinler ve lipidlerin komplekslerini ve kalsiyum iyonlarını tutmaktadırlar. Glomerulus ve Bowman kapsülü arasındaki basınç farklılıkları, glomerüler filtrasyon oranını (GFR, dakikada

üretile filtrat miktarı) belirler. Bu değer böbrek fonksiyonunu ölçmek için kullanılır. İyon ve sıvı dengesi akış verimliliğine bağlı olduğundan, glomerüler filtrasyon hızı birçok düzenleyici mekanizmaya tabidir. Glomerüler filtrat ilk olarak Bowman kapsülünde toplanır ve nefron yoluyla yönlendirilir, daha sonra proksimal kıvrımlı tübül ve henle döngüsünün alçalan ve yükselen dalları boyunca akarak modifiye edilirken distal kıvrımlı tübül boyunca yükselir ve son olarak, toplama kanalında idrar olarak birikir [68,69]. (Şekil 2.3)



Şekil 2.3: Nefronun yapısı [70].

Toksin salınımına ek olarak, memeli böbrek tübüllerindeki Malpighian'lar CYP450 ve GST enzimleri sayesinde yüksek seviyelerde detoksifikasyon gerçekleştirir [71].

2.1.4 Deride detoksifikasyon

Deri, çevresel kimyasallar ve solar Ultraviyole ışın (UV) radyasyonu dahil olmak üzere dış çevre kirlenmelerine karşı ilk savunma bariyeri görevi görür. Cildin en önemli rolü, organizma ve çevre arasındaki ara yüzde koruyucu bir örtü sağlamaktır. Memeli derisi, etkileyici çeşitlilikte pasif ve aktif koruyucu özellikler gösterir. Çoklu epidermal ve dermal hücre popülasyonunun koordineli fonksiyonları, cilt bağışıklık sisteminin bu ara yüzde meydana gelen çok çeşitli tehditlere karşı hızlı ve etkili bir şekilde yanıt vermesine izin verir. Çevresel faktörler, oksitleyici özellikler yoluyla ciltte tepki sistemini harekete geçirebilir. Çevresel kimyasallar genellikle biyolojik olarak inerttir ve zararlı etkilerini göstermeleri için CYP enzimleri tarafından metabolik aktivasyona

uğramaları gerekir. Ciltle ilgili bu aktivasyon yolunun en dikkate değer örneği; CYP450 tarafından önce epoksit hidrolaz'a katalize edilen, sonra ardışık reaksiyonlar yoluyla nihai kanserojen formu benzo (a) piren 7 '8-diol-9,10-epoksit'e metabolize olan ve yaygın bir çevresel kirletici olan benzo (a) pirendir [72,73].

Ultraviyole ışın maruziyeti ciltte; tekli oksijen, peroksi radikaller, hidroksil radikaller ve süperoksit anyonu gibi DNA ve diğer hücresel hedeflere zarar veren ROS oluşumuyla sonuçlanır. Ciltte UV ile indüklenen ROS üretimi hedef hücrenin antioksidan savunma kabiliyetini aştığında oksidatif stres gelişir. Oksidatif stresin indüksiyonu ve antioksidan savunma sisteminin dengesizliği; romatoid artrit, enflamasyon, foto yaşlanma, immünotoksisite ve cilt kanseri de dahil olmak üzere çeşitli hastalık durumları ile ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle, UV radyasyonu kritik ana oksitleyici ajandır ve tehlikelidir. Neyse ki cilt, kendisini UV kaynaklı ROS hasarından korumak için çok çeşitli ve birbirine bağlı olan antioksidan savunma mekanizmalarına sahiptir. Bununla birlikte, bu detoksifikasyon yollarının kapasitesi sınırlıdır ve aşırı UV'ye maruz kalma sonucunda kısıtlanabilir [74].

GSH, oksidatif hasara karşı hücresel savunmada çok önemli bir rol oynar. Kültürlenmiş insan cilt hücrelerinde GSH tükenmesi, onları ultraviyole (UVA ve UVB) radyasyon ile indüklenen mutasyonlara ve hücre ölümüne duyarlı hale getirir. GSH, doğrudan bir serbest radikal temizleyici olarak hareket edebilir ve bunun UVB'ye karşı ana koruyucu etki olduğu düşünülmektedir [75,76].

SOD, oksidatif fosforilasyonun bir yan ürünü olarak üretilen süperoksit anyonunun UV etkisi üzerine, daha az reaktif olan H₂O₂'ye indirgenmesini katalize eder. GPx veya CAT daha sonra bu H₂O₂'yi detoksifiye eder. SOD ciltte farklı formlarda bulunur: bakır / çinko süperoksit dismutaz (Cu / Zn-SOD) ve manganez süperoksit dismutaz (Mn-SOD). Bir çalışmada farelerin lipozomlarda SOD ile tedavisi, UV'ye maruz kaldıktan sonra SOD aktivitesindeki azalmayı tamamen önlemiştir [77,78].

GPx, bir kofaktör olarak glutasyonu kullanarak UV kaynaklı H₂O₂'nin suya ve oksijene dönüşümünü katalize eder. Bu enzimin aktivitesi UV'den güçlü bir şekilde etkilenmez ve ciltteki en önemli antioksidan savunma sistemi olarak kabul edilir. Son zamanlarda Meewes ve ark. (2001) yeterli selenyum takviyesi altında GPx aktivitesinin, insan dermal fibroblastlarında tekrarlayan düşük doz UVA üzerine Mn-SOD aktivitesi ile eşzamanlı olarak indüklendiğini göstermiştir [79,80].

H₂O₂ üretilme hızı UV'ye maruz kaldıktan sonra aşırı derecede artar. Bu nedenle UV / görünür ışıktan kaynaklanan fotooksidatif stres anında CAT en hassas hedefdir. Derideki CAT aktivitesinin, UVA ve UVB'ye veya hem UVA hem de UVB'nin birleşik etkisine maruz kaldıktan sonra büyük ölçüde azaldığı bildirilmiştir. Bu azalma muhtemelen enzimin geri döndürülemez oksidatif hasarından kaynaklanmaktadır. Masaki ve ark. (1998) insan dermal fibroblastlarında CAT ve GPx'in hücre içi H₂O₂'nin hücresel dağılım, reaksiyon hızı, maddelerle bağlanma sabiti ve enzim stabilitesi açısından farklı yollarla temizlenmesine katkıda bulunduğunu öne sürmektedir. Ayrıca, katalazın, UVB ışınlanmasını takiben düşük konsantrasyonlarda (100 mM) oluşan H₂O₂'yi temizlemek için birincil antioksidan enzim olduğunu ve GPx'in yüksek konsantrasyonlarda H₂O₂ süpürmek için ikincil bir enzim olarak işlev gördüğünü göstermektedir [81,82].

Seruloplazmin'in in vitro fonksiyonel özellikleri, in vivo rolünün bir serum antioksidanı veya "ferroksidaz" aktivitesi sayesinde retiküloendotelial hücrelerden Fe mobilizasyonunun bir katalizörü olduğu yönündeki önerilere yol açmıştır. İnsan cildinin UV'ye maruz kalması aynı zamanda lipid peroksidasyonunu da indükler, seruloplazmin'in varlığı ve aktivasyonu bu fenomeni inhibe edebilir. Böylece cilt hücrelerinin lipid açısından zengin hücresel zarlarının hasarı önenebilir [83,84].

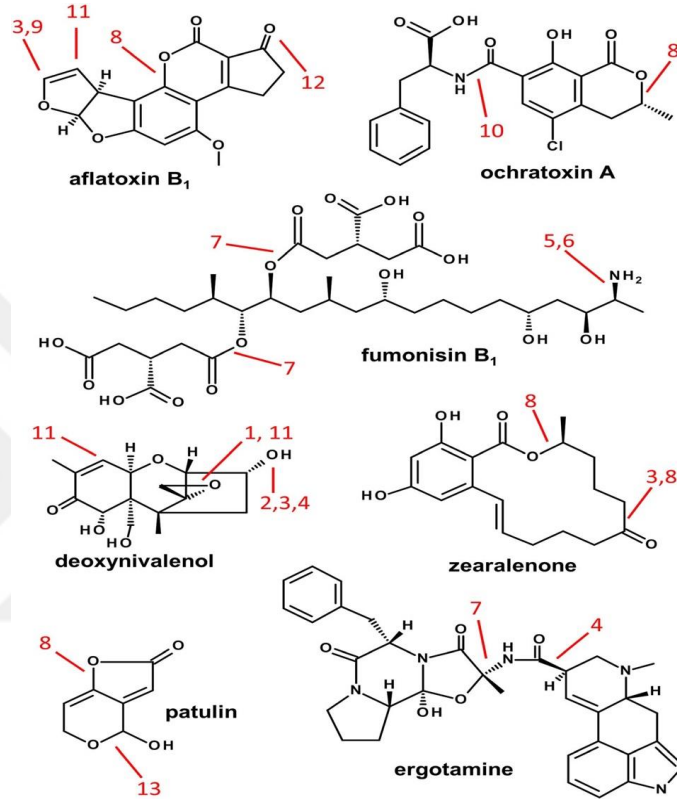
2.1.5 Mikotoksinlerin ve ağır metallerin detoksifikasyonuna bakış

2.1.5.1 Mikotoksinlerin detoksifikasyonu

Mikotoksinlerin insan sağlığı üzerindeki akut ve kronik zararlı etkileri, gelişmekte olan ülkelerde ciddi bir sorundur. Sanayileşmiş tarım ve gıda işleme teknolojisine sahip ülkelerde, gıdalardaki mikotoksinler nadiren akut zehirlenmeye neden olur. Bununla birlikte, asıl endişe kronik düşük seviyeli maruz kalmanın uzun vadeli etkileriyle ilgilidir. Örneğin, okratoksin A'ya maruz kalma, Avrupa ülkelerinde artan böbrek kanseri insidansına katkıda bulunabilirken deoksinivalenol, İmmunoglobulin A nefropatisine neden olan bir faktör olabilir [85,86].

Karlovsky (1999)'a göre "biyolojik detoksifikasyon" olarak adlandırılan yöntemler ile kontamine yemler ve gıdalardaki mikotoksin konsantrasyonunun kabul edilebilir seviyelere düşürülmesi için çeşitli mikroorganizma ve bitkilerin kullanımına odaklanılmalıdır [87]. Fakat bu tezin konusu kapsamında metabolizma içerisindeki mikotoksin detoksifikasyonu incelenecektir.

Şekil 2.4'te başlıca mikotoksinlerin kimyasal yapıları ve gıda işlenmesine bağlı oluşan modifikasyonları gösterilmektedir. Şekilde numaralar ile belirtilen modifikasyonlar: (1) deepoksidasyon, (2) asetilasyon, (3) oksidasyon, (4) epimerizasyon, (5) deaminasyon, (6) glukosilasyon, (7) hidroliz, (8) lakton bölünmesi (hidroliz), (9) hidroksilasyon, (10) peptid bölünmesi, (11) sülfonasyon, (12) redüksiyon ve (13) eter bölünmesidir [88].



Şekil 2.4: Başlıca mikotoksinlerin kimyasal yapıları ve gıda işlenmesine bağlı modifikasyonları [88].

Aflatoksinler başta *A. flavus*, *A. parasiticus* ve *A. nomius* olmak üzere *Aspergillus* cinsinden mantar türleri tarafından üretilen veya gıda ürünlerinde doğal olarak gelişen ve insanlarda çok çeşitli toksik etkilere neden olan sekonder metabolitlerdir. En belirginleri; aflatoksin B1 (AFB1), B2 (AFB2), G1 (AFG1), G2 (AFG2), M1 (AFM1) ve M2 (AFM2) olmasına rağmen 20'den fazla aflatoksin molekülü vardır. Aflatoksinlerin varlığı tipik olarak kuru gıda ürünlerinde (tahıllar, baharatlar ve kuru meyveler) rapor edilirken, AFM1 ve AFM2 gibi aflatoksinlerin metabolik ürünleri sütte rapor edilmiştir. Aflatoksinler pastörizasyon, sterilizasyon ve diğer termal uygulamalar da dahil olmak üzere genellikle gıdalara uygulanan geleneksel işlemlere karşı büyük direnç gösterir. AFB1 ve aflatoksin B, G ve M karışımı, Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı

(IARC) tarafından grup 1 kanserojen olarak sınıflandırılmıştır. Aflatoksinlerin insan sağlığına en önemli etkisi, dünya çapında kadınlarda 9. ve erkeklerde 7. sırada gelen bir kanser türü olan hepatoselüler karsinomdur. Göreli olarak düşük insidanslarına rağmen, hepatoselüler karsinomlar diğer kanser türlerine kıyasla çok daha yüksek bir ölüm oranı gösteren oldukça agresif bir kanser türüdür. Aflatoksinlerin sağlık etkileri arasında teratojenite, hepatotoksisite, sitotoksisite ve genotoksisite de bulunur. Aflatoksinler ayrıca bodurluk ve aşırı zayıflık dahil olmak üzere büyüme bozukluğu ile de güçlü bir şekilde ilintilidir. AFB1 karaciğerde CYP450 enzim sistemi tarafından nihai kanserojen olan aflatoksin B1-8,9-epoksit'e (AFBO) metabolize edilir. Bu metabolik dönüşüm karaciğerde esas olarak CYP3A4 ve CYP1A2 enzimleri tarafından gerçekleştirilir. AFBO oldukça kararsız doğası nedeniyle, herhangi bir makromoleküle bağlanmadan önce kendiliğinden hidrolize olabilmekte ve bunun sonucunda AFB1 dihidrodiol oluşmaktadır. Bu diol, AFB1 sitotoksisitelerinin bir mekanizması olduğu düşünülen hücrel proteinler üzerindeki N-terminallerine ve lizin yan zincirlerine kendiliğinden kovalent olarak bağlanabilen AFB1 dialdehit adı verilen bir formu ile denge halindedir. AFB1 dialdehit, aflatoksin aldehit redüktaz ile AFB1 dialkolüne metabolize edilebilir ve proteine bağlanma kabiliyeti ortadan kaldırılır. Ayrıca *Laktobacillus* suşlarının AFB1'in emilimini azaltmak ve atılımını artırmak için güçlü ve güvenli araçlar olduğu ileri sürülmektedir [88,89,90,91,92].

Patulin, *Penicillium* ve *Aspergillus* cinsi gibi mantar türleri tarafından üretilen ikincil bir metabolittir. İlk kez 1940'larda *Penicillium griseofulvum* ve *Penicillium expansum*'dan izole edilmiştir. Çoğunlukla elma ve elma ürünlerinde olmak üzere armut, üzüm, tatlı biber ve havuç gibi diğer meyve ve sebzelerde de bulunmaktadır. Patulin vücuda girdiğinde, esas olarak karaciğer ve böbrek gibi kan açısından zengin organlarda yoğunlaşır. Toksisitesi glutatyon ve tiyoglikolat gibi tiol (-SH) içeren bileşiklerle reaksiyonlara girmesi ile ortaya çıkar. Patuline maruziyet, immünolojik, nörolojik ve gastrointestinal sonuçlar ile ilişkilendirilmiştir. Yapılan bir çalışmada probiyotik türü olan *L. plantarum*'un, metabolizmadaki Patulin seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir [93,94,95,96].

Fumonisinler, seramid sentaz aktivitesini inhibe ederek sinir hücrelerinin lipid metabolizmasını kırar ve sfingolü, D-sfinganine katalize eder; sonunda hücrel hasar ve varyasyona neden olur. **Okratoksin A**'nın sıçanların karaciğer hücrelerinin mitokondrialinde sitokrom C'nin süksinod hidrojenaz ve oksidaz aktivitesini durdurduğu

görülmüştür. **Vomitoksin** ve T-2 toksini, hematopoietik kök hücre ve bağışıklık hücrelerinin apoptozuna yol açar. Fusarium türleri tarafından üretilen en yaygın mikotoksinlerden biri olan **Deoxynivalenol** hem insanlarda hem de hayvanlarda genellikle ishal, kusma ve mide-bağırsak iltihabına neden olur. Deoxynivalenol, teratojenik hastalıklar (embriyo veya fetüse etki eden hastalıklar), kanser ve bağışıklık sistemini baskılayan hastalıklar gibi çeşitli hastalıklara neden olabilir [97,98,99,100].

2.1.5.2 Ağır metallerin detoksifikasyonu

Ağır metal terimi genellikle potansiyel olarak insan sağlığı ve ekosistem için toksisiteye sahip metaller ve yarı metaller için kullanılmıştır. Çok küçük miktarlarda bulunduğu Cu, Fe, manganez ve Zn gibi birçok ağır metalin vücutta fizyolojik fonksiyonları vardır. Çinko çeşitli enzimatik reaksiyonlar için önemli bir kofaktördür, B vitamininin çekirdeğinde bir kobalt atomu vardır ve hemoglobin demir içerir. Bununla birlikte kurşun, cıva, kadmiyum gibi ağır metallerin çoğunun insan fizyolojisi için bilinen bir yararı yoktur. Metaller ve metal bileşikler; merkezi sinir sistemi, hematopoietik sistem, karaciğer ve böbrekler gibi çeşitli organ ve sistemlerin işlevlerine müdahale eder. Toksik ağır metaller enzim inhibisyonuna neden olur ve oksidatif stres oluşturur. Ağır metaller; apoptoz, hücre döngüsü regülasyonu, DNA metilasyonu, DNA onarımı, hücre büyümesi ve farklılaşmasından sorumlu proteinleri hedef alarak kanserojen etkiye sahiptir. Bazı ağır metaller, nörotransmitterlerin azalmasını sağlayarak veya nöron mitokondrilerinde birikme yaparak nörotoksositeye neden olur [101,102,103,104].

Toksik bir metal olarak **kadmiyumun (Cd)** karaciğere, böbreğe, kemiklere, üreme sistemine ve diğer hayati organlara zarar verdiği bilinmektedir. Kadmiyuma maruz kalma ile tüm kanser türleri için artan risk ve erkeklerde kardiyovasküler hastalıklara bağlı mortalite ilişkilendirilmiştir. Cd toksisitesinin kesin mekanizması çok açık olmasına rağmen serbest radikal oluşumunun veya ROS oluşumunun bu toksisitenin ana mekanizması olduğu ileri sürülmektedir. **Kurşun (Pb)**, oksidatif strese neden olan ve insan sağlığını tehdit eden yaygın ağır metallerden biridir. Pb sırasıyla merkezi sinir sistemini, böbrekleri, bağışıklık sistemini, üreme sistemini ve kardiyovasküler sistemi olumsuz etkileyebilir. Kurşuna maruz kalma, kolesterol metabolizmasını değiştirir ve böylece kurşuna maruz kalan kişilerde kardiyovasküler hastalık ve ateroskleroz riski artar. Kurşunun kardiyovasküler etkileri artmış kan basıncı ile ilişkilendirilmiştir.

Arseniğe (Ar) aşırı derecede maruz kalma kanser, kalp damar hastalığı, diyabet, periferik nöropati, gelişimsel ve üreme anomalileri ile ilişkilidir. Arseniğin kronik maruziyetinin oksidatif stres ile ilişkili olduğu ve SOD, GPx, glutatyon redüktaz ve CAT aktivitesini modüle ettiği bilinmektedir. **Cıva (Hg)**, insanlarda bilinen bir fizyolojik rolü olmayan oldukça toksik bir metaldir. Mesleki maruziyet hariç tutulduğunda, özellikle balık tüketimi yoluyla Hg alınması önemli bir Hg maruziyet sebebi olmaya devam etmektedir. Cıvanın toksisiteye neden olduğu en dikkate değer mekanizma, serbest radikal üreten tiol gruplarına (-SH) bağlanmanın yanı sıra glutatyonun tükenmesine neden olarak verdiği mitokondriyal hasardır. Glutatyon bu hasara karşı savunma gösteren en güçlü hücre içi oksidatif stres ve iltihaplanma karşıtı antioksidandır. **Alüminyum (Al)**, Dünya'nın kabuğunda en bol bulunan metaldir ve Alzheimer hastalığının gelişiminde rol oynadığı öne sürülen çevresel etkenlerin en önde gelenidir. Alüminyumun diyetle alınması; taze yiyeceklerin ve içme suyunun nispeten küçük miktarlarda alüminyum içermesi dışında yaygın bir durum değildir. Ömür boyu kronik maruziyet alüminyumun vücut yükünü önemli ölçüde etkiler [105-112].

Klasik metal şelatörler ağır metal detoksifikasyonu için çok yaygın kullanılan bir yöntemdir. Fakat belirli zorlukları ve dezavantajları vardır. Örneğin; Dimercaprol (İngiliz anti-Lewisit olarak da adlandırılır) cıva zehirlenmesi için reçete edilir. Dimercaprol dar bir terapötik indekse sahiptir, bir yağ bazında hazırlanır ve yalnızca kas içi enjeksiyonla verilir bu da uygulamasını ağırlı hale getirmektedir ve alerjik reaksiyonlara neden olabilir. Şelasyon tedavisi pahalıdır ve yaygın Pb zehirlenmesine yaygın olarak maruz kalan Afrika gibi ekonomik anlamda fakir ülkelerde tedavi zorluğuna sebep olmaktadır [113,114].

Ağır metaller canlı sistemler tarafından metabolize edilmezse toksik seviyelere kadar birikmelere sebep olur. GSH, metalotiyoninler ve fitokelatinler gibi kükürt bakımından zengin metal ayıran peptitler ağır metal zehirlenmesine karşı biyolojik savunma stratejilerinde büyük önem taşımaktadır. Hg, Cd, Pb ve Ar gibi toksik metaller dahil olmak üzere iki değerlikli katyonları bağlama kabiliyetine sahip sistein açısından zengin bir protein olan Metalotionein, ağır metal detoksifikasyonunda önemli bir bileşen olarak kabul görmektedir. Diyet modelleri ve alınan besinler, metalotionein üretiminde değişikliklere neden olabilir. Örneğin Lamb ve ark. (2011) şerbetçiotu (*Humulus lupulus*), nar (*Punica granatum*), kuru erik (*Prunus domestica*) kabuğu ve su teresinden (*Nasturtium officinale*) oluşan zengin bir gıda ile birlikte küçük bir klinik çalışma

yapmış ve bu müdahale ile metallothionein mRNA üretiminde % 54'lük bir artış olduğunu bildirmişlerdir [115,116,117].

Ağır metal maruziyeti ile bağırsak mikrobiyotası arasındaki karşılıklı ilişki onaylanmıştır. Ağır metal maruziyeti bağırsak mikrobiyotasının metabolizması ve işlevselliğini değiştirir. Öte yandan bağırsak mikrobiyotası, ağır metallerin emilimini ve metabolizmasını etkiler. Örneğin probiyotikler ağır metallerin fekal atılımını artırma ve ardından bağırsak mikrobiyotasında ağır metallerin neden olduğu değişiklikleri tersine çevirme yeteneğine sahiptir. Ağır metallerin probiyotik detoksifikasyon mekanizması, metalik iyonların bakteri hücre duvarına bağlanması ve ardından biyoakümülyasyon olarak tanımlanan hücre zarı geçişiyle bakterilerin içinde birikmesi yoluyla gerçekleştirilir [118].

Çeşitli çalışmalar, doğal antioksidanların ağır metallerin toksik etkilerine karşı koyma gücünü göstermiştir. Bol miktarda flavonoid ve polifenol içeren doğal kaynaklardan elde edilen gıdaların insanlardaki metal toksisitesine karşı faydalı bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Ayrıca birçok bitkinin ve özütlerinin deney hayvanlarında ağır metal kaynaklı toksisiteye karşı koruma sağladığı bildirilmiş olup bir sonraki bölümde detaylı incelemesi ele alınacaktır [119,120].

2.1.6 Detoksifikasyonda beslenmenin düzenlenmesi ve tıbbi ve aromatik bitkilerin etkisi

Besinlerin detoksifikasyon süreçlerinde yer alan metabolik yolların modülasyonundaki rolleri araştırılmış ve araştırılmaya devam edilmektedir. Bugüne kadar çeşitli yayınlar, gıdalardan türetilen bileşenlerin vücuttan toksinlerin dönüşümü ve atılımı süreçlerini modüle edebileceğini göstermek için hücre deneyleri, hayvan çalışmaları ve klinik çalışmalardan yararlanmıştır. Genel olarak bulgular belirli gıdaların, toksinlerin biyotransformasyonu ve eliminasyonuna yardımcı olmak için pozitif etki yaratabileceğini veya uygun şekilde dengeleyebileceğini göstermektedir [121].

Bitki ve doğal türevlerinin hastalıkların tedavisi için kullanımı insanlık tarihi kadar eskidir. Bitkiler, yeni ilaçların geliştirilmesine öncülük edebilecek antioksidan özelliklere sahip birkaç sekonder metabolit içerir. Bu antioksidanlar, serbest radikal oluşumunu veya serbest radikalin yayılmasını önler. Bazı besinler, sebzeler, meyveler, baharatlar ve bitkiler bu özelliklere sahip bir veya daha fazla antioksidan içerir. Bu doğal antioksidanlar arasında oksidasyonu inhibe edebilen, serbest radikalleri

temizleyebilen, şelatör ve indirgeyici olarak işlev gören flavonoidler, fenolik bileşikler, izoflavonlar, lutein ve likopen gibi karotenoidler ve tokoferoller bulunur. Bitkilerdeki başlıca antioksidatif fenolik bileşikler dört önemli gruba ayrılabilir: 1) fenolik asitler (gallik, protochatechuic, kafeik ve rosmarinik asitler); 2) fenol diterpenler (karnosol ve karnosik asit); 3) flavonoidler (kuersetin ve kateşin); ve 4) uçucu yağlar (öjenol, karbofil, timol ve mentol). Fenolik asitler serbest radikalleri yakalayarak antioksidan özellik sergilerken, flavonoidler serbest radikalleri temizleyebilir ve ağır metalleri şelatlayabilir. Doğal polifenolik bileşiklerin serbest radikal temizleme özellikleri, flavonoid iskeleti üzerindeki serbest hidroksil gruplarının sayısına ve konumuna atfedilebilir. Birden fazla hidroksil grubuna sahip olan flavonoidler, yalnızca bir hidroksil grubuna sahip olanlardan daha güçlü antioksidan özellik gösterir. Ek olarak, flavonoidlerdeki orto-3,4-dihidroksi yapısının varlığı, antioksidatif aktiviteyi artırır. Flavonolar ve bazı flavanonlar (naringenin gibi), 5-hidroksil ve 4-okso gruplarında metalleri seçici olarak bağlayabilir. Butillenmiş hidroksiyanozil (BHA), butillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve propil galat gibi bir aromatik halka içeren sentetik antioksidanlarda vardır [122,123,124,125,126].

Meyve ve sebzeler birçok flavonoid molekülünü içerir. Flavonoidlerin reaktif oksijen türlerini temizleme ve lipid peroksit üretimini azaltma yolu ile antioksidan enzimlerinin aktivitelerini etkileme yetenekleri de mevcuttur. Örneğin kırmızı üzüm (*Ribes rubrum*) kabuğunda bulunan elajik asitin Faz I enzim aktivitesini azaltırken birkaç Faz II enzimini indüklediği gösterilmiştir. Sarımsak (*Allium sativum*) yağı, biberiye (*Rosmarinus officinalis*), soya (*Glycine max*), lahana (*Brassica oleracea*) ve brüksel lahanası (*Brassica oleracea var. Gemmifera*), çeşitli Faz II enzim aktivitelerini indükleyebilen bileşikler içerir. Genel olarak, Faz II enzim aktivitesindeki bu artış, bir bireyde daha iyi detoksifikasyonu destekler ve Faz I - Faz II aktiviteleri arasında sağlıklı bir denge kurulmasına ve sürdürülmesine yardımcı olur. Ayrıca Faz II aktivitesindeki bu artış, meyve ve sebzelerin birçok kansere karşı koruyucu yeteneğini de kısmen açıklamaktadır. Yapılan bir çalışmada, önce antioksidanlarla (tokoferol ve askorbik asit) ön işleme tabi tutulan sığanların daha sonra hiperoksiye maruz bırakıldıklarında, kırmızı kan hücreleri ve akciğerlerinde CAT aktivitesinin arttığı görülmüştür. Elemental Fe mevcudiyeti de CAT aktivitesini etkiliyor gibi görünmektedir çünkü kırmızı kan hücrelerindeki CAT aktivitesi, demir eksikliği anemisi olan hastalarda normal bireylere göre %26 daha düşük bulunmuştur. Bu veri normal CAT aktivitesinin muhafaza

edilmesinde yeterli diyet demirine olan ihtiyacı açıkça ortaya koymaktadır. Çeşitli yiyecekler ve bitkisel besinler CYP1 aktivitesini değiştirir. İnsanlarda turpgillerin CYP1A1 ve 1A2 indükleyicileri olarak hareket ettiği ve hayvan çalışmalarında ise CYP1B1'in yukarı regülasyonunu sağladığını gösterilmiştir. Klinik çalışmalar ayrıca resveratrol ve resveratrol içeren gıdaların CYP1A1 enziminin arttırıcıları olduğunu göstermektedir. Bazı besinler CYP1 enzimlerinin hem indükleyicileri hem de inhibitörleri olarak hareket ediyor gibi görünmektedir. Örneğin; hayvanlarda diyetin %0.1'ine ilave edilen kurkuminin CYP1A1'i indüklediği gösterilmiştir ancak %1 zerdeçal (*Linum usitatissimum*) içeren bir diyetin aynı enzimin inhibitörü olduğu görülmüştür. Kuersetin ve brokoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*) tüketimi ile CYP2A6'nın indüksiyonuna ilişkin klinik kanıt mevcuttur. Hayvanlarda hindiba (*Cichorium endivia*) CYP2A enzimlerini indükler, biberiye ve sarımsak CYP2B aktivitesini artırabilir, resveratrol ve tere (*Lepidium sativum*) ile yapılan klinik çalışmalar CYP2D6 inhibisyonunu sağladığını göstermektedir. Su teresi ve sarımsak, insanlarda CYP2E1 inhibitörleridir. İn vivo kanıtlar ayrıca ellajik asit, yeşil ve siyah çay (*Camellia sinensis*), karahindiba (*Taraxacum officinale*) ve orta zincirli trigliseridlerin (MCT'ler) CYP2E1'i azaltabileceğini göstermektedir. Rooibos (*Aspalathus linearis*) çayı, sarımsak ve balık yağı, CYP3A, 3A1 ve 3A2'nin aktivitesini indükler. CYP3A4'ün enzim-ilaç etkileşimi potansiyeli, gıda-ilaç ve bitki-ilaç etkileşimlerinin uygulamasında bir miktar risk oluşturur. Greyfurt (*Citrus aurantium*) suyu belki de bu enzimin bilinen en iyi gıda inhibitörüdür. Kurkumin, 3A4 aktivitesini artırabilir. Deneysel kanıtlar, izotiyosiyanatların bir yandan sitokrom P450'yi inhibe ederek biyoaktivasyonu bozabildiğini, diğer yandan ise faz II enzimlerini yukarı doğru düzenleyerek detoksifikasyonu uyardığını göstermektedir. Besinlerdeki biyoaktif bileşiklerle faz II enzimlerinin modüle edilmesinin genetik nedenlerden dolayı enzim aktivitesi değişmiş hastalarda avantajlı bir durum olabileceği düşünülmektedir. Klinik ve gözlemsel çalışmalar bazı sebzelerin, resveratrolün ve turuncgillerin UGT enzimlerini indükleyen biyoaktif bileşiklere sahip olduğunu işaret etmektedir. Hayvan çalışmaları karahindiba, rooibos çayı, bal, biberiye, soya, ellagik asit, ferulik asit, kurkumin ve astaksantin dahil olmak üzere bazı besinlerin ve besin bileşenlerinin UGT aktivitesini artırma potansiyeli olduğunu göstermektedir. Bazı hayvan çalışmalarına göre kafein ve retinoik asit olası SULT indükleyicileridir. B6 vitamininin aktif formu olan piridoksal-6-fosfat, aynı zamanda rekabetçi bir SULT inhibitörü olabilir. SULT enzim aktivitesi, tükenebilir inorganik sülfat rezervine bağlıdır. Bu nedenle, kükürt içeren bileşiklerin diyet kaynakları

yoluyla alınması enzim etkisi için substrat sağlayarak SULT fonksiyonunda önemli bir rol oynayabilir. *Allium* cinsi sebzeler ve resveratrol, insanlarda GST'leri indüklemeye kabiliyeti gösterir. Ayrıca gözlemsel araştırmalar narenciye tüketimini artmış GST aktivitesi ile ilişkilendirmektedir. İn vivo veriler ayrıca sarımsak, balık yağı, mor tatlı patates (*Dioscorea alata*), kurkumin, yeşil çay, rooibos çayı, elajik asit, biberiye, yağ ve genistein dahil olmak üzere birçok gıda ve gıda bileşeninin bu enzimlerin üst düzenleyicileri olduğunu göstermektedir. Aksine yüksek doz kuersetin ve genistein inhibitör etkiler göstermektedir. Kurkuminoidler (zerdeçaldan), silimarın (deve dikeninden), folik asit ve alfa-lipoik asidin insanlarda tükenmiş GSH'yi geri kazandırdığı gösterilmiştir. Ayrıca B6 vitamini, magnezyum ve selenyum gibi çeşitli mikro besinler endojen glutatyon sentezini artırabilir. Bu nedenle metabolizmada diyet veya takviye yoluyla glutatyon durumunu iyileştirme potansiyelleri vardır. Metiltransferaz enzimi için besleyici kofaktörler; metiyonin, B12 vitamini, B6 vitamini, betain, folat ve magnezyum gibi metil donörlerden oluşur. Bu bileşenler çeşitli besinlerden sağlanabilir. Diyetle alınan Mn ve Cu, SOD aktivitesini etkiler. Yapılan bir çalışmada Mn-SOD ve Cu / Zn-SOD aktiviteleri, manganezi yeterli ve eksik alan sıçanların karaciğerinde 60 gün boyunca ölçülmüştür. Sonuçta, her iki grupta da Mn-SOD aktivitesi artmasına rağmen manganezi eksik alan sıçanlarda aktivite üç kat artarken yeterli alan sıçanlarda bu aktivitenin altı kat arttığı görülmüştür [127-144].

2002 yılında FAO ve WHO, probiyotikleri 'Yeterli miktarlarda uygulandığında konakçıya sağlık açısından fayda sağlayan canlı mikroorganizmalar' olarak tanımladı. Probiyotik olarak *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Propionic* bakteri ve *Streptococcus* gibi birçok bakteri türü kullanılmasına rağmen, insanda en faydalı etkiler *Lactobacillus* ve *Bifidobacteria* ile görülmüştür. Çok sayıda çalışma, in vitro ve in vivo olarak *Laktobacillus* suşlarının antikarsinogenisitesini ve antimutajenisitesini doğrulamıştır. *Laktobacillus* suşlarının kanserojen bileşiklere bağlama kapasitesine sahip olduğu belgelenmiş olup bu detoksifikasyon etkisi, kanserojen bileşiklerinin hücre konsantrasyonuna ve türlerine bağlıdır. Ayrıca *Lactobacillus* probiyotik türleri ağır metallerle bağlanabilir ve ağır metal detoksifikasyonu için faydalıdır [145].

Bitkilerde yaygın olarak bulunan flavonoidler, antosiyaninler ve flavonoller Cd kaynaklı toksisitelere karşı koruyucu etkiler göstermektedir. Flavonoidler kadmiyum ile şelat yaparlar, böylece kadmiyumun biyoakümüülasyonu ve diğer faydalı metal

iyonlarının miktarlarının değiştirilmemesi sağlanır. Roopha ve Padmalathat (2012); 17 bitkisel ürün karışımının deney hayvanlarında Cd toksisitesi üzerindeki etkisini araştırmış ve bitkisel karışımındaki bileşiklerin sinerjik etki yaparak antioksidan enzimlerin kadmiyum kaynaklı inhibisyonunu tersine çevirdiğini ortaya koymuştur. 2015 yılında Dua ve ark. iki bitkinin; su ıspanağı (*Ipomoea aquatica*) ve *Enhydra fluctuans*'in, oksidatif savunma ve antiapoptotik mekanizmalarına odaklanarak Cd kaynaklı toksisite üzerindeki etkilerini araştırmış ve kadmiyum alımı sonucu değişen vücut parametrelerinin tersine çevrildiğini göstermişlerdir. Başka bir çalışmada Kim ve ark. (2014), *Dendropanax morbifera* özütünün böbreklerden kadmiyum atılımını desteklediğini ve sıçanlarda antioksidan seviyelerini yükselterek Cd kaynaklı oksidatif hasarı önlediğini göstermiştir. Xia vd. (2010), *Smilax glabra* ekstraktının Pb kaynaklı oksidatif stres ve Pb toksisitesi üzerindeki koruyucu etkilerini göstermiştir. Köri (*Murraya koenigii*) yaprakları, Cd kaynaklı kardiyak toksisiteye karşı koruma sağlayan antioksidan ve potansiyel şelatör olarak işlev gören flavonoidler ve fenoller içerir. Üzüm (*Vitis vinifera*) gibi meyveler de Cd toksisitesine karşı koruma sağlar. Domatesin (*Solanum lycopersicum*) ağır metal iyonlarına maruz kaldığında metal şelatlayıcı proteinler ürettiği bildirilmiş ve oral uygulamasının, sıçan karaciğerinde Cd, Pb ve Hg birikimini önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir. *Moringa oleifera*, Pb kaynaklı toksisiteyi azaltmıştır. Bir alg olan spirulina'nın (*Spirulina platensis*), antioksidan potansiyeli sayesinde Cd aracılı genotoksik etkileri önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir. Biberiyedeki bir polifenol olan rosmarinik asit, her biri iki -OH grubuna sahip iki aromatik halkası sayesinde hidrojen ve ağır metalleri şelatlama kapasitesine sahiptir [146-156].

Yemeklerde kullanılan bazı baharatların, şıfalı otların ve diğer bileşenlerin mikotoksinleri detoksifiye ettiği yapılan araştırmalar ile görölmüştür. Bir çalışmada Asya mutfağında baharat olarak yaygın bir şekilde kullanılan ajwan (*Trachyspermum ammi*) özü'nün aflatoksinleri yok ettiği görölmüştür. *Ocimum tenuiflorum*'un özleri oda sıcaklığında bile aflatoksinleri detoksifiye etmiş ve vasaka (*Adhatoda vasica*) yapraklarının sulu özleri 37 ° C'de ve bir saat sonra AFB1'i tamamen detoksifiye etmiştir. Probiyotiklerden *L. plantarum*'un fermente meyve suyunda Patulin kontaminasyonunu azaltabildiği hatta ortadan kaldırabildiği gösterilmiş bu nedenle Patulin toksisitesini azaltmak için günlük destek olarak kullanılabilereği düşünölmüştür [157,158,159].

Sarımsak (*Allium sativum*), tıbbi özelliklerinden sorumlu olan organo-kükürt bileşikler içermektedir. Kükürt içeren bileşiklerden allisin, antimikrobiyal özelliklere sahiptir ve diğer kükürt bileşenleri ile birlikte sarımsağın karakteristik kokusundan sorumludur. Sarımsağın antikanser aktiviteye sahip olduğu kardiyovasküler hastalık (antihiperko-lesterolemi, antikoagülan ve antihipertansif) riskini azalttığı ve yüksek selenyum içe-riği ile hücreleri serbest radikallere karşı koruyarak vücudun antioksidan savunma sis-teminin sürdürülmesine yardımcı olduğu bilinmektedir. Sarımsak özütü, sıçanlarda Pb kaynaklı oluşan nöral, hepatik, renal ve hematik toksisiteyi hafifletir ve bu özütün doku kültürü modellerini Cd kaynaklı mitokondriyal hasar ve apoptoza karşı koruduğu gös-terilmiştir [164-168].

Zencefil (*Zingiber officinale*), dünyanın farklı bölgelerinde artrit, soğuk algınlığı, bo-ğaz ağrısı, ateş, kramplar, kabızlık ve diğer birçok rahatsızlığın tedavisinde kullanıl-makla birlikte antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antiemetik, sito-koruyucu ve antioksi-dan özelliklere sahiptir. Ana bileşenleri arasında gingeroller, polifenoller, monoterpe-noidler, flavonoidler ve tanenler bulunur. Karakteristik kokusundan ökaliptol gibi mo-noterpenoidler sorumluyken keskin tadı gingerol olarak bilinen homolog bir fenol se-risinden kaynaklanmaktadır. Zencefil, Pb bağlı toksisitenin tedavisinde hem antioksi-dan etkiye hem de şelatlayıcı etkiye sahiptir [168,169,170].

Yeşil çay; epigallokateşin gallat, epikateşin gallat, epigallokateşin, epikateşin, gallo-kateşin ve kateşin gibi polifenollere sahiptir. Kateşinler hem hidroksil hem de süpe-roksit radikallerini, lipit serbest radikallerini ve peroksil radikallerini temizler. Yeşil çay, aktif bileşeni olan kateşinler sayesinde Pb ve Cd toksisitesine karşı koruma sağlar. Örneğin kurşuna maruz kalan HepG2 hücreleri ile yapılan in vitro çalışmalar, yeşil çay ektresinin hücre canlılığını artırdığı, lipid peroksidasyonunu azalttığı ve hücre akış-kanlığını koruduğu görülmüştür. Ayrıca, yeşil çay ekstresi ile yapılan tedavinin kan-daki Pb seviyelerini ve kurşunun neden olduğu nörotoksisiteyi azalttığı bildirilmiştir [171,172,173].

Kişniş olarak da bilinen *Coriandum sativum*; Akdeniz, Hint ve Güney Asya mutfa-ğında kullanılan bir baharattır. Kişniş antioksidan özellikleri ile serbest radikal temiz-leme yeteneklerine sahip bileşikler içerir. Bileşenleri arasında kafeik asit, klorojenik asit, vanillik asit, p-kumarik asit, ferulik asit ile kuersetin, kaempferol gibi flavonoidler ve acacetin gibi fenolik bileşikler bulunur. Kişniş ile yapılan hayvan çalışmalarında kişnişin (tohum), kandaki kurşun seviyelerinde düşüş, hematolojik parametrelerde

iyileşme ve ayrıca hepatotoksisiteden sorumlu biyokimyasal parametrelerde azalma sağladığı görülmüştür. Antioksidan etkileri karaciğer ve böbrekte SOD, CAT ve GPx düzeylerini artırır ve lipid peroksidasyonu düşürmektedir. Kişniş yapraklarının insanlarda, diş amalgamının çıkarılmasını takiben Hg atılımını arttırdığı bildirilmiştir [174,175].

Soya proteinleri, gıda endüstrisinde kullanılan hem yüksek besin değerine sahip hem de ucuz bir protein kaynağıdır. Soya proteini hidrolizatlarının antihipertansif, hipokolesterolemik, antiobezite, antioksidan, antikanser ve immünomodülatör gibi çeşitli terapötik etkileri vardır. Ağır metaller için doğal detoksifiye edici maddeler olarak soya proteini hidrolizatlarından tiyol içeren peptitler (TCP'ler) elde edilir. Bol miktarda sistein kalıntısı içeren bu peptitlerin ağır metallere yüksek kararlılık ile bağladıkları bilinmektedir. TCP'lerin ağır metal birikimi ile ilişkili hastalıkları kontrol etmek ve yönetmek için fonksiyonel gıda formülasyonlarının bileşeni olarak kullanılabilceği düşünülmektedir [176,177,178].

Enginar (*Cynara scolymus*), Akdeniz'in ılıman kuşak bölgesinde yetiştirilen bir bitkidir. Enginarın bileşenleri arasında flavonoidler, fenolik bileşenler, proteinler ve mineraller bulunur. Farmakolojik olarak idrar söktürücü, antimikrobiyal, antifungal ve antikanser etkileri mevcuttur. Doğal bir antioksidandır dolayısıyla serbest radikalleri temizleyebilir ve lipid peroksidasyonunu azaltabilir. Enginarın oksidatif stresin neden olduğu doku hasarını koruduğu ve Pb bağlı toksisite durumunda ve çeşitli metabolik hastalıklarda antioksidan sistemi eski haline getirdiği bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada, sıçanların enginar yaprağı ekstresi ile tedavisinin; oksidatif stres hasarında, bağışıklık baskılanmasını önlemede ve Cd neden olduğu hematolojik rahatsızlıklarda azalmaya neden olduğunu bildirmiştir [179,180,181].

Mango (*Mangifera indica*) meyvesi Fe şelatlayıcı, radikal süpürücü özelliklere sahiptir ve esas olarak magniferin olarak bilinen glukosilksantondan oluşur. Hepatositleri, lenfositleri, nötrofilleri ve makrofajları oksidatif stresten koruduğu bulunmuştur. Magniferin'in Cd kaynaklı toksisiteye karşı in vivo ve in vitro sitoprotektif etkiler sergilediği gösterilmiştir [182,183].

Kuersetin; sebzelerde, meyvelerde, bitkilerde ve bazı içeceklerde (çay, kahve, kırmızı şarap) doğal olarak bulunan bir flavonoiddir. Biyolojik aktiviteleri arasında antiinflamatuvar, antikanser, antivirüs ve antibakteriyel etkisi mevcuttur. Kuersetin, serbest

radikalleri temizleyebilir ve ağır metallerin doğal bir şelatörüdür. Kuersetin'in elma, soğan, çay, ginkgo ve karabuğday gibi diğer flavonoidlerle zenginleştirilmiş diyetlerle birlikte takviye edilmesi vücuttaki serbest radikallerin ve ağır metal iyonlarının uzaklaştırılmasına katkıda bulunabilir. Kuersetin'in ayrıca, tek başına veya bir tiyol şelatör ile kombinasyon halinde uygulanmasının Ar maruziyetinin neden olduğu serbest radikalleri temizleyebildiği bildirilmiştir [184,185,186].

Çörek otu (*Nigella sativa*) yağının güçlü antioksidan özellikler içerdiği bu nedenle vücudun beyin ve böbrek gibi hayati organlarını oksidatif hasarlardan koruyabileceği ve sızma zeytinyağları ile birlikte özellikle mesleki olarak maruz kalınan Cd toksisitesini hafifletmek için kullanılabilirliği bildirilmiştir [187].

Tıbbi ve aromatik bitkilerin ve/veya etkili bileşiklerin ve probiyotiklerin detoksifikasyon etkisi Tablo 2.1'de gösterilmektedir.

Tablo 2.1: Tıbbi ve aromatik bitkilerin ve/veya etkili bileşiklerin ve probiyotiklerin detoksifikasyon etkisi.

Bitki / Etkili Bileşik ve Probiyotik		
Faz I Detoksikasyon	Enzim İnhibisyonu	Enzim İndüksiyonu (regüle)
	Elajik asit, Turpgiller, Zerdeçal, Resveratrol, Tere, Sarımsak, Su teresi, Yeşil çay, Siyah çay, Karahindiba, Greylfurt suyu	Turpgiller, Resveratrol, Kurkumin, Kuersetin, Brokoli, Hindiba, Biberiye, Sarımsak, Rooibos çayı
Faz II Detoksifikasyon	Enzim İnhibisyonu	Enzim İndüksiyonu (regüle)
	Kuersetin, Genistein	Elajik asit, Sarımsak yağı, Biberiye, Soya, Lahana, Brüksel lahanası, Resveratrol, Turunçgiller, Karahindiba, Rooibos çayı, Ferulik asit, Kurkumin, Astaksantin, Kafein, Allium cinsi bitkiler, Silimarin, Kişniş
Ağır Metal Detoksifikasyonu	Lactobacillus probiyotik türleri, <i>Ipomoea aquatica</i> , <i>Enhydra fluctuans</i> , <i>Dendropanax morbifera</i> özütü, <i>Smilax glabra</i> ekst-raktı, Köri yaprağı, Üzüm, Domates, <i>Moringa oleifera</i> , Spirulina, Rosmarinik asit, Sarımsak özütü, zencefil, Yeşil çay, Kişniş yaprağı, Soya proteini hidrolizatları, Enginar ve enginar yaprak ekstresi, Mango ve mangiferin, Kuersetin, Çörek otu yağı	
Mikotoksin Detoksifikasyonu	Ajwan özü, <i>Ocimum tenuiflorum</i> özü, Vasaka özü, <i>Lactobacillus plantarum</i>	

2.2 Kolesterol

2.2.1 Kolesterol ve metabolizması

Kolesterol, hayvan dokularında bulunan başlıca steroldür. Memelilerde kolesterol, hücrelerin normal işleyişi için temel bir bileşen olarak hayati bir rol oynar. Metabolizmada, hücre zarlarının yapısal bir bileşeni olmaktan birkaç steroid hormonunun öncüsü olmaya kadar değişen görevleri vardır. Kolesterolün hücre zarlarındaki işlevi genelde membranın akışkanlığı ile ilgilidir. Kolesterol biraz katı yapıda olduğu için (zarların yapısındaki fosfolipidlerden daha katı), daha yüksek kolesterol içeriğine sahip zarlar daha katı ve dolgulu olma eğilimindeyken, daha az kolesterolü olanlar daha sıvı olmaktadır. Ayrıca kolesterol, endositoz gibi diğer zar süreçlerinde de önemlidir. Kolesterol; safra asitleri, D vitamini ve çeşitli steroid hormonları gibi çeşitli bileşiklerin biyosentezinde öncü görev görür [188].

Kolesterol, özellikle kardiyovasküler hastalıklarla ilişkisi nedeniyle sağlık ve beslenme camiasında kötü bir üne kavuşmuştur. Dünya sağlık örgütü (WHO), 2030 yılına kadar kardiyovasküler hastalıkların dünyada yaklaşık 23,6 milyon insanı etkileyen önemli bir ölüm nedeni olacağını öngörmektedir. Serebrovasküler hastalıklar gibi çeşitli kalp rahatsızlıkları ile ilişkisine rağmen, kolesterol yaşam için elzemdir ve kaçınılması gereken kötü bir bileşik olarak algılanmamalıdır [189].

Kolesterol bir lipit olduğu için su bazlı olan kan dolaşımında çözülemez. Bu sorunu çözmek için kolesterol ve diğer yağlar dolaşımında lipoproteinler adı verilen protein kaplı moleküler yapılar ile taşınır. Kolesterol ve lipoprotein birleşmesinde kullanılan proteinler apolipoproteinler olarak bilinir. Lipoprotein içindeki protein miktarının lipidlere (kolesterol ve diğerleri) oranı yüksek olduğunda, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) veya halk arasında iyi kolesterol olarak adlandırılır. Öte yandan bu oran küçük olduğunda, yani daha yüksek bir lipid içeriği olduğu zaman, buna düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) veya halk arasında kötü kolesterol denir. Yüksek kolesterol seviyeleri özellikle, kandaki LDL kolesterol (LDL-C) konsantrasyonu yüksek ve HDL kolesterol (HDL-C) konsantrasyonu düşük olduğunda tehlikelidir. Yüksek LDL-C seviyeleri, hem iskemik kalp hastalığının hem de serebrovasküler hastalıkların ana nedenlerinden biri olan ateroskleroza yol açabilir [190,191].

Vücudumuzda bulunan tüm kolesterol, iki farklı kaynaktan ortaya çıkar: Hücrelerimizde sentezlenebilir veya belirli besinlerin tüketilmesi yoluyla elde edilebilir.

Kolesterolün diyet yoluyla alımı, sentezinin ve emiliminin düzenlenmesini etkiler. Az miktarda kolesterol tüketilmesi emilim ve sentezini artırırken diyetle alım düzeyi yüksek ise atılım hızı artacak ve sentez oranı düşecektir. Kolesterol sentezindeki ilk adım, asetattan mevalonat oluşumudur. Tiyolaz enzimi ve HMG-CoA redüktaz aktivileri ile oluşan mevalonat daha sonra aktive edilmiş izoprene dönüştürülür. Bir dizi ardışık aktive edilmiş izopren yoğunlaşmasının ardından, 30 karbonlu bir molekül olan skualen oluşur. Skualen, tüm steroidlerin biyokimyasal öncüsüdür. Kolesterol oluşturmak için skualen, başlangıçta dört halkalı bir bileşik olan lanosterole dönüştürülür ve birkaç ardışık reaksiyondan sonra nihayet kolesterol biyosentezi tamamlanır [192].

2.2.2 Serum lipid hedefleri ve farmakolojik olmayan tedavi yaklaşımları

Tüm yetişkinlerde en az 5 yılda bir açlık veya tokluk lipoprotein profili ölçülmelidir. LDL-C <100 mg / dl (~ 2.5 mmol / l) seviyeleri, düşük koroner kalp hastalığı riski ile ilişkilidir. Bu değer, kardiyovasküler hastalık veya diğer risk faktörlerinin yokluğunda optimal değer olarak kabul edilir. Şu sonuç olarak mevcut kılavuzlar, koroner kalp hastalığı için düşük ve orta derecede riskli hastalarda <115 mg / dl (~ 3.0 mmol / l) LDL-K seviyelerine ulaşılmasını önermektedir. LDL-C tedavi hedefi, yüksek risk altındaki hastalar için <100 mg / dl (~ 2.6 mmol / l) ve çok yüksek risk altındaki hastalar için <70 mg / dl (~ 1.8 mmol / l) 'dir. Yüksek riskli kişiler; geçici iskemik atak, iskemik inme, aterosklerotik periferik arter hastalığı, sklerotik hastalıklar ve aterosklerotik kardiyovasküler hastalık gibi hastalıklara sahip olan veya daha önceden bu hastalıklara ait geçmişi olan bireyleri içerir. Yüksek riskli olduğu düşünülen diğer hasta popülasyonları arasında diabetes mellitus, kronik böbrek hastalığı (evre ≥ 3) ve ailesel hiperkolesterolemisi gibi çok yüksek düzeyde bireysel risk faktörleri olan hastalar da bulunmaktadır [193,194,195].

Optimal veya optimale yakın olan, sınırda olan ve yüksek risk taşıyan serum lipid konsantrasyonları Tablo 2.2'de gösterilmektedir [196].

Tablo 2.2: Optimal veya optimale yakın olan, sınırdaki olan ve yüksek risk taşıyan serum lipid konsantrasyonları [196].

Lipid	Optimal / optimale yakın serum lipid konsantrasyonları	Sınırdaki serum lipid konsantrasyonları	Yüksek risk taşıyan serum lipid konsantrasyonları
TC, mg/dl	<200	200-239	≥240
HDL-C, mg/dl	≥60 (negatif risk faktörü)	40-59 (erkek) 50-59 (kadın)	<40 erkek <50 kadın ^b
LDL-C, mg/dl	<100 optimal (100-129 optimale yakın) <150	130-159	160-189 yüksek ≥190 çok yüksek
TG^a, mg/dl	<150	150-199	200-499 yüksek ≥500 çok yüksek
Apo B, mg/dl	<90 (koroner arter hastalığı riski altında olanlar) <80 (koroner arter hastalığı olanlar veya diyabet artı ≥1 ek risk faktörü)		

Kısaltmalar: apo, apolipoprotein; HDL-C, yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol; LDL-C, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol; TC, toplam kolesterol; TG, trigliseritler.
^a Hem sınırdaki hem de yüksek riskli değerler, ailesel kombine dislipidemi veya diyabetik dislipidemi gösterir; >1000 değerler, pankreatit için yüksek bir risk olduğunu gösterir.
^b Kadınlarda yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterolün orta derecede düşmesi, insülin direnci sendromunun göstergesi olabilir.

Hiperkolesterolemi şu anda beslenme ve farmasötik terapilerin bir kombinasyonu ile tedavi edilmektedir. Genellikle, toplam kolesterol ve LDL-C seviyelerini istenen seviyeye düşürmek için birden fazla farmasötik ajan ve beslenme tedavisi gereklidir. Safra asidi sekestratları, niasin ve statinler gibi ilaçlar genellikle hiperkolesterolemi ve ateroskleroza tedavi etmek için kullanılır. Bununla birlikte, bu bileşiklerin birkaçının uygulaması hastaların yaşayabileceği çok sayıda yan etki ile sınırlı olmaktadır. Örneğin Avrupa Ateroskleroz Derneği (EAS) konsensüs belgesine göre, bir dizi gözlemsel çalışma statinlerle ilişkili, özellikle kas-iskelet ve gastrointestinal bozuklukları gibi olumsuz yan etkiler bildirmiştir. Bu nedenle, kolesterol seviyelerini düşüren terapötik maddelere olan ihtiyaç hala mevcuttur [197,198,199].

Farmakolojik olmayan tedavinin her zaman lipid düşürücü tedaviye eşlik etmesi gerekmektedir. Hiperkolesterolemi için uygulanması gereken yaşam tarzı değişiklikleri; doymuş yağ oranı düşük bir diyeti (günde toplam enerjinin < % 7 doymuş yağ, <% 1 trans yağ ve <300 mg kolesterol), orta veya yüksek yoğunluklu fiziksel aktiviteyi (≥

150 dakika / hafta) ve aşırı kilolu veya obez kişilerde kilo kaybını (vücut ağırlığının % 5-10'u) içerir. Ayrıca aktif veya pasif tütün içiciliğinden de kaçınılmalıdır [200,201,202].

Sağlıklı beslenme düzeninin önemli ölçüde azalmış kardiyovasküler hastalık risk faktörü ile ilişkili olduğunu belgelemiştir. Bu sebeple tek bir besine veya yiyeceğe odaklanmak yerine, bireyler genel diyetlerini iyileştirmeyi hedeflemelidir. Amerikan Kalp Derneği (AHA) yüksek oranda meyve, sebze, tam tahıllar, az yağlı süt ürünleri, kümes hayvanları, balık ve kuruyemiş içeren bir diyet önermektedir. Aynı zamanda kırmızı et ve şekerli yiyecek ve içecek tüketiminin sınırlandırılmasını tavsiye eder. "Hipertansiyonu Durdurmak için Diyet Yaklaşımları" (DASH) ve "Akdeniz Diyeti" dahil birçok diyet modeli bu önerilere uymaktadır [203,204,205].

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA), çoklu doymamış omega-3 yağ asitlerinden dokosaheksanoik asit (DHA) ve eikosapentaenoik asitin (EPA), en az 2 g / gün alımının normal kan TG seviyelerini muhafaza etmeyi sağladığını söylemektedir. AHA ise serum TG seviyelerini %25–30 oranında düşürmek için günde 2 ila 4 g EPA / DHA alınması gerektiğini belirtmiştir. Çoklu doymamış omega-3 yağ asitleri, hem hayvanlarda (balık, kril, yumurta, kalamar) hem de bitkisel (yosun, keten tohumu, ceviz, yenilebilir tohumlar, adaçayı tohumu) kaynaklarda mevcuttur. Nispeten sık görülen ağızda bıraktığı balık tadına ve ara sıra karın rahatsızlığına rağmen, tüm kılavuzlar çoklu doymamış omega-3 yağ asitlerinin yüksek güvenliği konusunda hemfikirdir [206].

Probiyotiklerin de kolesterol metabolizması üzerine etkileri mevcuttur. Mevcut verilere dayanarak, kolesterol üzerine en iyi sonuçların Lactobacillus suşları ile elde edildiği görülmektedir. Dahası, Lactobacillus türü bakteriler laktoz intoleransının hafifletilmesi, bazı diyare türlerinin tedavi edilmesi, immün sistemin kuvvetlendirilmesi, kanserin önlenmesi ve kolesterol seviyelerinin düşürülmesi gibi özelliklere sahiptirler. Diyet yoluyla alınan kolesterolün emilimi temel olarak ince bağırsakta gerçekleşir bu sebeple bağırsakta kolesterol azaltıcı yeteneğe sahip belirli Lactobacillus türlerinin serum kolesterol seviyelerinin kontrol edilmesinde etkili olabileceği bildirilmektedir. Laktik asit bakterileri tarafından serum kolesterol konsantrasyonlarının azaltılması üzerine yapılan çalışmaların olumlu sonuçları neticesinde probiyotiklerin bu alanda kullanılmasına ilişkin ilgi gün geçtikçe artmaktadır. Ayrıca probiyotik tüketiminin güvenli olduğu ve ciddi yan etkiler içermediği de kabul edilmektedir [207,208,209].

Yaşam tarzı değişikliklerinin LDL-C azalmaları üzerine etkisi çoğunlukla %5 ila %15 aralığındadır, bu oranlar uzun bir süre sürdürülürse anlamlı kardiyovasküler hastalık riski azalması ile sonuçlanabilir. Aterojenik kolesterol hedeflerine ulaşmak için yeterli ilerleme kaydedilmezse, lipid düşürücü nutrasötiklerin tek başına veya farmakolojik terapi ile kombinasyon halinde kullanılması dikkate alınabilir [210,211].

2.2.3 Hipokolesterolemik etkili tıbbi ve aromatik bitkiler ve nütrasötikler

Nutrasötikler ve fonksiyonel gıdalar, özellikle kan kolesterol seviyesi orta derecede yüksek olan hiperkolesterolemik kişilerde plazma total kolesterol (TC), LDL-C ve trigliseriti (TG) düşürmek için olası destekleyici tedaviler olabileceklerini göstermiştir. Özellikle, nispeten oldukça fazla epidemiyolojik ve klinik veri, statinlere tolerans göstermeyen hastalarda kanıtlanmış lipid düşürücü etkiye sahip birçok nutrasötik maddenin tolere edilebilirliğini ve güvenliğini desteklemektedir. Ayrıca çok yaşlı hastalar (özellikle 75 yaşın üzerindeki) veya sarkopenili hastalar, ve halihazırda statin ve / veya ezetimib ile tedavi edilen ve hedeflenen LDL-C düzeyine ulaşmamış hastalar için de nütrasötik kullanımı endike gibi görünmektedir [212,213,214,215,216].

Bitki sterolleri ve stanolleri: Hemen hemen tüm bitki kaynaklarında (özellikle bitkisel yağlar, sert kabuklu yemişler, tohumlar ve baklagiller) bulunan bitki sterolleri yapısal olarak kolesterole benzer. Bitkisel kaynaklar ayrıca sterollerin doymuş türevleri olan β -sitostanol, kampestanol ve stigmastanol gibi bitki stanolleri içerir. Bitki sterolleri ve stanolleri eksojen kolesterolün intestinal emilimini azaltarak LDL-K'yı düşürür. Ayrıca asil-CoA: kolesterol O-asiltransferaz (ACAT) enzimini inhibe ederek emilen kolesterol miktarını %30'dan % 50'lere kadar düşürmektedir. Fakat bitki sterolleri ve stanolleri son derece düşük biyoyararlanıma sahiptir. Bitki sterolleri ve stanolleri için en iyi taşıyıcılarından ikisinin, yüksek tekli doymamış yağ asidi ve omega-3 içeriği nedeniyle kolza tohumu veya kanola yağı olduğu gösterilmiştir [217,218,219,220].

Bitki sterolleri ve stanollerinin lipid düşürücü etkisi doza bağlıdır. Günde 3 g'a kadar olan dozlarda, stanoller ve steroller arasında kolesterolemi üzerinde etkinlik açısından hiçbir fark yoktur. LDL kolesterolü düşürmeyi sürdürmek için bireylerin, tıpkı lipid düşürücü ilaçları kullandıkları gibi bunları da günlük olarak tüketmeleri gerekir. Genel olarak günde yaklaşık 2 g bitki stanol / sterol alımlarında maksimum etkiler gözlenmiştir. Sonuç olarak, bitki sterolleri ve stanolleri hiperkolesterolemili hastalarda

ortalama %8-12 oranında LDL-C azalmasını sağlar. Ayrıca düzenli kullanım açısından yüksek güvenlik profili göstermişlerdir [219,220,221].

Çözünür lifler: Diyet lifleri, gastrointestinal sistemde enzimatik sindirime dirençli çeşitli bitkisel kökenli maddeler için yaygın olarak kullanılan bir terimdir. Son birkaç yıldır bazı çalışmalar pektin, guar zambkı, müsilaj, yulaf ve pisilyum gibi çözünür liflerin lipid düşürücü özelliklerine odaklanmış ve TC ve LDL-C’da bir azalma olduğunu göstermiştir. Çözünür liflerle elde edilen kolesterol azalması verileri değişkendir ve lif tipine, uygulanan dozlara, çalışmanın boyutuna ve uygulanan farklı diyet tipine bağlı olmakla beraber bu değişim genellikle yulaf bazlı lifler ve pisilyum için %3-17, pektin için % 5-16 ve guar zambkı için % 4-17 oranlarındadır. **β-glukan** farklı bitki hücrelerinin, bakterilerin, alglerin, mantarların ve mayaların duvarlarından türetilen çözünür bir lifdir. β-glukan yüksek viskoziteye sahiptir ve bu da lipid düşürücü etki sağlar. Hiperkolesterolemik bir popülasyon ile yapılan bir meta analizde, β-glukan tüketiminin LDL-C’yı önemli ölçüde düşürdüğü bununla birlikte HDL-C ve TG’de önemli bir değişim oluşturmadığı görülmüştür. EFSA’ya göre bu etkinin elde edilmesi için günde en az 3 g β-glukan tüketimi gereklidir. Literatürdeki çalışmalarda herhangi bir yan etki bildirilmemiştir. **Glucomannan**, *Amorphophallus konjac*’tan elde edilen ve genellikle konjak kökü olarak da adlandırılan bir çözünür lifdir. Yapısal olarak glukomannan, 1,4-glikozidik bağlarla bağlanan glukoz ve mannozdan oluşan bir polisakkarittir. Diğer liflerden farklı olarak glukomannan safra asitlerini bağlayarak etki etmez, ancak jejunumda kolesterol emilimini ve ileumdaki safra asitlerinin emilimini azalttığı ayrıca apolipoprotein B (ApoB) ve plazma LDL-C seviyelerinde iyileşmeler sağladığı görülmektedir. Dahası, kolesterolü safra asitlerine dönüştüren bir enzim olan 7α-hidroksilazın aktivitesini de artırır. Genel olarak, glucomannan tüketimi ciddi yan etkilere neden olmaz; çoğu yan etkiler ishal, şişkinlik ve abdominal rahatsızlık gibi gastrointestinal sistem ile ilgilidir. Bununla beraber glukomannan belirli ilaçların, özellikle lipofilik ilaçların, E vitamininin, kalsiyum ve diğer minerallerin emilimini engelleyebilir [222-229].

Kırmızı maya pirinci: Kırmızı maya pirinci, pirinçte (*Oryza sativa*) belirli bir mayanın (genel olarak *Monascus purpureus*, *M. pilosus*, *M. floridanus* veya *M. ruber*) fermentasyonu ile elde edilen bir nutrasötiktir. Kırmızı maya pirinci şeker (% 25-73, özellikle nişasta), proteinler (% 14-31), su (% 2-7), yağlı asitler (% 1-5), pigmentler (rubropunktamin, monokorubramin gibi), steroller, izoflavonlar ve monakolin gibi

poliketidler içerir. Yapısal olarak lovastatine özdeş olan monakolin K (MonK) da dahil olmak üzere çeşitli monakolin türleri tanımlanmıştır. Kırmızı maya pirincinin ana kolesterol düşürücü etki mekanizması, kolesterol sentezi üzerindeki tersine çevrilebilir inhibitör etkisinden kaynaklanmaktadır. Özellikle orta derecede yüksek kolesterolü olan hastalarda LDL-C üzerindeki etkileri nedeniyle kırmızı maya pirinci tüketilmesi önerilebilir. Mevcut kanıtlara dayanarak EFSA, maximum günlük doz olarak 10 mg MonK içeren kırmızı maya pirinci uygulamasını doğrular. Bununla birlikte, Avrupa'daki bazı Ulusal Düzenleyici Kurumlar, son zamanlarda güvenlik amacıyla daha düşük dozlarda MonK kullanılmasını önermişlerdir [230,231,232].

Sarımsak (*Allium sativum*): Sarımsak (*Allium sativum*), birçok sağlık yararı ile bilinen bir besindir. Sarımsakta bulunan en önemli moleküllerden biri allisin'dir (dialil tiyosülfinat). Allisin, sarımsağın lipid düşürücü etki mekanizmasından sorumlu kimyasal maddelerden biri olabilir. HMG-CoA redüktaz, skualen-monoksilaz ve asetil-CoA sentetaz enzimlerinin bir inhibitörü olmasının yanı sıra allisinin, kolesterolün endojen sentezi için mevcut olan asetil-CoA'yı düşürmesi de mümkündür. 6 g / gün dozunda tüketilen sarımsak (allisin yüzdesine bağlı olarak) hafif kolesterolünün tedavisinde yararlı olabilir. Sarımsağın yan etkileri çoğu gastrointestinal sistem üzerinde olmakla beraber genellikle minimaldir [233,234].

Bergamot (*Citrus bergamia R.*): Bergamot meyvesinin bileşimi diğer turunçgillerden farklıdır ve özellikle flavonoidler (neohesperidin, neohesperidin, naringin, rutin, neodesmin, rhoifolin, poncirin gibi) bakımından zengindir. Bergamot meyvesinin kabuk ekstratı kolesterol esterlerinin oluşumunu azaltarak ve kolesterolün kanda taşınmasını sınırlayarak statin görevi görür. Bergamot meyvesi ayrıca LDL-C'nin oksidasyonunu inhibe eder. Ayrıca bergamot meyvesi, kolesterolün fekal atılımını artırması ve bağırsak emilimini azaltması da mümkündür. Bergamot ile yürütülen klinik çalışmalar, 500 ile 1500 mg / gün arasındaki dozajlarda bergamotun, hiçbir yan etki tespit edilmeden iyi bir güvenlik profili olduğunu göstermiştir [235,236].

Berberin: Berberin; *Coptis* (*Coptis chinensis*, *Coptis japonica*), *Hydrastis* (*Hydrastis canadensis*) ve *Berberis* (*Berberis aristata*, *Berberis vulgaris*, *Berberis croatica*) dahil olmak üzere çeşitli bitki türlerinin kökünde, rizomunda, gövdesinde, meyvesinde ve kabuğunda bulunan dördü bir benzilzokinolin alkaloididir. Hepatik LDL reseptörünün (LDLR) ekspresyonunun yanı sıra son çalışmalar berberinin; kolesterolün bağırsaktan emilimini azalttığını, fekal atılımını arttırdığını ve hepatic kolesterol

döngüsünü desteklediğini vurgulamıştır. Fakat berberinin biyoyararlanımı % 1'den düşüktür. 500 ve 1500 mg arasında değişen dozlarda berberin kullanımının lipid düşürmede etkili olduğu ve nispeten güvenli olduğu kanıtlanmıştır. Statin benzeri etki mekanizmasına sahip nutrasötiklerle karşılaştırıldığında berberin, insülin direnci üzerindeki kısmi olumlu etkisine bağlı olarak trigliserideminin azalmasında daha büyük bir etkiye sahiptir. Bu nedenle, özellikle statinlere toleransı olmayan ve hafif hiperkolesterolemili hastalarda kullanımı önerilmektedir. Berberinin, çoğunlukla gastrointestinal sistemde olan (ishal, kabızlık, abdominal distansiyon) hafif ila orta şiddette yan etkileri bulunmaktadır [237,238,239].

Yeşil çay: Yeşil çay, özellikle kardiyoprotektif etkisi iyi bilinen bileşikler olan polifenoller (kuru ağırlığın % 35'ine kadar) gibi antioksidanlar açısından zengindir. Yeşil çaydaki polifenollerin ana fraksiyonu, yapısal olarak flavan-3-ol olan kateşinlerdir. Bunlardan en önemlisi, antioksidan ve kardiyoprotektif özellikleriyle bilinen epigallokateşin-3-gallattır. Polifenollerden kaynaklanan antioksidan etkilerin ve lipid peroksidasyonunun azaltılmasının ötesinde, yeşil çayın kolesterol emilimini etkilemesi de olasıdır. Yeşil çayın lipid düşürücü etkilerinin özellikle uzun süreli araştırmalarda daha fazla olduğu bulunmuştur. Genellikle yeşil çay tüketimi iyi tolere edilir; ancak bazı durumlarda döküntü, kan basıncında geçici yükselme ve hafif gastrointestinal bozukluklar meydana gelebilir. Ayrıca, yüksek dozda yeşil çay tüketimi Fe ve folat eksikliğine neden olabilir [240,241,242].

Soya ve acı bakla proteinleri: Klinik çalışmalar, soya fasülyesi ve acı bakla (*Lupinus spp.*) proteinlerinin lipid profili üzerindeki olumlu etkilerini desteklemektedir. Biyoaktif peptidler dışında, bu besinlerdeki izoflavonlar da bu etkiye katkıda bulunabilir. Sarı acı bakla (*Lupinus luteus*) proteinlerden (% 30-35), liflerden (% 30), karbonhidratlardan (% 3-10) ve yağdan (% 6, % 81'i doymamış) oluşur; ek olarak, hem makro elementler (fosfor, kalsiyum ve magnezyum dahil) hem de mikro elementler (çinko, bakır, krom ve kobalt dahil) içerir. Acı baklayı diğer baklagillerden ayıran bir özellik, fitoöstrojenlerin olmaması, düşük sodyum içeriği ve düşük glisemik indeksidir. Yapılan araştırmalar ile acı baklanın, LDL-C üzerinde %12'lik bir azalma sağladığı görülmüştür. Sonuç olarak, soya fasülyesi ve acı bakla tüketimi özellikle orta kolesterol düzeyleri olan kişilerde, hiperkolesteroleminin tedavisinde potansiyel fakat nispeten zayıf etkili bir tedaviyi temsil etmektedir. Öte yandan yüksek miktarda izoflavon içeren soya ürününün kronik kullanımı tiroid fonksiyonunu ve doğurganlığı etkileyebilir.

Ayrıca soya fasulyesi ve türevleri kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), Cu, Fe ve Zn gibi minerallerin emilimini azaltan yüksek miktarda fitik asit içerir. Acı bakla ise hiçbir ciddi yan etkiye neden olmadan iyi bir güvenlik profili göstermektedir [243,244,245,246].

Enginar: Enginarın (*Cynara scolymus*, *Cynara cardunculus*) sağlık yararları antioksidan kapasitesine bağlanabilir. Klinik araştırmalara göre, enginar yaprağı ekstresinin potansiyel hipolipidemik ve hepatoprotektif etkileri vardır. Enginar yaprak ekstresinin lipid düşürücü mekanizmaları esasen bileşimindeki luteolin'in HMG-CoA redüktaz enzimi ile etkileşimi ve sterol düzenleyici eleman bağlayıcı proteinlerin (SREBP'ler) karaciğerindeki düzenlenme yollarına olan etkisinden kaynaklanmaktadır. Orta derecede hiperlipidemik ve hiperkolesterolemik hastalarda 2700 mg/gün alınan enginar yaprağı ekstresi ile yapılan bir randomize kontrol deneyi sonucunda LDL-C'da % 11.5 ve TG'de % 20.1 oranında anlamlı bir azalma görülmüştür. Çalışmalarda enginar yaprağı ekstresinin, kısa-orta vadede iyi tolere edilebildiği ve güvenliği olduğu gösterilmiş, bu durumu doğrulayan ciddi yan bir etki tespit edilmemiştir [247,248,249].

Antosiyaninler: Antosiyaninler meyvelerde ve sebzelerde bulunan koyu renkli flavonoid pigmentlerdir. Antioksidan, antienflamatuvar ve lipid düşürücü biyolojik aktiviteler göstermektedirler. Diyabetik hastalarda 320 mg/gün antosiyanin tüketimi ile yapılan bir çalışmada, LDL-C'yı % 7,9, TG'yi % 23 ve ApoB'yi % 16,5 oranında azalttığı ve plasebo ile karşılaştırıldığında %19,4 oranında artmış HDL-C sonuçları elde edilmiştir. Antosiyaninlerin tüketimi 640 mg / gün dozajlarından az olduğunda yan etkiler olmaksızın iyi tolere edilir [250,251,252].

Silimarın (*Silybum marianum*): Silimarın, suda çözünürlüğü az olan dört polifenolik molekül silybin, izosilybin, silydianin ve silihrisin'in flavonolignans kompleksidir. Antioksidan ve hepatoprotektif özellikleri ve son yıllarda hiperlipoproteinemiler için koruyucu olarak bilinmektedir. Silimarının lipid düşürücü ajan olarak potansiyel etkilerinin HMG-CoA redüktaz enzimi üzerindeki inhibe edici etkisinden, karaciğer tarafından LDL alımının artırılmasından ve hepatik kolesterol sentezinde azalma sağlanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Genel olarak **resveratrol** ve **Hibiscus sabdariffa L.** (ekşi çay)'nin de kolesterol metabolizmasını iyileştirdiği belirtilirken lipid düşürücü etkileri mevcut verilerle doğrulanmamıştır [253-256].

Tıbbi ve aromatik bitkilerin ve/veya etkili bileşiklerin ve nüttrasötiklerin hipokolesterolemik mekanizması Tablo 2.3'te gösterilmektedir.

Farklı lipid düşürücü aktivitelere sahip akılcı nutrasötik kombinasyonları, özellikle uygun bir yaşam tarzı ile ilişkilendirildiğinde, hafif veya yüksek hiperkolesterolemili bireylerde ilaç tedavisine bir alternatif sağlamaktadır. Özellikle düşük dozlar ile diğer nutrasötiklerle kombinasyon halinde kullanım yan etki riskinin azaltılmasına ve etkinliğin iyileştirilmesine olanak sağlar. Özetle farklı etki mekanizmalara sahip doğal ürünler; lipidlerin bağırsaktan emilimine etki ederek ve / veya bunların atılımını artırarak, hepatik kolesterol alımını arttırarak, LDL-C atılımını indükleyerek, HMG-CoA redüktaz enzimini inhibe ederek ve kolesterolün hepatik sentezini sınırlandırarak potansiyel bir sinerjetik etki elde etmek için kullanılabilir [257,258,259].

Tablo 2.3: Tıbbi ve aromatik bitkilerin ve/veya etkili bileşiklerin ve nüttrasötiklerin hipokolesterolemik mekanizması.

Bitki / Etkili Bileşik ve Nüttrasötik	Hipokolesterolemik Mekanizma
Bitki steroller ve stanoller	1) Eksojen kolesterolün intestinal emilimini azaltarak LDL-C'yı azaltma 2) Asil-Koenzim A: kolesterol O-asiltansferaz (ACAT) enzimini inhibe ederek emilen kolesterol miktarını azaltma
β -glukan	LDL-C'da önemli ölçüde azalma ile HDL-C ve TG'de önemli bir değişim oluşturmama
Glucomannan	1) Jejunumda kolesterol emilimini azaltma 2) İleumda safra asitlerinin emilimini azaltma 3) Plazma apolipoprotein B (ApoB) ve LDL-C seviyelerini azaltma 4) 7 α -hidroksilaz enziminin aktivitesini artırma
Diğer çözünür lifler (pektin, guar zıncığı, müsülaj, yulaf, pisilyum)	TC ve LDL-C'da azalma
Kırmızı maya pirinci	Kolesterol sentezi üzerinde tersine çevrilebilir inhibitör etki
Sarımsak ve Allisin	Allisin HMG-CoA redüktaz, skualen-monoksilaz ve asetil-CoA sentetaz enzimlerinin inhibitörü ve asetil-CoA'yı azaltır.

Tablo 2.3 (devam): Tıbbi ve aromatik bitkilerin ve/veya etkili bileşiklerin ve nütrosötiklerin hipokolesterolemik mekanizması.

Bitki / Etkili Bileşik ve Nütrosötik	Hipokolesterolemik Mekanizma
Bergamot	1) Bergamot meyvesinin kabuk ekstratı kolesterol esterlerinin oluşumunu azaltır ve kolesterolün kanda taşınmasını sınırlandırır. 2) Bergamot meyvesi kolesterolün fekal atılımını artırır ve bağırsak emilimini azaltır.
Berberin	1) Hepatik LDL reseptörünün (LDLR) ekspresyonu 2) Kolesterolün bağırsak emilimini azaltma ve fekal atılımını artırma 3) Hepatik kolesterol döngüsünü destekleme 4) Trigliseridemi azalma
Yeşil çay	Olası kolesterol emilimi etkisi
Acı bakla	LDL-C'da azalma
Enginar yaprak ekstresi	1) HMG-CoA redüktaz enzimi ile etkileşim 2) Sterol düzenleyici eleman bağlayıcı proteinlerin (SREBP'ler) düzenleme yollarına olan etki 3) LDL-C ve TG'de azalma
Antosiyaninler	1) LDL-C, TG ve ApoB'de azalma 2) HDL-C seviyelerinde artma
Silimarın	1) HMG-CoA redüktaz enzimi üzerinde inhibe edici etki 2) Karaciğer tarafından LDL alımının artırılması 3) Hepatik kolesterol sentezinde azalma

2.3 Bentonit

2.3.1 Bentonit ve sağlık faydaları

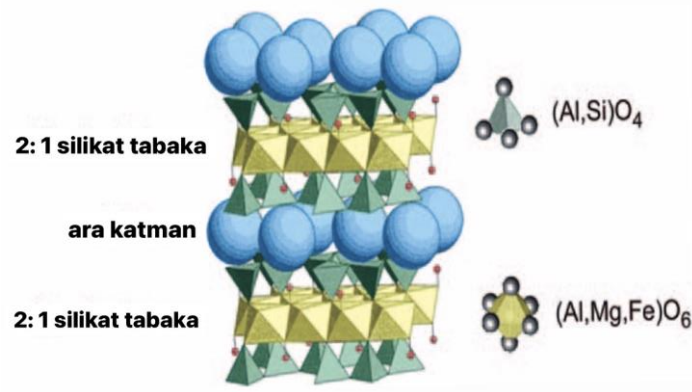
Bentonit, doğada bulunan önemli bir kil kayasıdır. Esas olarak montmorillonit mineralinden oluşan yüksek koloidal ve plastik killerden oluşan bir kayadır. Dolayısıyla bentonit, aynı zamanda önemli bir montmorillonit kaynağıdır. Bentonit,

montmorillonite ek olarak bir miktar kristalin kuvars, kristobalit ve feldispat içerebilir. Bentonit, yaklaşık 1890 yılında ABD'de keşfedilmiştir ve "bentonit" adı, bulunduğu bölge olan ABD'nin doğu Wyoming Rock Creek bölgesindeki Fort Benton ile ilişkilendirilmiştir [260].

Montmorillonitin doğal rezervleri dünyanın çeşitli yerlerinde bulunmaktadır. Başlıca montmorillonit yatakları arasında Himalayalar (Çin), Urallar (Pakistan), Kafkasyalar (Gürcistan, Rusya), And Dağları (Peru, Ekvador) ve Wasatch (UT, ABD) bulunmaktadır. Türkiye, dünya bentonit rezervleri açısından ilk on ülke arasında yer almaktadır. Türkiye'deki önemli bentonit yatakları Ordu-Ünye, Tokat-Reşadiye, Eskişehir-Mihalıççık, Ankara-Kalecik ve Edirne-Enez'dir [261,262].

Bentonit smektit minerallerinin baskın olduğu kayadır. Smektit; sodyum (Na), kalsiyum (Ca), Mg, Fe ve lityum (Li)-Al silikatlardan oluşan bir gruba verilen mineral adıdır. Smektit grubundaki en yaygın kullanılan mineral isimleri Na-montmorillonit, Ca-montmorillonit, saponit (Mg), nontronit (Fe) ve hektorittir (Li). Bentonitler, genellikle Na-montmorillonit veya Ca-montmorillonit olmakla beraber çok daha az ölçüde saponit ve hektorit içerir [263].

Smektit grubundaki minerallerin ana yapısal özelliği, tek bir merkezi (Al, Mg, Fe) oktahedral tabakanın iki tetrahedra tabaka (Al, Si) ile birleştirilmesidir. (Şekil 2.5) Bu yapıya 2: 1 tabakalı silikat adı verilir. 4 oksijene (tetrahedra) bağlı iki katyon tabakası, bir silikat tabakası oluşturmak için 6 oksijene (oktahedra) bağlanır. Bu tabakalar, aralarında su ve ara tabaka katyonları bulunan istifler halinde zayıf bir şekilde bağlanmıştır. Şekil 2.5'teki büyük mavi küreler hidratlanmış katyonları ve küçük kırmızı küreler hidrojen iyonlarını temsil etmektedir. Katyonların 2: 1 katmanlardaki izomorf ikamesi, kalıcı negatif yüklü yüzeyler oluşturur ve değişken yüzey özellikleri üretir. Hidratlı iyonlar ve moleküller yüzeye çekilebilir ve dış solüsyonların kimyasal bileşenleri ile yüzey özellikleri kolayca değiştirilebilir. Mineral yapının ara katman bölgesindeki iyonlar genellikle yüzeydekilere göre daha az hareketlidir. 2: 1 katmanın kenarındaki kopuk bağlar, temas halindeki sıvının pH'ına bağlı olarak protonlanabilir veya hidroksele edilebilir. Ayrıca alüminosilikat tabakalar tek tek tabakalar halinde istiflenebilir veya dağıtılabılır ve yüzey alanı teorik sınır olan 800 m²'ye yaklaşabilir [264,265].



Şekil 2.5 : Bentonitte olduğu gibi 2: 1 tabakalı genişleyebilir kilin şematik yapısı [265].

Montmorillonitin kimyasal formülündeki değişiklik, değiştirilebilir yapısından kaynaklanmaktadır. Yapısal olarak var olan pozitif yük eksikliği, birim katmanlar arasında absorbe edilen değiştirilebilir katyonlar tarafından dengelenir ve bu nedenle, değiştirilebilir katyon ağırlıklı olarak Na ise, Na-montmorillonit veya ağırlıklı olarak Ca ise oluşan bu spesifik mineral Ca-montmorillonit olarak adlandırılır. Hem Na hem de Ca iyonları bu ara katman konumunda hidratlanır. Şişen tip olarak adlandırılan Na-bentonit; şişme ve uzun süre su dispersiyonunda asılı kalma kabiliyetinin eşlik ettiği geniş su emme özelliklerine sahiptir. Şişmeyen tip veya Ca-bentonit ise ıslanıldığında şişme özelliği göstermeyen ve ince su dispersiyonlarında asılı kalmayan bentonitlerdir. Sonuç olarak kimyasal bileşim değişkenliğinden kaynaklı olarak kesin teorik formül doğada asla görülmemekte ve bu durum farklı özelliklere sahip bentonitlerin var olmasını sağlamaktadır [265,266].

Bentonitlerin 25'ten fazla farklı endüstri alanında uygulamaları vardır. Örneğin asitle aktifleşen bentonitler; ağartıcı yağlarda veya kağıt üretiminde kullanılabilir. Dökümhane, peletleme, sondaj, gıda pazarları, tarım, medikal pazarlar, deterjanlar, boyalar, kedi kumu üretimi gibi bildirilen diğer kullanım ve uygulama alanları vardır. Ayrıca yem endüstrisinde, etkinlikleri ve düşük maliyetleri sebebiyle genellikle yem katkı maddesi olarak bentonitler ve montmorillonitler kullanılmaktadır. Bentonitin, bu çok çeşitli endüstriyel alanlarda kullanımı, yapısı ve kimyasal bileşimi ile yakından ilgilidir. Tanecik boyutu, tanecik şekli, yüzeyel kimya bileşimi, yüzey alanı, renk, aşındırma, viskosite, plastisite, absorpsiyon, adsorpsiyon vb. özellikler çeşitli endüstriyel alanlarda kullanımını önemli ölçüde etkilemektedir. Kil minerallerinin temel fiziksel özellikleri arasında suya karşı davranışları (şişme özelliği), plastisite veya viskosite, katyon değiştirme kapasiteleri ve ısı özellikleri yer almaktadır [266-269].

Katyon değişim kapasitesi, kil minerallerinin katyonları (genellikle Al^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Na^+ , K^+ , H^+) tutma kapasitesidir ve negatif yüklü yüzey tarafından tutulan pozitif yüklü iyonların miktarı olarak tanımlanır. Bu adsorbe edilmiş katyonlar kile önemli düzeyde elektriksel iletkenlik kazandırır. Parçacık boyu küçüldükçe çok sayıda katyonun adsorbe edilebildiği, önemli ölçüde daha yüksek bir yüzey alanı oluşmaktadır. Montmorillonit iyi bir **ısı yalıtkanadır** ve herhangi bir maddede katkı maddesi olarak kullanılarak ısıya dayanıklı etkiler elde edilebilir. **Su emilimi**, doğal kil partiküllerinin önemli bir özelliğidir. Kil parçacıkları, ortamdaki nem içeriğindeki değişikliklere yanıt olarak suyu emebilir veya kaybedebilir; su emildiğinde, istiflenmiş silikat tabakaları arasındaki boşlukları doldurur. Montmorillonitin su ile etkileşimi faydalı etkiler ortaya çıkarır. Su molekülleri montmorillonitte şişmeye neden olur ve montmorillonit içindeki yük lokusunun şişme dinamikleri üzerinde güçlü bir etkisi vardır [270].

Önemli fiziksel ve kimyasal özellikleri, montmorillonitin önemli fonksiyonel kullanımlarını beraberinde getirmektedir. Montmorillonitin önemli fonksiyonel kullanımları arasında sağlık yararları için gıda katkı maddesi olarak kullanımı da yer almaktadır. Bununla birlikte, montmorillonitin tıbbi amaçlar için kullanımı eski Mısırlılar, Aztek öncesi Amargosyalılar, Meksika yerlileri, Güney Amerikalılar ve Kuzey Amerikalılar dahil olmak üzere 200'den fazla kültürde yer almış olabilir. Görünüşe göre doğal bir element olan bentonit, geniş bir hastalık yelpazesinde bir terapi olarak kabul edilecek özelliklere sahiptir. Günümüzde, doğal kil uygulamalarına ek olarak çalışmalar, bentonitin fiziksel ve kimyasal yapılarında yapılan modifikasyonlar yoluyla nano-kil/organofilik kil olarak geliştirilmesine yoğunlaşmaktadır. Montmorillonit, nanokil üretiminde kullanılan temel hammaddedir. Nanokillerdeki artırılmış en-boy oranı ile azaltılmış kütle daha yüksek bir yüzey alanı oluşturmaktadır. Örneğın tipik olarak 1 g ağırlığında olan bir nanokil ürününün 750 m²'yi aşan bir yüzey alanına sahip olduğu bilinmektedir ve bu, dokuz futbol sahasına eşdeğer bir alandır. %98'in üzerinde montmorillonit minerali içeren nanokiller mevcuttur [271,272].

Montmorillonit nanokiller özellikle ilaç taşıyıcı sistemlerde endikedir. Montmorillonit kompoziti, bazal aralığı arttırmak için anyonik, katyonik ve noniyonik yüzey aktif maddeler kullanılarak üretilebilir ve bu da organokilin ilaç yüklemesinde ve ilaç salımında kullanılmasıyla sonuçlanır. Arttırılmış adsorpsiyon kapasitesi, gelişmiş ilaç hapsini ve farmasötik ilaçların sürekli salınmasını sağlar. Bu sayede, özellikle

hidrofobik ilaçların çözünürlüğü, çözünme hızı, adsorpsiyonu ve biyoyararlanımı montmorillonit ile arttırılabilmektedir [273,274].

Bentonit uzun bir süre ishal tedavisi için kullanılmıştır. 1961 yılında oral olarak alınan bentonitin ishalin farklı etken faktörlerine (virüs enfeksiyonu, gıda alerjisi, spastik kolit, mukus kolit ve gıda zehirlenmesi) sahip vakaların % 97'sini tedavi ettiği gösterilmiştir. Özellikle antibakteriyel aktiviteleri nedeniyle montmorillonit killeri, insanlarda ishal tedavisi için ilaç üretmek amacıyla hammadde olarak kullanılmıştır. Son zamanlarda, nanosilikat killerin güçlü bir bakteriyostatik aktiviteye yol açan bakteri yüzeyine yapışmak için yüksek bir bağlanma afinitesi sergilediği gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada montmorillonitin ishali hafifletmek dışında bağırsak mikroflorasını iyileştirmek ve mukozal bariyer bütünlüğünü korumak için de etkili olduğu gösterilmiştir. İrritabl bağırsak sendromu (IBS) olan hastalara bentonit uygulanması, bu sendromun seyrini etkilemektedir. Dahası bentonit, bağırsak florası aktivitesini artırarak besinlerin emilimine yardımcı olabilir. Bu durum kil minerallerinin (montmorillonit ve kaolinit) bağırsak doğal ortamındaki popülasyon artışı kaynaklı mikroorganizma ekolojisi arasındaki ilişkiyi göstermektedir [275,276,277].

Bentonitin antibakteriyel etkilere sahip olduğu bilinmekle beraber ve farklı antibakteriyel özellikler göstermektedirler. Bu antibakteriyel etkiler, kilin bakterilerle fiziksel etkileşiminden (yani hücrenin delinmesi veya parçalanması) ve / veya kimyasal etkileşiminden (yani zehirlenme veya besin yoksunluğu) kaynaklanabilir. Killerin bakterileri fiziksel yollarla öldürme potansiyelleri minerallerin yüzey enerjisine, kristal boyutuna ve yapısına göre değişen çekici ve itici kuvvetler ölçülerek değerlendirilebilir. Özellikle Fe bakımından zengin killerin şiddetli cilt enfeksiyonlarını iyileştirmedeki etkinliği yakın zamanda belgelenmiş ve tıp camiasının dikkatini çekmiştir [278].

Farelerde hiperkreatinineminin oluşturulduğu deneysel bir modelde, montmorillonitin gastrointesstinal kanaldaki kreatinini absorbe ederek ve bağırsaktan atılımını hızlandırarak serum kreatinini düşürdüğü bildirilmiştir. Ayrıca bentonitin, ürenin kan damarından bağırsağa difüzyonunu teşvik ettiği ve bağırsakta üre emilimini engellediği gösterilmiştir. O zaman bentonitin böbrek sağlığı için de faydalı olabileceği anlaşılmaktadır [279,280].

Bentonit uzun süredir deri üzerinde harici olarak kullanılmaktadır. Özellikle bentonit ile deneysel olarak üretilen bir solüsyonun daha önceki tedaviler ile kontrol altına

alınamamış dermatiti olan bireylerin çoğunda kronik el dermatitini iyileştirdiği gösterilmiştir. Ayrıca montmorillonitin, güneş kremleri gibi cilt ürünlerinde optimize işlevsel özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir. Bentonitin deri lezyonları ve ülserlerin iyileşmesinde de etkili olduğu gösterilmiştir. Killer ayrıca cildi temizler, yeniler ve lekelerin iyileşmesine yardımcı olur. Elde edilebilecek bir diğer önemli etki ise diş çürümmesine karşı dirençtir. Diş yapısında mikro-mekanik bir kilit oluşturan bir sıvı reçine kullanılarak diş çürümmesine karşı koruyabilir. Bentonitin kanama ve pıhtılaşma zamanını azalttığı gösterilmiştir, bu nedenle bir kanama ajanı olarak kullanımı diğer sağlık faydaları arasındadır. Dahası safrada bağırsağa aktarılan tiroid hormonunun adsorpsiyonuna bağlı olarak sıçanlarda hipertiroidizmi iyileştirdiği de gösterilmiştir [281-287].

Bentonitin yukarıda bahsedilen yararlı etkilerinin yanı sıra bazı istenmeyen etkileri de bildirilmektedir. Örneğin bazı in vitro çalışmalar bentonitin bazı hücre hatlarında hücre erimesini artırdığını, bazılarında ise etkisi olmadığını göstermiştir. Fakat şimdilerde diyet ile alınan bentonitin güvenliği hayvanlarda ve insanlarda yapılan farklı çalışmalar ile gösterilmiştir. Bentonit insanlarda, vitamin ve minerallerin serum konsantrasyonlarını etkilememektedir. Genel olarak, diğer herhangi bir ilaç gibi, yüksek doz bentonitin bazı yan etkileri olabileceği ve bu nedenle hastalıklarda bu madenin terapötik bir dozunun kullanılması gerektiği unutulmamalıdır [288,289,290].

2.3.2 Bentonitin vücut detoksifikasyon işlevi üzerindeki etkisi

Kalsiyum montmorillonit, canlı organizmalarda enzim üretimini iyileştirebilen mineraller içeren "canlı kil" olarak da bilinir. Bu aktif doğası bentonit kilinin detoksifiye edici bir ajan görevi gördüğünü göstermektedir. Bu özellik kilin, negatif yüklü toksinlerin emilmesine yol açan polikatyonik doğasına atfedilir. Katyon değişimi kapasitesi sayesinde bakteriler tarafından kullanılabilen toksinleri veya besinleri (örneğin Ca, Fe) alabilir veya serbest bırakabilir. Ayrıca montmorillonitten üretilen bir nanosilikat kil ile yapılan bir çalışma, tek başına 1.000 mg / kg yem ile diyetle dahil edilen nanosilikat kilin; GST, GSTM2, sarkozin dehidrojenaz (SARDH) ve nin betain-homocistein S-metiltransferaz-1 (BHMT)'in, yukarı regülasyonunu sağlamakla beraber artan GST aktivitesi ve GSH/GSSG oranı sağlamış ve bu sayede bu nanokil yapısının hepatik detoksifikasyonu ve antioksidatif süreçleri geliştirdiği sonucuna varılmıştır. Sodyum bentonitin yüksek şişme özelliği de toksik bileşiklerin adsorbe edilmesine yardımcı olmaktadır. Dahası bazı yazarlara göre, bentonitin detoksifiye edici

özellikleri toksinlerin gastrointestinal sistemden geçiş süresini azaltması ve böylece fekal kayıplarının artırılması kabiliyeti ile de ilgilidir. Sonuç olarak Montmorillonit organik maddeleri, bakterileri, virüsleri, ağır metal iyonlarını ve diğer malzemeleri adsorbe edebilir [291-295].

Killerin tümü polar fonksiyonel mikotoksin gruplarını çekmek için güçlü bir etkileşim sergiler, böylece mikotoksinlerin sindirim sisteminden emilmeden uzaklaştırılması için etkili bir bağlayıcı görevi görürler. Montmorillonit çeşitli kontaminatların tedavisi için yaygın olarak adsorban olarak kullanılan killer arasında en dikkate değer etkilere sahip olanıdır. Bentonitin, mikotoksilerin detoksifikasyonu üzerindeki etkisini araştıran bir çalışmada sıçanların T2 toksikozundan 2 hafta önce bentonit tükettiklerinde, bu toksinin dışkı ile atılmasında önemli bir artış olduğu ve kas dokusundaki miktarında azalma olduğu bildirilmiştir; bu da bentonitin T2 toksikozuna karşı iyileştirici etkisi olduğunu göstermektedir. İlk olarak 1989'da Dvorak ve arkadaşları (1989), bentonitin aflatoksin için adsorbe etme yeteneği sergilediğini bildirmiştir. Schell ve arkadaşları (1993), domuzlarda aflatoksinle kontamine olmuş mısıra kil eklendiğinde mineral metabolizmasını büyük ölçüde etkilemeden karaciğer fonksiyonunu kısmen geri kazandırdığını göstermiştir. Magnoli ve ark. (2010) %0,3 sodyum bentonit içeren diyetlerle beslenen piliçlerde, AFB1 (50 µg/kg) kaynaklı karaciğer toksin kalıntısının %62,5 oranında azaltıldığını göstermiştir. Esasen bentonitlerin sindirilmiş yemlerdeki aflatoksinleri bağlayabildiğini ve toksisiteyi azalttığını veya ortadan kaldırdığını gösteren çok sayıda hayvan çalışması vardır. Bu sebeple aflatoksikozun önlenmesi için bentonit killeri, hayvan yemlerine rutin olarak eklenir ve gastrointestinal sistemdeki aflatoksinlerin emilimini ve yan etkilerini azaltır. Ayrıca insanlarda kalsiyum montmorillonit tüketimi ile aflatoksinlerle kontamine gıdaların sağlığa zararlı etkilerinin azaltılabileceğini gösteren bir çalışmada sonuçlar katılımcıların aflatoksinlerin yan etkilerinden korunduğunu göstermiştir. Bu nedenle, bentonit aflatoksin toksisitesini önlemek ve iyileştirmek için insanlarda diyet müdahalesi olarak kullanılmaktadır. Bentonitin katyonik yapısından dolayı pestisitleri emme kapasitesine sahip olduğu da bildirilmektedir. Paraquat, insanlar dahil memeliler için oldukça toksik olan bir herbisittir. Paraquatın yüksek dozda alınmasını takiben karaciğer, kalp veya böbrek yetmezliği veya ölüm meydana gelebilir. Daha küçük dozlarda solunum sıkıntısı, böbrek disfonksiyonu veya bazen sarılık veya adrenal kortikal nekroz gibi semptomlar ortaya çıkar. Bentonit

bu toksinin vücut üzerindeki etkisini azaltmak için adsorban görevi görebilir [296-305].

Montmorillonitin toksik bileşikleri topraktan, sudan ve havadan uzaklaştıran oldukça etkili bir adsorban olduğu gösterilmiştir. Montmorillonitin adsorpsiyon özelliklerinin önemli bir uygulaması da sulu çözeltilerden toksik ağır metallerin uzaklaştırılmasındaki etkisi ile görülmektedir. Arsenik (As), Cd, krom (Cr), kobalt (Co), Cu, Fe, Pb, Mn, nikel (Ni) ve Zn gibi toksik metallerin giderilmesi için montmorillonitin kullanıldığı adsorpsiyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bentonit çeşitli ağır metallerin vücut içindeki detoksifikasyonunu da sağlamaktadır. Domuzlar ile yapılan bir çalışmada; montmorillonitin 100 gün boyunca beslenme takviyesi olarak kullanılması kan, beyin, karaciğer, kemik, böbrek ve saçtaki Pb konsantrasyonunu azaltmıştır. Başka bir çalışmada, koyunlardaki diyet ile alınan Cu biyoyararlanımının bentonitin oral takviyeleri ile azaltılabileceği sonucuna varılmıştır. Sazanlarda diyetle takviye edilen montmorillonit, karaciğer ve böbrekte göreceli olarak kadmiyum kaynaklı oluşan oksidatif hasarı tersine çevirmiştir. Dolayısıyla genel olarak, bentonitin metal zehirlenmesi veya toksisitesi için güvenilir bir tedavi olduğu görülmektedir [306,307,308,309].

Diyet kaynaklı toksinler, bakteriyel toksinler ve metabolik toksinler bulantı, kusma ve ishale dayanıklılık sağlamak amacıyla kil tarafından emilebilir. Montmorillonit bazlı ürünlerin sindirim kanalı üzerinde çalıştığı ve toksik maddeleri bağlayarak dışkı yoluyla vücuttan atılmasını sağladığı belirtilmektedir. Öte yandan bentonit gastrointestinal kanalda birçok organik ve inorganik materyali absorbe edebilirken mineral metabolizmasını ve absorpsiyonunu etkilememektedir [310].

Bentonitin harici uygulaması deri üzerinden toksik organofosfor bileşiklerin transferi için bir bariyer görevi görebilir, bu da deri üzerindeki fiziksel koruyucu etkisini göstermektedir. Yüksek katyon değişim kapasitesi ve son derece ince parçacık boyutu, bu minerallerin neden topikal olarak salgıları, toksinleri ve kirleticileri emmek için bandaj olarak kullanıldığını açıklar. Ayrıca, belirli oranda bentonit minerali içeren güneş losyonlarının, en yüksek düzeyde UV ışığını absorbe etmede piyasada bulunan güneş losyonlarından daha güçlü olduğu da gösterilmiştir [311,312].

2.3.3 Bentonitin kolesterol düşürücü etkisine bakış

Kolesterolün gastrointestinal absorpsiyonunu inhibe etmek için kullanılan absorbe edilemeyen ajanlar için potansiyel adaylar arasında alüminosilikat killer yer almaktadır.

Montmorillonitin kolesterol düşürücü bir yardımcı ajan olarak etkili olduğuna dair raporlar vardır ve çeşitli smektit killeri bu amaçla gıda mağazalarında satılmaktadır. 2009 yılında yapılan bir çalışmada montmorillonit minerallerinin (bentonit killeri), spesifik alüminosilikat killer olarak sıçan modelinde kolesterolün bağırsak emilimini azaltma yeteneği değerlendirilmiştir. Çalışmada kullanılan nanoyapılı alüminosilikat terimi yapılarının nano boyutlarını yansıtmak için kullanılmış ve bir yöntem ile montmorillonitten saflaştırılmıştır. Sıçanlara oral uygulamayı takiben alüminosilikat kil bileşiklerinin ürettiği etki şu anda klinik kullanımda olan iki kolesterol emilim inhibitörü, stigmastanol ve ezetimib ile karşılaştırılmıştır ve sonuç olarak, alüminosilikat kil materyali diyet kolesterolünün bağırsaktan emilimini önemli ölçüde inhibe ediyor gibi görünmektedir. Fakat ezetimib tarafından kolesterol absorpsiyonunun inhibisyonu alüminosilikat kile göre daha üstün olmakla beraber stigmastanol'un etkisi eşitti. Aynı nanoyapılı alüminosilikat ile yapılan bir diğer çalışmada yüksek kolesterol ve yüksek yağlı diyetle beslenen Apolipoprotein (ApoE) eksikliği olan farelerde plazma kolesterol düzeyleri ve aterosklerotik lezyonların gelişimi değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, çalışmada nanoyapılı alüminosilikat materyalinin plazma kolesterol düzeylerinin düşürülmesinde ve aterosklerotik lezyonların gelişiminin azalmasında kronik uygulamasının etkinliği gösterilmiştir. Nanoyapılı alüminosilikat kilin kolesterol emilimini azaltmasının altında yatan mekanizmayı araştırmak için bir in vitro lipoliz modeli uyarlanmış ve kolesterol emiliminin, nanoyapılı alüminosilikat kilin kolesterole doğrudan veya dolaylı olarak bağlanarak, çökmesine ve dışkıyla atılmasına neden olarak gerçekleştirildiği görülmüştür. Bunun yanında bu materyalin lipitte çözünen vitaminler gibi diğer besin maddelerinin emilimini etkilemesi muhtemeldir, bu sebeple D3 ve K1 vitaminlerinin absorpsiyonu ve farmakokinetik profilleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Sonuçlar, nanoyapılı alüminosilikat kilin hiperkolesterolemiyi tedavi etmek için diyetle dahil edilebileceğini göstermektedir; ancak özellikle sulu süspansiyon formunda kullanıyor ise D3 vitamini takibini yapmak gerekli olabilir [313,314,315,316].

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada mantar (küf) ile kontamine diyetin piliçler üzerindeki olumsuz etkilerini azaltmada kullanılabilir adsorbanlar arasında bentonitin etkisinde incelenmiştir. Küfle kontamine yemle beslenen grupta serum karaciğer enzim aktivitesi (ALT, AST ve ALP) ve kolesterol konsantrasyonu önemli ölçüde artarken, bentonit ile muamele edilen gruplarda ALT, AST ve ALP aktivitesinde ve kolesterol konsantrasyonunda azalma gözlenmiştir. Aflatoksin içeren diyetle tek başına ilave

edilen bentonitin, serum toplam kolesterol değerlerinde benzer bir iyileşme gerçekleştirdiğini gösteren bir başka araştırma da bulunmaktadır. Başka bir çalışmada montmorillonit kilinden izole edilen diyet lipid adsorban-montmorillonitin (DLA-M) yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda gastrointestinal sistemdeki lipidlerin immobilizasyonu yoluyla fekal lipid atılımını artırma üzerindeki etkileri dolayısıyla hiperlipidemi ve hepatik steatozun önlenmesindeki etkisi araştırılmıştır. Veriler DLA-M'nin TG, TC ve LDL-C seviyelerini açıkça düşürdüğünü göstermiştir. Ayrıca DLA-M'nin yüksek yağlı diyet tüketimi ile ilişkili yağlı karaciğer oluşumunun önlenmesinde önemli rol oynayabilen hepatik lipid birikimini de inhibe ettiği gösterilmiştir. Sonuç olarak DLA-M kristallerinin, bağırsak hareketleri yoluyla lipid atılımını artırdığı, in vitro ve in vivo olarak lipid adsorbe etme kabiliyetine sahip olduğunu gösterilmiş böylece özellikle yağlı diyet tüketimi ile artan lipidleri adsorbe etmek için nutrasötik ajan olarak kullanılabilirliği düşünülmüştür. Bununla birlikte, 1950'lerden itibaren kolesterolün in vitro olarak bentonit tarafından adsorpsiyonu hakkında bazı sınırlı raporlar olmasına rağmen, bentonitin in vivo olarak plazma kolesterol seviyelerinde anlamlı bir düşüşe yol açıp açmayacağını değerlendirmek ve lipidleri nasıl adsorbe ettiğini belirlemek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır [313,317,318,319].

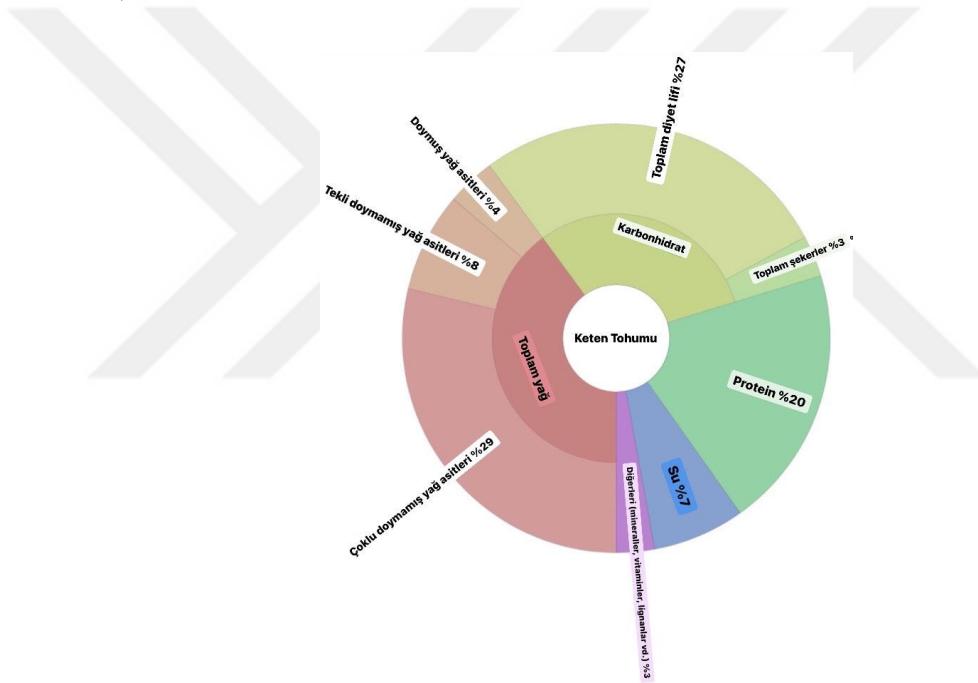
2.4 Keten (*Linum usitatissimum* L.) Tohumu

Keten (*Linum usitatissimum* L.) tohumu, eski çağlardan beri dünyanın farklı yerlerinde yenilebilir bir tahıl ürünü ve tıbbi amaçlı etkilerinden yararlanmak amaçlı olarak kullanılmaktadır. Keten tohumunda bulunan antioksidan ve antiinflamatuvar bileşenler, kardiyovasküler faydalar da dahil olmak üzere sayısız sağlık yararı ile ilişkilendirilmiştir. İnsanlarda kabızlık (müshil olarak), dikkat eksikliği, hiperaktivite bozukluğu, hiperlipidemi, ateroskleroz/koroner arter hastalığı, menopoz semptomları, siklik mastalji (meme ağrısı), meme kanseri, prostat kanseri, edinilmiş immün yetmezlik sendromu (AIDS) ve hiperglisemi/diyabet de dahil olmak üzere birçok hastalığın önlenmesi ve tedavisi için keten tohumu ile çalışılmıştır [320,321,322].

Keten tohumları lignanlar, lipidler, proteinler, lif, karbonhidratlar ve mikro besinler gibi besin bileşenleri ile donatılmış yağlı tohumlardır. Yüksek besin profilleri sayesinde keten tohumlarının besin kaynağı olarak kullanımını son zamanlarda popülerite kazanmıştır. Keten tohumu bir tohum kabuğundan, ince bir endosperm ve iki kotiledondan meydana gelir. İki büyük düzleştirilmiş kotiledon tohumun büyük kısmını

(%57) oluşturur. Kotiledonlar, yağın ana depolama dokularıdır ve tohum yağının %75'ini barındırır. Keten tohumunun müsilajı, tohum kabuğunun en dıştaki hücre katmanında bulunur. Çeşitli biyoişleme tekniklerinin uygulanması yoluyla keten tohumlarındaki bu bileşenler; nutrasötikler, kozmetikler ve gıda endüstrisi gibi farklı uygulamalar için biyolojik olarak kullanılabilir hale getirilebilmektedir. Dahası bütün olarak keten tohumunun kullanılması, tüm bu besin maddelerinin kullanılması için olanak sağlamaktadır [323-324].

Keten tohumunun bileşimindeki vitamin, mineral, protein ve peptit (biyoaktif siklik peptitler dahil), lipit (omega-3 ve omega-6 çoklu doymamış yağ asitleri dahil), karbonhidrat, lignan ve diyet lifinin oranları aşağıdaki şekilde gösterilmektedir [323]. (Şekil 2.6)



Şekil 2.6: Keten tohumunun yaklaşık bileşimi [323].

Keten tohumu tüketimine olan ilgi, yüksek oranda α -linolenik asit (ALA) içeriği, müsilaj olarak bilinen diyet lifi, lignanlar ve koroner kalp hastalıkları ve kanserler için riski azaltmada faydalı olduğu düşünülen fenolik bileşik içeriği ile ilgilidir. Ayrıca keten tohumundaki bu biyomoleküllerin çeşitliliği, bu bitkisel ürüne sadece yüksek bir besin profili değeri kazandırmakla kalmaz aynı zamanda keten tohumu bileşenlerinden bazıları, sergiledikleri bazı fonksiyonel özellikleri nedeniyle gıda katkı maddeleri olarak da kullanılmaktadır. Örneğin, keten tohumu müsilajı yüksek su bağlama kapasitesi sayesinde içeceklerin kıvamını, kararlılığını ve viskozitesini artırmak için kullanılmaktadır. Ayrıca müsilajın prebiyotik potansiyelinin yanı sıra dışkıya hacim

kazandırıcı etki sağlayarak kabızlığı, irritabl bağırsak sendromunu ve vücut ağırlığını kontrol ettiği de bilinmektedir [325,326,327].

Lipitler, keten tohumundaki yüksek değere sahip fonksiyonel bileşenlerden biridir. Keten tohumunda bulunan tüm lipitlerin ana bileşeni α -linoleik asittir (~%53), bunu oleik asit (~%19), linoleik asit (~%17), palmitik asit (~%5) ve stearik asit (~%3) takip eder. Keten tohumundan ekstrakte edilen yağ, çok yüksek oranda tekli ve çoklu doymamış yağ asitleri (~%91) ve az miktarda doymuş yağ asitleri (~%9) içerir. Doymamış yağ asitlerinin bu yüksek seviyeleri, kısmen keten tohumlarının sağlığı geliştiren önemli bir ajan olarak kabul edilmesinin bir nedeni olmaktadır. Çeşitli klinik çalışmalar, α -linoleik asitlerin ateroskleroz, romatoid artrit, inflamasyon ve astım gelişimini kontrol ettiğini göstermiştir. α -linoleik asidin önemli etkilerinden birisi de kanserojen ajanlara karşı olan uzun süreli pozitif etkisinden kaynaklı olarak kötü huylu tümörlerin ve bunların metastazlarının gelişmesini önlemesidir [328,329,330,331,332].

Keten tohumu ~%21 oranlarında **proteinden** oluşur. Keten tohumu proteini, az miktarda lizin, treonin ve tirozin içerirken daha fazla oranda glutamik asit, metiyonin, arginin, sistein ve aspartik asit gibi amino asitleri içerir. Keten tohumu proteinleri de nispeten yüksek biyolojik değere (%77,4) sahiptir. Proteinler antifungal etkiler ile ilişkilendirilirken sistein ve metiyonin gibi farklı amino asitlerin antioksidan özellikler sergilediği gösterilmiştir. Dahası, keten tohumu protein hidrolizatlarının antinörodejenatif özellikler gösterdiği, antihipertansif özelliklere ve plazma glikozunu düşürme yeteneklerine sahip olduğu bildirilmiştir [333-338].

Keten tohumundaki **karbonhidrat** seviyelerinin ~%29 olduğu bildirilmiştir. Kabaca, keten tohumu polisakkaritlerinin iki ana bileşeni vardır: ramnogalakturan ve arabinoksilan. Keten tohumunda karbonhidratların fonksiyonel bir gıda bileşeni olarak kullanımını hakkında daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Öte yandan **diyet lifleri** ve **fenolik bileşikler** (fenolik asitler, flavonoidler ve lignanlar) keten tohumu bileşiminin önemli bir bölümünü oluşturur. Keten tohumu yaklaşık olarak %20 oranında çözümlü lifler ve %9 oranında çözünmeyen lifler içerir. Çözünür lifler L-ramnoz, D-ksiloz, nötr polisakkaritler vb. ve çözünmeyen lifler selüloz, lignin ve diğerlerini kapsamaktadır [334,339].

Keten tohumunun kabuğu, secoisolariciresinol diglukosid (SDG) adı verilen lignan fitoöstrojenin en zengin kaynağıdır. Bu bitki lignanları, onları enterolakton ve

enterodiol'e dönüştüren bağırsak anaerobik mikropları tarafından metabolize edilirler. Keten tohumu, diğer yağlı tohumlara kıyasla düşük düzeyde fenolik asit içermekle beraber yaklaşık 75 ila 800 kat daha fazla lignan içerir. Bu fitoöstrojenler, kalp ve karaciğer hastalıklarına, osteoporoz ve kanserojenlere karşı koruma ve plazma kolesterolünün azaltılması dahil olmak üzere çeşitli sağlığa faydalı özelliklerle ilişkilendirilmiştir. Keten tohumu lignanların in vitro ve in vivo antiinflamatuar ve antioksidan aktivitesi de araştırılmıştır. Ana bileşenlere ek olarak, keten tohumları ayrıca **vitaminler ve mineraller** gibi önemli mikro besinler içerir. Keten tohumunda bol bulunan vitaminler arasında tokoferoller (üç form: α , β ve γ) ve niasinler bulunur. Bu vitaminler antioksidan özellikler sergilemekte, hipertansiyona, kalp rahatsızlıklarına ve Alzheimer hastalığına karşı koruma sağlamaktadır. Keten tohumu yüksek miktarda potasyum (~%5,6 ila %9,2), kayda değer miktarda kalsiyum (~%0,25), magnezyum (~%0,40), fosfor (~%0,65) ve az miktarda sodyum (~%0,027) içerir. Keten tohumundaki yüksek potasyum içeriği felce karşı koruma sağlamakta, serbest radikallerin temizlenmesine yardımcı olmakta ve trombosit birikimini inhibe etmektedir [340-346].

Keten tohumu ile yapılan ön çalışmalar, önemli bir yan etkiye sahip olmadığını göstermiştir. Ayrıca yüksek doz keten tohumu (40 g/gün) tüketimi ile yürütülen çalışmalarda bir yıllık uygulama süresi boyunca hiçbir önemli yan etki bildirmemiştir. Bu sebeple keten tohumunun kullanımı genellikle güvenli olarak kabul edilmiştir. Bununla birlikte gıda ve sağlık uygulamalarına rağmen keten tohumu linatin, fitik asitler, proteaz inhibitörleri ve siyanojenik glikozitler gibi yüksek seviyelerde fitotoksik bileşikler de içerir. Epidemiyolojik çalışmalar, bu bileşiklerin tüketilmesinin, temel besin maddelerinin zayıf biyoyararlanımına ve/veya sağlık komplikasyonlarına yol açabileceğini göstermiştir. Örneğin fitik asit kalsiyum, çinko, magnezyum, bakır ve demir gibi minerallerin emilimine müdahale ederken siyanojenik glikozitler metabolizmada hidrojen siyanürü serbest bırakabilir. Bu durum önemli bir sağlık sorunu gibi görülse de, yetişkin bir insan metabolizması günlük ≤ 100 mg siyanürü detoksifiye etme yeteneğine sahiptir. Siyanür toksisitesinin oluşabilmesi için kişinin her gün > 1 kg keten tohumu tüketmesi gerekmektedir. Bu nedenle, keten tohumunun siyanojenik glikozitlerden kaynaklanan toksisitesi gerçekçi bir sağlık tehdidi değildir [347,348,349].

Avrupa İlaç Kurumu (EMA)'na göre ergenler, yetişkinler ve yaşlılar için 10-15 g keten tohumu 150 ml su, süt, meyve suyu veya benzeri sulu bir sıvı ile günde 2 - 3 kez alınabilir. Etkisi 12-24 saat sonra başlamaktadır. Gün içerisinde yeterli sıvı tüketimi

sürdürülmelidir. 12 yaşın altındaki çocuklarda bu tür bir kullanım tavsiye edilmemektedir. Diğer ilaçların alınmasından en az 1-2 saat önce veya sonra tüketilmesine ve yatmadan hemen önce alınmamasına dikkat edilmelidir [350].

3.4.1 Keten tohumunun vücut detoksifikasyon işlevi üzerindeki etkisi

Bitkilerden türetilen fitokimyasallar, prokarsinojenleri aktive eden faz I enzimlerinin ekspresyonunu ve/veya aktivitesini inhibe ederek ve/veya faz II enzimleri indükleyerek kemopreventif etkiler sergileyebilirler. Chikara ve ark (2018) keten tohumunun birkaç CYP, GST ve UGT enzim ifadesini değiştirdiğini ve kemopreventif etkilerinin faz II enzimlerinin (GST'ler ve UGT'ler) ekspresyonunu indükleme yeteneğine bağlı olabileceğini göstermiştir. Halihazırda keten tohumu alımının, akciğer hasarı olan fare modellerinde karsinogenезin öncüleri olan oksidatif stres ve inflamasyonu iyileştirdiğine dair kanıtlar vardır. Ek olarak keten tohumu, sağlıklı fare akciğer dokusunda oksidatif stresi ve faz I - faz II detoksifikasyon yollarında yer alan genlerin ekspresyonunu da önemli ölçüde değiştirmektedir [351,352,353,354].

Keten tohumu yağının da detoksifikasyon enzimleri üzerinde benzer etkileri mevcuttur. Sharma ve ark. (2016) keten tohumu yağı uygulamasının, memelilerde faz I ve faz II enzimlerini ve antioksidanları modüle ederek kemopreventif potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. Keten tohumu yağı hem deride hem de karaciğerde enzimatik (SOD, CAT, GPx) ve enzimatik olmayan antioksidanların (GSH) düzeylerini artırmıştır. Keten tohumu yağının antikanserojen ve antioksidatif etkisi, bu tür yağlarda bulunan çeşitli antioksidanların sinerjik etkisinin bir sonucu olabilir. Keten tohumu yağındaki α -linolenik asit, flavanoidler, fenolik asit ve tokoferollerin hücresel antioksidanları yükseltmesi ve kanserojenlerin neden olduğu oksidatif hasarı azaltması mümkün olabilir. Özellikle çoklu doymamış yağ asitleri hücresel zarları korumakta ve serbest radikalleri temizleyebilmektedir. Ayrıca bilimsel literatür hayvan modellerinde keten tohumu yağının radyokoruyucu ve fotokoruyucu özelliklere sahip olduğuna dair kanıtlar sunmaktadır. Dahası keten tohumu yağı ağır metallerin böbrek üzerindeki etkisini azaltmaktadır [355,356,357].

Keten tohumu doğal antioksidan kaynağıdır ve bu etkisi lignanlar gibi kanıtlanmış antioksidan etkiye sahip bileşenlerinin varlığına atfedilir. Keten tohumu lignanlarının antioksidan özelliği karbon tetraklorür kaynaklı oksidatif stresin olduğu bir hayvan modelinde de doğrulanmıştır. Keten tohumu lignanlarının oksijen radikallerini

temizleyici özellikleri, in vitro olarak ya doğrudan hidroksil radikal süpürme aktivitesi ile ya da dolaylı olarak lipid peroksidasyonunun inhibisyonu ile açıklanmıştır. Bitki lignanlarının doğal antioksidan özelliklere sahip olmasının yanı sıra GST, SOD ve CAT gibi detoksifiye edici enzimlerin üretimini de uyardığı gösterilmiştir [358-365].

Müsilaj olarak da adlandırılan çözünür keten tohumu zambkı, keten tohumu kabuklarından elde edilen bir dizi suda çözünür polisakkarittir ve in vitro deneyler, çözünür keten tohumunun güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Keten tohumu oligosakkariti de hidroksil radikallerini temizlemek için güçlü bir potansiyel etki sergilemektedir. Sonuç olarak diyetle keten tohumuna yer verilmesi vücudun antioksidan savunmalarını güçlendirmektedir [366,367].

3.4.1 Keten tohumunun kolesterol düşürücü etkisine bakış

Birkaç prelinik ve klinik çalışma, keten tohumunun yararlı kardiyovasküler etkilerini göstermiştir. Esas olarak omega-3 yağ asidi olan α -linolenik asit ve antioksidan lignan olan SDG içeriğinin yanı sıra yüksek lif içeriği keten tohumunun yararlı kardiyovasküler eylemlerde rol oynamasına olanak sağlamaktadır. Keten tohumu, kardiyovasküler hastalığın farklı yönlerini ve risk faktörlerini aynı anda kontrol etmek için eşsiz bir fırsat sunmaktadır. Örneğin keten tohumu hem kan basıncını hem de kolesterol seviyelerini düşürebilir ve piyasadaki hiçbir ilaç bu etkilerin ikisini birden sağlamamaktadır. Yürütülen hayvan çalışmaları yüksek yoğunluklu lipoproteinlerde (HDL) belirgin değişiklikler olmaksızın düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (LDL) önemli ölçüde düşürülmesini keten tohumu tüketimiyle ilişkilendirilmiştir. Yapılan klinik çalışmalar ise benzer şekilde, HDL-C'da bir değişiklik olmaksızın TC ve LDL-C'da istatistiksel olarak anlamlı düşüşler olduğunu göstermiştir. Keten tohumu ile yapılan en kapsamlı çalışmalar içerisinde yer alan FLAX-PAD denemesinden elde edilen sonuçlar, 30 g keten tohumu ile takviye edilmiş bir diyetle beslenen kişilerde plaseboya kıyasla, denemenin 1. ve 6. ayında LDL-C ve TC'de sırasıyla %15 ve %11'lik bir azalma olduğunu bildirmiştir [368-373].

Keten tohumu yağı α -linolenik asit'in önemli kaynaklarından birisidir. Fakat keten tohumu yağının kan lipidlerini düşürme etkisinden ziyade başka bir mekanizma ile kardiyoprotektif bir etki gösterdiği düşünülmektedir. Ayrıca α -linolenik asit'i pratik olarak vücuda en etkili şekilde vermek için tüketilmesi gereken en iyi keten tohumu formunun öğütülmüş keten tohumu olduğu belirtilmektedir [372,373].

Bir dizi çalışma, keten lignan kompleksi ve SDG'nin plazma lipid profili üzerindeki yararlı etkilerini göstermiştir. Örneğin, Zhang ve ark. (2008) hiperkolesterolemik yetişkinler ile yürütülen 8 haftalık tedavi sırasında TC ve LDL-C'da doza bağlı olarak bir azalma olduğunu bildirmiştir. Doza bağımlı olan bu etki bazında, Fukumitsu ve ark. (2010) düşük dozlarda SDG alımının (100 mg) bile orta dereceli hiperkolesterolemik bireylerde kan kolesterol düşürücü etkiyi desteklediğini göstermiştir. Bunun yanında SDG ile yürütülen hem hayvan hem de insan çalışmaları, kan TG seviyeleri üzerinde hiçbir etki göstermemiştir [374,375].

Keten tohumunun yüksek lif içeriğinin LDL-C düşürücü etkisinden sorumlu olduğu öne sürülmektedir. Fakat nispeten az sayıda hayvan çalışması keten lifinin serum lipidleri üzerindeki etkisini göstermiştir. Klinik çalışmalar içerisinde yer alan Kristensen ve ark. (2012) yürüttüğü bir çalışmaya göre günde 3 kez keten tohumu lifi içeren bir içecek tüketen yetişkinlerde to TC'de %12 ve LDL-C'da %15 oranında azalma olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada, keten tohumu lifinin fekal yağ atılımını %50 oranında, önemli ölçüde artırdığı belirtilmektedir. Lifler, asetat ve propiyonat gibi küçük zincirli yağ asitlerinin oluşumu yolu ile de metabolizmada faaliyet göstermektedir. Özellikle artan propiyonat seviyeleri hepatik kolesterol sentezini azaltmaktadır [376,377,378].

Özetle keten tohumunun hipokolesterolemik etkisinden sorumlu olan bileşeni net değildir. Keten tohumunun bahsedilen bileşenlerinin herhangi biri veya tümü, gözlemlenen bu faydalı etkilerden sorumlu olabilir. Dahası diyet keten tohumu, statinler gibi kolesterol düşürücü ilaçların varlığında bile toplam ve LDL kolesterolü düşürme kapasitesine sahiptir. Bunun yanında keten tohumu, statinler gibi kolesterol düşürücü ilaçların kolesterol düşürücü etkilerine müdahale etmez veya katkı sağlamaz [376,379].

2.5 Karnıyarık Otu (*Plantago ovata* L.) Tohumu

Pisilyum olarak da bilinen *Plantago ovata* L. bitkisinin tohumları, lif ve diğer besinler özellikleri bakımından zengin bir kabuğa sahiptir. Esasen pisilyum, *Plantago* bitki cinsinin birkaç üyesinin tohumları için ortak olarak kullanılan bir isimdir. *Plantaginaceae* familyasına ait olan *Plantago* cinsi 200'den fazla tür içerir. *P. ovata*, *P. psyllium* ve *P. indica* bu cinsin 3 önemli türüdür. *Plantago ovata* L. bitkisi Akdeniz bölgesine

özgüdür ve günümüzde bu tohumların ana küresel üreticisi konumundaki ülke Hindistan'dır [380,381,382].

Plantago tohumları, dış tohum kabuğunda asidik ve nötr polisakkaritlere ayrılabilen ve hidroliz sonrası L-arabinoz, D-galaktoz, D-galakturonik asit, L-ramnoz ve D-ksiloz elde edilen %10 ± 30 hidrokoloid içerir. Plantago tohumunu kabuğu çözünür bir liftir, suda jel oluşturur ve müsilağı nişastanıninkine benzer bağlanma özelliklerine sahiptir. Müsilajının şişme özelliği nedeniyle hızlı dağılan tabletlerde süper ayrıştırıcı olarak kullanılmaktadır. *Plantago ovata*'nın jelleştirici ve/veya süspanse edici bir ajan olarak kullanılmasına odaklanan farklı çalışmalar yapılmıştır [383,384].

Pisilyum gıda ürünlerinde katkı maddesi olarak kabul edilen diğer sakızların ve hidrokoloidlerin kullanımına doğal bir alternatif olabilir. Bir diğer kullanım alanı ise dahil edildiği ürünlerin beslenme özelliklerini geliştirmek amacıyla kullanılmasıdır. Örneğin, pisilyumun gluten ikamesi olarak kullanıldığı glutensiz ekmekler bulunmaktadır. Aslında, pisilyumun sahip olduğu viskozitesi besinsel olarak faydalı etkilerinden sorumludur ve yüksek su emme kapasitesi, gıdaların hazırlanmasında kullanımı için yararlanılan en önemli özelliklerinden biridir [385].

Pisilyum eski çağlardan beri müshil olarak kullanılmakla beraber şu anda yeni farmakolojik kullanımları da keşfedilmiştir. Pisilyumun piyasada kabızlık tedavisi için kullanılan bir ilaca göre, kronik kabızlıkta, daha üstün tedavi sağladığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Esasen pisilyum yüksek su tutma kapasitesi sayesinde ikili bir dışkı normalleştirme etkisi sağlayabilir; yani kabızlıkta sert dışkıyı yumuşatır, ishalde gevşek/sıvı dışkıyı sertleştirir ve İBS hastalarında dışkı formunu normalleştirir. Dolayısıyla pisilyum kullanımı, İBS semptomlarını iyileştirmede hem güvenli hem de etkilidir. Dahası pisilyumun bağırsak mikrobiyomunun bileşimini ve işlevselliğini etkilediği gösterilmiştir. Singh ve ark. (2011) *Plantago ovata* L. tohumlarının etanolik ekstraktının yara iyileştirici aktivitesini araştırmış ve bu özütün, yara iyileşmesini hızlandıran yara kontraksiyon yüzdesini önemli ölçüde artırdığını göstermişlerdir. Pisilyumun nitrik oksit, lökotrien B4 ve tümör nekroz faktör gibi intestinal inflamatuvar süreçte yer alan inflamatuvar araçları azalttığı bulunmuş, bu nedenle bağırsak antiinflamatuvar ajanı olarak kullanımı desteklenmektedir. Hem diyabetik hem de diyabetik olmayan kişilerde glisemik indeksi düşürebilir ve bu etki yemekten önce değil yemekle birlikte alınan pisilyum takviyesinde daha belirgindir. Pisilyum kabuğu, antikolinergik ilaçların neden olduğu otonomik gastrointestinal disfonksiyon ile ilişkili Parkinson

hastalığında diskinezinin başlamasını geciktirir. Çeşitli kanser türlerinde sitotoksik etki göstermektedir ve özellikle buğday kepeği ile kombine edildiğinde pisilyumun kolon kanserini önlediği gösterilmiştir. Pisilyum lifi takviyesi hipertansif aşırı kilolu deneklerde hem sistolik hem de diyastolik kan basıncını önemli ölçüde azaltmıştır. Özetle pisilyumun, literatürde birçok metabolik anormalliği önlediğini gösteren araştırmalar mevcuttur [384,386-394].

Plantago ovata L. tohumlarının vücut detoksifikasyon işlevi üzerine etkisine dair literatürde yeterli araştırma olmamakla beraber antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bildirilmektedir. Bokaeian ve ark. (2015) *Plantago ovata* L.'nin antibiyotiğe dirençli *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyel potansiyele sahip olduğunu göstermişlerdir [395].

Avrupa İlaç Kurumu (EMA)'na göre ergenler, yetişkinler ve yaşlılar için 25-40 g karnıyarık otu tohumu gramı başına en az 30 ml su, süt, meyve suyu veya benzeri sulu bir sıvı ile günde 1 - 3 kez alınabilir. Hızlı bir şekilde karıştırılmalı ve mümkün olduğunca çabuk tüketilmelidir. 12 yaşın altındaki çocuklarda kullanım dozajı değişmektedir. Diğer ilaçların alınmasından en az 1-2 saat önce veya sonra tüketilmesine ve yatmadan hemen önce alınmamasına dikkat edilmelidir [396].

3.5.1 Karnıyarık otu tohumunun kolesterol düşürücü etkisine bakış

Pisilyum, doğal ürünler arasında lif açısından en zengin bileşenlerden biridir. Pisilyumun kolesterol üzerine etki mekanizmaları; safra asitlerinin artan atılımı, bağırsak kolesterolünün azaltılmış emilimi ve hepatik kolesterol sentezinde bir azalma da dahil olmak üzere diğer liflerin etkilerine benzer şekildedir. Bazı çözünür liflerin yüksek serum kolesterol konsantrasyonlarını etkili bir şekilde düşürebildiği doğru olsa da tüm çözünür lifler bu etkiye sahip değildir. Yalnızca yüksek düzeyde viskoz çözünür lifler (jel oluşturucu lifler) bu viskoziteye bağlı kolesterol düşürücü etkiyi sergilemektedir. Pisilyum gibi özellikle yüksek viskoziteli lifler ince bağırsakta kolesterolü önemli ölçüde düşürmektedir. Pisilyumun bu viskoz karakteri sayesinde gastrointestinal sistemdeki sindirimin viskozitesini değiştirebildiği ve böylece besinlerin, özellikle glikoz ve kolesterolün emilimini engellediği tespit edilmiştir [397,398].

Çözünür lifin kolesterolü düşürmesi üzerine önerilen mekanizmalar arasında safra asitlerini bağırsak lümeninde bağlanması ile bunların emilimini azaltması ve fekal atılımını arttırması da vardır. Safra asidi tükenmesi, kolesterolden safra asitlerinin sentezi

için hepatik talebi arttırır. Bu gereksinim, kısmen artan hepatik LDL reseptör aktivitesi ile sonuçlanır ve bu da dolaşımdaki LDL-C'yı azaltmaktadır. Bu etki dolayısı ile halihazırda pisilyumun bağırsak lümenindeki safra asitlerine bağlanarak serum kolesterol düzeyini düşürdüğü bildirilmiştir. Ek olarak pisilyumun sülfasyon, hidroksipropilasyon ve süksinilasyon gibi diğer kimyasal modifikasyonları safra asidini bağlama kapasitesini artırmaktadır [398,399].

Pisilyumun olası kolesterol düşürme mekanizmaları arasında, çözümlü lifin bakteriyel fermentasyonundan üretilen kısa zincirli yağ asitleri oluşumu ile yarattığı etki de vardır. Bu asitlerin karaciğerdeki kolesterol sentezi üzerinde doğrudan inhibitör etkileri olduğu düşünülmektedir. Başka bir etki mekanizma ise lif alımındaki artış ile diyetle alınan yağ ve kolesterol miktarının değişebileceği düşüncesidir. Diyetteki yağ ve kolesterol miktarındaki azalma ise kolesterol sentezi üzerinde doğrudan bir etki olmaksızın, daha düşük serum kolesterol konsantrasyonları ile sonuçlanacaktır [400].

Pisilyum kabuğunun hem insanlarda hem de hayvanlarda serum kolesterolünü düşürmede önemli bir rol oynadığı birçok durumda kanıtlanmıştır. Çeşitli incelemeler ve meta analizlerce detaylı bir şekilde incelenen pisilyumun, serumda TC ve LDL-C'yı azaltabileceği gösterilmiştir. Kontrollü klinik çalışmaların tamamı nispeten küçük çalışma popülasyonları kullanmış olsa da ortalama olarak 10,2 g/gün uygulanan pisilyum dozlarının TC ve LDL-C'da sırasıyla % 4-8 ve % 6-13 oranında azalma sağladığı konusunda genel bir fikir birliği vardır. Fakat araştırmalarda pisilyum müdahalesi HDL-C konsantrasyonlarını etkilemiyor gibi görünmektedir. Tip 2 diyabet hastalarında pisilyum tedavisini ele alan başka bir meta analiz sonuçları, pisilyumun LDL-C ve TG gibi kardiyovasküler risk faktörü seviyelerini düşürmek için klinik uygulamada güvenle kullanılabilen yardımcı tedavi olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle pisilyum, hiperlipidemi tedavisinde potansiyel bir destekleyici ajan olarak kabul edilmektedir [400,401,402].

Öte yandan literatürde hiperkolesterolemik çocuklar, hiperlipidemik yetişkinler ve yaşlı hastalar ile yürütülen, pisilyumun serum lipid değerlerini düşürmedeki başarısız etkisi olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur. Örneğin Brown ve ark. (1999) pisilyumun HDL-C'yı anlamlı ölçüde ancak minimum düzeyde düşürdüğünü göstermişlerdir [403,404,405].

Pisilyum takviyesi oldukça ucuzdur ve diğer lif takviyelerinden daha iyi tolere edilebilir. Nadir vakalarda bir dereceye kadar hoşgörüsüzlük dışında pisilyum tüketimine dair hiçbir yan etki bildirilmemiştir. Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), günde en az 1,7 g çözümlü lif içeren ürünlerin diyetle dahil edilmesinin sağlık faydaları üzerinde durmuş ve doymuş yağ ile kolesterol içeriği düşük olan pisilyum tohumu kabuğundan elde edilen çözümlü lifin kalp hastalığı riskini azaltabileceğini belirtmiştir. Sonuç olarak günde en az 7 g alınan psyllium kabuğu koroner kalp hastalığı riskini azaltmak için gerekli olan günlük çözümlü lif dozunu ifade etmektedir. Pisilyum takviyesinin zamanlamasının (sabah veya akşam) kolesterol düşürücü etkisi üzerinde bir etkiye sahip olup olmadığını araştıran bir çalışmada, uygulama zamanının hipokolesterolemik etkiyi değiştirmedığı sonucuna varılmıştır. Öte yandan hiperkolesterolemik etkiye sebep olduğu düşünülen diyetle alınan yağ türü ve kolesterol miktarı, pisilyumun plazma kolesterol düşürme tepkisini etkiliyor gibi görünmektedir [405,406,407].

Özetle, pisilyum lifi hiperkolesterolemili veya hiperkolesterolemisi olmayan bireylerde potansiyel olarak aterosklerozla ilişkili kardiyovasküler hastalık riski sürecini geciktirerek, geleneksel ve alternatif lipid belirteçlerini etkili bir şekilde iyileştirmektedir [408].

2.6 Zerdeçal (*Curcuma longa* L.)

Zerdeçal olarak da bilinen *Curcuma longa* L. bitkisi Zingiberaceae familyasının bir üyesidir ve geleneksel olarak çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğu için şifalı bir bitki olarak kullanılmıştır. Bu bitki turuncu yumrulu rizomlarıyla karakterizedir ve yaygın olarak Güneydoğu Asya'da yetiştirilir. Zerdeçalın Hindistan ve Çin'de antik çağlardan beri dermatolojik hastalıklar, enfeksiyon, stres ve depresyon gibi hastalıkları tedavi ettiği düşünülmüştür. Bitkinin ana kısmı rizomlarıdır ve bilinen en yaygın aktif bileşenleri kurkuminoidlerdir (curcumin, demethoxycurcumin ve bisdemethoxycurcumin) [409-412].

Zerdeçalın önemli bir bileşeni olan kurkumin (diferuloilmetan), *Curcuma longa* L. rizomlarından elde edilen sarı bir pigmenttir. Kurkumin ve zerdeçal özleri; antitümör, antiinflamatuvar, antioksidan ve antienfeksiyöz aktiviteler dahil olmak üzere çeşitli farmakolojik etkilere sahiptir. Zerdeçalın sulu özleri kornea yarasının iyileşmesini destekler ve antidepresan aktivite gösterir. Ek olarak, *C. longa*'nın sıcak su özütünün inflamatuvar sitokinleri ve hücre adezyon moleküllerini kodlayan genlerin ekspresyonunu

azaltarak çeşitli kronik enflamatuvar hastalıkları önlediği bildirilmiştir. Kurkuminoidlerin Tip 2 Diyabet hastalarında insülin direncini iyileştirdiği, glukoz ve insülin düzeylerini düşürdüğü, adiponektin salınımını artırdığı ve leptin, resistin, interlökin (IL)-6 IL-1b ve tümör nekroz faktör- α (TNF- α) düzeylerini azalttığı gösterilmiştir. Kurkuminin faydalı etkileri arasında vücut metabolizmasının uyarılması, endojen sindirim enzimi salgısının iyileştirilmesi, bağışıklık tepkisinin aktivasyonu, antibakteriyel ve antiviral etki ile Alzheimer hastalığı karşıtı etkisi de vardır. Çeşitli çalışmalar kurkuminin çeşitli kanser türleri, akciğer rahatsızlıkları ve otoimmün hastalıklar dahil olmak üzere birçok kronik hastalığa karşı koruyucu etkileri olduğunu göstermiştir [413-418].

Kurkumin nispeten ucuzdur ve yüksek dozları bile (günde 12 g) güvenlidir. Öte yandan şu anda, FDA ve EFSA maksimum 3 mg/kg/gün kurkumin dozlarının kullanımını önermektedir. Daha yüksek miktarlar ile vücutta toksisite başlangıcı olabilmekte özellikle teratojenik etkiler, astrositik hücre anormallikleri bildirilmektedir. Safra kesesi taşları olan bireylerde kurkumin kullanımı önerilmemektedir. Kurkuminin hidrofobikliği nedeniyle genel olarak düşük bir biyoyararlanımı vardır, bu nedenle farmakolojik olarak aktif form elde etmek için bir lipid aracı ile veya piperin ile birlikte uygulama gerekmektedir [418,419,420].

Avrupa İlaç Kurumu (EMA)'na göre yetişkinler ve yaşlılar için 100-200 mg zerdeçal ekstresi günde 2 kez alınabilir. Çocuklarda ve 18 yaşın altındaki ergenlerde bu tür bir kullanım tavsiye edilmez [422].

2.6.1 Zerdeçalın vücut detoksifikasyon işlevi üzerindeki etkisi

Yukarıda belirtildiği gibi zerdeçalın ana bileşeni antioksidan, antimikrobiyal, antienflamatuvar, antiviral ve antikarsinojenik özelliklere sahip kurkumindir. Sahip olduğu tüm bu özellikler kurkumini potansiyel detoksifikasyon ajanı yapmaktadır. Lee ve ark. (2009) diyetle kurkumin takviyesinin doğuştan gelen bağışıklığı geliştirdiğine ve enfeksiyonlara karşı daha yüksek koruyucu etkili bir bağışıklığı indüklediğine dair ilk immünolojik kanıtı sağladılar. Başka bir çalışma ise kurkuminin, kırmızı ve beyaz kan hücresi sayılarını ve hemogloblin yüzdesini bir dereceye kadar modüle ederek aflatoksin kaynaklı toksisiteye karşı koruyucu etkileri olduğunu göstermiştir [423,424].

Kurkuminin Fe^{3+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} gibi birçok metal iyonu ile güçlü bir şekilde koordinasyon sağladığı için mükemmel bir şelatlama ajanı olduğu bilinmektedir. Örneğin, Alzheimer hastalığında kurkuminin nöronlar için zararlı olan Al^{3+} iyonu

gibi belirli metal iyonları ile kararlı bir kompleks oluşturmak için kan-beyin bariyerini geçtiği dolayısıyla metallerin serbest haldeki toksisitesini azalttığı tespit edilmiştir. Başka bir örnek, 121 mol/kg cıva klorür uygulanan sıçanlarda kurkuminin 80 mg/kg tedavisi ile yapılan bir çalışmadır. Sonuçlar, kurkuminin antioksiyi yeniden oluşturarak sıçanların karaciğer, böbrek ve beyin dokularında Hg kaynaklı oluşan oksidatif stres üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Güçlü antioksidan aktiviteye sahip olan kurkumin, Ar tarafından indüklenen oksidatif stres kaynaklı hasarı önlemek için de olası aday olarak düşünülmektedir. Kurkumin ile, metal kaynaklı genotoksisiteye sahip hastalarda yapılan klinik araştırmalar pozitif sonuçlar göstermiştir [424,425].

Antioksidatif aktivitesi kurkuminin, süperoksit anyonları gibi reaktif oksijen türlerinin azaltılmasını, nitrik oksit radikalının süpürülmesini ve lipid peroksidasyonunun engellenmesini sağlamaktadır. Lee ve ark. (2016) zerdeçal özü ve kurkuminin, oksidatif stresi azaltarak karaciğeri karbon tetraklorürün neden olduğu hasara ve hepatik lipid birikimine karşı koruduğunu göstermişlerdir. Kurkumin karaciğer hasarını iyileştirmekte, hepatoselüler membranın yapısal bütünlüğünü korumakta, GST ve SOD, CAT, glutasyon redüktaz ve GPx gibi Faz II detoksifikasyon enzimlerinin bazılarının aktivitesini artırmakta ve bu sayede karaciğer regülasyonları sağlamaktadır. Ayrıca zerdeçal yağı da serbest radikal temizleme özelliğine sahiptir. Zerdeçal yağındaki bu antioksidan özelliği destekleyen başlıca bileşenler, α - ve β -turmerone, curcione ve α -terpeneoldür [426-429].

Sonuç olarak, zerdeçal plazma ve karaciğer antioksidan yeteneğini iyileştirmekte ve karaciğer antioksidan genlerinin ekspresyonunu arttırmaktadır [430].

2.6.2 Zerdeçalın kolesterol düşürücü etkisine bakış

Zerdeçalın hipolidemik etkisi bilinmesine rağmen doğal hali ile yeterince çalışılmamış, yaygın olarak aktif ana maddesi olan kurkumin araştırılmıştır. Buna rağmen zerdeçal ekstraktının (hidroalkolik) kolesterol düşürücü özelliğinin, düşük plazma TC ve TG düzeylerini elde etmede ve korumada yararlı olduğu bulunmuştur. Hiperlipidemik obez hastalarda zerdeçal ekstraktı müdahalesi ile yapılan bir çalışmada kolesterol düşürücü olumlu etkiler gözlenmiştir. Tek başına 2 g/gün zerdeçal tozu ile yürütülen başka bir çalışmada LDL-C ve toplam kolesterolde azalma olduğu gözlenmiştir. Bu etkiler, safranın kolesterole doygunluğundaki azalma, fekal yağ atılımındaki artış ve kurkumin

tarafından safradaki kolesterol atılımının arttırılması ile açıklanabilir. Dolayısıyla zerdeçal ekstraktı diyet ile fazla alınan kolesterolün vücuttan atılmasını sağlamaktadır [431,432,433].

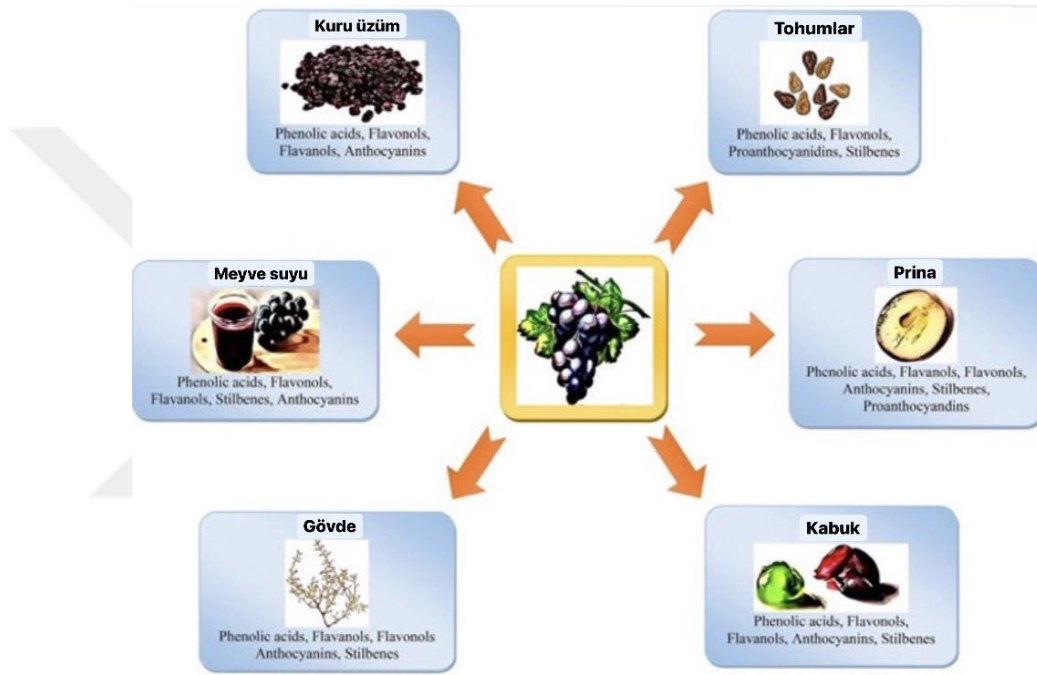
Son elli yılda yapılan kapsamlı araştırmalar, kurkuminin kan kolesterol ve trigliserit düzeylerini düşürdüğünü göstermiştir. Zou ve ark. (2018) kurkuminin plazma TC ve LDL-C düzeylerini düşürmesi ve HDL-C seviyelerini artırmasının yanı sıra aortlardaki kolesterol birikimini de %56 oranında azalttığını göstermiştir. Aynı çalışmada kurkumin, ApoE nakavt farelerde bağırsakta kolesterol emilimini engelleyerek anti-aterojenik etki sağlamıştır. Dahası kurkuminin kolesterol emilimi üzerindeki inhibitör etkisinin ezetimibe ile eşdeğer olduğu da daha önceki araştırmalarda gösterilmiştir. 2021 yılına ait meta analiz Tip 2 diyabet hastalarında benzer şekilde kurkuminin; LDL-C, TG ve TC'de genel bir azalmayı sağladığını fakat HDL-C üzerinde etkisinin olmadığını göstermiştir. Kurkuminin HDL-C üzerinde etkisinin olmaması, HDL-C'daki artışın daha aktif bir yaşam tarzına bağılı olduğu gerçeğiyle açıklanabilmektedir. Öte yandan kurkuminoidlerin lipid düşürücü etki mekanizmaları net olmamakla birlikte kurkuminin kolesterol metabolizması üzerindeki etkileri insülin direncinde iyileşmeyi sağlayan ana metabolik etkisiyle ilişkili gibi görünmektedir. Kurkumin'in kolesterol düşürücü özelliği, karaciğerdeki CYP7A1 aktivitesinin artmasına da bağlanabilir. Gelişmiş CYP7A1 aktivitesi, kolesterol atılımının artmasıyla sonuçlanır ve bu da kolesterol seviyelerini düşürür. Ayrıca kurkuminin hipolipidemik etkisinin lovastatin gibi statinlerinkine benzer olduğu ve esas olarak HMG-CoA redüktazı inhibe ederek ve böylece karaciğer kolesterol biyosentezini azaltarak etki ettiği bildirilmiştir [434-437]. Bu etkiler doğrultusunda Arshami ve ark. (2013) kurkuminin hem hipolipidemik hem de antioksidan etkisine odaklanan bir çalışma yürütmüşler ve sonuç olarak, kurkuminin diyetle %1,5 oranında antioksidan ve %2,5 oranında antilipidemik etkili bir ajan olarak kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir [438].

2.7 Üzüm (*Vitis vinifera L.*) Çekirdeği

Vitis vinifera L. bitkisinin meyvesi olan üzüm, tüm dünya çapında yetiştirilen ve 67 milyon tondan fazla üretimi ile en fazla mahsule sahip olan meyvedir. Üzüm Vitaceae familyasına aittir ve Avrupa'da üzümün yaprakları ve özsuğu yüzyıllardır geleneksel tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Şaraplık üzüm, çekirdeksiz veya çekirdekli yenebilir üzüm ve kuru üzüm gibi kullanım alanlarına göre pek çok üzüm kategorisi

bulunmaktadır. Son yıllarda yayınlanan birkaç önemli derleme üzümün kabuk, tohum, posa ve gövde gibi farklı kısımlarındaki aktif bileşenlerin fitokimyasal ve farmakolojik etkilerini tanımlamıştır [439-442].

Üzümün en önemli aktif bileşenleri fenolik bileşiklerdir. Örneğin üzüm çekirdekleri diğer meyve çeşitlerine oranla daha fazla miktarda gallik asit ve p-kumarik asit içermektedir. Üzüm bitkisinin gövde ve farklı meyve kısımlarında tanımlanan polifenol grupları Şekil 2.7’de gösterilmektedir. Fakat üzümün sahip olduğu fenolik asit bileşimi büyük oranda üzüm çeşidine bağlıdır [442-445].



Şekil 2.7: Üzümün farklı kısımlarında tanımlanan farklı kimyasal polifenol grupları [441].

Üzüm çekirdekleri fenolik bileşiklerin yanı sıra, lif, protein, su, vitamin ve mineral içerir. Üzüm çekirdek ekstreleri de bol miktarda polifenol kaynağıdır. Üzüm çekirdeğinde bulunan yağ miktarı, üzümün çeşidine bağlı olmakla beraber genellikle kuru ağırlığın %10-16'sı kadardır. Üzüm çekirdek ekstrelerindeki ana yağ asidi linoleik asittir, bunu oleik asit ve palmitik asit takip eder [446,447].

Birkaç diğer besin ve üzümde de bulunan bir polifenolik fitoaleksinin olan resveratrol; antioksidan, antikanser, antimutajenik, kemopreventif, anti-inflamatuar, anti-trombosit ve kardiyoprotektif etkiler gibi çoklu organ sistemlerini kapsayan potansiyel sağlık özellikleri nedeniyle kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır. Örneğin, resveratrolün poliovirüse karşı antiviral etkiler gösterdiği Berardi ve ark. (2009) tarafından

gösterilmiştir. Ayrıca resveratrolün kanser ve inflamatuvar hastalıkların tedavisinde önemli bir rol oynadığı da çeşitli çalışmalarca gösterilmiştir. Son klinik araştırmalar, resveratrolün güvenli olduğunu ve günde 5 grama kadar olan dozlarda tüketilmesinin iyi tolere edilebildiğini belirtmektedir. Bunun yanı sıra resveratrolün çeşitli metabolitlere hızlı metabolizması nedeniyle neredeyse sifıra yakın bir oral biyoyararlanımı vardır ve yaklaşık %75'i dışkı ve idrar yoluyla atılmaktadır [448-452].

V. vinifera L. ekstraktlarının ve aktif bileşenlerinin antioksidan, antikanser, antibakteriyel ve antidiyabetik aktivitelerinin yanı sıra kardiyoprotektif, hepatoprotektif ve nöroprotektif etkileri de dahil olmak üzere çeşitli farmakolojik etkilerini vardır. Antioksidan aktivite üzüm bitkisi ve meyvesinin sahip olduğu yaygın bir etkidir. Örneğin, *V. vinifera* L. dallarının sulu ekstraktı, insan keratinositlerinin antioksidan kapasitesini artırma potansiyeline sahiptir. Kırmızı üzüm suyunun kemoterapide kullanılan bir ilacın neden olduğu toksisiteye karşı kardiyoprotektif etkiler sergilediği ve üzüm posası ekstraktlarının ise hem antioksidan hem de prooksidan aktiviteye sahip olduğu ileri sürülmüştür [453,454,455].

Üzümün farklı formlarının antikanser etkisi üzerine çok çeşitli araştırmalar bulunmaktadır. Üzüm çekirdek ekstresi, kolon kanseri hücre dizilerinde antikanser etki ve indüklenmiş apoptoz etkisi göstermektedir. Bu etkinin prosiyanidin içerik kaynaklı olduğu düşünülmüş ve ayrıca olgun tohum ekstraktlarındaki epikateşin miktarının, olgunlaşmamış tohumların ekstraktlarındakinden daha fazla olduğu da aynı araştırmada gözlenmiştir. Üzüm çekirdeği ekstraktındaki polifenoller, hücre duvarını veya hücre zarını bozarak *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyel etkiler sergiler. Polikistik Over Sendromuna sahip sıçanlarda üzüm çekirdeği ekstresinin tüm müdahale dozlarının visceral yağı azalttığı gözlenmiştir. Dahası üzüm çekirdek ekstrelerinin antidiyabetik aktivitesini bildiren birçok in vivo çalışma vardır. Üzüm çekirdeği ekstresinin tavşanlarda önemli yara iyileştirici etkilere sahip olduğu ve bu etkinin piyasadaki bir ilaçtan daha fazla olduğu da gösterilmiştir [456-459].

Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), 2011 yılında, sağlıklı gıda bileşenleri içermesi sebebiyle üzüm çekirdeği ve ekstrelerinin tüketilmesinin güvenli olduğunu kabul etmiştir [460].

2.7.1 Üzüm çekirdeğinin vücut detoksifikasyon işlevi üzerindeki etkisi

Üzüm çekirdeği antioksidan, serbest radikal süpürücü özellikler ve lipid düşürücü etkiler sergileyen polifenollerin en zengin kaynaklarından biridir. Üzüm çekirdeğinde bu etkilerden sorumlu olan en yaygın polifenoller kateşin, epikateşin ve prosiyanidin B2 gibi prosiyanidinlerdir. Epikateşin serbest radikalleri temizleyerek ve nitrik oksit sentazı koruyarak endotel hücrelerini oksitlenmiş LDL'ye karşı korur. Kateşinler özellikle, LDL oksidasyonunun inhibisyonu yoluyla antioksidatif etkiler göstermektedir. Ayrıca gallik asit sıçanlarda yüksek yağlı diyet kaynaklı oluşan dislipidemi, hepatosteatoz ve oksidatif stresin baskılanmasını sağlamıştır [461-466].

Üzüm çekirdek ekstresinin antioksidan etkisi E vitamininden 20 kat ve C vitamininden 50 kat daha fazladır. Üzüm çekirdeği ekstrelerindeki bu güçlü antioksidan özelliğinin varlığı güçlü bir oksijen serbest radikal süpürücü etkiyi de uyarmaktadır ve hücreleri oksidatif strese karşı korumaktadır. Üzüm çekirdeği ekstraktındaki polifenoller ayrıca çoklu doz Ultraviyole-B ışınlarına karşı da koruyucu etkiler göstermektedir. Proantosiyanidin açısından zengin üzüm çekirdeği ekstraktı, cildin hücresel yapısının lipid oksidasyonunu azatmakta ve serbest radikallerin üretimini engellemektedir. Dahası bu ekstreler arsenik ve sisplatin kaynaklı nefrotoksisiteye karşı koruma sağlamak ve bileşiminde yer alan fenolik bileşikler metal şelatlama özelliği göstermektedir [467,468,469].

Zaidi ve ark. (2009) yaptığı bir çalışmaya göre resveratrol ön tedavisi, H. pylori ile indüklenen reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu baskılamıştır. Öte yandan resveratrol, CYP3A4 için mekanizma temelli bir inhibitör ve CYP2E1 için geri dönüşümlü bir inhibitördür. Bu sebeple CYP enzimlerinin etkisizleştirilmesine neden olarak bitki-ilaç etkileşimlerini ve zararlı bağışıklık tepkilerini uyurabilir [469,470,471].

Üzüm çekirdeği ekstresi flavonoidlerinden kuersetin ve kaempferol, UGT1A3 ve UGT1A9 enzimlerinin substratlarıdır ve UGT1A1, UGT1A9 ve UGT2B17 enzimleri için in vitro modülatör özellik göstermişlerdir. Bununla birlikte, üzüm çekirdeğindeki %4 ila %5'lik flavonoid içeriğine dayanarak, in vivo kuersetin ve kaempferol konsantrasyonlarının inhibitör seviyelere ulaşması olası değildir. Resveratrol de ayrıca UGT1A1 ve UGT1A9 enzimleri için bir substrattır, ancak UGT enzimlerini modüle etme potansiyeli hakkında bir bilgi mevcut değildir. Ayrıca diyabetik sıçanlar ile yapılan bir çalışmaya göre üzüm çekirdeği proantosiyanidin ekstraktının güçlü

antioksidan özelliği sayesinde süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini önemli ölçüde arttırdığı görülmüştür. Dahası aynı ekstratın aflatoksikoza karşı da koruyucu etkileri olduğu belirtilmektedir [472-475].

2.7.2 Üzüm çekirdeğinin kolesterol düşürücü etkisine bakış

Üzüm çekirdeğindeki başlıca polifenollerin, dislipidemi ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir. Üzüm çekirdeğinde bulunan üç polifenolik bileşik (gallik asit, kateşin ve epikateşin); pankreas kolesterol esterazını inhibe ederek, kolesterolün safra asitlerine bağlanmasını sağlamakta ve misellerde kolesterolün çözünürlüğünü azaltarak kolesterol düşürücü aktivite göstermektedir ve bu da metabolizmada gecikmiş kolesterol emilimiyle sonuçlanmaktadır. Ayrıca Robich ve ark. (2010) ise 7 hafta boyunca, günde 100 mg/kg dozda resveratrol ile beslenen domuzlarda daha düşük serum toplam kolesterol ve LDL kolesterol seviyeleri olduğunu göstermişlerdir [476,477].

Hem hayvanlarda hem de insanlarda yapılan çalışmalar üzüm çekirdek ekstrelerinin plazma lipidlerinde azalma sağladığını ve lipoprotein metabolizması üzerinde çoklu etkiler sergilediğini göstermiştir. Örneğın, Jin ve ark. (2013) üzüm çekirdeği ektresinin prediyabetik farelerde lipid profilini iyileştirdiğini göstermiştir. Benzer şekilde diyabetik fareler ile yapılan bir çalışma, üzüm çekirdeği proantosiyanidin ekstratının trigliserit, toplam kolesterol, düşük yoğunluklu lipoprotein ve çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) seviyelerini önemli ölçüde azalttığını göstermektedir. Üzüm çekirdek ve kabuk ekstraktı, oksidatif stres sonucu artan karaciğer kolesterolünü %75 oranında azaltmaktadır. Ayrıca üzüm çekirdeği ekstreleri, pankreatik lipaz ve lipoprotein lipaz gibi yağ metabolize eden enzimleri inhibe ederek yağ dokusundaki yağ birikimini ve diyetle alınan yağın emilimini en aza indirmek için de kullanılabilir [474,478-480].

Üzüm çekirdeğinin yağ asidi profili de lipid metabolizmasında önemli bir etkiye sahiptir. Yüksek miktarda linoleik asit içeren bir yağ, TC ve LDL-C'nın azalmasına neden olmaktadır. Bazı araştırmalar üzüm çekirdeği yağı ile takviyenin, serum HDL-C düzeylerini %13 oranında artırdığını ve LDL-C düzeylerini, üç haftada, %7 oranında azalttığını ve bu sayede üzüm çekirdeği yağının hepatoprotektif etkiye yol açtığını göstermektedir [481,482].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Kullanılan Alet ve Kimyasal Maddeler

Deneyle sırasında kullanılan alet ve kimyasal maddeler aşağıda belirtilmektedir.

3.1.1 Kullanılan kimyasal maddeler

Hekzan, Etil alkol, Metanol, Hidroklorik Asit (HCL), Sodyum Karbonat (Na₂CO₃), Folin Ciocalteu Reagent (FCR), Alüminyum Klorür (AlCl₃), Amonyum Asetat (CH₃COONH₄), Tuz (NaCl), Metanolik HCl çözeltisi, Metanol (MeOH)

3.1.2 Kullanılan aletler

Balon joje, Baget çubuk, Buzdolabı, Cam beher, Erlen, Rotary evaporator, Hassas terazi, Cam Huni, Filtrasyon kağıdı, Mezür, Pipet, Saat camı, Spatül, Etüv, Öğütme makinesi, Soxhlet düzeneği, Cam şişe, Ependorf, Cam şişe, Ultrasonic banyo

3.2 Deney Hayvanları

20-25 g ağırlığında erkek Swiss albino fareler, SYLAB Deney Hayvanları Araştırma ve Yetiştirme Laboratuvarından (Ankara, Türkiye) temin edildi. Hayvanlar 12 saat gece-gündüz periyodunda 21-24°C sıcaklıktaki hayvan barınma yerlerinde standart pellet yem ve musluk suyu ile beslendiler. Tüm deneyle Laboratuvar Hayvanları Bakım ve Kullanım Sağlık Rehberi Ulusal Enstitüleri kapsamında SYLAB Deney Hayvanları Laboratuvarında yapıldı (Etik Kurul No: 03/15). Her grupta en az yedi hayvan kullanıldı.

Tüm test materyalleri, %0.5 sodyum karboksimetil selüloz (CMC) içinde süspanse edildikten sonra deney hayvanlarına gastrik gavaj ile uygulandı. Çalışmada iki kontrol grubu kullanıldı. Hiperkolesterolemik grupta (pozitif kontrol) yer alan hayvanlara, test numunelerinde olduğu gibi yüksek kolesterol diyeti uygulandı. Negatif kontrol grubunda yer alan hayvanlara ise herhangi bir uygulama yapılmadan standart pelet yem

verildi. Referans madde olarak Atorvastatin 10 mg/kg dozda gastrik gavaj vasıtasıyla hayvanlara oral yoldan verilmiştir.

3.3 Yöntem

3.3.1 Yağ miktar analizi

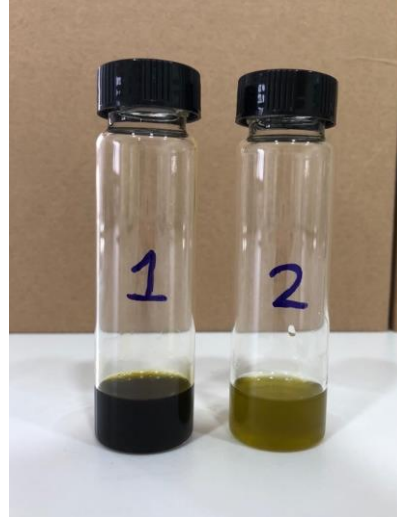
Sabit yağların yağ asidi bileşenlerinin tanımlanması için Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi (GS MS), bağlı yüzdelerin belirlenmesi için Gaz Kromatografisi Alev İyonlaşma Dedektörü (GC FID) kullanılmaktadır.

Tablo 3.1: Sabit yağlarda içerik analizi için GC-FID ve GC-MS şartları.

GC-FID Şartları (Gaz Kromatografisi Alev İyonlaşma Dedektörü)		GC-MS Şartları (Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi)	
<i>Sistem:</i>	Agilent 7890B Gaz Kromatografi Sistemi	<i>Sistem:</i>	5977E
<i>Kolon:</i>	Agilent DB-Wax (60m x 0,25mm x 0,25 µm)	<i>İyon Kaynağı Sıcaklığı:</i>	230°C
<i>Dedektör:</i>	FID (Alev İyonlaşma Dedektörü)	<i>İyonizasyon Modu:</i>	EI
<i>Enjeksiyon Sıcaklığı:</i>	220°C	<i>Elektron Enerjisi:</i>	70 eV
<i>Dedektör Sıcaklığı:</i>	220°C	<i>Membran Sıcaklığı:</i>	250°C
<i>Sıcaklık Programı:</i>	50°C(1 dak), 25°C/dak → 200°C, 3°C/dak → 230°C (38 dak), Toplam 55 dakika	<i>Quadripol Sıcaklığı:</i>	150°C
<i>Taşıyıcı Gaz:</i>	2 mL/dak He	<i>Kütle Aralığı:</i>	35-450 m/z
<i>Enjeksiyon Hacmi:</i>	5 µL	<i>Tanımlamalar:</i>	Wiley 9-NIST 11 Mass Spectral Database
<i>Split Oranı:</i>	50:1		
<i>FID Hidrojen:</i>	30 mL/dak		
<i>FID Hava:</i>	400 mL/dak		

3.3.1.1 Üzüm çekirdeğinde yağ miktar analizi

Farklı iki satıcıdan temin edilen üzüm (*Vitis vinifera L.*) çekirdekleri yabancı maddelerden arındırma işlemi sonrası mekanik öğütücüde toz haline getirildi. Hassas terazi kullanılarak 50'şer gram tartım alınan toz üzüm çekirdeği numuneleri Soxhlet ekstraksiyon (Elektromag, Türkiye) düzeneğine yerleştirilmek üzere kartuş içerisine alındı. 350 ml Hekzan ile 180 °C'de 5-6 saat süren ekstraksiyon işlemi sonucunda elde edilen sıvı ekstrakt 'Rotary evaporator' yani döner buharlaştırıcıda 50 °C, 350 mmbar basınçta uçurma işlemine tabi tutuldu. Uçurma işlemi sonrası elde edilen Hekzanlı ekstratlar cam şişeler içerisine alındı. (Şekil 3.1)



Şekil 3.1: İki farklı üzüm çekirdeği numunesinden elde heksanlı ekstratler.

0,5 mL heksanlı üzüm çekirdeği ekstratlerine 5 mL %10 Metanolik HCl çözeltisi ilave edildi. 180⁰C de geri soğutucu altında 30 dk transmetile edilerek metil esterleri hazırlandı. 30 dk tamamlandıktan sonra sistemin soğuması beklendi. Bu aşamada soğutucudan ayrılan erlenin kapağının açık bırakılmamasına dikkat edildi. Karışıma önce 5 mL heksan ilave edildi ve hafifçe çalkalandı. Ortamdaki asidi nötralleştirmek ve ardından bazik hale getirmek için 25 mL %10 luk NaHCO₃ çözeltisi yavaş yavaş çalkalayarak ilave edildi. Tuzun aşırısı da ilave edilerek kuvvetlice çalkalandı. Heksan fazında bulanıklık kalmayınca kadar 30 dk kadar bekletildi. Üst fazdan alınarak GC sistemine enjekte edildi. (Şekil 3.2)



Şekil 3.2: GC sistemine enjekte edilmeye hazır hale getirilen üzüm çekirdeği numunelerinden birisi.

Elde edilen analiz sonuçları neticesinde deneyde kullanılmak üzere belirlenen üzüm çekirdekleri için yukarıdaki yöntem üç tekrar ile yapıldı.

3.3.1.2 Keten tohumunda yağ miktar analizi

Farklı iki satıcıdan temin edilen keten (*Linum usitatissimum* L.) tohumları yabancı maddelerden arındırma işlemi sonrası mekanik öğütücüde toz haline getirildi. Hassas terazi kullanılarak 50'şer gram tartım alınan toz keten tohumu numuneleri Soxhlet ekstraksiyon (Elektromag, Türkiye) düzeneğine yerleştirilmek üzere kartuş içerisine alındı. 350 ml Hekzan ile 180 °C'de 5-6 saat süren ekstraksiyon işlemi sonucunda elde edilen sıvı ekstrakt Rotary evaporatorde 50 °C, 350 mbar basınçta uçurma işlemine tabi tutuldu. Uçurma işlemi sonrası elde edilen Hekzanlı ekstrakt cam şişeler içerisine alındı. (Şekil 3.3)



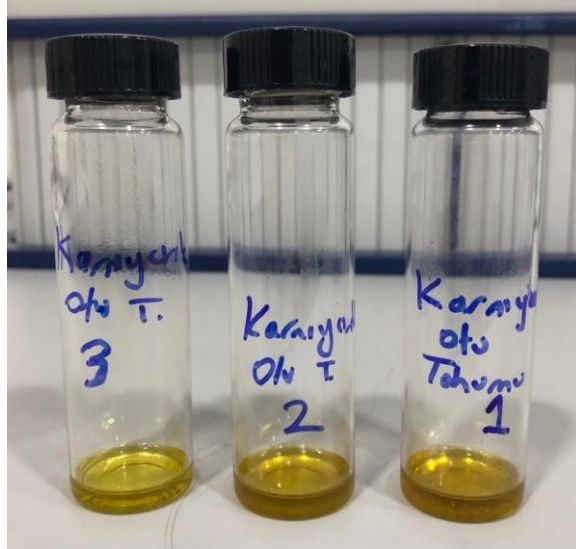
Şekil 3.3: İki farklı keten tohumu numunesinden elde hekzanlı ekstraktlar.

0,5 mL hekzanlı keten tohumu ekstraktlarına 5 mL %10 Metanolik HCl çözeltisi ilave edildi. 180°C de geri soğutucu altında 30 dk transmetile edilerek metil esterleri hazırlandı. 30 dk tamamlandıktan sonra sistemin soğuması beklendi. Bu aşamada soğutucudan ayrılan erlenin kapağının açık bırakılmamasına dikkat edildi. Karışıma önce 5 mL hekzan ilave edildi ve hafifçe çalkalandı. Ortamdaki asidi nötralleştirmek ve ardından bazik hale getirmek için 25 mL %10 luk NaHCO₃ çözeltisi yavaş yavaş çalkalayarak ilave edildi. Tuzun aşırısı da ilave edilerek kuvvetlice çalkalandı. Hekzan fazında bulanıklık kalmayınca kadar 30 dk kadar bekletildi. Üst fazdan alınarak GC sistemine enjekte edildi. Elde edilen analiz sonuçları neticesinde deneyde kullanılmak üzere belirlenen keten tohumları için yukarıdaki yöntem üç tekrar ile yapıldı.

3.3.1.3 Karnıyarık otu tohumunda yağ miktar analizi

Temin edilen karnıyarık otu (*Plantago ovata* L.) tohumları yabancı maddelerden arındırma işlemi sonrası mekanik öğütücüde toz haline getirildi. Hassas terazi kullanılarak 50 gram tartım alınan toz karnıyarık otu tohumu numunesi Soxhlet ekstraksiyon (Elektromag, Türkiye) düzeneğine yerleştirilmek üzere kartuş içerisine alındı. 350 ml Hekzan ile 180 °C'de 5-6 saat süren ekstraksiyon işlemi sonucunda elde edilen sıvı ekstrakt Rotary evaporatorde 50 °C, 350 mmmbar basınçta uçurma işlemine tabi tutuldu. Uçurma işlemi sonrası elde edilen Hekzanlı ekstre cam şişe içerisine alındı.

0,5 mL hekzanlı karnıyarık otu tohumu ekstrelerine 5 mL %10 Metanolik HCl çözeltisi ilave edildi. 180°C de geri soğutucu altında 30 dk transmetile edilerek metil esterleri hazırlandı. 30 dk tamamlandıktan sonra sistemin soğuması beklendi. Bu aşamada soğutucudan ayrılan erlenin kapağının açık bırakılmamasına dikkat edildi. Karışıma önce 5 mL hekzan ilave edildi ve hafifçe çalkalandı. Ortamdaki asidi nötralleştirmek ve ardından bazik hale getirmek için 25 mL %10 luk NaHCO₃ çözeltisi yavaş yavaş çalkalayarak ilave edildi. Tuzun aşırısı da ilave edilerek kuvvetlice çalkalandı. Hekzan fazında bulanıklık kalmayınca kadar 30 dk kadar bekletildi. Üst fazdan alınarak GC sistemine enjekte edildi. Yukarıdaki yöntem üç tekrar ile yapıldı. (Şekil 3.4)



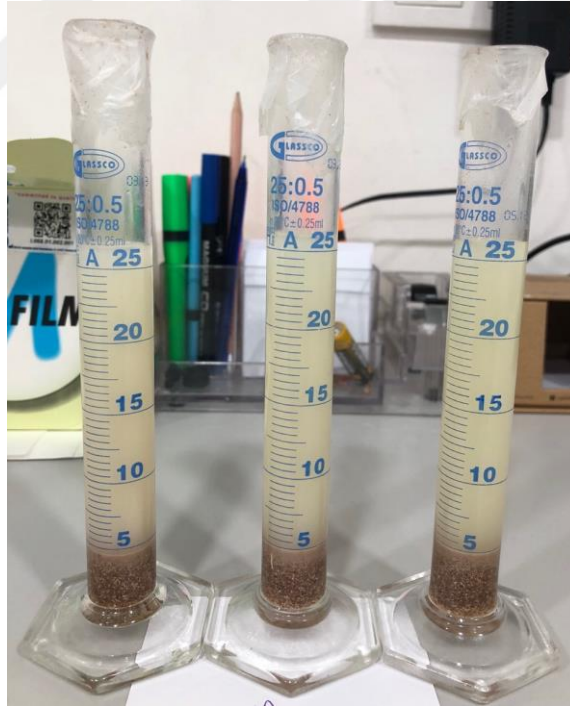
Şekil 3.4: Hekzanlı karnıyarık otu tohumu ekstre eldesinde yapılan üç tekrar.

3.3.2 Şişme indisi tayini

Şişme indisi, 1 g drogun sulu bir sıvıda 4 saat şişmesi sonucu, üzerinde oluşan müsilaj dahil, ölçülen mililitre cinsinden hacmidir.

3.3.2.1 Keten tohumunda şişme indisi tayini

0.5 ml taksimatlı en az 125 +/- 5 mm boyunda derecelendirilmiş cam şilifli 25 ml lik mezürlere bütün halinde ve mekanik öğütücüde toz haline getirilen (Şekil 3.5) 1 g keten (*Linum usitatissimum* L.) tohumu drogları konuldu. Drogların kuru halde iken ilk hacimleri kaydedilmiştir. 1.0 ml etil alkol ile ıslatıldılar ardından 25 ml su ilave edildi. Her 10 dakikada bir kuvvetli bir şekilde çalkalandılar, 1 saat bekletildiler ve 3 saat kendi haline bırakıldılar. Deneyin başlangıcından 90 dk sonra, bütün ve toz keten tohumu droglarının yüzeyinde tutulmuş sıvı ve sıvının üst kısmında yüzen katı drog parçaları, mezür kendi eksenine etrafında döndürülerek karıştırıldı. Keten tohumu drogları tarafından tutulan, müsilaj dahil sıvı hacmi ölçüldü. Aynı anda üç deney yapıldı. Şişme indisi tayini bu üç deneyin ortalaması alınarak verildi.

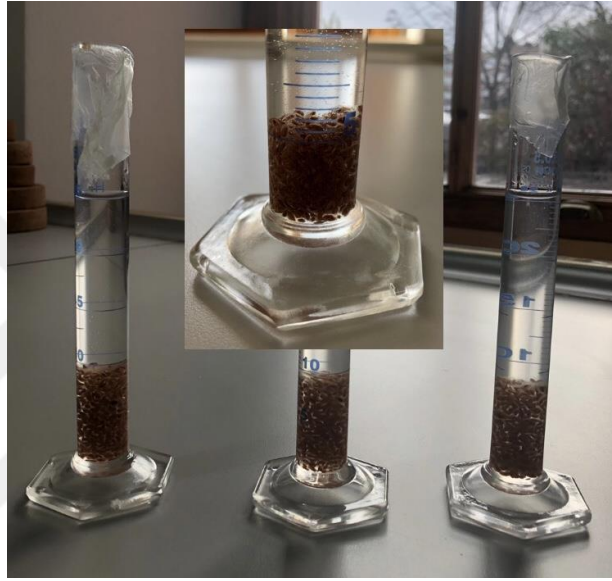


Şekil 3.5: Öğütülmüş keten tohumunda şişme indisi tayini.

3.3.2.2 Karnıyarık otu tohumunda şişme indisi tayini

0.5 ml taksimatlı en az 125 +/- 5 mm boyunda derecelendirilmiş cam şilifli 25 ml lik mezürlere bütün halinde (Şekil 3.6) ve mekanik öğütücüde toz haline getirilen 1 g

karnıyarık otu (*Plantago ovata* L.) tohumu drogları konuldu. Drogların kuru halde iken ilk hacimleri kaydedilmiştir. 1.0 ml etil alkol ile ıslatıldılar ardından 25 ml su ilave edildi. Her 10 dakikada bir kuvvetli bir şekilde çalkalandılar, 1 saat bekletildiler ve 3 saat kendi haline bırakıldılar. Deneyin başlangıcından 90 dk sonra, bütün ve toz karnıyarık otu tohumu droglarının yüzeyinde tutulmuş sıvı ve sıvının üst kısmında yüzen katı drog parçaları, mezür kendi ekseni etrafında döndürülerek karıştırıldı. Karnıyarık otu tohumu drogları tarafından tutulan, müsilaj dahil sıvı hacmi ölçüldü. Aynı anda üç deney yapıldı. Şişme indisi tayini bu üç deneyin ortalaması alınarak verildi.

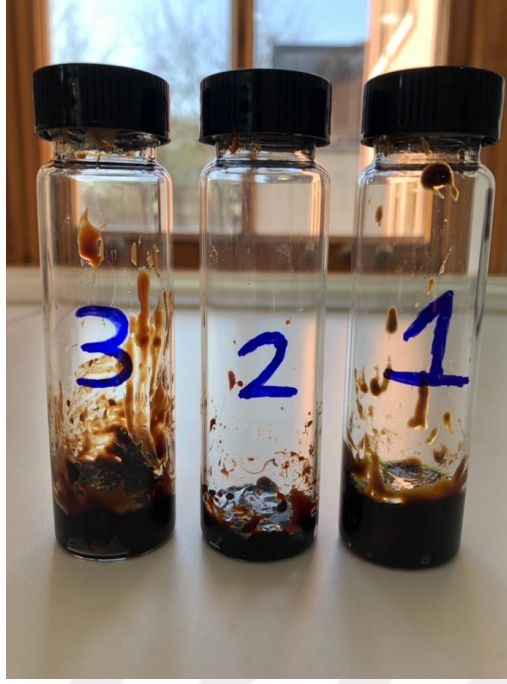


Şekil 3.6: Bütün karnıyarık otu tohumunda şişme indisi tayini.

3.3.3 Üzüm çekirdeği ekstresinin hazırlanması ve fenolik ve flavonoid madde miktar analizi

3.3.3.1 Üzüm çekirdeği ekstresinin hazırlanması

Temin edilen üzüm (*Vitis vinifera* L.) çekirdekleri yabancı maddelerden arındırma işlemi sonrası mekanik öğütücüde toz haline getirildi. Hassas terazi kullanılarak 50'şer gram tartım alınan toz üzüm çekirdeği numuneleri Soxhlet ekstraksiyon (Elektromag, Türkiye) düzeneğine yerleştirilmek üzere kartuş içerisine alındı. Ekstraksiyon için uygun solventi belirlemek amacıyla üç solvent (%100 etil alkol, % 70'lik etil alkol/su ve %50'lik etil alkol/su) kullanıldı. 250 °C'de 5-6 saat süren ekstraksiyon işlemi sonucunda elde edilen sıvı ekstrakt Rotary evaporator'de solventlere uygun sıcaklıklarda ve uygun basınç değerlerinde uçurma işlemine tabi tutuldu. Uçurma işlemi sonucunda elde edilen üzüm çekirdeği kuru ekstreleri Şekil 3.7'de gösterilmektedir.



Şekil 3.7: Farklı solventler kullanılarak elde edilen üzüm çekirdeği kuru ekstraktları: 1) %100 etil alkol, 2) %50'lik etil alkol/su ve 3) % 70'lik etil alkol/su.

Analiz sonucunda ekstraksiyon için belirlenen uygun solvent ile (%50'lik etil alkol/su) deneyde kullanılacak üzüm çekirdeği kuru ekstresi eldesi için yukarıdaki yöntem uygulandı.

3.3.3.2 Üzüm çekirdeği ekstresinde total fenolik ve total flavonoid madde miktar analizi

Üzüm (*Vitis vinifera* L.) çekirdeği kuru ekstresinde total fenolik madde miktarı Folin Ciocalteu Yöntemi (standart madde Gallik Asit; SIGMA ALDRICH) ile ve total flavonoid madde miktarı Alüminyum Klorür Kolorimetrik Yöntemi (standart madde Kersetin; SIGMA ALDRICH) ile bakıldı. Folin Ciocalteu Yöntemi için UV-VIS Spektrofotometre cihazı kullanıldı. Numune için gerekli seyreltme işlemi yapıldıktan sonra test çözeltisi 104 μL saf su, 8 μL numune, 8 μL FCR ve 80 μL %7'lik Na_2CO_3 ile hazırlandı. Test çözeltisi 90 dk karanlıkta bekletildi. Alüminyum Klorür Kolorimetrik Yöntemi için UV-VIS Spektrofotometre cihazı kullanıldı. Numune için gerekli seyreltme işlemi yapıldıktan sonra test çözeltisi 134 μL saf su, 20 μL numune, 6 μL %10'luk AlCl_3 ve 40 μL $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ile hazırlandı. Test çözeltisi 10 dk karanlıkta bekletildi. Analiz üç tekrar yapılarak ortalaması alındı.

3.3.3.3 Üzüm çekirdeği ekstresinde fenolik bileşik miktar tayini

Üzüm (*Vitis vinifera* L.) çekirdeği kuru ekstresinde fenolik bileşik miktar tayini için Sıvı Kromatografi-Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometre (LC-HRMS) cihazı kullanıldı. Ekstre MeOH-su içinde çözüldü üzerine 100 mg/L'lik internal standart çözeltisinden nihai derişimi 3 ppm olacak şekilde eklendi. Numune 0.45 µ filtreden geçirilerek cihaza 2 µ ilave edildi.

Tablo 3.2: Fenolik bileşik miktar tayini için HPLC ve MS şartları.

HPLC Şartları (Yüksek performanslı sıvı kromatografisi)			MS Şartları (Kütle spektrometresi)		
Mobil Faz A:	%1 Formik Asit -H ₂ O		Sistem:	Thermo ORBİTRAP Q-EXACTIVE	
Mobil Faz B:	%1 Formik Asit -MeOH		İyon Kaynağı:	ESI	
Kolon:	Troyasil C18 HS –150 x 3 mm 5 µ		Kütle Tarama Aralığı:	100-900 m/z	
Gradient:	Time	Flow (mL/min)	%	Sheat gas flow rate:	45
	B			Aux gas flow rate:	10
	0.00	0.35	50	Sprey voltage (kV):	3.80
	1.00	0.35	50	Capillary temp. (°C):	320
	3.00	0.35		Aux gas heater temp (°C):	320
	100			S-lens RF level:	50.0
6.00	0.35		Tanımlamalar:	İLMER Kütüphanesi	
100					
7.00	0.35	50			
15.00	0.35	50			

3.3.4 Zerdeçal ekstresinde kurkumin miktar analizi

10 mg zerdeçal (*Curcuma longa* L.) ekstresi 10 mL Methanol ile 10 dakika ultrasonic banyoda bekletilerek çözüldü. Hazırlanan çözeltiden 100 µl alınarak 10 mL mobilfaz karışımına seyreltildi. Kurkumin miktarına HPLC-PDA Yöntemi (standart madde Curcumin; SIGMA ALDRICH) ile bakıldı. HPLC-PDA Yöntemi için PERKIN ELMER - FLEXAR PDA Plus Dedector HPLC-PDA cihazı kullanıldı. Yöntem bilgileri Tablo 3.3'te gösterilmektedir.

Tablo 3.3: Kurkumin analiz yöntem bilgileri.

Kurkumin Analiz Yöntem Bilgileri	
Yöntem	HPLC-PDA
Cihaz	PERKIN ELMER - FLEXAR PDA Plus Dedector HPLC-PDA
Standart Madde (Kurkumin)	SIGMA ALDRICH Assay; $\geq 99,5\%$ (HPLC) (2-8°C) 78246-100mg; CAS 458-37-7 C21H20O6; 368.38g/mol
Kolon	Perkin Elmer N9303514-ser13120620T COL-Analytical C18; Particle size:5 μ m; Column Length:250; Inside Diameter:4,6 mm (5 μ m, 250x4.6 mm)
Dalga Boyu	425 nm
Enjeksiyon (μL)	10
Fırın Sıcaklığı (°C)	35
Zaman (dk)	15
Akış (mL/dk)	0.500
Mobil Faz	% 60 ACN : %40 H2O %2 Acetic acid /1L (İzokratik)

3.3.5 Müdahale dozlarının belirlenmesi ve ön hazırlık

Deneysel çalışmada kullanılmak üzere toz haldeki gıda kalitesindeki bentonit kili Alya Mineral firmasından temin edilmiş, Gershkovich ve ark. (2009) araştırması ve 2012 yılı EFSA raporu temel alınarak müdahale dozu her bir fare için 60 mg/gün olarak belirlenmiştir. Herhangi bir işleme tabi tutulmayan gıda kalitesindeki bentonit kili aşağıda belirtilen çalışma gruplarına oral gavaj olarak uygulanmıştır [313,483].

Deneysel çalışmada kullanılmak üzere keten (*Linum usitatissimum* L.) tohumları aktardan temin edilmiş ve Pan ve ark. (2009) tarafından derlenen meta analiz temel alınarak müdahale dozu her bir fare için 7 mg/gün olarak belirlenmiştir. Ön hazırlık için keten tohumları mekanik öğütücüde toz haline getirildi, aşağıda belirtilen çalışma gruplarına oral gavaj olarak uygulandı [484].

Deneysel çalışmada kullanılmak üzere üzüm (*Vitis vinifera* L.) çekirdeği aktardan temin edilmiştir. Üzüm çekirdeği kuru ekstresi hazırlandı ve çeker ocakta 48 saat bekletilen ekstre deneyde kullanılmak üzere toz hale getirildi. 2016 yılı EFSA raporu temel alınarak müdahale dozu her bir fare için 2.5 mg/gün olarak belirlendi, aşağıda belirtilen çalışma gruplarına oral gavaj olarak uygulandı [485].

Deneysel çalışmada kullanılmak üzere zerdeçal (*Curcuma longa* L.) ekstresi Fitovizyon Doğal Ürünler firmasından temin edilmiştir. Qinna ve ark. (2012) çalışması temel alınarak müdahale dozu her bir fare için 2 mg/gün olarak belirlenmiş olup aşağıda belirtilen çalışma gruplarına oral gavaj olarak uygulandı [486].

Deneysel çalışmada kullanılmak üzere karnıyarık otu (*Plantago ovata* L.) tohumları aktardan temin edilmiş ve Wei ve ark. (2008) tarafından derlenen meta analiz temel alınarak müdahale dozu her bir fare için 7 mg/gün olarak belirlenmiştir. Ön hazırlık için karnıyarık otu tohumları mekanik öğütücüde toz haline getirildi, aşağıda belirtilen çalışma gruplarına oral gavaj olarak uygulandı [487].

3.3.6 Çalışma grupları

Ortalamalar arasındaki fark 4.77 birim ve standart sapma 3.52 alındığında %95 güven düzeyi ve $\alpha = 0.05$ anlamlılık seviyesinde %80 güç için örneklem büyüklüğü her bir grup için 6 deney hayvanı, toplam $n = 54$ olarak belirlenmiştir. Deneyde kullanılan 54 yetişkin erkek Swiss albino fare dokuz gruba ayrıldı ($n= 6$). Çalışma grupları ve müdahale dozları aşağıda gösterilmektedir:

- a) Kontrol grubu
- b) Hiperkolesterolemik grup
- c) Referans madde grubu: Hiperkolesterolemik hayvanlara 10 mg/kg Atorvastatin verildi.
- d) Grup 1: Hiperkolesterolemik hayvanlara 60 mg/gün gıda kalitesindeki bentonit kili verildi.
- e) Grup 2: Hiperkolesterolemik hayvanlara 60 mg/gün gıda kalitesindeki bentonit kili + 7 mg/gün öğütülmüş keten tohumu + 2,5 mg/gün üzüm çekirdeği ekstresi + 2 mg/gün zerdeçal ekstresi verildi.
- f) Grup 3: Hiperkolesterolemik hayvanlara 60 mg/gün gıda kalitesindeki bentonit kili + 7 mg/gün öğütülmüş karnıyarık otu tohumu + 2,5 mg/gün üzüm çekirdeği ekstresi + 2 mg/gün zerdeçal ekstresi verildi.
- g) Grup 4: Hiperkolesterolemik hayvanlara 60 mg/gün gıda kalitesindeki bentonit kili + 2,5 mg/gün üzüm çekirdeği ekstresi + 2 mg/gün zerdeçal ekstresi verildi.

- h) Grup 5: Hiperkolesterolemik hayvanlara 7 mg/gün öğütülmüş keten tohumu verildi.
- i) Grup 6: Hiperkolesterolemik hayvanlara 7 mg/gün öğütülmüş karnıyarık otu tohumu verildi.



Şekil 3.8: Grup 2 için müdahale öncesi ön hazırlık.



Şekil 3.9: Grup 3 için müdahale öncesi ön hazırlık.



Şekil 3.10: Grup 4 için müdahale öncesi ön hazırlık.

3.3.7 Hiperkolesterolemi oluşturulması ve müdahale

Deney hayvanlarına 30 gün boyunca %1 kolesterol içeren pellet yem uygulaması ile hiperkolesterolemi oluşturuldu. Test grubunda yer alan farelere (kontrol grubu hariç) eş zamanlı olarak test materyalleri uygulandı. 30 günlük deney süresi sonunda tüm gruplardaki farelerden biyokimyasal tayinler için intrakardiyak olarak kan örnekleri ve karaciğer dokusu alındı. Süre bitiminde deney hayvanlarından alınan kan ve doku örneklerinde;

- a) Total kolesterol (TC), HDL kolesterol (HDL-C), LDL kolesterol (LDL-C) ve Trigliserit (TG) değerlerine
- b) Glukoz, Aspartat aminotransferaz (AST), Alanin aminotransferaz (ALT), Malondialdehit (MDA), Plazma toplam antioksidan aktivite (TAA), Nitrik asit düzeylerine
- c) Glutasyon (GSH), Glutasyon peroksidaz (GPx), Lipit peroksidasyon (LPO), Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) değerlerine
- d) Leptin düzeylerine

bakıldı.

Serum yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-C) seviyeleri, apolipoprotein B içeren lipoproteinlerin fosfotungstik asit ve magnezyum klorür ile çöktürülmesi ile Crescent Diagnostics Kolesterol Test Kiti kullanılarak belirlendi. Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL-C) kolesterol içeriği, Friedwald denklemi kullanılarak belirlendi. Alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) seviyeleri Teco Diagnostics test kiti ticari kitleri kullanılarak belirlendi. Serum total protein, trigliserit ve kolesterol değerleri, ticari olarak temin edilen kitler (TECO Diagnostics, California, ABD) kullanılarak enzimatik yöntemlerle ölçüldü. Malondialdehit (MDA), MDA'nın tiyobarbitürik asit ile bağlanmasına dayanan Draper ve Hardley'in (1990) yöntemine göre ölçüldü. Standart Fe-EDTA kompleksi çözeltisi, Fenton tipi bir reaksiyonla hidrojen peroksit ile reaksiyona girerek hidroksil radikallerinin (\bullet OH) oluşumuna yol açar. Bu reaktif oksijen türleri, benzoatı parçalayarak TBARS'ın salınmasına neden olur. Antioksidanlar, TBARS üretiminin baskılanmasına neden olur. TAA olarak tanımlanan renk oluşumunun inhibisyonu spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanan plazma toplam antioksidan aktivite (TAA) testi Koracevic ve arkadaşlarının (2001) yöntemine göre ölçüldü. Nitrik oksit metabolitleri (nitratlar + nitritler, NO_x)

plazmada Griess'in kolorimetrik yöntemiyle test edildi (Miranda ve diğerleri, 2001). Plazma leptin konsantrasyonu, enzim kiti (Cat. EZRL-83K) kullanılarak ELISA (Linco Research, Inc, St. Charles, ABD) yöntemi ile belirlendi [488,489,490].

3.3.8 Serumda lipid peroksidasyon seviyesinin ölçülmesi

Serumda lipid peroksidasyon seviyesinin ölçümü için Kurtel ve ark. (1992) tarafından yapılan yöntem kullanıldı. Bu yöntemde 1 mL serum 2 mL trikloroasetik asit (TCA; %15)-tiyobarbitürik asit (TBA; %0.375), 0.25 N HCl karıştırıldı ve 10.000g'de 5 dakika boyunca santrifüj edildi. Süpernatant kısım ayrıldıktan sonra oksidasyonu önlemek için 20 µL bütilhidroksitoluen (BHT) ile karıştırıldı ve 15 dk boyunca sıcak su banyosunda bekletildi. Akan su altında soğuttuktan sonra, çöken kısım 5 dk boyunca 10.000g'de santrifüj edilerek ayrıldı. Daha sonra örneğin absorbanansı köre karşı 532 nm'de ölçüldü [491].

3.3.9 Karaciğer dokusunda antioksidan parametrelerin belirlenmesi

Enzimatik olmayan antioksidan olan indirgenmiş glutatyon (GSH) parametresi Sedlak ve Lindsay (1968)'in yöntemiyle; GPx parametresi Paglia ve Valentine (1967)'in yöntemiyle; enzimatik antioksidan - süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi Misra ve Fridovich (1972) tarafından geliştirilen yöntemle; Katalaz (CAT) aktivite testi, Takahara ve diğerleri (1960) tarafından belirlenen yöntemle; dokulardaki lipid peroksit (LPO) içeriği Ohkawa ve ark.'nın (1979) yöntemine göre belirlendi [492-496].

3.3.10 Gastrik ülserojenik etki

Test numunelerinin 30 gün gibi uzun bir zaman diliminde uygulanması nedeniyle mide hasarı için potansiyel riskler değerlendirildi. Bu amaçla hipokolesterolemik aktivite deneyi tamamlandıktan sonra fareler yüksek doz anestezik kullanılarak öldürüldü ve mideleri çıkarıldı. Midede gelişebilecek lezyon veya kanamaların belirlenmesi için diseksiyon mikroskopu altında incelendi.

3.3.11 Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi

Deney sonuçları Ortalama Standart Hata \pm SEM olarak ifade edildi. Test numunelerinin incelenen parametreler üzerindeki etkisi hiperkolesterolemik grupta elde edilen sonuçlar ile karşılaştırılarak istatistiksel farklılıklar, ANOVA ve Student-Newman-

Keuls post-hoc testleri ile değerlendirildi. $p < 0,05$ değerindeki fark anlamlı olarak kabul edildi [* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$].

3.3.12 Çalışma dışı bırakılma kriterleri

- a) Davranışsal değişiklikler, tüylerin dikleşmesi, kambur pozisyon alma, kusma, ishal, sekonder deri lezyonlarının oluşması
- b) Hayvanların deney süresinde kaybedilmesi (ex olması)

Yukarıda belirtilen kriterler arasında yer alan hiçbir negatif bulguya rastlanmadığı için çalışmaya dahil edilen hiçbir hayvan deney dışı bırakılmamıştır.



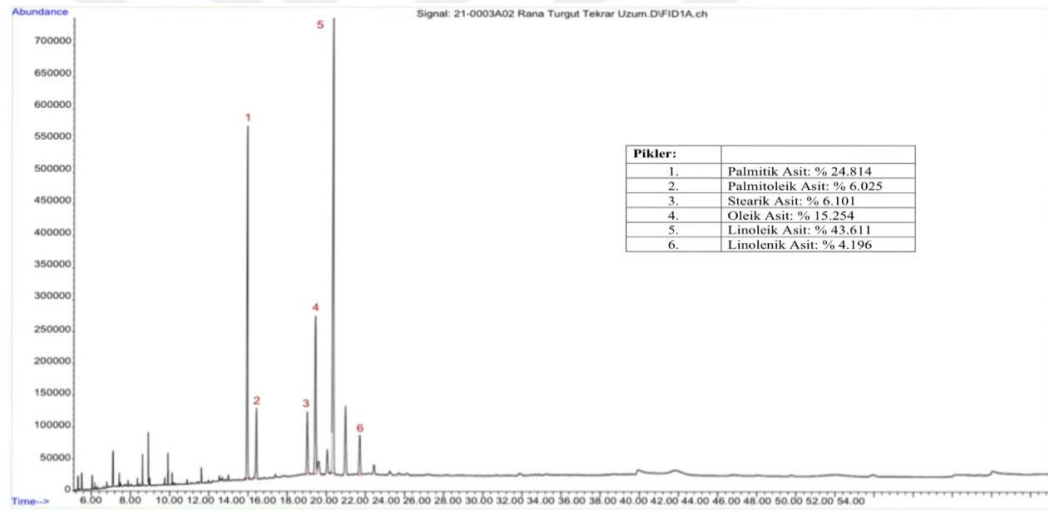
4. BULGULAR

4.1 Yağ Miktar Analizine Ait Bulgular

4.1.1 Üzüm çekirdeğinde yağ miktar analizine ait bulgular

Üzüm (*Vitis vinifera* L.) çekirdeği yağ miktar analizi için elde edilen hekzanlı ekstrelerde verim % 9,4 olarak ölçülmüştür.

Üzüm çekirdeğindeki sabit yağların yağ asidi bileşenleri ve bağlı yüzdelere ait bulgular aşağıdaki kromatogram üzerinde gösterilmektedir. (Şekil 4.1)



Şekil 4.1: Üzüm çekirdeği sabit yağ kromatogramı.

Tekrarlarda benzer sonuçlar elde edilmiş olup aşağıdaki tabloda ortalama değerler gösterilmiştir. (Tablo 4.1)

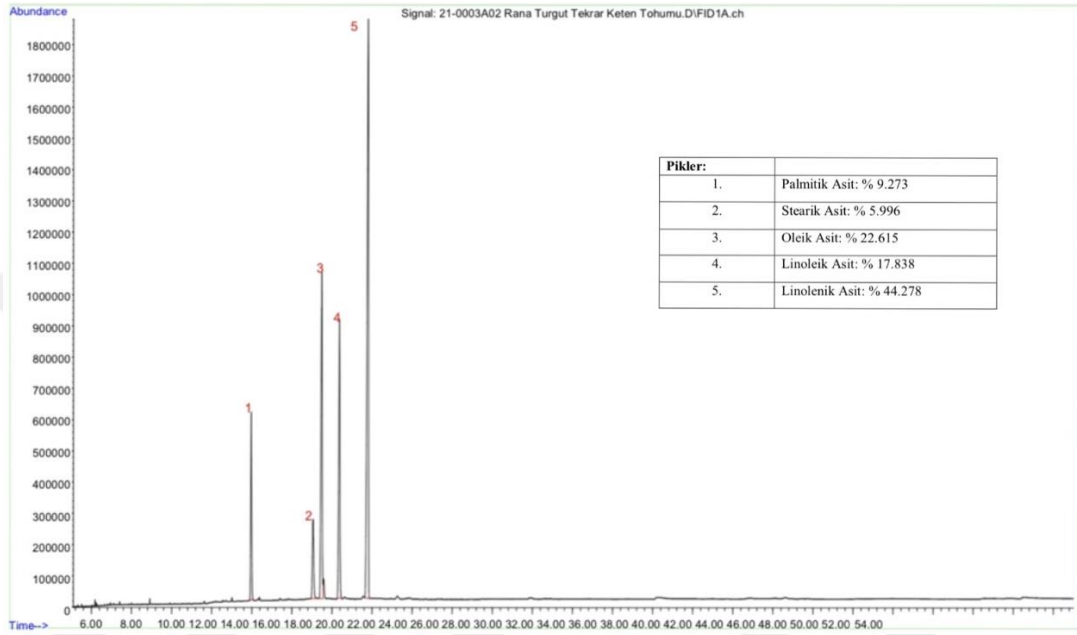
Tablo 4.1: Üzüm çekirdeğinde sabit yağ analizine ait sonuçlar.

	Palmitik Asit	Palmitoleik Asit	Stearik Asit	Oleik Asit	Linoleik Asit	Linolenik Asit
1.	%24,81	%6,02	%6,10	%15,26	%43,61	%4,20
2.	%20,04	%2	%4,80	%18,76	%52	%2,40
3.	%21,12	%4,95	%3,65	%17,47	%49,01	%3,80
Ortalama	%21,99	%4,32	%4,85	%17,16	%48,20	%3,46
Standart Sapma	± 2,50	± 2,08	± 1,22	± 1,77	± 4,25	± 0,94

4.1.2 Keten tohumunda yağ miktar analizine ait bulgular

Keten (*Linum usitatissimum* L.) tohumunda yağ miktar analizi için elde edilen hekzanlı ekstrelerde verim % 15,3 olarak ölçülmüştür.

Keten tohumundaki sabit yağların yağ asidi bileşenleri ve bağıl yüzdelerine ait bulgular aşağıdaki kromatogram üzerinde gösterilmektedir. (Şekil 4.2)



Şekil 4.2: Keten tohumu sabit yağ kromatogramı.

Tekrarlarda benzer sonuçlar elde edilmiş olup aşağıdaki tabloda ortalama değerler gösterilmiştir. (Tablo 4.2)

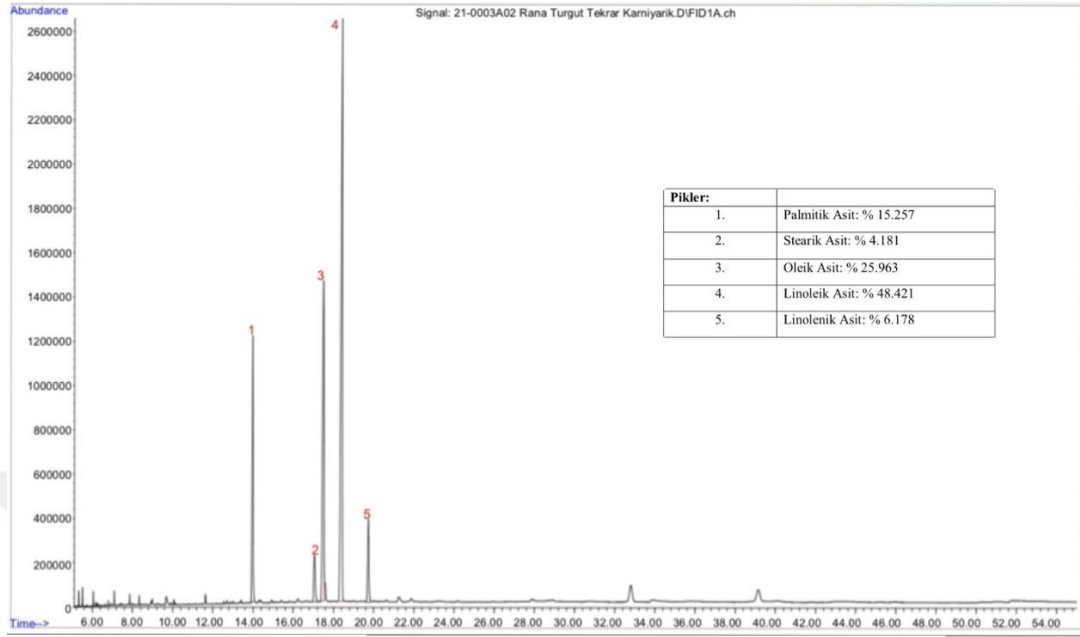
Tablo 4.2: Keten tohumunda sabit yağ analizine ait sonuçlar.

	Palmitik Asit	Stearik Asit	Oleik Asit	Linoleik Asit	Linolenik Asit
1.	%9,27	%6	%22,61	%17,84	%44,28
2.	%8,53	%3,89	%22,88	%17,07	%47,63
3.	%9,78	%3,34	%26,46	%16,98	%43,44
Ortalama	%9,19	%4,41	%23,98	%17,29	%45,11
Standart Sapma	± 0,62	± 1,40	± 2,14	± 0,47	± 2,21

4.1.3 Karnıyarık otu tohumunda yağ miktar analizine ait bulgular

Karnıyarık otu (*Plantago ovata* L.) tohumunda yağ miktar analizi için elde edilen hekzanlı ekstrelerde verim % 2,3 olarak ölçülmüştür.

Karniyarik otu tohumundaki sabit yağların yağ asidi bileşenleri ve bağıl yüzdelere ait bulgular aşağıdaki kromatogram üzerinde gösterilmektedir. (Şekil 4.3)



Şekil 4.3: Karniyarik otu tohumu sabit yağ kromatogramı.

Tekrarlarda benzer sonuçlar elde edilmiş olup aşağıdaki tabloda ortalama değerler gösterilmiştir. (Tablo 4.3)

Tablo 4.3: Karniyarik otu tohumunda sabit yağ analizine ait sonuçlar.

	Palmitik Asit	Stearik Asit	Oleik Asit	Linoleik Asit	Linolenik Asit
1.	% 15,26	% 4,18	% 25,96	% 48,42	% 6,18
2.	% 16,07	% 3,86	% 26,34	% 47,76	% 5,97
3.	% 17,14	% 2,21	% 31,45	% 43,44	% 5,76
Ortalama	% 16,15	% 3,41	% 27,91	% 46,54	% 5,97
Standart Sapma	± 0,94	± 1,05	± 3,06	± 2,70	± 0,21

4.2 Şişme İndisi Tayinine Ait Bulgular

4.2.1 Keten tohumunda şişme indisi tayinine ait bulgular

Şişme indisi Avrupa Farmakopesi'ne göre yapılmıştır. Hem öğütülmüş hem de bütün haldeki keten (*Linum usitatissimum* L.) tohumları için paralel yapılan üç deney ortalaması ve sonuç ortalaması Tablo 4.4'te sunulmuştur. Farmakopede keten tohumu için şişme indisinin en az 4 olması gerektiği belirtilmiştir.

Tablo 4.4: Keten tohumunda şişme indisi tayini.

Bütün Keten Tohumu		Öğütülmüş Keten Tohumu	
1.	3,8 ml (ort.)	1.	4,5 ml (ort.)
2.	3,9 ml (ort.)	2.	4,8 ml (ort.)
3.	3,7 ml (ort.)	3.	4,8 ml (ort.)
Ortalama: 3,8 ml (\pm 0,1)		Ortalama: 4,7 ml (\pm 0,17)	

4.2.2 Karnıyarık otu tohumunda şişme indisi tayinine ait bulgular

Şişme indisi Avrupa Farmakopesi'ne göre yapılmıştır. Hem öğütülmüş hem de bütün haldeki karnıyarık otu (*Plantago ovata* L.) tohumları için paralel yapılan üç deney ortalaması ve sonuç ortalaması Tablo 4.5'te sunulmuştur. Farmakopede karnıyarık otu tohumu için şişme indisinin en az 10 olması gerektiği belirtilmiştir.

Tablo 4.5: Karnıyarık otu tohumunda şişme indisi tayini.

Bütün Karnıyarık Otu Tohumu		Öğütülmüş Karnıyarık Otu Tohumu	
1.	9,5 ml (ort.)	1.	18,3 ml (ort.)
2.	9,8 ml (ort.)	2.	17,4 ml (ort.)
3.	8,7 ml (ort.)	3.	17,7 ml (ort.)
Ortalama: 9,3 ml (\pm 0,56)		Ortalama: 17,8 ml (\pm 0,45)	

4.3 Üzüm Çekirdeği Ekstresinde Total Fenolik ve Total Flavonoid Madde Miktar Analizine Ait Bulgular

Farklı solventler (%100 etil alkol, % 70'lik etil alkol/su ve %50'lik etil alkol/su) kullanılarak elde edilen üzüm (*Vitis vinifera* L.) çekirdeği ekstrelerindeki total fenolik ve flavonoid madde miktarı ve ekstre eldesindeki verim yüzdeleri Tablo 4.6'da gösterilmektedir

Tablo 4.6: Farklı solventler ile elde edilen üzüm çekirdeği ekstrelerine ait total fenolik ve flavonoid madde miktarları.

	Fenolik Madde Miktarı	Flavonoid Madde Miktarı	Verim
%100 etil alkol/su	% 18,3	% 0,75	% 13,7
%50'lik etil alkol/su	% 29,1	% 1,2	% 8,6
%70'lik etil alkol/su	% 25,7	% 1,2	% 15,9

Nihai solvent (%50'lik etil alkol/su) kullanılarak elde edilen üzüm çekirdeği ekstresinde, üç tekrarlı total fenolik ve flavonoid madde miktarı analizi ile sonuç ortalamasında fenolik madde miktarı %24,6 ve flavonoid madde miktarı %1,48 olarak bulunmuştur. (Tablo 4.7)

Tablo 4.7: Nihai solvent (%50'lik etil alkol/su) kullanılarak elde edilen üzüm çekirdeği ekstreslerine ait total fenolik ve flavonoid madde miktarları.

	Total fenolik madde miktarı	Total flavonoid madde miktarı
1.	%29,1	%1,2
2.	%18,39	%1,92
3.	%26,45	%1,34
Ortalama	%24,64	%1,48
Standart Sapma	± 5,57	± 0,38

4.3.1 Üzüm çekirdeği ekstresinde fenolik bileşik miktar tayinine ait bulgular

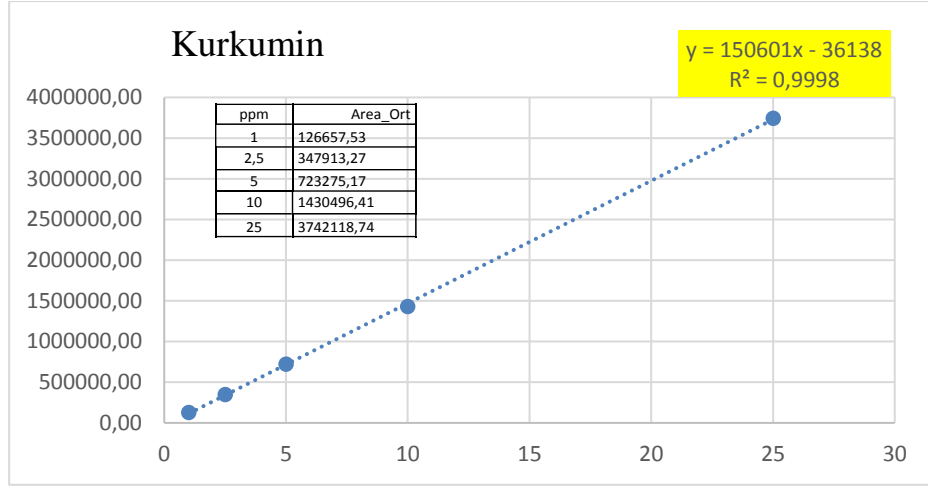
Üzüm (*Vitis vinifera* L.) çekirdeği ekstresindeki fenolik madde miktarı tayinine ait analiz sonuçları Tablo 4.8'de gösterilmektedir.

Tablo 4.8: Üzüm çekirdeği ekstratında tayin edilen fenolik % bileşenleri.

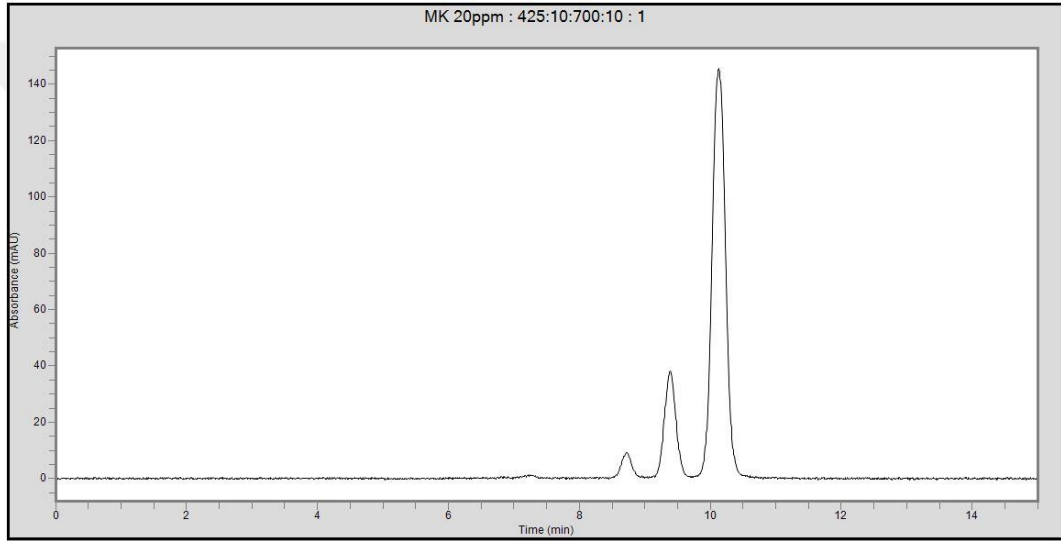
Fenolik bileşenler	% bileşenler
Chlorogenic acid	3.58
Fumaric acid	2.88
(-)-Epicatechin gallate	3.05
Caffeic acid	3.74
Vanilic acid	3.49
Luteolin 7-glucoside	4.14
Resveratrol	2.87
Apigenin 7-glucoside	3.59
Quercetin	2.95
Luteolin	3.42
Apigenin	2.87

4.4 Zerdeçal Ekstresinde Kurkumin Miktar Analizine Ait Bulgular

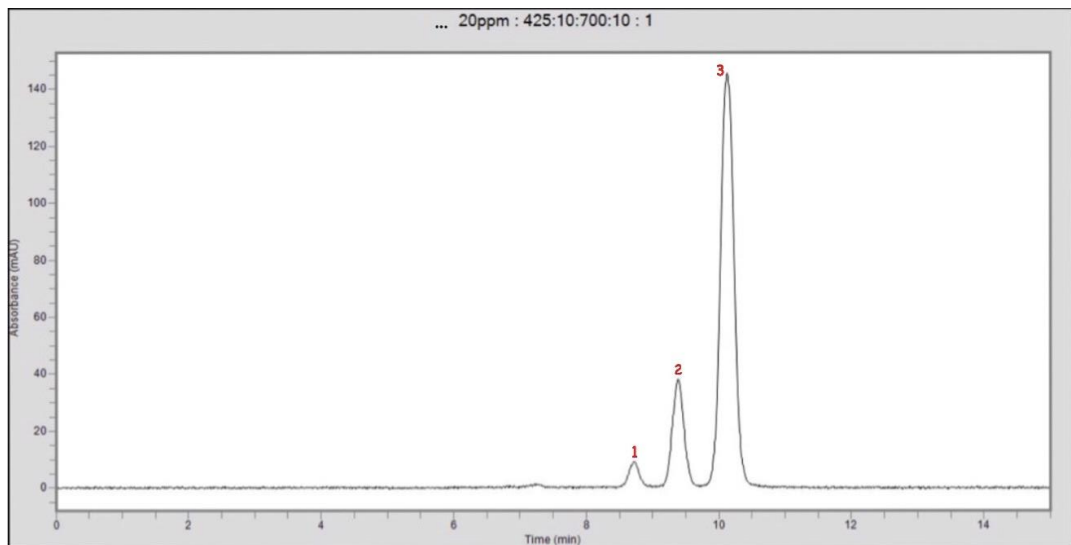
Zerdeçal (*Linum usitatissimum* L.) ekstresinde kurkumin miktar analizini için kullanılan kalibrasyon eğrisi (Şekil 4.4), standart maddenin kromatogramı (Şekil 4.5) ve çalışmada kullanılan ekstrenin kurkumin analiz sonucuna ait kromatogram (Şekil 4.6) aşağıda gösterilmektedir.



Şekil 4.4: Kalibrasyon eğrisi.



Şekil 4.5: Standart maddenin (kurkumin) kromatogramı.



Şekil 4.6: Çalışmada kullanılan zerdeçal ekstresinde kurkumin miktar analizi HPLC kromatogramı 1.Pik: bisdemethoxycurcumin, 2.Pik: demethoxycurcumin, 3. Pik: curcumin.

Numune standart kurkumin maddesi ile aynı koşullarda denenmiş ve aynı alıkonma süresinde çıkan pikin alanlarından miktarlar hesaplanmıştır. Sonuçta çalışmada kullanılan zerdeçal ekstresinin %95 oranında kurkumin içerdiği gösterilmiştir.

4.5 İn-Vivo Deneye Ait Bulgular

Çalışmamızda, yüksek kolesterolü diyetle beslenen farelerin normal diyetle beslenen farelere göre daha yüksek serum toplam kolesterol konsantrasyonuna sahip olduğu belirlenmiştir. Test materyallerinin serum TC, HDL-C ve LDL-C ve TG seviyeleri üzerindeki etkileri Tablo 4.9’da gösterilmektedir.

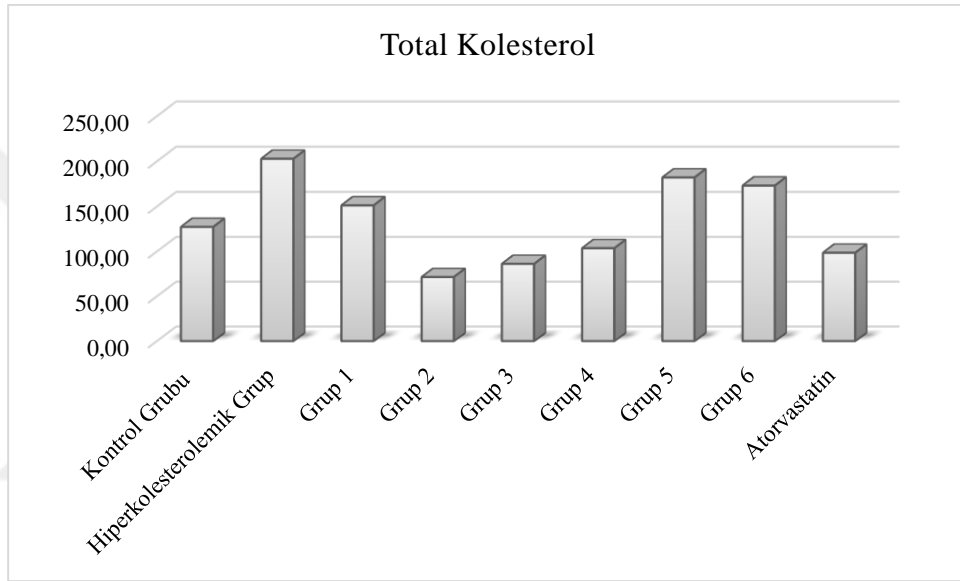
Tablo 4.9: Test materyallerinin serum Total-, HDL-, and LDL-kolesterol ve Trigliserit seviyeleri üzerindeki etkileri.

Materyal	Total Kolesterol (mg/dl) (%)	HDL-C (mg/dl) (%)	LDL-C (mg/dl) (%)	Trigliserit (mg/dl) (%)
<i>Kontrol grubu</i>	127.3±11.6	24.7±1.5	80.7±16.9	116.9±21.3
<i>Hiperkolesterolemik grup</i>	202.8±14.7 [#]	20.1±1.2	153.6±21.5	171.4±18.1
<i>Grup 1</i>	151.2±19.3 (-25.4)	26.7±1.5 (+24.7)	172.6±20.3 (+12.4)	193.6±21.9 (+12.9)
<i>Grup 2</i>	71.4±9.5** (-64.8)	34.0±1.7* (+40.8)	58.2±17.1** (-62.1)	58.1±12.7** (-66.1)
<i>Grup 3</i>	86.1±7.9** (-57.5)	39.4±1.7** (+48.9)	60.3±6.2** (-60.7)	63.9±14.1** (-62.7)
<i>Grup 4</i>	103.6±11.8* (-48.9)	30.6±2.4* (+34.3)	81.7±12.9* (-46.8)	91.7±9.4* (-46.5)
<i>Grup 5</i>	182.1±23.4 (-10.2)	29.1±2.2* (+30.9)	119.5±13.7 (-22.2)	103.1±9.7 (-39.8)
<i>Grup 6</i>	173.1±12.5 (-14.6)	23.4±1.9 (+14.1)	159.1±17.3 (+3.6)	118.2±13.5 (-31.0)
<i>Atorvastatin (10 mg/kg)</i>	98.5±12.7* (-51.4)	40.3±1.1** (+50.1)	68.2±13.5** (-55.6)	79.2±11.0* (-53.8)

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (Hiperkolesterolemik gruba göre anlamlılık); #: $p < 0.05$ (Kontrol grubuna göre anlamlılık)

(**Grup 1:** 60 mg/gün gıda bentoniti; **Grup 2:** 60 mg/gün gıda bentoniti + 7 mg/gün öğütülmüş keten tohumu + 2,5 mg/gün üzüm çekirdeği ekstresi + 2 mg/gün zerdeçal ekstresi; **Grup 3:** 60 mg/gün gıda bentoniti + 7 mg/gün öğütülmüş karnıyarık otu tohumu + 2,5 mg/gün üzüm çekirdeği ekstresi + 2 mg/gün zerdeçal ekstresi; **Grup 4:** Hiperkolesterolemik hayvanlara 60 mg/gün gıda bentoniti + 2,5 mg/gün üzüm çekirdeği ekstresi + 2 mg/gün zerdeçal ekstresi; **Grup 5:** 7 mg/gün öğütülmüş keten tohumu; **Grup 6:** 7 mg/gün öğütülmüş karnıyarık otu tohumu)

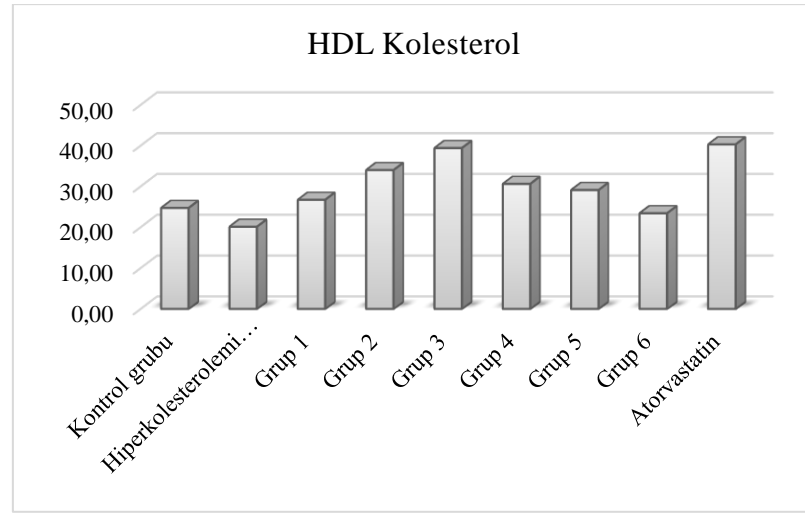
Çalışılan test materyallerinden Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'ün yüksek kolesterol diyeti ile beslenen farelerde mide yüzeyinde herhangi bir ülserojenik etkiye neden olmadan serum total kolesterol konsantrasyonunu sırasıyla %64,8, %57,5 ve %48,9 oranında azalttığı tespit edilmiştir. Grup 2 ve Grup 3'ten elde edilen kan örneklerinde total kolesterol seviyeleri hiperkolesterolemik gruba kıyasla anlamlı ölçüde daha düşük bulunmuştur. ($p < 0.01$) Grup 4'ten elde edilen total kolesterol seviyeleri hiperkolesterolemik gruba kıyasla anlamlı olmakla beraber anlamlılık düzeyi Grup 2 ve Grup 3'e göre ($p < 0.05$) daha düşüktür.* (Şekil 4.7)



Şekil 4.7: Hiperkolesterolemik grupla kıyaslanan total kolesterol değerleri.

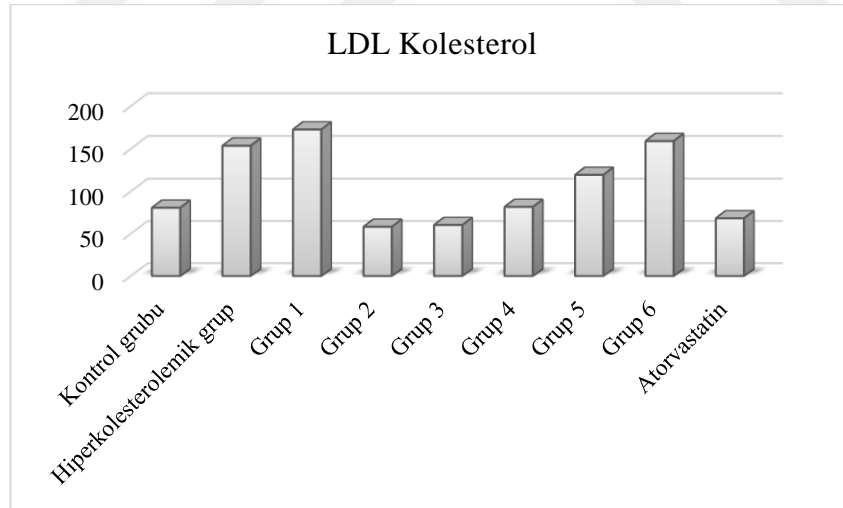
Tablo 4.9'da gösterildiği gibi, çalışılan tüm test numunelerinin, serum HDL-C seviyesinde bir miktar artan aktivite gösterdiği, ancak Grup 2, Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'te bu anlamlılığın daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Grup 3'ten elde edilen kan örneklerinde HDL-C seviyeleri hiperkolesterolemik gruba kıyasla anlamlı ölçüde daha yüksek bulunmuştur ($p < 0.01$). Grup 2, Grup 4 ve Grup 5'ten elde edilen HDL-C seviyeleri hiperkolesterolemik gruba kıyasla anlamlı olmakla beraber anlamlılık düzeyi Grup 3'e göre ($p < 0.05$) daha düşüktür. (Şekil 4.8)

* **Grup 1:** 60 mg/gün gıda bentoniti; **Grup 2:** 60 mg/gün gıda bentoniti + 7 mg/gün öğütülmüş keten tohumu + 2,5 mg/gün üzüm çekirdeği ekstresi + 2 mg/gün zerdeçal ekstresi; **Grup 3:** 60 mg/gün gıda bentoniti + 7 mg/gün öğütülmüş karnıyarık otu tohumu + 2,5 mg/gün üzüm çekirdeği ekstresi + 2 mg/gün zerdeçal ekstresi; **Grup 4:** Hiperkolesterolemik hayvanlara 60 mg/gün gıda bentoniti + 2,5 mg/gün üzüm çekirdeği ekstresi + 2 mg/gün zerdeçal ekstresi; **Grup 5:** 7 mg/gün öğütülmüş keten tohumu; **Grup 6:** 7 mg/gün öğütülmüş karnıyarık otu tohumu



Şekil 4.8: Hiperkolesterolemik grupla kıyaslanan HDL kolesterol değerleri.

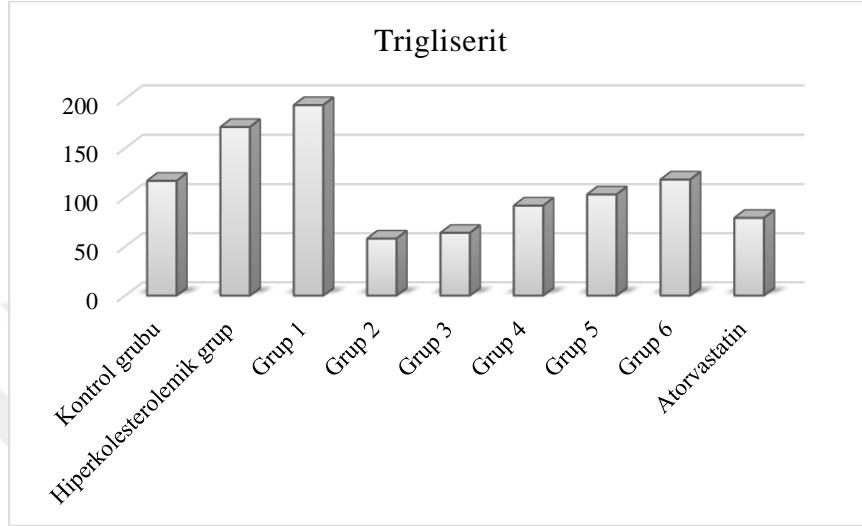
Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'te farelerin serum LDL-C ve trigliserit seviyelerinin anlamlı derecede düşürüldüğü tespit edilmiştir. Grup 2 ve Grup 3'ten elde edilen kan örneklerinde LDL-C seviyeleri hiperkolesterolemik gruba kıyasla anlamlı ölçüde daha düşük bulunmuştur ($p < 0.01$). Grup 4'ten elde edilen LDL-C seviyeleri hiperkolesterolemik gruba kıyasla anlamlı olmakla beraber anlamlılık düzeyi Grup 2 ve Grup 3'e göre daha düşüktür ($p < 0.05$). * (Şekil 4.9)



Şekil 4.9: Hiperkolesterolemik grupla kıyaslanan LDL kolesterol değerleri.

* **Grup 1:** 60 mg/gün gıda bentoniti; **Grup 2:** 60 mg/gün gıda bentoniti + 7 mg/gün öğütülmüş keten tohumu + 2,5 mg/gün üzüm çekirdeği ektresi + 2 mg/gün zerdeçal ektresi; **Grup 3:** 60 mg/gün gıda bentoniti + 7 mg/gün öğütülmüş karniyarik otu tohumu + 2,5 mg/gün üzüm çekirdeği ektresi + 2 mg/gün zerdeçal ektresi; **Grup 4:** Hiperkolesterolemik hayvanlara 60 mg/gün gıda bentoniti + 2,5 mg/gün üzüm çekirdeği ektresi + 2 mg/gün zerdeçal ektresi; **Grup 5:** 7 mg/gün öğütülmüş keten tohumu; **Grup 6:** 7 mg/gün öğütülmüş karniyarik otu tohumu

Grup 2 ve Grup 3'ten elde edilen kan örneklerinde trigliserit seviyeleri hiperkolesterolemik gruba kıyasla anlamlı ölçüde daha düşük bulunmuştur. ($p < 0.01$) Grup 4'ten elde edilen trigliserit seviyeleri hiperkolesterolemik gruba kıyasla anlamlı olmakla beraber anlamlılık düzeyi Grup 2 ve Grup 3'e göre ($p < 0.05$) daha düşüktür. * (Şekil 4.10)



Şekil 4.10: Hiperkolesterolemik grupla kıyaslanan trigliserit değerleri.

Test materyallerinin serum glukoz, AST, ALT, MDA, TAA, nitrik oksit ve leptin seviyeleri üzerindeki etkileri Tablo 4.10'da gösterilmektedir. Çalışmamızda test materyallerinin hiçbirinin serum glikoz seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe yol açmadığı, ancak Grup 2 ve Grup 3'te inhibitör oranlarının dikkate değer olduğu görülmüştür. Hepatik marker enzimlerinden serum AST ve ALT seviyeleri üzerinde hemen hemen tüm test materyallerinde dikkate değer inhibitör etkiler gözlemlenmekle birlikte antihepatotoksik potansiyeline atfedilebilecek istatistiksel açıdan anlamlılığın özellikle Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'te olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, MDA konsantrasyonunun Grup 2 ve Grup 3'te önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir.

* **Grup 1:** 60 mg/gün gıda bentoniti; **Grup 2:** 60 mg/gün gıda bentoniti + 7 mg/gün öğütülmüş keten tohumu + 2,5 mg/gün üzüm çekirdeği ekstresi + 2 mg/gün zerdeçal ekstresi; **Grup 3:** 60 mg/gün gıda bentoniti + 7 mg/gün öğütülmüş karnıyarık otu tohumu + 2,5 mg/gün üzüm çekirdeği ekstresi + 2 mg/gün zerdeçal ekstresi; **Grup 4:** Hiperkolesterolemik hayvanlara 60 mg/gün gıda bentoniti + 2,5 mg/gün üzüm çekirdeği ekstresi + 2 mg/gün zerdeçal ekstresi; **Grup 5:** 7 mg/gün öğütülmüş keten tohumu; **Grup 6:** 7 mg/gün öğütülmüş karnıyarık otu tohumu

Tablo 4.10: Test materyallerinin serum glukoz, AST, ALT, MDA, TAA, nitrik oksit ve leptin seviyeleri üzerindeki etkileri.

Materyal	Glukoz (mg/dl) (%)	AST (IU/L) (%)	ALT (IU/L) (%)	MDA (nmol/mL) (%)	TAA (mmol/L) (%)	Nitrik ok- sit (μ mol/L) (%)	Leptin (μ g/L) (%)
<i>Kontrol grubu</i>	89.3 \pm 13.3	51.4 \pm 14.9	11.5 \pm 4.9	1.6 \pm 0.9	1.22 \pm 0.5	21.5 \pm 4.3	2.11 \pm 0.3
<i>Hiperkolesterolemik grup</i>	67.1 \pm 8.4	71.5 \pm 10.6	39.3 \pm 11.6	3.9 \pm 1.7	0.94 \pm 0.8	25.7 \pm 5.8	8.26 \pm 1.9
<i>Grup 1</i>	52.6 \pm 14.1 (-21.6)	69.2 \pm 14.7 (-3.2)	31.2 \pm 12.4 (-20.6)	3.6 \pm 1.1 (-7.7)	0.97 \pm 0.3 (+3.2)	27.3 \pm 3.2 (+6.2)	7.01 \pm 0.7 (-15.1)
<i>Grup 2</i>	87.5 \pm 9.6 (+30.4)	18.4\pm5.7** (-74.3)	6.4\pm5.0** (-83.7)	1.3\pm0.2** (-66.7)	1.13 \pm 0.5 (+20.2)	33.8 \pm 3.1 (+31.5)	4.82 \pm 1.4* (-41.6)
<i>Grup 3</i>	96.4 \pm 11.8 (+43.7)	23.7\pm9.6** (-66.9)	8.7\pm9.3** (-77.8)	2.0\pm0.3* (-48.7)	1.25 \pm 0.3 (+32.9)	34.1 \pm 7.4 (+32.7)	5.27 \pm 1.2* (-36.2)
<i>Grup 4</i>	74.2 \pm 12.4 (+10.6)	41.5\pm13.2* (-41.9)	10.5\pm4.1** (-73.3)	2.1 \pm 0.6 (-46.2)	0.51 \pm 0.6 (-45.7)	31.9 \pm 4.0 (+24.1)	6.13 \pm 1.1 (-25.8)
<i>Grup 5</i>	48.1 \pm 9.3 (-28.3)	47.1 \pm 11.3 (-34.1)	13.7\pm9.2* (-65.1)	2.3 \pm 0.5 (-41.0)	1.05 \pm 0.1 (+11.7)	31.4 \pm 6.8 (+22.2)	6.28 \pm 0.8 (-23.9)
<i>Grup 6</i>	44.6 \pm 7.5 (-33.5)	61.4 \pm 12.5 (-14.1)	21.1 \pm 7.5 (-46.3)	2.5 \pm 0.4 (-35.9)	1.09 \pm 0.3 (+15.9)	29.6 \pm 4.1 (+15.2)	6.94 \pm 0.9 (-15.9)
<i>Atorvastatin (10 mg/kg)</i>	93.4 \pm 8.3 (+39.2)	26.2\pm9.1** (-63.4)	7.9\pm8.6** (-79.9)	2.1\pm0.4* (-46.2)	1.17 \pm 0.2 (+24.4)	37.2 \pm 4.9 (+44.7)	3.92 \pm 1.0** (52.5)

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (Hiperkolesterolemik gruba göre anlamlılık)

(**Grup 1:** 60 mg/gün gıda bentoniti; **Grup 2:** 60 mg/gün gıda bentoniti + 7 mg/gün öğütülmüş keten tohumu + 2,5 mg/gün üzüm çekirdeği ekstresi + 2 mg/gün zerdeçal ekstresi; **Grup 3:** 60 mg/gün gıda bentoniti + 7 mg/gün öğütülmüş karniyarik otu tohumu + 2,5 mg/gün üzüm çekirdeği ekstresi + 2 mg/gün zerdeçal ekstresi; **Grup 4:** Hiperkolesterolemik hayvanlara 60 mg/gün gıda bentoniti + 2,5 mg/gün üzüm çekirdeği ekstresi + 2 mg/gün zerdeçal ekstresi; **Grup 5:** 7 mg/gün öğütülmüş keten tohumu; **Grup 6:** 7 mg/gün öğütülmüş karniyarik otu tohumu)

Plazmanın toplam antioksidan aktivitesinin kolesterolden zengin diyet grubunda kontrol grubuna kıyasla azaldığı, ancak azaltılmış plazma TAA seviyesini geri kazanmada istatistiksel açıdan dikkate değer bir etki göstermediği, genel olarak normalleşme eğiliminde olduğu belirlenmiştir. Hiperkolesterolemik diyet, NO metabolitlerinin plazma konsantrasyonunda düşük oranda azalmaya neden olmakla birlikte test numuneleri istatistiksel açıdan anlamlı olmasa da kayda değer artan aktivite göstermiştir.

Bu çalışmada, yüksek yağlı diyetle beslenen grupta kontrol grubu hayvanlarına göre vücut ağırlığında plazma leptin düzeyinde anlamlı bir artış görülmüştür. Grup 2 ve Grup 3 müdahalesi uygulanan farelerde leptin konsantrasyonunda sırasıyla %41,6 ve %36,2 oranlarında inhibisyona neden olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4.11: Test materyallerinin SOD, CAT, LPO, GSH ve GPx seviyeleri üzerindeki etkileri.

Materyal	SOD ($\mu\text{g}/\text{mg}$ protein)	CAT ($\mu\text{mol}/\text{mg}$)	LPO (nmol/mg)	GSH (nmol/g)	GPx (U/g Hb)
Kontrol grubu	2.95 \pm 0.51	22.3 \pm 4.1	3.12 \pm 0.51	1.16 \pm 0.51	145.2 \pm 5.13
Hiperkolesterolemik grup	1.57 \pm 0.34	10.1 \pm 4.0	4.98 \pm 0.49	1.02 \pm 0.58	102.6 \pm 4.73
Grup 1	2.04 \pm 0.23	19.4 \pm 2.7	2.52 \pm 0.37	1.18 \pm 0.36	145.2 \pm 5.13
Grup 2	5.72 \pm 0.13*	48.4 \pm 3.1**	1.75 \pm 0.13*	2.84 \pm 0.09**	229.4 \pm 3.48**
Grup 3	4.39 \pm 0.28*	37.4 \pm 2.5*	1.86 \pm 0.09*	2.51 \pm 0.11*	215.1 \pm 3.72**
Grup 4	4.46 \pm 0.31*	25.8 \pm 1.3	1.92 \pm 0.27*	1.98 \pm 0.22	207.8 \pm 4.06*
Grup 5	3.69 \pm 0.86	23.5 \pm 3.2	2.20 \pm 0.41	1.74 \pm 0.25	192.3 \pm 3.98
Grup 6	3.11 \pm 0.27	22.6 \pm 2.6	2.19 \pm 0.36	1.81 \pm 0.17	162.2 \pm 3.21
Atorvastatin (10 mg/kg)	4.37 \pm 0.34*	42.3 \pm 1.5*	1.43 \pm 0.14*	2.37 \pm 0.14*	198.7 \pm 3.07**

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (Hiperkolesterolemik gruba göre anlamlılık)

(Grup 1: 60 mg/gün gıda bentoniti; Grup 2: 60 mg/gün gıda bentoniti + 7 mg/gün öğütülmüş keten tohumu + 2,5 mg/gün üzüm çekirdeği ektresi + 2 mg/gün zerdeçal ektresi; Grup 3: 60 mg/gün gıda bentoniti + 7 mg/gün öğütülmüş karniyarik otu tohumu + 2,5 mg/gün üzüm çekirdeği ektresi + 2 mg/gün zerdeçal ektresi; Grup 4: Hiperkolesterolemik hayvanlara 60 mg/gün gıda bentoniti + 2,5 mg/gün üzüm çekirdeği ektresi + 2 mg/gün zerdeçal ektresi; Grup 5: 7 mg/gün öğütülmüş keten tohumu; Grup 6: 7 mg/gün öğütülmüş karniyarik otu tohumu)

Çalışmada Tablo 4.11'de görüldüğü gibi, hiperkolesterolemik gruptaki lipid peroksidasyon seviyesinin kontrol grubuna oranla nispeten daha yüksek olduğu; Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'te lipid peroksidasyonu üzerinde istatistiksel açıdan anlamlı derecede inhibitör aktivite gösterildiği belirlenmiştir. Çalışmamızda karaciğer dokusunda oksidatif hasarı değerlendirmek amacıyla SOD, katalaz, GSH ve GPx seviyeleri de incelenmiştir. Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'te yüksek kolesterol diyeti ile indüklenen tüm bu biyokimyasal parametrelerin istatistiksel açıdan anlamlı derecede tersine çevrildiği tespit edilmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Vücutta doğal olarak meydana gelen yağlardan biri olan kolesterol ve trigliserit biyolojik zarların yapısında yer alan önemli yapı taşlarıdır ve steroid hormonlarının, safra asitlerinin ve D vitamininin biyosentezinde ve enerji üretiminde kullanılır. Bununla birlikte, kandaki yüksek kolesterol konsantrasyonu, ateroskleroz ve buna bağlı kardiyovasküler hastalıkların gelişme riskini artırır. Kandaki total kolesterol konsantrasyonu, hem diyetdeki kolesterol içeriğinden hem de karaciğerde sentezlenen kolesterol-den etkilenmektedir [497].

Çalışmada hiperkolesterolemik farelere tek başına uygulanan keten tohumu, karnıyarık otu tohumu ve gıda kalitesindeki bentonit kilinin total kolesterolü ve LDL-C düşürmede anlamlı etkiler göstermediği fakat Grup 2, Grup 3 ve Grup 4 müdahalelerinin hem total kolesterol seviyelerini hem de LDL-C seviyelerini düşürmede anlamlı etki sergilediği görülmektedir. Dolayısıyla bu anlamlı etkinin gruplar içerisindeki hammaddelerin sinerjik etkisinden kaynaklandığı düşünülebilir. Bentonit, üzüm çekirdeği ekstresi ve zerdaçal ekstresi bulunan gruba (Grup 4) öğütülmüş karnıyarık otu tohumu ilavesinin total kolesterol üzerinde ayrıca %8,6'lık azalma ve aynı gruba öğütülmüş karnıyarık otu tohumu yerine aynı dozda öğütülmüş keten tohumu ilavesinin total kolesterol üzerinde ayrıca %15,9'luk azalma sağladığı görülmüştür. Sabit yağ miktarı analizi bulgularımıza göre keten tohumundan karnıyarık otu tohumuna kıyasla daha fazla miktarda (daha iyi verimle) yağ elde edilmektedir. Yağ asidi çeşitlerine bakıldığı zaman nispeten aynı oranlarda doymuş ve tekli doymamış yağ asidi içeriğine sahip keten tohumu ve karnıyarık otu tohumunda çoklu doymamış yağ asidi çeşidi oranlarında farklılık tespit edilmiştir. Keten tohumunda Linolenik Asit / Linoleik Asit (omega-3 /omega-6) oranı karnıyarık otu tohumuna göre daha yüksek gibi görünmektedir. Dolayısıyla aynı dozlarda uygulandıklarında keten tohumu içeren grupta (Grup 2) hem daha fazla total yağ miktarı alımı hem de alınan bu yağda daha yüksek omega-3 /omega-6 oranı söz konusu olmaktadır. Bu durum gruplar arasındaki (Grup 2-Grup 3) TC ve LDL-C değişimi üzerine etki farklılıklarını açıklayabilir. Ayrıca Soltanian ve ark. (2019) çalışma bulgularımızı kanıtlar nitelikte keten tohumunun karnıyarık otu

tohumuna göre serum lipitleri üzerinde daha üstün etkilere sahip olduğunu belirtmiştir. Dahası Brown ve ark. (1999) çözünür liflerin serum TC ve LDL-C üzerinde azalma sağladığını belirtmektedir. Bu çalışmada da benzer şekilde gıda kalitesindeki bentonit kili, üzüm çekirdeği ve zerdeçal ekstresi bulunan gruba (Grup 4) lif açısından zengin keten tohumu veya karnıyarık otu tohumu ilavesi ile literatürü doğrular nitelikte TC ve LDL-C seviyelerinde daha fazla azalma görülmüştür [223,498].

Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterolü karaciğerden dokulara taşırken, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL), kolesterolün katabolizma için periferik dokulardan karaciğere taşınmasını kolaylaştırır. Bu nedenle HDL'nin doku kolesterolünü düşürmede yararlı bir etkisi vardır ve kardiyovasküler hastalık riskini azaltmak için LDL-C düzeyini düşürürken serumdaki HDL-C oranının artırılması önerilir. HDL- C artışı Grup 2, Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'te anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Li ve ark. (2015) antosiyaninlerin artmış HDL-C etkisinden bahsetmiştir. Dolayısıyla Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'te bulunan üzüm çekirdeği ekstresinin zengin antosiyanin içeriği çalışmadaki bu anlamlı etkiden sorumlu olabilir. Öte yandan sadece keten tohumu müdahalesinin (Grup 5) anlamlı HDL-C artışı sağlaması literatürdeki veriler ile çelişmektedir çünkü keten tohumu ile yapılan daha önceki müdahale çalışmalarında HDL-C üzerinde belirgin bir artıştan söz edilmemektedir [349,499].

Sonuç olarak hiperkolesterolemik farelerde total kolesterol, HDL-C, LDL-C ve trigliserit serum konsantrasyonları göz önüne alındığında çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'ün ateroskleroz gibi kardiyovasküler hastalık riskini düşürmede olumlu bir etkiye sahip olduğu görüşüne varılmıştır.

Hiperkolesterolemi, karaciğer yağlanmasına ve nihayetinde karaciğer enzimlerinin yükselmesine neden olur. Bu nedenle bu çalışmada, test materyallerinin antioksidan profilinin yanı sıra hepatik belirteçler ve glukoz üzerindeki etkilerini ortaya çıkarmak, etki mekanizmasının ve olası risklerin veya toksisite profilinin değerlendirilmesi için de yardımcı olması amacıyla çeşitli serum parametreleri de değerlendirilmiştir [500].

Hiperkolesterolemik tavşan ve kobaylar üzerinde yapılan önceki çalışmalarda, serumda lipid peroksidasyon seviyelerinin arttığı, ayrıca yüksek kolesterol diyeti ile beslenen tavşanlarda plazma MDA seviyelerinde artış olduğu rapor edilmiştir [501,502]. Çalışmamızda Grup 2 ve Grup 3 müdahalesinin hem MDA hem de karaciğer enzimleri üzerinde anlamlı azaltıcı etkisi olduğu dolayısıyla bu müdahalelerin,

hiperkolesterolemi sonucunda oluşabilecek karaciğer yağlanması gibi komplikasyonlar ile mücadele etmede olumlu etkiler sergileyebilecekleri sonucuna varılabilir. Dahası tek başına keten tohumunu müdahalesinin (Grup 4) karaciğer enzimleri üzerindeki anlamlı inhibitör etkisi, tek başına keten tohumu kullanımının bile karaciğer koruyucu özellikler sergilemekte yeterli olabileceğini düşündürmektedir. Dahası Hiperkolesterolemik farelerde kontrol grubuna göre artan leptin değerleri sonucunda elde edilen bulgular, yüksek yağlı diyetin visceral dokularda lipid birikimine yol açtığını ve vücut ağırlığını artırdığını gösteren diğer çalışmalar ile tutarlı olduğunu göstermektedir [503,504,505]. Benzer şekilde Grup 2 ve Grup 3 müdahalesi çalışmamızda leptin düzeylerini mobilize etmekte ve bu etki yine hammadde bileşenlerinin sinerjik etkisinden kaynaklanıyor gibi görünmektedir.

Kurkumin miktar analiz bulgularımıza göre %95 oranında kurkumin içeren zerdeçal ekstresi ve antioksidan özellikler sergileyen polifenoller açısından zengin üzüm çekirdeği ekstresi kullanılan gruplarda (Grup 2, Grup 3 ve Grup 4) beklenildiği üzere lipid peroksidasyonu üzerinde anlamlı inhibitör etki görülmektedir. SOD, katalaz, GSH ve GPx seviyelerindeki anlamlı artış Grup 2 ve Grup 3'te görülmüştür ve yine benzer şekilde bu etki kurkumin ve polifenollerin varlığına atfedilebileceği gibi Grup 2'deki keten tohumu ve Grup 3'teki karnıyarık otu tohumu varlığının özellikle GSH ve CAT seviyelerindeki anlamlı etkiden sorumlu olduğu söylenebilir. Keten tohumu yağı ve keten tohumu lignan içeriğinin bu parametreler üzerindeki etkilerden sorumlu olabileceği literatürdeki atıflardan düşünülebilmektedir. Fakat karnıyarık otu tohumunun bu parametreler üzerindeki etkisine atfedilebilecek sorumlu bileşen konusunda daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Beklenenin aksine bentonitin bazı detoksifikasyon parametreleri üzerine tek başına anlamlı etki sağlamadığı görülürken çalışmanın kısa süreli olması bu anlamda değerlendirmede bulunmak için kısıtlayıcı bir faktör olmaktadır.

Özetle bu çalışmada hiperkolesterolemik grup ile kıyaslandığında hem bazı detoksifikasyon parametreleri üzerinde hem de serum kolesterol değerlerinde bentonit, üzüm çekirdeği ve zerdeçal ekstresi ile öğütülmüş keten tohumu içeren Grup 2 ve bentonit, üzüm çekirdeği ve zerdeçal ekstresi ile öğütülmüş karnıyarık otu tohumu içeren Grup 3'ün in vivo olarak anlamlı etkiler sergilediği gösterilmiştir. Bu anlamda klinik çalışmalar yapılarak bulgular desteklenebilir. Çalışmada kullanılan hammadde dozları insan beslenmesine uygulanabilir olacak şekilde belirlendiği için belirtilen etkiler doğrultusunda pozitif etkiye sahip formülasyonlar geliştirilebilir.

KAYNAKLAR

- [1] **Liska, D. J.** (1998). The detoxification enzyme systems. *Altern Med Rev*, 3(3), 187-198.
- [2] **Lee WM.** (1995). Drug-induced hepatotoxicity. *N Engl J Med*, 333:1118-1127.
- [3] **Benet LZ, Kroetz DL, Sheiner LB.** (1996). Pharmacokinetics: The dynamics of drug absorption, distribution, and elimination. In: Molinoff PB, Ruddon RW, Goodman Gilman A, eds. *The Pharmacological Basis Of Therapeutics*. 9th ed. New York, NY: McGraw-Hill;3-27
- [4] **Agarwal, S., Zaman, T., Murat Tuzcu, E., & Kapadia, S. R.** (2011). Heavy metals and cardiovascular disease: results from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999-2006. *Angiology*, 62(5), 422-429.
- [5] **Walker, D. M., & Gore, A. C.** (2011). Transgenerational neuroendocrine disruption of reproduction. *Nature Reviews Endocrinology*, 7(4), 197-207.
- [6] **Hodges, R. E., & Minich, D. M.** (2015). Modulation of metabolic detoxification pathways using foods and food-derived components: a scientific review with clinical application. *Journal of nutrition and metabolism*, 2015.
- [7] **Hutt, A. J., Caldwell, J.** (1990). Amino acid conjugation. In: Mulder GJ, ed. *Conjugation Reactions In Drug Metabolism*. New York, NY: Taylor & Francis 273-305.
- [8] **Estabrook RW.** (1996). Cytochrome P450: From a single protein to a family of proteins — with some personal reflections. In: Ioannides C, ed. *Cytochromes P450: Metabolic And Toxicological Aspects*. Boca Raton, FL: CRC Press, Inc; 3-28.
- [9] **Nakata, K., Tanaka, Y., Nakano, T., Adachi, T., Tanaka, H., Kaminuma, T., Ishikawa, T.** (2006). Nuclear receptor-mediated transcriptional regulation in phase I, II, and III xenobiotic metabolizing systems. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 21, 437–457.
- [10] **Godoy, P., Hewitt, N.J., Albrecht, U., Andersen, M.E., Ansari, N., Bhattacharya, S., Bode, J.G., Bolleyn, J., Borner, C., Bottger, J., et al.** (2013). Recent advances in 2D and 3D in vitro systems using primary hepatocytes, alternative hepatocyte sources and non-parenchymal liver cells and their use in investigating mechanisms of hepatotoxicity, cell signaling and ADME. *Arch. Toxicol.* 87, 1315–1530.
- [11] **Vermeulen, N. P. E.** (1996). Role of metabolism in chemical toxicity. In: Ioannides C, ed. *Cytochromes P450: Metabolic And Toxicological Aspects*. Boca Raton, FL: CRC Press, Inc;29-53.

- [12] **Pavek, P., & Dvorak, Z.** (2008). Xenobiotic-induced transcriptional regulation of xenobiotic metabolizing enzymes of the cytochrome P450 superfamily in human extrahepatic tissues. *Current drug metabolism*, 9(2), 129-143.
- [13] **Paine, A. J.** (1981). "Hepaticcytochrome P-450," *EssaysinBiochemistry*, vol. 17, pp. 85–126.
- [14] **Danielson, P. Á.** (2002). The cytochrome P450 superfamily: biochemistry, evolution and drug metabolism in humans. *Current drug metabolism*, 3(6), 561-597.
- [15] **Chen, Q., Zhang, T., Wang, J. F., & Wei, D. Q.** (2011). Advances in human cytochrome p450 and personalized medicine. *Current drug metabolism*, 12(5), 436-444.
- [16] **Vistisen, K., Loft, S., Olsen, J. H., Vallentin, S., Ottesen, S., Hirsch, F. R., & Poulsen, H. E.** (2004). Low CYP1A2 activity associated with testicular cancer. *Carcinogenesis*, 25(6), 923-929.
- [17] **Božina, N., Bradamante, V., & Lovrić, M.** (2009). Genetic polymorphism of metabolic enzymes P450 (CYP) as a susceptibility factor for drug response, toxicity, and cancer risk. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*, 60(2), 217-242.
- [18] **Sheweita, S. A.** (2000). Drug-metabolizing enzymes mechanisms and functions. *Current drug metabolism*, 1(2), 107-132.
- [19] **Zgheib, N. K., Mitri, Z., Geryess, E., & Noutsi, P.** (2010). Cytochrome P4502E1 (CYP2E1) genetic polymorphisms in a Lebanese population: frequency distribution and association with morbid diseases. *Genetic testing and molecular biomarkers*, 14(3), 393-397.
- [20] **González, C. A., Sala, N., & Capellá, G.** (2002). Genetic susceptibility and gastric cancer risk. *International journal of cancer*, 100(3), 249-260.
- [21] **Liu, J., Tawa, G. J., & Wallqvist, A.** (2013). Identifying cytochrome P450 functional networks and their allosteric regulatory elements. *PloS one*, 8(12), e81980.
- [22] **Ioannides C.** (1999). Effect of diet and nutrition on the expression of cytochromes P450. *Xenobiotica*, 29(2), 109-154.
- [23] **Ye, Z., Liu, Z., Henderson, A., Lee, K., Hostetter, J., Wannemuehler, M., & Hendrich, S.** (2009). Increased CYP4B1 mRNA is associated with the inhibition of dextran sulfate sodium-induced colitis by caffeic acid in mice. *Experimental Biology and Medicine*, 234(6), 605-616.
- [24] **Ginsberg, G., Guyton, K., Johns, D., Schimek, J., Angle, K., & Sonawane, B.** (2010). Genetic polymorphism in metabolism and host defense enzymes: implications for human health risk assessment. *Critical reviews in toxicology*, 40(7), 575-619.
- [25] **Di Pietro, G., Magno, L. A. V., & Rios-Santos, F.** (2010). Glutathione S-transferases: an overview in cancer research. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 6(2), 153-170.
- [26] **Meister, A., & Larsson, A.** (1995). Glutathione synthetase deficiency and other disorders of the gamma-glutamyl cycle. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 1, 1461-1495.

- [27] **Trujillo, M., Ferrer-Sueta, G., & Radi, R.** (2008). Peroxynitrite detoxification and its biologic implications. *Antioxidants & redox signaling*, *10*(9), 1607-1620.
- [28] **Shindo, Y., Witt, E., Han, D., & Packer, L.** (1994). Dose-response effects of acute ultraviolet irradiation on antioxidants and molecular markers of oxidation in murine epidermis and dermis. *Journal of Investigative Dermatology*, *102*(4), 470-475.
- [29] **Sun, Y.** (1990). Free radicals, antioxidant enzymes, and carcinogenesis. *Free Radical Biology and Medicine*, *8*(6), 583-599.
- [30] **Konishi, T., Kato, K., Araki, T., Shiraki, K., Takagi, M., & Tamaru, Y.** (2005). Molecular cloning and characterization of α -class glutathione S-transferase genes from the hepatopancreas of red sea bream, *Pagrus major*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, *140*(3-4), 309-320.
- [31] **Shao, L., Young, L. T., & Wang, J. F.** (2005). Chronic treatment with mood stabilizers lithium and valproate prevents excitotoxicity by inhibiting oxidative stress in rat cerebral cortical cells. *Biological psychiatry*, *58*(11), 879-884.
- [32] **Dasari, S., Gonuguntla, S., Ganjayi, M. S., Bukke, S., Sreenivasulu, B., & Meriga, B.** (2018). Genetic polymorphism of glutathione S-transferases: Relevance to neurological disorders. *Pathophysiology*, *25*(4), 285-292.
- [33] **Rowland, A., Miners, J. O., & Mackenzie, P. I.** (2013). The UDP-glucuronosyltransferases: their role in drug metabolism and detoxification. *The international journal of biochemistry & cell biology*, *45*(6), 1121-1132.
- [34] **Wells, P. G., Mackenzie, P. I., Chowdhury, J. R., Guillemette, C., Gregory, P. A., Ishii, Y., ... & Ritter, J. K.** (2004). Glucuronidation and the UDP-glucuronosyltransferases in health and disease. *Drug metabolism and disposition*, *32*(3), 281-290.
- [35] **Lampe, J. W.** (2009). Interindividual differences in response to plant-based diets: implications for cancer risk. *The American journal of clinical nutrition*, *89*(5), 1553S-1557S.
- [36] **James, M. O., & Ambadapadi, S.** (2013). Interactions of cytosolic sulfotransferases with xenobiotics. *Drug metabolism reviews*, *45*(4), 401-414.
- [37] **Wang, L. Q., & James, M. O.** (2006). Inhibition of sulfotransferases by xenobiotics. *Current drug metabolism*, *7*(1), 83-104.
- [38] **Ung, D., & Nagar, S.** (2007). Variable sulfation of dietary polyphenols by recombinant human sulfotransferase (SULT) 1A1 genetic variants and SULT1E1. *Drug Metabolism and Disposition*, *35*(5), 740-746.
- [39] **Yager, J. D.** (2015). Mechanisms of estrogen carcinogenesis: The role of E2/E1-quinone metabolites suggests new approaches to preventive intervention—A review. *Steroids*, *99*, 56-60.
- [40] **Benet, L. Z.** (1997). 27th Gordon research conference on drug metabolism. *July*, *6*, 13.
- [41] **Chin, K.** (1993). V, Pastan I, Gottesman MM. Function and regulation of the human multidrug resistance gene. *Adv Cancer Res*, *60*(157), 80.

- [42] **Gailer J.** (2012) Probing the bioinorganic chemistry of toxic metals in the mammalian bloodstream to advance human health. *J Inorg Biochem* 108:128–132.
- [43] **Vidláková, M., Erazimová, J., Horký, J., & Placr, Z.** (1972). Relationship of serum antioxidative activity to tocopherol and serum inhibitor of lipid peroxidation. *Clinica Chimica Acta*, 36(1), 61-66.
- [44] **Cranfield, L. M., Gollan, J. L., White, A. G., & Dormandy, T. L.** (1979). Serum antioxidant activity in normal and abnormal subjects. *Annals of clinical biochemistry*, 16(1-6), 299-306.
- [45] **Goldstein, I. M., Kaplan, H. B., Edelson, H. S., & Weissmann, G.** (1979). Ceruloplasmin. A scavenger of superoxide anion radicals. *Journal of Biological Chemistry*, 254(10), 4040-4045.
- [46] **Al-Timimi, D. J., & Dormandy, T. L.** (1977). The inhibition of lipid autoxidation by human caeruloplasmin. *Biochemical Journal*, 168(2), 283-288.
- [47] **Wu, C., Wang, L., Liu, C., Gao, F., Su, M., Wu, X., & Hong, F.** (2008). Mechanism of Cd²⁺ on DNA cleavage and Ca²⁺ on DNA repair in liver of silver crucian carp. *Fish physiology and biochemistry*, 34(1), 43-51.
- [48] **Zhao, H., Xu, X., Na, J., Hao, L., Huang, L., Li, G., & Xu, Q.** (2008). Protective effects of salicylic acid and vitamin C on sulfur dioxide-induced lipid peroxidation in mice. *Inhalation toxicology*, 20(9), 865-871.
- [49] **Seet, R. C., Lee, C. Y. J., Lim, E. C., Tan, J. J., Quek, A. M., Chong, W. L., ... & Halliwell, B.** (2010). Oxidative damage in Parkinson disease: measurement using accurate biomarkers. *Free Radical Biology and Medicine*, 48(4), 560-566.
- [50] **Woodguff, T., Blake, D. R., Freemarq, J., Andrews, F. J., Salt, P. and Lunec, J.** (1986). Is chronic synovitis an example of reperfusion injury? *Ann. Rheum. Dis.* 45:608-611.
- [51] **McCord, J. M. and Roy, R. S.** (1982). The pathophysiology of superoxide: roles in inflammation and ischemia. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 60: 1346-1352.
- [52] **Heinecke, J. W.** (1987). Free radical modification of low density lipoprotein: mechanisms and biological consequences. *J. Free Radic. Biol. Med.* 3: 65-73.
- [53] **Brawn, M. K. and Friwvich, I.** (1985). Increased superoxide radical production evokes inducible DNA repair in Escherichia coli. *J. Biol. Chem.* 260: 922-925.
- [54] **Percy, M. E.** (1984). Catalase: an old enzyme with a new role. *Can. d. Biochem. Cell Biol.* 62: 1006-1014.
- [55] **Hoffschir, F., Daya-Grosjean, L., Petit, P. X., Nocentini, S., Dutrillaux, B., Sarasin, A., & Vuillaume, M.** (1998). Low catalase activity in xeroderma pigmentosum fibroblasts and SV40-transformed human cell lines is directly related to decreased intracellular levels of the cofactor, NADPH. *Free Radical Biology and Medicine*, 24(5), 809-816.
- [56] **Deisseroth, A. and Dol'nce, A. L.** (1970). Catalase: Physical and chemical properties, mechanism of catalysis, and physiological role. *Physiol. Rev.* 50: 319-375.
- [57] **Calabrese, E. J., & Canada, A. T.** (1989). Catalase: its role in xenobiotic detoxification. *Pharmacology & therapeutics*, 44(2), 297-307.

- [58] **Sampson, H. A.** (1992). Food hypersensitivity: manifestations, diagnosis, and natural history. *Food technology (Chicago)*, 46(5), 141-144.
- [59] **Gailer, J.** (2012). Probing the bioinorganic chemistry of toxic metals in the mammalian bloodstream to advance human health. *J Inorg Biochem* 108:128–132.
- [60] **Gunshin, H., Mackenzie, B., Berger, U.** (1997). Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal ion transporter. *Nature* 388: 6264–6266.
- [61] **Wacher, V. J., Wu, C. Y., & Benet, L. Z.** (1995). Overlapping substrate specificities and tissue distribution of cytochrome P450 3A and P-glycoprotein: implications for drug delivery and activity in cancer chemotherapy. *Molecular carcinogenesis*, 13(3), 129-134.
- [62] **McKinnon, R. A., & McManus, M. E.** (1996). Localization of cytochromes P450 in human tissues: implications for chemical toxicity. *Pathology*, 28(2), 148-155.
- [63] **McKinnon, R. A., Burgess, W. M., Hall, P. D. L. M., Roberts-Thomson, S. J., Gonzalez, F. J., & McManus, M. E.** (1995). Characterisation of CYP3A gene subfamily expression in human gastrointestinal tissues. *Gut*, 36(2), 259-267.
- [64] **Scheline, R. R.** (1973). Metabolism of foreign compounds by gastrointestinal microorganisms. *Pharmacological reviews*, 25(4), 451-523.
- [65] **Cummings, J. H.** (1983). Fermentation in the human large intestine: evidence and implications for health. *Lancet (USA)*.
- [66] **Yu, L., Zhai, Q., Tian, F., Liu, X., Wang, G., Zhao, J., Zhang, H., Narbad, A., Chen, W.** (2016). Potential of *Lactobacillus plantarum* CCFM639 in protecting against aluminum toxicity mediated by intestinal barrier function and oxidative stress. *Nutrients* 8, 783.
- [67] **Clark, A. G., Fischer, L. J., Millburn, P., Smith, R. L., & Williams, R. T.** (1969). The role of gut flora in the enterohepatic circulation of stilboestrol in the rat. *Biochemical Journal*, 112(1), 17P.
- [68] **Millet-Boureima, C., Porrás Marroquin, J., & Gamberi, C.** (2018). Modeling renal disease “on the fly”. *BioMed Research International*, 2018.
- [69] **Pavenstadt, H., Kriz, W., & Kretzler, M.** (2003). Cell biology of the glomerular podocyte. *Physiological reviews*, 83(1), 253-307.
- [70] **Erek E, Süleymanlar G.** Böbreğin Yapısı ve Fonksiyonlar. İliçin G, Biberoglu K, Süleymanlar G, Ünal S. İç Hastalıkları. 2. baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, 2003:1211 1228.
- [71] **Yang, J., McCart, C., Woods, D. J., Terhzaz, S., Greenwood, K. G., Ffrench-Constant, R. H., & Dow, J. A.** (2007). A *Drosophila* systems approach to xenobiotic metabolism. *Physiological genomics*, 30(3), 223-231.
- [72] **Cadet, J., Berger, M., Decarroz, C., Wagner, J. R., Van Lier, J. E., Ginot, Y. M., & Vigny, P.** (1986). Photosensitized reactions of nucleic acids. *Biochimie*, 68(6), 813-834.

- [73] **Katiyar, S. K., Agarwal, R., & Mukhtar, H.** (1993). Introduction: sources, occurrence, nomenclature, and carcinogenicity of polycyclic aromatic hydrocarbons. In *Hand Book of Chromatography* (pp. 1-17). CRC Press Boca Raton, FL.
- [74] **Berg, R. J., de Gruijl, F. R., & van der Leun, J. C.** (1993). Interaction between ultraviolet A and ultraviolet B radiations in skin cancer induction in hairless mice. *Cancer research*, 53(18), 4212-4217.
- [75] **Tyrrell, R. M., & Pidoux, M.** (1986). Endogenous glutathione protects human skin fibroblasts against the cytotoxic action of UVB, UVA and near-visible radiations. *Photochemistry and photobiology*, 44(5), 561-564.
- [76] **Tyrrell, R. M., Keyse, S. M., & Moraes, E. C.** (1991). Cellular defense against UVA (320–380 nm) and UVB (290–320 nm) radiations. In *Photobiology* (pp. 861-871). Springer, Boston, MA.
- [77] **Vessey, D. A.** (1993). The cutaneous antioxidant system. In *oxidative Stress in Dermatology* (Vol. 23, p. 81). New York: Marcel Dekker.
- [78] **Miyachi, Y., Imamura, S., & Niwa, Y.** (1987). Decreased skin superoxide dismutase activity by a single exposure of ultraviolet radiation is reduced by liposomal superoxide dismutase pretreatment. *Journal of investigative dermatology*, 89(1), 111-112.
- [79] **Fuchs, J., Huflejt, M. E., Rothfuss, L. M., Wilson, D. S., Carcamo, G., & Packer, L.** (1989). Impairment of enzymic and nonenzymic antioxidants in skin by UVB irradiation. *Journal of investigative dermatology*, 93(6), 769-773.
- [80] **Meewes, C., Brenneisen, P., Wenk, J., Kuhr, L., Ma, W., Alikoski, J., ... & Scharffetter-Kochanek, K.** (2001). Adaptive antioxidant response protects dermal fibroblasts from UVA-induced phototoxicity. *Free Radical Biology and Medicine*, 30(3), 238-247.
- [81] **Masaki, H., Okano, Y., & Sakurai, H.** (1998). Differential role of catalase and glutathione peroxidase in cultured human fibroblasts under exposure of H₂O₂ or ultraviolet B light. *Archives of dermatological research*, 290(3), 113-118.
- [82] **Afaq, F., & Mukhtar, H.** (2001). Effects of solar radiation on cutaneous detoxification pathways. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 63(1-3), 61-69.
- [83] **Osaki, S., Johnson, D. A., & Frieden, E.** (1966). The possible significance of the ferrous oxidase activity of ceruloplasmin in normal human serum. *Journal of Biological Chemistry*, 241(12), 2746-2751.
- [84] **Vural, P., Canbaz, M., & Selçuki, D.** (1999). Plasma antioxidant defense in actinic keratosis and basal cell carcinoma. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 13(2), 96-101.
- [85] **Castegnaro, M., Mohr, U., Pfohl-Leskowicz, A., Estève, J., Steinmann, J., Tillmann, T., ... & Bartsch, H.** (1998). Sex-and strain-specific induction of renal tumors by ochratoxin A in rats correlates with DNA adduction. *International Journal of Cancer*, 77(1), 70-75.
- [86] **Pestka, J. J., Moorman, M. A., Warner, R. L.** (1989). Dysregulation of IgA production and IgA nephropathy induced by the trichothecene vomitoxin. *Food Chem Toxicol* 27:361–368.

- [87] **Abbas, H. K.** (2005). Aflatoxin and food safety. Boca Raton: CRC Press.
- [88] **Karlovsky, P., Suman, M., Berthiller, F., De Meester, J., Eisenbrand, G., Perrin, I., ... & Dussort, P.** (2016). Impact of food processing and detoxification treatments on mycotoxin contamination. *Mycotoxin research*, 32(4), 179-205.
- [89] **Wang, S. Q., Huang, G. Q., Li, Y. P., Xiao, J. X., Zhang, Y., & Jiang, W. L.** (2015). Degradation of aflatoxin B1 by low-temperature radio frequency plasma and de-gradation product elucidation. *Europe Food Research Technology*, 241, 103–113.
- [90] **Ueng, Y.F., Shimada, T., Yamazaki, H., Guengerich, F.P.** (1995). Oxidation of aflatoxin B1 by bacterial recombinant human cytochrome P450 enzymes. *Chem. Res. Toxicol.* 8, 218–225.
- [91] **Guengerich, F.P., Cai, H., McMahan, M., Hayes, J.D., Sutter, T.R., Groopman, J.D., Deng, Z., Harris, T.M.** (2001). Reduction of aflatoxin B1 dialdehyde by rat and human aldoketo reductases. *Chem. Res. Toxicol.* 14, 727–737.
- [92] **Saleh, I., Goktepe, I.** (2019). The characteristics, occurrence, and toxicological effects of patulin. *Food Chem. Toxicol.* 129, 301–311.
- [93] **Puel O, Galtier P, Oswald I.** (2010). Biosynthesis and toxicological effects of patulin. *Toxins* 2:613-631.
- [94] **Zhai, Q., Gong, X., Wang, C., Zhao, J., Zhang, H., Tian, F., Chen, W.** (2019). Food-borne patulin toxicity is related to gut barrier disruption and can be prevented by docosahexaenoic acid and probiotic supplementation. *Food Funct* 10, 1330–1339.
- [95] **Wei, C., Yu, L., Qiao, N., Wang, S., Tian, F., Zhao, J., ... & Chen, W.** (2020). The characteristics of patulin detoxification by *Lactobacillus plantarum* 13M5. *Food and Chemical Toxicology*, 146, 111787.
- [96] **Soriano, J. M., Gonzalez, L. and Catala, A. I.** (2005). Mechanism of action of sphingolipids and their metabolites in the toxicity of fumonisin B1. *Prog. Lipid Res.* 44:345–356.
- [97] **Wei, Y. H., Lu, C. Y., Lin, T. N. and Wei, R. D.** (1985). Effect of ochratoxin A on rat liver mitochondrial respiration and oxidative phosphorylation. *Toxicology*. 36:119–130.
- [98] **Parent-Massin, D.** (2004). Haematotoxicity of trichothecenes. *Toxicol. Lett.* 153:75–81.
- [99] **Yao, Y., & Long, M.** (2020). The biological detoxification of deoxynivalenol: A review. *Food and Chemical Toxicology*, 145, 111649.
- [100] **Tchounwou, P. B., Yedjon, C. G., Patlolla, A. K., Sutton, D. J.** (2016). Heavy metal toxicity and the environment. *EXS* 101:133–164.
- [101] **Flora, S. J. S., Pachauri, V.** (2010). Chelation in metal intoxication: review. *Int J Environ Res Public Health* 7:2745–2788.
- [102] **Kosnett, M. J.** (2009). Heavy metal intoxication & chelators: in Basic and clinical pharmacology. In: Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ (eds) , 11th edn. McGraw Hill, Singapore, pp 999–1011.

- [103] **Hartwig, A., Schwerdtle, T.** (2002). Interactions by carcinogenic metal compounds with DNA repair processes: toxicological implications. *Toxicol Lett* 127:47–54.
- [104] **Menke, A., Muntner, P., Silbergeld, E. K., Platz, E. A., Guallar, E.** (2009). Cadmium levels in urine and mortality among U.S. adult. *Environ Health Perspect* 117:190–196.
- [105] **Dewanjee, S., Gangopadhyay, M., Sahu, R., Karmakar, S.** (2013). Cadmium induced pathophysiology: protective role of edible jute (*Corchorus olitorius*) leaves with special emphasis on oxidative stress and mitochondrial involvement. *Food Chem Toxicol* 60:188–198
- [106] **Needleman, H.** (2004). Lead poisoning. *Annu Rev Med* 55:209–222
- [107] **Ademuyiwa, O., Ugbaja, R. O., Idumebor, F., Adebawo, O.** (2005). Plasma lipid profiles and risk of cardiovascular disease in occupational lead exposure in Abeokuta, Nigeria. *Lipids Health Dis* 4:19.
- [108] **Abernathy, C. O., Liu, Y. P., Longfellow, D., Aposhian, H. V., Beck, B., Fowler, B., Goyer, R., Menzer, R., Rossman, T., Thompson, C., Walks, M.** (1999). Arsenic: health effects, mechanisms of actions, and research issues. *Environ Health Perspect* 107:593–597.
- [109] **Li, S. G., Ding, Y. S., Niu, Q., Xu, S. Z., Pang, L. J., Ma, R. L., Jing, M. X., Feng, G. L., Liu, J. M., Guo, S. X.** (2015). Grape seed proanthocyanidin extract alleviates arsenic induced oxidative reproductive toxicity in male mice. *Biomed Environ Sci* 28:272–280.
- [110] **Carocci, A., Rovito, N., Sinicropi, M. S., & Genchi, G.** (2014). Mercury toxicity and neurodegenerative effects. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 1-18.
- [111] **Greger, J. L.** (1993). Aluminum metabolism. *Annu Rev Nutr* 13:43–63.
- [112] **Offor, S. J., Mbagwu, H. O. C., Orisakwe, O. E.** (2017). Lack of beneficial effect of activated charcoal in lead induced testicular toxicity in male albino rats. *Middle East Fertil Soc* 22:189–192.
- [113] **Sears, M. E.** (2013). Chelation: harnessing and enhancing heavy metal detoxification a review. *Sci World J* 2013:13.
- [114] **Ding, X., Hua, Y., Chen, Y., Zhang, C., Kong, X.** (2015). Heavy metal complexation of thiol-containing peptides from soy glycinin hydrolysates. *Int J Mol Sci* 2015(16):8040–8058.
- [115] **Andrews, G. K.** (2000). Regulation of metallothionein gene expression by oxidative stress and metal ions. *Biochemical pharmacology*, 59(1), 95-104.
- [116] **Lamb, J. J., Konda, V. R., Quig, D. W., Desai, A., Minich, D. M., Bouillon, L., ... & Tripp, M. L.** (2011). A program consisting of a phytonutrient-rich medical food and an elimination diet ameliorated fibromyalgia symptoms and promoted toxic-element detoxification in a pilot trial. *Alternative therapies in health and medicine*, 17(2), 36.
- [117] **Zhai, Q., Tian, F., Zhao, J., Zhang, H., Narbad, A., Chen, W.** (2016). Oral administration of probiotics inhibits absorption of the heavy metal cadmium by protecting the intestinal barrier. *Appl Environ Microbiol* 82:4429–4440.

- [118] **Morais, D. R., Rotta, E. M., Sargi, S. C., Schmidt, E. M., Bonafe, E. G., Eberlin, M. N. et al** (2015). Antioxidant activity, phenolics and UPLC-ESI(-)MS of extracts from different tropical fruits parts and processed peels. *Food Res Int* 77:392–399 .
- [119] **Bhattacharya, S.** (2017). Medicinal plants and natural products in amelioration of arsenic toxicity: a short review. *Pharm Biol* 55:349–354
- [120] **Baer-Dubowska, W., & Szafer, H.** (2013). Modulation of carcinogen-metabolizing cytochromes P450 by phytochemicals in humans. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 9(8), 927-941.
- [121] **Lawal, B., Shittu, O. K., Oibiokpa, F. I., Eustace, B., Berinyuy, E. B., Mohammed, H.** (2016). African natural products with potential antioxidants and hepatoprotectives properties: a review. *Clinical Phytoscience* 2:23.
- [122] **Ozsoy, N., Candoken, E., Akev, N.** (2009). Implications for degenerative disorders: antioxidative activity, total phenols, flavonoids, ascorbic acid, beta-carotene and beta-tocopherol in Aloe vera. *Oxidative Med Cell Longev* 2:99–106;
- [123] **Shan, B., Cai, Y. Z., Sun, M., Corke, H.** (2005). Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *J Agric Food Chem* 53:7749–7759.
- [124] **Geldof, N., Engeseth, N. J.** (2002). Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of In vitro lipoprotein oxidation in human serum samples. *J Agric Food Chem* 50:3050–3055.
- [125] **Brewer, M. S.** (2011). Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 10:221e247.
- [126] **Li, X., Jiang, X., Sun, J., Li, X., Tian, L., Liu, L., Bai, W.** (2017). Cytoprotective effects of dietary flavonoids against cadmium-induced toxicity. *Ann N Y Acad Sci* 1398:5–19.
- [127] **Barch, D. H., Rundhaugen, L. M., & Pillay, N. S.** (1995). Ellagic acid induces transcription of the rat glutathione S-transferase-Ya gene. *Carcinogenesis*, 16(3), 665-668.
- [128] **Pantuck, E. J., Pantuck, C. B., Garland, W. A., Min, B. H., Wattenberg, L. W., Anderson, K. E., ... & Conney, A. H.** (1979). Stimulatory effect of brussels sprouts and cabbage on human drug metabolism. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 25(1), 88-95.
- [129] **Ip, C., & Lisk, D. J.** (1997). Modulation of phase I and phase II xenobiotic-metabolizing enzymes by selenium-enriched garlic in rats.
- [130] **Balcerzek, S. P., Vezt, J. W. and Doyle, A. P.** (1966). Effect of iron deficiency and red cell age on human erythrocyte catalase activity. *J. Lab. Clin. Med.* 67:742-756.
- [131] **Chow, H. S., Garland, L. L., Hsu, C. H., Vining, D. R., Chew, W. M., Miller, J. A., ... & Alberts, D. S.** (2010). Resveratrol modulates drug- and carcinogen-metabolizing enzymes in a healthy volunteer study. *Cancer Prevention Research*, 3(9), 1168-1175.

- [132] **Thapliyal, R., & Maru, G. B.** (2001). Inhibition of cytochrome P450 isozymes by curcumins in vitro and in vivo. *Food and Chemical Toxicology*, 39(6), 541-547.
- [133] **Lii, C. K., Tsai, C. W., & Wu, C. C.** (2006). Garlic allyl sulfides display differential modulation of rat cytochrome P450 2B1 and the placental form glutathione S-transferase in various organs. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(14), 5191-5196.
- [134] **Debersac, P., Heydel, J. M., Amiot, M. J., Goudonnet, H., Artur, Y., Suschetet, M., & Siess, M. H.** (2001). Induction of cytochrome P450 and/or detoxication enzymes by various extracts of rosemary: description of specific patterns. *Food and Chemical Toxicology*, 39(9), 907-918.
- [135] **Al-Jenoobi, F. I., Al-Thukair, A. A., Alam, M. A., Abbas, F. A., Al-Mohizea, A. M., Alkharfy, K. M., & Al-Suwayeh, S. A.** (2014). Effect of garden cress seeds powder and its alcoholic extract on the metabolic activity of CYP2D6 and CYP3A4. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014.
- [136] **Yao, H. T., Hsu, Y. R., Lii, C. K., Lin, A. H., Chang, K. H., & Yang, H. T.** (2014). Effect of commercially available green and black tea beverages on drug-metabolizing enzymes and oxidative stress in Wistar rats. *Food and Chemical Toxicology*, 70, 120-127.
- [137] **Chen, H. W., Tsai, C. W., Yang, J. J., Liu, C. T., Kuo, W. W., & Lii, C. K.** (2003). The combined effects of garlic oil and fish oil on the hepatic antioxidant and drug-metabolizing enzymes of rats. *British Journal of Nutrition*, 89(2), 189-200.
- [138] **Tanaka, S., Uchida, S., Miyakawa, S., Inui, N., Takeuchi, K., Watanabe, H., & Namiki, N.** (2013). Comparison of inhibitory duration of grapefruit juice on organic anion-transporting polypeptide and cytochrome P450 3A4. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 36(12), 1936-1941.
- [139] **Wark, P. A., Grubben, M. J., Peters, W. H., Nagengast, F. M., Kampman, E., Kok, F. J., & van't Veer, P.** (2004). Habitual consumption of fruits and vegetables: associations with human rectal glutathione S-transferase. *Carcinogenesis*, 25(11), 2135-2142.
- [140] **Froyen, E. B., Reeves, J. L. R., Mitchell, A. E., & Steinberg, F. M.** (2009). Regulation of phase II enzymes by genistein and daidzein in male and female Swiss Webster mice. *Journal of medicinal food*, 12(6), 1227-1237.
- [141] **Busserolles, J., Zimowska, W., Rock, E., Rayssiguier, Y., & Mazur, A.** (2002). Rats fed a high sucrose diet have altered heart antioxidant enzyme activity and gene expression. *Life Sciences*, 71(11), 1303-1312.
- [142] **Zxdenaerg-Cherr, S., Kee, C. L., Lonnerdal, B. and Hurley, L. S.** (1983). Superoxide dismutase activity and lipid peroxidation in the rat: Developmental correlations affected by manganese deficiency. *J. Nutr.* 113: 2498.
- [143] **Appelt, L. C., & Reicks, M. M.** (1997). Soy feeding induces phase II enzymes in rat tissues.
- [144] **Zhai, Q., Narbad, A., Chen, W.** (2015). Dietary strategies for the treatment of cadmium and lead toxicity. *Nutrients* 7:552–571.

- [145] Lili, Z., Junyan, W., Hongfei, Z., Baoqing, Z., & Bolin, Z. (2018). Detoxification of cancerogenic compounds by lactic acid bacteria strains. *Critical reviews in food science and nutrition*, 58(16), 2727-2742.
- [146] Roopha, D., Padmalathat, C. (2012). Effect of herbal preparation on heavy metal (cadmium) induced antioxidant system in female Wistar rats. *J Med Toxicol* 8:101–107.
- [147] Dua, T. K., Dewanjee, S., Khanra, R., Bhattacharya, N., Bhaskar, B., Zoa-UI-Haq, M., De, Feo. V. (2015). The effects of two common edible herbs, Ipomoea aquatica and Enhydra fluctuans, on cadmium-induced pathophysiology: a focus on oxidative defence and anti-apoptotic mechanism. *J Transl Med* 13:245.
- [148] Kim, W., Kim, D. W., Yoo, D. Y., Jung, H. Y., Nam, S. M., Kim, J. W., ... & Hwang, I. K. (2014). Dendropanax morbifera Léveille extract facilitates cadmium excretion and prevents oxidative damage in the hippocampus by increasing antioxidant levels in cadmium-exposed rats. *BMC complementary and alternative medicine*, 14(1), 1-8.
- [149] Xia, D., Yu, X., Liao, S., Shao, Q., Mou, H., Ma, W. (2010). Protective effect of Smilax glabra extract against lead-induced oxidative stress in rats. *J Ethnopharmacol* 130:414–420.
- [150] Mitra, E., Ghosh, A. K., Ghosh, D., Mukherjee, D., Chattopadhyay, A., Dutta, S., ... & Bandyopadhyay, D. (2012). Protective effect of aqueous Curry leaf (*Murraya koenigii*) extract against cadmium-induced oxidative stress in rat heart. *Food and Chemical Toxicology*, 50(5), 1340-1353.
- [151] Pires, V. C., Gollücke, A., Ribeiro, D. A., Lungato, L., D'Almeida, V., Aguiar, O. (2013). Grape juice concentrate protects reproductive parameters of male rats against cadmium induced damage: a chronic assay. *Br J Nutr* 110:2020–2029.
- [152] Nwokocha, C. R., Nwokocha, M. I., Aneto, I., Obi, J., Udekweleze, D. C., Olatunde, B., ... & Iwuala, M. O. (2012). Comparative analysis on the effect of *Lycopersicon esculentum* (tomato) in reducing cadmium, mercury and lead accumulation in liver. *Food and chemical toxicology*, 50(6), 2070-2073.
- [153] Mahdy, T. M., Giorgi, T., Adewole, F., Ernest, I., Idoko, M., Matey, N., ... & Sunday, M. (2012). Effect of *Moringa oleifera*, activated carbon and wood charcoal on biochemical and hematological parameters of Wistar rats exposed to lead acetate. *Med Weter*, 68, 101-106.
- [154] Arguelles-Vel'azquez, A., Alvarez-Gonz'alez, I., Madrigal-Bujaidar, E., Chamorro-Cevallos, G. (2013). Amelioration of cadmium-produced teratogenicity and genotoxicity in mice given *Arthrospira maxima* (*Spirulina*) treatment. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013:8 .
- [155] Brewer, M. S. (2011). Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 10:221e247.
- [156] Velazhahan, R., Vijayanandraj, S., Vijayasamundeeswari, A., et al. (2010). Detoxification of aflatoxins by seed extracts of the medicinal plant, *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague ex Turrill—structural analysis and biological toxicity of degradation product of aflatoxin G1. *Food Control* 21:719–725.

- [157] **Panda, P., Mehta, A.** (2013). Aflatoxin detoxification potential of *Ocimum tenuiflorum*. *J Food Safety* 33:265–272.
- [158] **Vijayanandraj, S., Brinda, R., Kannan, K., Adhithya, R., Vinothini, S., Senthil, K., ... & Velazhahan, R.** (2014). Detoxification of aflatoxin B1 by an aqueous extract from leaves of *Adhatoda vasica* Nees. *Microbiological Research*, 169(4), 294-300.
- [159] **Garcia-Nino, W. R., Pedraza-Chaverri, J.** (2014). Protective effect of curcumin against heavy metals-induced liver damage-review. *Food Chem Toxicol* 69:182–201.
- [160] **Ichikawa, M., Ide, N., Yoshida, J., Yamaguchi, H., Ono, K.** (2006). Determination of seven organosulfur compounds in garlic by high-performance liquid chromatography. *J Agric Food Chem* 54:1535–1540.
- [161] **Banerjee, S. K., Maulik, S. K.** (2002). Effect of garlic on cardiovascular disorders: a review. *Nutr J* 1:4.
- [162] **Santhosha, S. G., Jamuna, P., Prkbhavathi, S. N.** (2013). Bioactive components of garlic and their physiological role in health maintenance: A review. *Food Biosci* 3:59–74.
- [163] **Murugavel, P., Pari, L., Sitasawad, S. L., Kumar, S., Kumar, S.** (2007). Cadmium induced mitochondrial injury and apoptosis in vero cells: protective effect of diallyl tetrasulfide from garlic. *Int J Biochem Cell Biol* 39: 161–170.
- [164] **Baum, L., Ng, A.** (2004). Curcumin interaction with copper and iron suggests one possible mechanism of action in Alzheimer's disease animal models. *J Alzheimers Dis* 6:367–377.
- [165] **Agarwal, R., Goel, S., Behari, J.** (2010). Detoxification and antioxidant effects of curcumin in rats experimentally exposed to mercury. *J Appl Toxicol* 30:457–468.
- [166] **Yu, Y., Chen, F., Wang, X., Adelberg, J., Barron, F. H., Chen, Y., & Chung, H. Y.** (2008). Evaluation of antioxidant activity of curcumin-free turmeric (*Curcuma longa* L.) oil and identification of its antioxidant constituents.
- [167] **Carolina, C., Manzan, M., Toniolo, F. S., Bredow, E., Povh, N. P.** (2003). Extraction of essential oil and pigments from *Curcuma longa* [L.] by steam distillation and extraction with volatile solvents. *J Agric Food Chem* 51:6802–6807.
- [168] **Thuppil, V., Tannir, S.** (2013). Treating lead toxicity: possibilities beyond synthetic chelation-review article. *JKIMSU* 2:4–31.
- [169] **Ali, B. H., Tanira, M. O., Blunden, G., Nemmar, A.** (2008). Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): a review of recent research. *Food Chem Toxicol* 46:409–420.
- [170] **Oboh, G., Akinyemi, A. J., Ademiluyi, A. O.** (2010). Antioxidant and inhibitory effect of red ginger (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) and white ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) on Fe²⁺ induced lipid peroxidation in rat brain in vitro. *Exp Toxicol Pathol* 64:2–7.
- [171] **Kaushik, G., Satya, S., Naik, S. N.** (2011). Green tea: protective action against oxidative damage induced by xenobiotics. *Mediterr J Nutr Metab* 4: 11–31.

- [172] **Chen, L., Yang, X., Jiao, H., Zhao, B.** (2003). Tea catechins protect against lead-induced ROS formation, mitochondrial dysfunction, and calcium dysregulation in PC12 cells. *Chem Res Toxicol* 16:1155–1161.
- [173] **Hamed, E. A., Meki, A. R., Abd El-Mottaleb, N. A.** (2010). Protective effect of green tea on lead-induced oxidative damage in rat blood and brain tissue homogenates. *J Physiol Biochem* 66:143–151.
- [174] **Rajeshwari, U., Andallu, B.** (2011). Medicinal benefits of coriander (*Coriandrum sativum* L). *Spatula DD* 1:51–58.
- [175] **Sharma, V., Kansal, L., Sharma, A., Lodi, S., Sharma, S. H.** (2011). Protective role of *Coriandrum sativum* (coriander) extracts against lead nitrate induced oxidative stress and tissue damage in the liver and kidney in male mice. *Int J Appl Biol Pharm Technol* 2:65–83.
- [176] **Ding, X., Hua, Y., Chen, Y., Zhang, C., Kong, X.** (2015). Heavy metal complexation of thiol-containing peptides from soy glycinin hydrolysates. *Int J Mol Sci* 2015(16):8040–8058.
- [177] **Singh, B. P., Vij, S., Hati, S.** (2014). Functional significance of bioactive peptides derived from soybean. *Peptides* 54:171–179.
- [178] **Flora, S. J. S., Pachauri, V.** (2010). Chelation in metal intoxication: review. *Int J Environ Res Public Health* 7:2745–2788.
- [179] **Lutz, M., Henríquez, C., Escobar, M.** (2011). Chemical composition and antioxidant properties of mature and baby artichokes (*Cynara scolymus* L.), raw and cooked. *J Food Compos Anal* 24:49–54.
- [180] **El-Boshy, M., Ashshi, A., Gaith, M., Qusty, N., Bokhary, T., AlTaweel, N., & Abdelhady, M.** (2017). Studies on the protective effect of the artichoke (*Cynara scolymus*) leaf extract against cadmium toxicity-induced oxidative stress, hepatorenal damage, and immunosuppressive and hematological disorders in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(13), 12372-12383.
- [181] **Heidarian, E., Rafieian-Kopaei, M.** (2013). Protective effect of artichoke (*Cynara scolymus*) leaf extract against lead toxicity in rat. *Pharm Biol* 51:1104–1109; Kucukgergin C, Aydin AF, Erata GO, Mehmetcik G, Toker NK, Uysa IM (2010) Effect of artichoke leaf extract on hepatic and cardiac oxidative stress in rats fed on high cholesterol diet. *Trace Elem Res* 135: 264–274.
- [182] **Agarwala, S., Mudholkar, K., Bhuvania, R., & Satish Rao, B. S.** (2012). Mangiferin, a dietary xanthone protects against mercury-induced toxicity in HepG2 cells. *Environmental toxicology*, 27(2), 117-127.
- [183] **Muruganandan, S., Lal, J., Gupta, P. K.** (2005). Immunotherapeutic effects of mangiferin mediated by the inhibition of oxidative stress to activated lymphocytes, neutrophils and macrophages. *Toxicology* 215:57–68.
- [184] **Boots, A. W., Haenen, G. R., Bast, A.** (2008). Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. *Eur J Pharmacol* 585:325–337.
- [185] **Foti, M. C., Daquino, C., DiLabio, G. A.** (2011). Kinetics of the oxidation of quercetin by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•). *Org Lett* 13: 4826–4829.

- [186] Mishra, D., Flora, S. J. S. (2008). Quercetin administration during chelation therapy protects arsenic-induced oxidative stress in mice. *Biol Trace Elem Res* 122:137–147.
- [187] Mohammed, E., Hashem, K., Rheim, M. (2014). Biochemical study on the impact of *Nigella sativa* and virgin olive oils on cadmium-induced nephrotoxicity and neurotoxicity in rats. *J Investig Biochem* 3:71–78.
- [188] Cerqueira, N. M., Oliveira, E. F., Gesto, D. S., Santos-Martins, D., Moreira, C., Moorthy, H. N., ... & Fernandes, P. A. (2016). Cholesterol biosynthesis: a mechanistic overview. *Biochemistry*, 55(39), 5483-5506.
- [189] Ahire, J., Bhat, A., Thakare, J., M., Pawar, P., B., Zope, D., G., Jain, R., M., Chaudhari, B., L. (2012). Cholesterol Assimilation and Biotransformation by *Lactobacillus Helveticus*. *Biotechnol. Lett.* 34: 103–107.
- [190] Gordon, D. J., Probstfield, J. L., Garrison, R. J., Neaton, J. D., Castelli, W. P., Knoke, J. D., Jacobs, D. R., Jr., Bangdiwala, S., and Tyroler, H. A. (1989). High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. *Circulation* 79, 8–15.
- [191] Briel, M., Ferreira-Gonzalez, I., You, J. J., Karanickolas, P. J., Akl, E. A., Wu, P., Blechacz, B., Bassler, D., Wei, X. G., Sharman, A., Whitt, I., Alves da Silva, S., Khalid, Z., Nordmann, A. J., Zhou, Q., Walter, S. D., Vale, N., Bhatnagar, N., O'Regan, C., Mills, E. J., Bucher, H. C., Montori, V. M., and Guyatt, G. H. (2009). Association between change in high density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease morbidity and mortality: systematic review and meta-regression analysis. *BMJ [Br. Med. J.]* 338, b92.
- [192] Hussain, M. M., Strickland, D. K., and Bakillah, A. (1999). The mammalian low-density lipoprotein receptor family. *Annu. Rev. Nutr.* 19, 141–172.
- [193] Jacobson, T. A., Ito, M. K., Maki, K. C., et al. (2015). National lipid association recommendations for patient-centered management of dyslipidemia: part 1-full report. *J Clin Lipidol*; 9: 129-69.
- [194] Law, M. R., Wald, N. J., & Thompson, S. G. (1994). By how much and how quickly does reduction in serum cholesterol concentration lower risk of ischaemic heart disease? *Bmj*, 308(6925), 367-372.
- [195] Catapano, A. L., Graham, I., De Backer, G., Wiklund, O., Chapman, M. J., Drexel, H., ... & Zamorano, J. L. (2016). 2016 ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias: the Task Force for the Management of Dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS) developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Atherosclerosis*, 253, 281-344.
- [196] Jellinger, P., Smith, D., Mehta, A., Ganda, O., Handelsman, Y., Rodbard, H., ... Seibel, J. (2012). *American Association of Clinical Endocrinologists' Guidelines for Management of Dyslipidemia and Prevention of Atherosclerosis. Endocrine Practice*, 18(Supplement 1), 1–78.
- [197] Aarden, E., Van Hoyweghen, I., and Horstman, K. (2011). The paradox of public health genomics: Definition and diagnosis of familial hypercholesterolemia in three European countries. *Scand J. Public Health* 39, 634–639.

- [198] Newby, L. K., Kandzari, D., Roe, M. T., Mulgund, J., Bhatt, D. L., DeLong, E., Ohman, E. M., Gibler, W. B., and Peterson, E. D. (2005). Examining the hypercholesterolemia paradox in acute coronary syndromes: Results from CRUSADE. *Circulation* 111, E329–E329.
- [199] Stroes, E. S., Thompson, P. D., Corsini, A., Vladutiu, G. D., Raal, F. J., Ray, K. K., ... & Wiklund, O. (2015). Statin-associated muscle symptoms: impact on statin therapy—European Atherosclerosis Society consensus panel statement on assessment, aetiology and management. *European heart journal*, 36(17), 1012-1022.
- [200] Banach, M., Jankowski, P., Józwiak, J., Cybulska, B., Windak, A., Guzik, T., ... & Mastalerz-Migas, A. (2017). PoLA/CFPiP/PCS guidelines for the management of dyslipidaemias for family physicians 2016. *Archives of medical science: AMS*, 13(1), 1.
- [201] Piepoli, M. F., Hoes, A. W., Agewall, S., et al. (2016). European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts): Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Eur J Prev Cardiol*; 23: NP1-96.
- [202] Vanhees, L., Geladas, N., Hansen, D., Kouidi, E., Niebauer, J., Reiner, Ž., ... & Börjesson, M. (2012). Importance of characteristics and modalities of physical activity and exercise in the management of cardiovascular health in individuals with cardiovascular risk factors: recommendations from the EACPR (Part II). *European journal of preventive cardiology*, 19(5), 1005-1033.
- [203] Appel, L. J., Sacks, F. M., Carey, V. J., Obarzanek, E., Swain, J. F., Miller, E. R., ... & OmniHeart Collaborative Research Group. (2005). Effects of protein, monounsaturated fat, and carbohydrate intake on blood pressure and serum lipids: results of the OmniHeart randomized trial. *Jama*, 294(19), 2455-2464.
- [204] Lichtenstein, A. H., Appel, L. J., Brands, M., Carnethon, M., Daniels, S., Franch, H. A., ... & Wylie-Rosett, J. (2006). Diet and lifestyle recommendations revision 2006: a scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee. *Circulation*, 114(1), 82-96.
- [205] American Heart Association. Lifestyle Changes and Cholesterol. Available at: http://www.heart.org/HEARTORG/Conditions/Cholesterol/PreventionTreatmentofHighCholesterol/LifestyleChangesandCholesterol_UCM_305627_Article.jsp Last accessed: March 31, 2017.
- [206] Miller, M., Stone, N. J., Ballantyne, C., Bittner, V., Criqui, M. H., Ginsberg, H. N., ... & Pennathur, S. (2011). Triglycerides and cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*, 123(20), 2292-2333.
- [207] Guarner, F., & Schaafsma, G. J. (1998). Probiotics. *International journal of food microbiology*, 39(3), 237-238.

- [208] Naidu, A. S., Bidlack, W. R. and Clemens, R. A. (1999). "Probiotic Spectra of Lactic Acid Bacteria", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38 (1): 13-126.
- [209] Soomro, A. H., Masud, T. and Anwaar K. (2002). "Role of Lactic Acid Bacteria (LAB) in Food Preservation and Human Health", *Pakistan Journal of Nutrition*, 1 (1): 20-24.
- [210] Duygu, A. L. P., & Ertürkmen, P. (2017). Probiyotik olarak kullanılan *Lactobacillus* spp. suşlarının kolesterol düşürücü etkileri ve olası mekanizmalar. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(1), 108-113.
- [211] National Cholesterol Education Program (US). Expert Panel on Detection, & Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. (2002). *Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III)* (No. 2). The Program.
- [212] Filozof, C., Fernandez Pinilla, M. C., & Fernández-Cruz, A. (2004). Smoking cessation and weight gain. *Obesity reviews*, 5(2), 95-103.
- [213] Chen, Z. Y., Jiao, R., & Ma, K. Y. (2008). Cholesterol-lowering nutraceuticals and functional foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(19), 8761-8773.
- [214] Cicero, A. F. G., Fogacci, F., Morbini, M., Colletti, A., Bove, M., Veronesi, M., ... & Borghi, C. (2017). Nutraceutical effects on glucose and lipid metabolism in patients with impaired fasting glucose: a pilot, double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trial on a combined product. *High Blood Pressure & Cardiovascular Prevention*, 24(3), 283-288.
- [215] Cicero, A. F., Fogacci, F., & Colletti, A. (2017). Food and plant bioactives for reducing cardiometabolic disease risk: an evidence based approach. *Food & function*, 8(6), 2076-2088.
- [216] Banach, M., & Serban, M. C. (2016). Discussion around statin discontinuation in older adults and patients with wasting diseases. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, 7(4), 396.
- [217] Banach, M., Aronow, W. S., Serban, C., Sahabkar, A., Rysz, J., Voroneanu, L., & Covic, A. (2015). Lipids, blood pressure and kidney update 2014. *Pharmacological research*, 95, 111-125.
- [218] Devaraj, S., & Jialal, I. (2006). The role of dietary supplementation with plant sterols and stanols in the prevention of cardiovascular disease. *Nutrition reviews*, 64(7), 348-354.
- [219] Law, M. (2000). Plant sterol and stanol margarines and health. *Bmj*, 320(7238), 861-864.
- [220] Ras, R. T., Hiemstra, H., Lin, Y., Vermeer, M. A., Duchateau, G. S., & Trautwein, E. A. (2013). Consumption of plant sterol-enriched foods and effects on plasma plant sterol concentrations—a meta-analysis of randomized controlled studies. *Atherosclerosis*, 230(2), 336-346.
- [221] Ferguson, J. J., Stojanovski, E., MacDonald-Wicks, L., & Garg, M. L. (2016). Fat type in phytosterol products influence their cholesterol-lowering

potential: A systematic review and meta-analysis of RCTs. *Progress in lipid research*, 64, 16-29.

- [222] **Talati, R., Sobieraj, D. M., Makanji, S. S., Phung, O. J., & Coleman, C. I.** (2010). The comparative efficacy of plant sterols and stanols on serum lipids: a systematic review and meta-analysis. *Journal of the American Dietetic Association*, 110(5), 719-726.
- [223] **Brown, L., Rosner, B., Willett, W. W., & Sacks, F. M.** (1999). Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. *The American journal of clinical nutrition*, 69(1), 30-42.
- [224] **Doi, K.** (1995). Effect of konjac fibre (glucomannan) on glucose and lipids. *European journal of clinical nutrition*, 49, S190-S197.
- [225] **Sahebkar, A., Serban, M. C., Gluba-Brzózka, A., Mikhailidis, D. P., Cicero, A. F., Rysz, J., & Banach, M.** (2016). Lipid-modifying effects of nutraceuticals: an evidence-based approach. *Nutrition*, 32(11-12), 1179-119.
- [226] **Zhu, X., Sun, X., Wang, M., Zhang, C., Cao, Y., Mo, G., ... & Zhu, S.** (2015). Quantitative assessment of the effects of beta-glucan consumption on serum lipid profile and glucose level in hypercholesterolemic subjects. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 25(8), 714-723.
- [227] EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific opinion on the substantiation of a health claim related to oat beta-glucan and lowering blood cholesterol and reduced risk of (coronary) heart disease pursuant to Article 14 of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA J 2010; 8: 188.
- [228] **Anderson, J. W.** (1995). Dietary fibre, complex carbohydrate and coronary artery disease. *The Canadian journal of cardiology*, 11, 55G-62G
- [229] **Behera, S. S., & Ray, R. C.** (2016). Konjac glucomannan, a promising polysaccharide of *Amorphophallus konjac* K. Koch in health care. *International journal of biological macromolecules*, 92, 942-956.
- [230] **Cicero, A. F., Colletti, A., Bajraktari, G., Descamps, O., Djuric, D. M., Ezhov, M., ... & Banach, M.** (2017). Lipid-lowering nutraceuticals in clinical practice: position paper from an International Lipid Expert Panel. *Nutrition reviews*, 75(9), 731-767.
- [231] **Ma, J., Li, Y., Ye, Q., Li, J., Hua, Y., Ju, D., ... & Chang, M.** (2000). Constituents of red yeast rice, a traditional Chinese food and medicine. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(11), 5220-5225.
- [232] EFSA, Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to monacolin K from red yeast rice and maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 1648, 1700) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006; EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy. EFSA J 2011; 9: 2304.
- [233] **Borlinghaus, J., Albrecht, F., Grunhke, M. C. H., Nwachukwu, I. D., Slusarenko, A.** (2014). Allicin: chemistry and biological properties. *Molecules*; 19: 12591-618.

- [234] Ackermann, R. T., Mulrow, C. D., Ramirez, G., Gardner, C. D., Morbidoni, L., & Lawrence, V. A. (2001). Garlic shows promise for improving some cardiovascular risk factors. *Archives of Internal Medicine*, 161(6), 813-824.
- [235] Giglio, R. V., Patti, A. M., Nikolic, D., Volti, G. L., Al-Rasadi, K., Katsiki, N., ... & Rizzo, M. (2016). The effect of bergamot on dyslipidemia. *Phytomedicine*, 23(11), 1175-1181.
- [236] Di Donna, L., De Luca, G., Mazzotti, F., Napoli, A., Salerno, R., Taverna, D., & Sindona, G. (2009). Statin-like principles of bergamot fruit (*Citrus bergamia*): isolation of 3-hydroxymethylglutaryl flavonoid glycosides. *Journal of natural products*, 72(7), 1352-1354.
- [237] Miceli, N., Mondello, M. R., Monforte, M. T., Sdrafkakis, V., Dugo, P., Crupi, M. L., ... & Trovato, A. (2007). Hypolipidemic effects of *Citrus bergamia* Risso et Poiteau juice in rats fed a hypercholesterolemic diet. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(26), 10671-10677.
- [238] Liu, C. S., Zheng, Y. R., Zhang, Y. F., & Long, X. Y. (2016). Research progress on berberine with a special focus on its oral bioavailability. *Fitoterapia*, 109, 274-282.
- [239] Li, X. Y., Zhao, Z. X., Huang, M., Feng, R., He, C. Y., Ma, C., ... & Jiang, J. D. (2015). Effect of Berberine on promoting the excretion of cholesterol in high-fat diet-induced hyperlipidemic hamsters. *Journal of Translational Medicine*, 13(1), 1-9.
- [240] Derosa, G., Maffioli, P., & Cicero, A. F. (2012). Berberine on metabolic and cardiovascular risk factors: an analysis from preclinical evidences to clinical trials. *Expert opinion on biological therapy*, 12(8), 1113-1124.
- [241] Way, T. D., Lin, H. Y., Kuo, D. H., Tsai, S. J., Shieh, J. C., Wu, J. C., ... & Lin, J. K. (2009). Pu-erh tea attenuates hyperlipogenesis and induces hepatoma cells growth arrest through activating AMP-activated protein kinase (AMPK) in human HepG2 cells. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(12), 5257-5264.
- [242] Shishikura, Y., Khokhar, S., & Murray, B. S. (2006). Effects of tea polyphenols on emulsification of olive oil in a small intestine model system. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(5), 1906-1913.
- [243] Onakpoya, I., Spencer, E., Heneghan, C., & Thompson, M. (2014). The effect of green tea on blood pressure and lipid profile: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 24(8), 823-836.
- [244] Weggemans, R. M., & Trautwein, E. A. (2003). Relation between soy-associated isoflavones and LDL and HDL cholesterol concentrations in humans: a meta-analysis. *European journal of clinical nutrition*, 57(8), 940-946.
- [245] Arnoldi, A., & Greco, S. (2011). Nutritional and nutraceutical characteristics of lupin protein. *Nutrafoods*, 10(4), 23-29.
- [246] Fechner, A., Kiehntopf, M., & Jahreis, G. (2014). The formation of short-chain fatty acids is positively associated with the blood lipid-lowering effect of lupin kernel fiber in moderately hypercholesterolemic adults. *The Journal of nutrition*, 144(5), 599-607.

- [247] Derosa, G., Limas, C. P., Macías, P. C., Estrella, A., & Maffioli, P. (2014). Dietary and nutraceutical approach to type 2 diabetes. *Archives of medical science: AMS*, 10(2), 336.
- [248] Capasso, F., Gaginella, T. S., Grandolini, G., & Izzo, A. A. (2003). *Phytotherapy: a quick reference to herbal medicine*. Springer Science & Business Media.
- [249] Rangboo, V., Noroozi, M., Zavoshy, R., Rezadoost, S. A., & Mohammadpoorasl, A. (2016). The effect of artichoke leaf extract on alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase in the patients with nonalcoholic steatohepatitis. *International journal of hepatology*, 2016.
- [250] Wallace, T. C., Slavin, M., & Frankenfeld, C. L. (2016). Systematic review of anthocyanins and markers of cardiovascular disease. *Nutrients*, 8(1), 32
- [251] Li, D., Zhang, Y., Liu, Y., Sun, R., & Xia, M. (2015). Purified anthocyanin supplementation reduces dyslipidemia, enhances antioxidant capacity, and prevents insulin resistance in diabetic patients. *The Journal of nutrition*, 145(4), 742-748.
- [252] Marques, C., Fernandes, I., Norberto, S., Sá, C., Teixeira, D., de Freitas, V., ... & Faria, A. (2016). Pharmacokinetics of blackberry anthocyanins consumed with or without ethanol: A randomized and crossover trial. *Molecular nutrition & food research*, 60(11), 2319-2330.
- [253] Škottová, N., & Krečman, V. (1998). Silymarin as a potential hypocholesterolaemic drug. *Physiol Res*, 47(1), 1-7.
- [254] Voroneanu, L., Nistor, I., Dumea, R., Apetrii, M., & Covic, A. (2016). Silymarin in type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of diabetes research*, 2016.
- [255] Sahebkar, A., Serban, C., Ursoniu, S., Wong, N. D., Muntner, P., Graham, I. M., ... & Banach, M. (2015). Lipid and Blood Pressure Meta-analysis Collaboration Group Lack of efficacy of resveratrol on C-reactive protein and selected cardiovascular risk factors: results from a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Int J Cardiol*, 189, 47-55.
- [256] Aziz, Z., Wong, S. Y., & Chong, N. J. (2013). Effects of Hibiscus sabdariffa L. on serum lipids: A systematic review and meta-analysis. *Journal of ethnopharmacology*, 150(2), 442-450.
- [257] Cicero, A. F., & Colletti, A. (2016). Combinations of phytomedicines with different lipid lowering activity for dyslipidemia management: The available clinical data. *Phytomedicine*, 23(11), 1113-1118.
- [258] Cicero, A. F., Ferroni, A., & Ertek, S. (2012). Tolerability and safety of commonly used dietary supplements and nutraceuticals with lipid-lowering effects. *Expert opinion on drug safety*, 11(5), 753-766.
- [259] Cicero, A. F., Parini, A., & Rosticci, M. (2015). Nutraceuticals and cholesterol-lowering action. *IJC Metabolic & Endocrine*, 6, 1-4.
- [260] Adamis, Z., & Williams, R. B. (2005). Environmental health criteria 231. *Bentonite, kaolin, and selected clay minerals*. Geneva: WHO.
- [261] Uddin, F. (2018). *Montmorillonite: An introduction to properties and utilization* (pp. 3-23). London: IntechOpen.

- [262] Cinku, K., Ipekoglu, B., & Bilge, Y. (2000). Production of rheological additives for solvent based paint from Turkish bentonite. In *Developments in Mineral Processing* (Vol. 13, pp. C5-16). Elsevier.
- [263] Murray, H. H. (1999). Applied clay mineralogy today and tomorrow. *Clay minerals*, 34(1), 39-49.
- [264] Williams, L. B., Haydel, S. E., & Ferrell Jr, R. E. (2009). Bentonite, band-aids, and borborygmi. *Elements*, 5(2), 99-104.
- [265] Uddin, F. (2008). Clays, nanoclays, and montmorillonite minerals. *Metallurgical and Materials Transactions A*, 39(12), 2804-2814.
- [266] Kutlić, A., Bedeković, G., & Sobota, I. (2012). Bentonite processing. *Rudarsko-geološko-naftni zbornik*, 24(1), 61-65.
- [267] Önal, M., Sarıkaya, Y., Alemdaroğlu, T., & Bozdoğan, İ. (2002). The effect of acid activation on some physicochemical properties of a bentonite. *Turkish Journal of Chemistry*, 26(3), 409-416.
- [268] Wang, J. S., Luo, H., Billam, M., Wang, Z., Guan, H., Tang, L., ... & Phillips, T. D. (2005). Short-term safety evaluation of processed calcium montmorillonite clay (NovaSil) in humans. *Food additives and contaminants*, 22(3), 270-279.
- [269] İpekoğlu, B., Kurşun, İ., Bilge, Y., & Barut, A. (1997). Türkiye bentonit potansiyeline genel bir bakış. 2. *Endüstriyel Hammaddeler Sempozyumu*, 16-17.
- [270] Hensen, E. J., & Smit, B. (2002). Why clays swell. *The Journal of Physical Chemistry B*, 106(49), 12664-12667.
- [271] Moosavi, M. (2017). Bentonite clay as a natural remedy: a brief review. *Iranian journal of public health*, 46(9), 1176.
- [272] Uddin, F. (2008). Advancement in nanotechnology of polymers and fibers.
- [273] Jayrajsinh, S., Shankar, G., Agrawal, Y. K., & Bakre, L. (2017). Montmorillonite nanoclay as a multifaceted drug-delivery carrier: A review. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 39, 200-209.
- [274] Park, J. H., Shin, H. J., Kim, M. H., Kim, J. S., Kang, N., Lee, J. Y., ... & Kim, D. D. (2016). Application of montmorillonite in bentonite as a pharmaceutical excipient in drug delivery systems. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, 46(4), 363-375.
- [275] Damrau, F. (1961). The value of bentonite for diarrhea. *Med Ann Dist Columbia*, 30:326-8.
- [276] Yuan, C. W., Huang, J. T., Chen, C. C., Tang, P. C., Huang, J. W., Lin, J. J., ... & Chen, S. E. (2017). Evaluation of efficacy and toxicity of exfoliated silicate nanoclays as a feed additive for fumonisin detoxification. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(31), 6564-6571.
- [277] Ducrotte, P., Dapoigny, M., Bonaz, B., Siproudhis, L. (2005). Symptomatic efficacy of beidellitic montmorillonite in irritable bowel syndrome: a randomized, controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther*, 21:435-44.
- [278] Haydel, S. E., Remenih, C. M., Williams, L. B. (2008). Broad-spectrum in vitro antibacterial activities of clay minerals against antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant bacterial pathogens. *J Antimicrob Chemother*, 61:353-61.

- [279] Zhang, Y. T., Wang, X. F., Long, L. H., Liu, T., Cao, Y. X. (2009). Montmorillonite adsorbs creatinine and accelerates creatinine excretion from the intestine. *J Pharm Pharmacol*, 61:459-64.
- [280] Cao, Y. X., Long, L. H., Ma, Z., Tao, X. J., Liu, J., & Zhou, L. Z. (2009). Effect of montmorillonite on diffusion of urea between blood and intestine and on absorption of intestine in rats. *Zhong yao cai= Zhongyaocai= Journal of Chinese medicinal materials*, 32(2), 249-253.
- [281] Fowler, J. F. Jr. (2001). A skin moisturizing cream containing Quaternium-18-Bentonite effectively improves chronic hand dermatitis. *J Cutan Med Surg*, 5:201-5.
- [282] Coelho, G. L., Dornelas, C. B., Soares, K. C. et al (2008). Preparation and evaluation of inclusion complexes of commercial sunscreens in cyclodextrins and montmorillonites: performance and substantivity studies. *Drug Dev Ind Pharm*, 34:536-46.
- [283] Sandri, G., Bonferoni, M. C., Ferrari, F. et al (2014). Montmorillonite-chitosan-silver sulfadiazine nanocomposites for topical treatment of chronic skin lesions: in vitro biocompatibility, antibacterial efficacy and gap closure cell motility properties. *Carbohydr Polym*, 102:970-7.
- [284] Carretero, M. I., Gomes, C. S. F., & Tateo, F. (2006). Clays and human health. *Developments in clay science*, 1, 717-741.
- [285] Mortazavi, S. M., Atefi, A., Roshan-Shomal, P. et al (2009). Development of a novel mineral based haemostatic agent consisting of a combination of bentonite and zeolite minerals. *J Ayub Med Coll Abbottabad*, 21:3-7.
- [286] Mortazavi, S., Tavasoli, A., Atefi, M. et al (2013). CoolClot, a novel hemostatic agent for controlling life-threatening arterial bleeding. *World J Emerg Med*, 4:123-7.
- [287] Cai, Y., Meng, X. F., Cao, Y. X., Lu, H., Zhu, S. F., Zhou, L., Z. (2006). Montmorillonite ameliorates hyperthyroidism of rats and mice attributed to its adsorptive effect. *Eur J Pharmacol* 551:156–161.
- [288] Murphy, E. J., Roberts, E., Anderson, D. K., Horrocks, L. A. (1993). Cytotoxicity of aluminum silicates in primary neuronal cultures. *Neuroscience*, 57:483- 90.
- [289] Murphy, E. J., Roberts, E., Horrocks, L. A. (1993). Aluminum silicate toxicity in cell cultures. *Neuroscience*, 55:597-605.
- [290] Afriyie-Gyawu, E., Wang, Z., Ankrah, N. A. et al (2008). NovaSil clay does not affect the concentrations of vitamins A and E and nutrient minerals in serum samples from Ghanaians at high risk for aflatoxicosis. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 25:872-84.
- [291] Williams, L. B., Haydel, S. E., Giese, R. F., & Eberl, D. D. (2008). Chemical and mineralogical characteristics of French green clays used for healing. *Clays and Clay Minerals*, 56(4), 437-452.
- [292] Denli, M., Blandon, J.C., Guynot, M.E., Salado, S., Perez, J.F., (2009). Effects of dietary AflaDetox on performance, serum biochemistry, histopathological changes and aflatoxin residues in broilers exposed to aflatoxin B1. *Poultry Sci.* 88, 1444–1451.

- [293] Ramos, A. J., J. Fink-Gremmels, and E. Hernánde z. (1996). Prevention of toxic effects of mycotoxins by means of nonnutritive adsorbent compounds. *J. Food Prot.* 59:631–641.
- [294] Ma, Z., Long, L. H., Liu, J., & Cao, Y. X. (2009). Montmorillonite adsorbs uric acid and increases the excretion of uric acid from the intestinal tract in mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 61(11), 1499-1504.
- [295] Bhattacharyya, K. G., & Gupta, S. S. (2008). Adsorption of a few heavy metals on natural and modified kaolinite and montmorillonite: a review. *Advances in colloid and interface science*, 140(2), 114-131.
- [296] Phillips, T. D. (1999). Dietary clay in the chemoprevention of aflatoxin-induced disease. *Toxicological sciences: an official journal of the Society of Toxicology*, 52(suppl_1), 118-126.
- [297] Wang, G., Wang, S., Sun, Z., Zheng, S., & Xi, Y. (2017). Structures of nonionic surfactant modified montmorillonites and their enhanced adsorption capacities towards a cationic organic dye. *Applied Clay Science*, 148, 1-10.
- [298] Chang, P. H., Jiang, W. T., Li, Z., Kuo, C. Y., Jean, J. S., Chen, W. R., & Lv, G. (2014). Mechanism of amitriptyline adsorption on Ca-montmorillonite (SAz-2). *Journal of hazardous materials*, 277, 44-52.
- [299] Carson MS, Smith TK (1983). Role of bentonite in prevention of T-2 toxicosis in rats. *J Anim Sci*, 57:1498-506.
- [300] Dvorak M. (1989). Ability of bentonite and natural zeolite to adsorb aflatoxin from liquid media. *Vet Med (Praha)*, 34:307-16.
- [301] Schell T. C., Lindemann M. D., Kornegay E. T., Blodgett D. J. (1993). Effects of feeding aflatoxin-contaminated diets with and without clay to weanling and growing pigs on performance, liver function, and mineral metabolism. *J Anim Sci*, 71:1209-18.
- [302] Magnoli, A.P., Texeira, M., Rosa, R.C.A., Miazzo, R.D., Cavaglieri, L.R., Magnoli, C.E., Dalcero, A.M., Chiacchiera, S.M., (2010). Monensin affects the aflatoxin-binding ability of a sodium bentonite. *Poultry Sci.* 90, 48–58.
- [303] Phillips TD, Lemke SL, Grant PG. (2002). Characterization of clay-based enterosorbents for the prevention of aflatoxicosis. *Adv Exp Med Biol* 504: 157–171.
- [304] Cruz-Guzman M, Celis R, Hermosin M. C et al (2005). Adsorption of pesticides from water by functionalized organobentonites. *J Agric Food Chem*, 53:7502-11.
- [305] Okonek S., Setyadharma H., Borchert A., Krienke E. G. (1982). Activated charcoal is as effective as fuller's earth or bentonite in paraquat poisoning. *Klin Wochenschr*, 60:207-10.
- [306] Zhang, Q., Zhang, Y., Liu, S., Wu, Y., Zhou, Q., Zhang, Y., ... & Liu, N. (2021). Adsorption of deoxynivalenol by pillared montmorillonite. *Food Chemistry*, 343, 128391.
- [307] Yu DY, Li XL, Li WF (2008). Effect of montmorillonite superfine composite on growth performance and tissue lead level in pigs. *Biol Trace Elem Res*, 125:229-35.

- [308] **Ivan M, Dayrell Mde S, Hidiroglou M** (1992). Effects of bentonite and monensin on selected elements in the stomach and liver of fauna-free and faunated sheep. *J Dairy Sci*, 75:201-8.
- [309] **Kim SG, Dai W, Xu Z, Li G** (2011). Effects of montmorillonite on alleviating dietary Cd- induced oxidative damage in carp (*Carassius auratus*). *Biol Trace Elem Res*, 141:200-6.
- [310] **Wiles M, Huebner H, Afriyie-Gyawu E et al** (2004). Toxicological evaluation and metal bioavailability in pregnant rats following exposure to clay minerals in the diet. *J Toxicol Environ Health A*, 67:863-74.
- [311] **Mircioiu C, Voicu VA, Ionescu M et al** (2013). Evaluation of in vitro absorption, decontamination and desorption of organophosphorous compounds from skin and synthetic membranes. *Toxicol Lett*, 219:99-106.
- [312] **Movahedi MM, Alipour A, Mortazavi SA, Tayebi M** (2014). Production of a Novel Mineral-based Sun Lotion for Protecting the Skin from Biohazards of Electromagnetic Radiation in the UV Region. *J Biomed Phys Eng*, 4:9-12.
- [313] **Gershkovich, P., Darlington, J., Sivak, O., Constantinides, P. P., & Wasan, K. M.** (2009). Inhibition of intestinal absorption of cholesterol by surface-modified nanostructured aluminosilicate compounds. *Journal of pharmaceutical sciences*, 98(7), 2390-2400.
- [314] **Sivak, O., Darlington, J., Gershkovich, P., Constantinides, P. P., & Wasan, K. M.** (2009). Protonated nanostructured aluminosilicate (NSAS) reduces plasma cholesterol concentrations and atherosclerotic lesions in Apolipoprotein E deficient mice fed a high cholesterol and high fat diet. *Lipids in health and disease*, 8(1), 1-5.
- [315] **Gershkovich, P., Sivak, O., Contreras-Whitney, S., Darlington, J.W., Wasan, K.M.,** (2012). Assessment of cholesterol absorption inhibitors nanostructured aluminosilicate and cholestyramine using in vitro lipolysis model. *J. Pharm. Sci.* 101, 291–300.
- [316] **Ibrahim, F., Sivak, O., Wong, C., Hopkins, P., Midha, A., Gordon, J., ... Wasan, K. M.** (2013). Impact of co-administration of protonated nanostructured aluminum silicate (cholesterol absorption inhibitor) on the absorption of lipid soluble vitamins D3 and K1: An assessment of pharmacokinetic and in vitro intraluminal processing. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49(2), 125–132.
- [317] **Ejiofor, T., Mgbeahuruike, A. C., Ojiako, C., Ushie, A. M., Nwoko, E. I., Onoja, I. R., ... & Karlsson, M.** (2021). *Saccharomyces cerevisiae*, bentonite, and kaolin as adsorbents for reducing the adverse impacts of mycotoxin contaminated feed on broiler histopathology and hemato-biochemical changes. *Veterinary World*, 14(1), 23.
- [318] **Xu, P., Dai, S., Wang, J., Zhang, J., Liu, J., Wang, F., & Zhai, Y.** (2016). Preventive obesity agent montmorillonite adsorbs dietary lipids and enhances lipid excretion from the digestive tract. *Scientific reports*, 6(1), 1-12.
- [319] **Kececi, T., Oguz, H., Kurtoglu V., & Demet, O.** (1998). Effects of polyvinylpyrrolidone, synthetic zeolite and bentonite on serum biochemical and

haematological characters of broiler chickens during aflatoxicosis. *British Poultry Science*, 39(3), 452–458.

- [320] **Wanasundara, P. K. J. P. D., & Shahidi, F.** (1998). Process-induced compositional changes of flaxseed. *Process-induced chemical changes in food*, 307-325.
- [321] **Chikara, S., Mamidi, S., Sreedasyam, A., Chittam, K., Pietrofesa, R., Zuppa, A., ... & Reindl, K. M.** (2018). Flaxseed consumption inhibits chemically induced lung tumorigenesis and modulates expression of phase II enzymes and inflammatory cytokines in A/J mice. *Cancer Prevention Research*, 11(1), 27-37.
- [322] **Basch, E., Mphil, S. B., Collins, J., Dacey, C., Harrison, M., & Szapary, P.** (2007). Flax and flaxseed oil (*Linum usitatissimum*): a review by. *J Soc Integr Oncol*, 5(3), 92-105.
- [323] **Dzuvor, C. K. O., Taylor, J. T., Acquah, C., Pan, S., & Agyei, D.** (2018). Bioprocessing of functional ingredients from flaxseed. *Molecules*, 23(10), 2444.
- [324] **Dorrell, D. G.** (1970). Distribution of fatty acids within the seed of flax. *Canadian Journal of Plant Science*, 50(1), 71-75.
- [325] **Tolkachev, O. N., & Zhuchenko, A. A.** (2004). Biologically active substances of flax: medicinal and nutritional properties (a review). *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 34(7), 360-367.
- [326] **Basiri, S., Haidary, N., Shekarforoush, S. S., & Niakousari, M.** (2018). Flaxseed mucilage: A natural stabilizer in stirred yogurt. *Carbohydrate Polymers*, 187, 59-65.
- [327] **Luo, J., Li, Y., Mai, Y., Gao, L., Ou, S., Wang, Y., ... & Peng, X.** (2018). Flaxseed gum reduces body weight by regulating gut microbiota. *Journal of Functional Foods*, 47, 136-142.
- [328] **USDA.** Report 12220, Seeds, Flaxseed. Available online: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/12220> (accessed on 27 August 2018).
- [329] **Kremer, J. M.** (2000). n-3 Fatty acid supplements in rheumatoid arthritis. *The American journal of clinical nutrition*, 71(1), 349s-351s.
- [330] **Bernacchia, R., Preti, R., & Vinci, G.** (2014). Chemical composition and health benefits of flaxseed. *Austin J Nutri Food Sci*, 2(8), 1045.
- [331] **Riediger, N. D., Othman, R., Fitz, E., Pierce, G. N., Suh, M., & Moghadasian, M. H.** (2008). Low n-6: n-3 fatty acid ratio, with fish-or flaxseed oil, in a high fat diet improves plasma lipids and beneficially alters tissue fatty acid composition in mice. *European journal of nutrition*, 47(3), 153-160.
- [332] **Dubois, V., Breton, S., Linder, M., Fanni, J., & Parmentier, M.** (2007). Fatty acid profiles of 80 vegetable oils with regard to their nutritional potential. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109(7), 710-732.
- [333] **Thompson, L. U., Rickard, S. E., Orcheson, L. J., & Seidl, M. M.** (1996). Flaxseed and its lignan and oil components reduce mammary tumor growth at a late stage of carcinogenesis.
- [334] **Kajla, P., Sharma, A., & Sood, D. R.** (2015). Flaxseed—a potential functional food source. *Journal of food science and technology*, 52(4), 1857-1871.

- [335] **Martinchik, A. N., Baturin, A. K., Zubtsov, V. V., & Viu, M.** (2012). Nutritional value and functional properties of flaxseed. *Voprosy pitaniia*, 81(3), 4-10.
- [336] **Marambe, P. W. M. L. H. K., Shand, P. J., & Wanasundara, J. P. D.** (2008). An in-vitro investigation of selected biological activities of hydrolysed flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) proteins. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85(12), 1155-1164.
- [337] **Omoni, A. O., & Aluko, R. E.** (2006). Mechanism of the inhibition of calmodulin-dependent neuronal nitric oxide synthase by flaxseed protein hydrolysates. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 83(4), 335-340.
- [338] **Bhathena, S. J., Ali, A. A., Haudenschild, C., Latham, P., Ranich, T., Mohamed, A. I., ... & Velasquez, M. T.** (2003). Dietary flaxseed meal is more protective than soy protein concentrate against hypertriglyceridemia and steatosis of the liver in an animal model of obesity. *Journal of the American College of Nutrition*, 22(2), 157-164.
- [339] **Anderson, E., & Lowe, H. J.** (1947). The composition of flaxseed mucilage. *Journal of Biological Chemistry*, 168(1), 289-297.
- [340] **Peterson, J., Dwyer, J., Adlercreutz, H., Scalbert, A., Jacques, P., & McCullough, M. L.** (2010). Dietary lignans: physiology and potential for cardiovascular disease risk reduction. *Nutrition reviews*, 68(10), 571-603.
- [341] **Kozłowska, H., Zadernowski, R., & Sosulski, F. W.** (1983). Phenolic acids in oilseed flours. *Food/Nahrung*, 27(5), 449-453.
- [342] **Johnsson, P., Kamal-Eldin, A., Lundgren, L. N., & Åman, P.** (2000). HPLC method for analysis of secoisolariciresinol diglucoside in flaxseeds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(11), 5216-5219.
- [343] **Sok, D. E., Cui, H. S., & Kim, M. R.** (2009). Isolation and bioactivities of furfuran type lignan compounds from edible plants. *Recent patents on food, nutrition & agriculture*, 1(1), 87-95.
- [344] **Korkina, L., Kostyuk, V., De Luca, C., & Pastore, S.** (2011). Plant phenylpropanoids as emerging anti-inflammatory agents. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 11(10), 823-835.
- [345] **Morris, M. C., Evans, D. A., Tangney, C. C., Bienias, J. L., Wilson, R. S., Aggarwal, N. T., & Scherr, P. A.** (2005). Relation of the tocopherol forms to incident Alzheimer disease and to cognitive change. *The American journal of clinical nutrition*, 81(2), 508-514.
- [346] **Carter, J. F.** (1993). Potential of flaxseed and flaxseed oil in baked goods and other products in human nutrition. *Cereal foods world (USA)*.
- [347] **Austria, J. A., Richard, M. N., Chahine, M. N., Edel, A. L., Malcolmson, L. J., Dupasquier, C. M., & Pierce, G. N.** (2008). Bioavailability of alpha-linolenic acid in subjects after ingestion of three different forms of flaxseed. *Journal of the American College of Nutrition*, 27(2), 214-221.
- [348] **Dodin, S., Lemay, A., Jacques, H., Legare, F., Forest, J. C., & Masse, B.** (2005). The effects of flaxseed dietary supplement on lipid profile, bone mineral density, and symptoms in menopausal women: a randomized, double-blind, wheat germ placebo-controlled clinical trial. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90(3), 1390-1397.

- [349] Prasad K. (2009). Flaxseed and cardiovascular health. *J Cardiovasc Pharmacol* 54: 369–377.
- [350] Community Herbal Monograph on *Linum Usitatissimum L.*, Semen. London, 2015; Doc. Ref: EMA/HMPC/377675/2014 https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-monograph/final-community-herbal-monograph-linum-usitatissimum-l-semen_en.pdf Erişim tarihi: 10.06.2021.
- [351] Smith, T. J., Guo, Z., Li, C., Ning, S. M., Thomas, P. E., & Yang, C. S. (1993). Mechanisms of inhibition of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone bioactivation in mouse by dietary phenethyl isothiocyanate. *Cancer Research*, 53(14), 3276-3282.
- [352] Crampsie, M. A., Jones, N., Das, A., Aliaga, C., Desai, D., Lazarus, P., ... & Sharma, A. K. (2011). Phenylbutyl Isoselenocyanate Modulates Phase I and II Enzymes and Inhibits 4-(Methylnitrosamino)-1-(3-Pyridyl)-1-Butanone–Induced DNA Adducts in Mice. *Cancer prevention research*, 4(11), 1884-1894.
- [353] Kinniry, P., Amrani, Y., Vachani, A., Solomides, C. C., Arguiri, E., Workman, A., ... & Christofidou-Solomidou, M. (2006). Dietary flaxseed supplementation ameliorates inflammation and oxidative tissue damage in experimental models of acute lung injury in mice. *The Journal of nutrition*, 136(6), 1545-1551.
- [354] Lee, J. C., Bhora, F., Sun, J., Cheng, G., Arguiri, E., Solomides, C. C., ... & Christofidou-Solomidou, M. (2008). Dietary flaxseed enhances antioxidant defenses and is protective in a mouse model of lung ischemia-reperfusion injury. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 294(2), L255-L265.
- [355] Dukes, F., Kanterakis, S., Lee, J., Pietrofesa, R., Andersen, E. S., Arguiri, E., ... & Christofidou-Solomidou, M. (2012). Gene expression profiling of flaxseed in mouse lung tissues-modulation of toxicologically relevant genes. *BMC complementary and alternative medicine*, 12(1), 1-11.
- [356] Sharma, J., Singh, R., & Goyal, P. K. (2016). Chemomodulatory potential of flaxseed oil against DMBA/croton oil–induced skin carcinogenesis in mice. *Integrative cancer therapies*, 15(3), 358-367.
- [357] Bhatia, A. L. (2009). Radioprotection by flaxseed oil: efficacy on post-irradiation administration. *Pharmacologyonline*, 1, 176-187.
- [358] Rizwan S., Naqshbandi A., Khan F. (2013). Dietary flaxseed oil supplementation mitigates the effect of lead on the enzymes of carbohydrate metabolism, brush border membrane, and oxidative stress in rat kidney tissues. *Biol Trace Elem Res* 153: 279–290.
- [359] MacDonald-Wicks, L. K., & Garg, M. L. (2002). Modulation of carbon tetrachloride-induced oxidative stress by dietary fat in rats. *The Journal of nutritional biochemistry*, 13(2), 87-95.
- [360] Prasad, K. (2000). Antioxidant activity of secoisolariciresinol diglucoside-derived metabolites, secoisolariciresinol, enterodiol, and enterolactone. *International journal of angiology*, 9(4), 220-225.

- [361] Prasad, K. (1997). Hydroxyl radical-scavenging property of secoisolariciresinol diglucoside (SDG) isolated from flax-seed. *Molecular and cellular biochemistry*, 168(1), 117-123.
- [362] Kitts, D. D., Yuan, Y. V., Wijewickreme, A. N., & Thompson, L. U. (1999). Antioxidant activity of the flaxseed lignan secoisolariciresinol diglycoside and its mammalian lignan metabolites enterodiol and enterolactone. *Molecular and cellular biochemistry*, 202(1), 91-100.
- [363] Chiu, P. Y., Mak, D. H. F., Poon, M. K. T., & Ko, K. M. (2002). In vivo antioxidant action of a lignan-enriched extract of Schisandra fruit and an anthraquinone-containing extract of Polygonum root in comparison with schisandrin B and emodin. *Planta medica*, 68(11), 951-956.
- [364] Ikeda, S., Kagaya, M., Kobayashi, K., Tohyama, T., Kiso, Y., Higuchi, N., & Yamashita, K. (2003). Dietary sesame lignans decrease lipid peroxidation in rats fed docosahexaenoic acid. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 49(4), 270-276.
- [365] Ikeda, T., Nishijima, Y., Shibata, H., Kiso, Y., Ohnuki, K., Fushiki, T., & Moritani, T. (2003). Protective effect of sesamin administration on exercise-induced lipid peroxidation. *International journal of sports medicine*, 24(07), 530-534.
- [366] Bouaziz, F., Koubaa, M., Barba, F. J., Roohinejad, S., & Chaabouni, S. E. (2016). Antioxidant properties of water-soluble gum from flaxseed hulls. *Antioxidants*, 5(3), 26.
- [367] Liang, S., Liao, W., Ma, X., Li, X., & Wang, Y. (2017). H₂O₂ oxidative preparation, characterization and antiradical activity of a novel oligosaccharide derived from flaxseed gum. *Food chemistry*, 230, 135-144.
- [368] Parikh, M., Netticadan, T., & Pierce, G. N. (2018). Flaxseed: its bioactive components and their cardiovascular benefits. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 314(2), H146-H159.
- [369] Parikh, M., & Pierce, G. N. (2019). Dietary flaxseed: What we know and don't know about its effects on cardiovascular disease. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 97(2), 75-81.
- [370] Shakir, K. F., & Madhusudhan, B. (2007). Hypocholesterolemic and hepatoprotective effects of flaxseed chutney: evidence from animal studies. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 22(1), 117.
- [371] Cunnane, S. C., Hamadeh, M. J., Liede, A. C., Thompson, L. U., Wolever, T. M., & Jenkins, D. J. (1995). Nutritional attributes of traditional flaxseed in healthy young adults. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 61(1), 62-68.
- [372] Leyva, D. R., Zahradka, P., Ramjiawan, B., Guzman, R., Aliani, M., & Pierce, G. N. (2011). The effect of dietary flaxseed on improving symptoms of cardiovascular disease in patients with peripheral artery disease: rationale and design of the FLAX-PAD randomized controlled trial. *Contemporary clinical trials*, 32(5), 724-730.
- [373] Bassett, C. M., McCullough, R. S., Edel, A. L., Patenaude, A., LaVallee, R. K., & Pierce, G. N. (2011). The α -linolenic acid content of flaxseed can prevent

the atherogenic effects of dietary trans fat. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 301(6), H2220-H2226.

- [374] Fukumitsu, S., Aida, K., Shimizu, H., & Toyoda, K. (2010). Flaxseed lignan lowers blood cholesterol and decreases liver disease risk factors in moderately hypercholesterolemic men. *Nutrition Research*, 30(7), 441-446.
- [375] Zhang, W., Wang, X., Liu, Y., Tian, H., Flickinger, B., Empie, M. W., & Sun, S. Z. (2008). Dietary flaxseed lignan extract lowers plasma cholesterol and glucose concentrations in hypercholesterolaemic subjects. *British journal of nutrition*, 99(6), 1301-1309.
- [376] Edel, A. L., Rodriguez-Leyva, D., Maddaford, T. G., Caligiuri, S. P., Austria, J. A., Weighell, W., ... & Pierce, G. N. (2015). Dietary flaxseed independently lowers circulating cholesterol and lowers it beyond the effects of cholesterol-lowering medications alone in patients with peripheral artery disease. *The Journal of nutrition*, 145(4), 749-757.
- [377] Kristensen, M., Jensen, M. G., Aarestrup, J., Petersen, K. E., Søndergaard, L., Mikkelsen, M. S., & Astrup, A. (2012). Flaxseed dietary fibers lower cholesterol and increase fecal fat excretion, but magnitude of effect depend on food type. *Nutrition & metabolism*, 9(1), 1-8.
- [378] Den Besten, G., Van Eunen, K., Groen, A. K., Venema, K., Reijngoud, D. J., & Bakker, B. M. (2013). The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *Journal of lipid research*, 54(9), 2325-2340.
- [379] Leyva, D.R.; Zahradka, P.; Ramjiawan, B.; Guzman, R.; Aliani, M.; Pierce, G.N. Lucas, E. A., Lightfoot, S. A., Hammond, L. J., Devareddy, L., Khalil, D. A., Daggy, B. P., ... & Arjmandi, B. H. (2004). Flaxseed reduces plasma cholesterol and atherosclerotic lesion formation in ovariectomized Golden Syrian hamsters. *Atherosclerosis*, 173(2), 223-229.
- [380] Raissi, A., Galavi, M., Zafaraneieh, M., Soluki, M., & Mousavi, S. R. (2013). Biochemical change of seeds and yield of Isabgol (*Plantago ovata*) under bio-fertilizer, organic manure and chemical fertilizer. *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci.*, 2(6), 112-117.
- [381] Golkar, P., F. Amooshahi, and A. Arzani. (2017). The effects of salt stress on physio-biochemical traits, total phenolic and mucilage content of *Plantago ovata* Forsk under in vitro conditions. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 90:224–31.
- [382] Sarkar, S., and R. K. Lal. (2018). Genetic architecture of some agronomic traits as deciphered from diallel cross analysis of *Plantago ovata* Forsk. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 9:55–61.
- [383] Jain, N., Gupta, S., & Babbar, S. B. (1997). Isubgol as an alternative gelling agent for microbial culture media. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 6(2), 129-131.
- [384] Sarfraz, R. M., Khan, H., Maheen, S., Afzal, S., Akram, M. R., Mahmood, A., ... & Yasmeeni, T. (2017). *Plantago ovata*: A comprehensive review on cultivation, biochemical, pharmaceutical and pharmacological aspects. *Acta Pol Pharm*, 74(3), 739-46.

- [385] **Belorio, M., & Gómez, M.** (2020). Psyllium: a useful functional ingredient in food systems. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-12.
- [386] **Bannayan, M., Nadjafi, F., Azizi, M., Tabrizi, L., & Rastgoo, M.** (2008). Yield and seed quality of *Plantago ovata* and *Nigella sativa* under different irrigation treatments. *Industrial Crops and products*, 27(1), 11-16.
- [387] **Hannan, J. M. A., Ali, L., Khaleque, J., Akhter, M., Flatt, P. R., & Abdel-Wahab, Y. H. A.** (2006). Aqueous extracts of husks of *Plantago ovata* reduce hyperglycaemia in type 1 and type 2 diabetes by inhibition of intestinal glucose absorption. *British Journal of Nutrition*, 96(1), 131-137.
- [388] **McRorie Jr, J. W., & McKeown, N. M.** (2017). Understanding the physics of functional fibers in the gastrointestinal tract: an evidence-based approach to resolving enduring misconceptions about insoluble and soluble fiber. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 117(2), 251-264.
- [389] **Jalanka, J., Major, G., Murray, K., Singh, G., Nowak, A., Kurtz, C., ... Spiller, R.** (2019). The effect of psyllium husk on intestinal microbiota in constipated patients and healthy controls. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(2), 433–440.
- [390] **Singh, S., Singh, R., Kumar, N., & Kumar, R.** (2011). Wound healing activity of ethanolic extract of *Plantago Ovata* (Ispaghula) seeds. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(7), 18.
- [391] **Deters, A. M., Schröder, K. R., Smiatek, T., & Hensel, A.** (2005). Ispaghula (*Plantago ovata*) seed husk polysaccharides promote proliferation of human epithelial cells (skin keratinocytes and fibroblasts) via enhanced growth factor receptors and energy production. *Planta medica*, 71(01), 33-39.
- [392] **Gibb, R. D., J. W. McRorie, D. A. Russell, V. Hasselblad, and D. A. D'Alesio.** (2015). Psyllium fibre improves glycaemic control proportional to loss of glycaemic control: A meta-analysis of data in euglycemic subjects, patients at risk of type 2 diabetes mellitus, and patients being treated for type 2 diabetes mellitus. *The American Journal of Clinical Nutrition* 102 (6):1604–14
- [393] **Alabaster, O., Z. C. Tang, A. Frost, and N. Shivapurkar.** (1993). Potential synergism between wheat bran and psyllium – Enhanced inhibition of colon-cancer. *Cancer Letters* 75 (1):53–8.
- [394] **Cicero, A. F., G. Derosa, M. Manca, M. Bove, C. Borghi, and A. V. Gaddi.** (2007). Different effect of psyllium and guar dietary supplementation on blood pressure control in hypertensive overweight patients: A six-month, randomized clinical trial. *Clinical and Experimental Hypertension* (New York, N.Y. : 1993) 29 (6):383–94.
- [395] **Bokaeian, M., Fakheri, B. A., Mohasseli, T., & Saeidi, S.** (2015). Antibacterial activity of silver nanoparticles produced by *plantago ovata* seed extract against antibiotic resistant *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Infection*, 2(1).
- [396] Community Herbal Monograph on Psyllium Seed (*Plantago Afra Et Plantago Indica*, Semen. London, 2006; Doc. Ref: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-monograph/draft-community-herbal-monograph-psyllum-seed-plantago-afra-et-plantago-indica-semen_en.pdf Erişim tarihi: 10.06.2021.

- [397] **Dikeman, C. L., and G. C. Fahey.** (2006). Viscosity as related to dietary fiber: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 46 (8):649–63.
- [398] **Van Rosendaal, G. M., Shaffer, E. A., Edwards, A. L., & Brant, R.** (2004). Effect of time of administration on cholesterol-lowering by psyllium: a randomized cross-over study in normocholesterolemic or slightly hypercholesterolemic subjects. *Nutrition Journal*, 3(1), 1-7.
- [399] **Niu, Y., Xie, Z., Zhang, H., Sheng, Y., & Yu, L.** (2013). Effects of structural modifications on physicochemical and bile acid-binding properties of psyllium. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(3), 596-601.
- [400] **Chan, E. K., & Schroeder, D. J.** (1995). Psyllium in hypercholesterolemia. *Annals of Pharmacotherapy*, 29(6), 625-627.
- [401] **Xiao, Z., Chen, H., Zhang, Y., Deng, H., Wang, K., Bhagavathula, A. S., ... & Wei, Y.** (2020). The effect of psyllium consumption on weight, body mass index, lipid profile, and glucose metabolism in diabetic patients: A systematic review and dose-response meta-analysis of randomized controlled trials. *Phytotherapy Research*, 34(6), 1237-1247.
- [402] **Xing, L. C., Santhi, D., Shar, A. G., & Saeed, M.** (2017). Psyllium husk (*Plantago ovata*) as a potent hypocholesterolemic agent in animal, human and poultry.
- [403] **Dennison, B. A., & Levine, D. M.** (1993). Randomized, double-blind, placebo-controlled, two-period crossover clinical trial of psyllium fiber in children with hypercholesterolemia. *The Journal of pediatrics*, 123(1), 24-29.
- [404] **Spence, J. D., Huff, M. W., Heidenheim, P., Viswanatha, A., Munoz, C., Lindsay, R., ... & Mills, D.** (1995). Combination therapy with colestipol and psyllium mucilloid in patients with hyperlipidemia. *Annals of Internal Medicine*, 123(7), 493-499.
- [405] **Stewart, R. B., Hale, W. E., Moore, M. T., May, F. E., & Marks, R. G.** (1991). Effect of psyllium hydrophilic mucilloid on serum cholesterol in the elderly. *Digestive diseases and sciences*, 36(3), 329-334.
- [406] **Pal, S., and S. Radavelli-Bagatini.** (2012). Effects of psyllium on metabolic syndrome risk factors. *Obesity Reviews: An Official Journal of the International Association for the Study of Obesity* 13 (11):1034–47.
- [407] **Liu, Y. C., Liu, S. Y., & Lin, M. H.** (2004). Effects of psyllium on plasma total and lipoprotein cholesterol and hepatic cholesterol in hamsters fed n–3 PUFA or n–6 PUFA with high cholesterol levels. *Annals of nutrition and metabolism*, 48(6), 374-380.
- [408] **Jovanovski, E., Yashpal, S., Komishon, A., Zurbau, A., Blanco Mejia, S., Ho, H. V. T., ... & Vuksan, V.** (2018). Effect of psyllium (*Plantago ovata*) fiber on LDL cholesterol and alternative lipid targets, non-HDL cholesterol and apolipoprotein B: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *The American journal of clinical nutrition*, 108(5), 922-932.
- [409] **Amalraj, A., Pius, A., Gopi, S., & Gopi, S.** (2017). Biological activities of curcuminoids, other biomolecules from turmeric and their derivatives—A review. *Journal of traditional and complementary medicine*, 7(2), 205-233.
- [410] **Matias, J. N., Achete, G., Campanari, G. S. D. S., Guiguer, É. L., Araújo, A. C., Buglio, D. S., & Barbalho, S. M.** (2021). A systematic review of the

antidepressant effects of curcumin: Beyond monoamines theory. *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry*, 55(5), 451-462.

- [411] Kocaadam, B., & Şanlıer, N. (2017). Curcumin, an active component of turmeric (*Curcuma longa*), and its effects on health. *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(13), 2889-2895.
- [412] Ayati, Z., Ramezani, M., Amiri, M. S., Moghadam, A. T., Rahimi, H., Abdollahzade, A., ... & Emami, S. A. (2019). Ethnobotany, phytochemistry and traditional uses of *Curcuma* spp. and pharmacological profile of two important species (*C. longa* and *C. zedoaria*): a review. *Current pharmaceutical design*, 25(8), 871-935.
- [413] Ray, K. K., Seshasai, S. R. K., Erqou, S., Sever, P., Jukema, J. W., Ford, I., & Sattar, N. (2010). Statins and all-cause mortality in high-risk primary prevention: a meta-analysis of 11 randomized controlled trials involving 65 229 participants. *Archives of internal medicine*, 170(12), 1024-1031.
- [414] Ramirez-Tortosa, M. C., Mesa, M. D., Aguilera, M. C., Quiles, J. L., Baro, L., Ramirez-Tortosa, C. L., ... & Gil, A. (1999). Oral administration of a turmeric extract inhibits LDL oxidation and has hypocholesterolemic effects in rabbits with experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 147(2), 371-378.
- [415] Yu, Z. F., Kong, L. D., & Chen, Y. (2002). Antidepressant activity of aqueous extracts of *Curcuma longa* in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 83(1-2), 161-165.
- [416] Uchio, R., Murosaki, S., & Ichikawa, H. (2018). Hot water extract of turmeric (*Curcuma longa*) prevents non-alcoholic steatohepatitis in mice by inhibiting hepatic oxidative stress and inflammation. *Journal of nutritional science*, 7.
- [417] Kunnumakkara, A. B., Bordoloi, D., Padmavathi, G., Monisha, J., Roy, N. K., Prasad, S., & Aggarwal, B. B. (2017). Curcumin, the golden nutraceutical: multitargeting for multiple chronic diseases. *British journal of pharmacology*, 174(11), 1325-1348.
- [418] Anand, P., Kunnumakkara, A. B., Newman, R. A., & Aggarwal, B. B. (2007). Bioavailability of curcumin: Problems and promises. *Molecular Pharmaceutics*, 4(6), 807-818.
- [419] Shaikh, J., Ankola, D. D., Beniwal, V., Singh, D., & Kumar, M. R. (2009). Nanoparticle encapsulation improves oral bioavailability of curcumin by at least 9-fold when compared to curcumin administered with piperine as absorption enhancer. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 37(3-4), 223-230.
- [420] Lee, S-H., Jang, S., Kim, D., Park, M., Ionescu, C., Bravo, D., Lillehoj, H. (2009). Effect of dietary cinnamomum cassia and curcuma longa on Eimeria tenella infection in broiler chickens. *Poult Sci Assoc*, 98th Annual Meeting.
- [421] Community Herbal Monograph on *Curcuma longa* L., rhizoma. London, 2017; Doc. Ref: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-monograph/final-european-union-herbal-monograph-curcuma-longa-l-rhizoma-revision-1_en.pdf Erişim tarihi: 10.06.2021.
- [422] Gowda, N. K. S., Ledoux, D. R., Rottinghaus, G. E., Bermudez, A. J., Chen, Y. C. (2008). Efficacy of turmeric (*Curcuma longa*), containing a known level

of curcumin, and a hydrated sodium calcium aluminosilicate to ameliorate the adverse effects of aflatoxin in broiler chicks. *Poult Sci*, 87: 1125-1130.

- [423] Mukherjee, S., Roy, M., Dey, S., & Bhattacharya, R. K. (2007). A mechanistic approach for modulation of arsenic toxicity in human lymphocytes by curcumin, an active constituent of medicinal herb *Curcuma longa* Linn. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*, 41(1), 32-42.
- [424] Kunchandy, E., & Rao, M. N. A. (1989). Effect of curcumin on hydroxyl radical generation through Fenton reaction. *International journal of pharmaceuticals*, 57(2), 173-176.
- [425] Rao, M. N. A. (1997). Nitric oxide scavenging by curcuminoids. *Journal of pharmacy and Pharmacology*, 49(1), 105-107.
- [426] Rao, M. N. A. (1994). Curcuminoids as potent inhibitors of lipid peroxidation. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 46(12), 1013-1016.
- [427] Lee, H. Y., Kim, S. W., Lee, G. H., Choi, M. K., Jung, H. W., Kim, Y. J., ... & Chae, H. J. (2016). Turmeric extract and its active compound, curcumin, protect against chronic CCl₄-induced liver damage by enhancing antioxidant. *BMC complementary and alternative medicine*, 16(1), 1-9.
- [428] Hasan, M. A. (2020). Ultrastructural Changes in Hepatocytes and Chemopreventive Effects of Short-Term Administration of *Curcuma longa* L. against Oxidative Stress-Induced Toxicity: Improvement Mechanisms of Liver Detoxification. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020.
- [429] Amin, F., Islam, N., Anila, N., & Gilani, A. H. (2015). Clinical efficacy of the co-administration of Turmeric and Black seeds (Kalongi) in metabolic syndrome—A double blind randomized controlled trial—TAK-MetS trial. *Complementary therapies in medicine*, 23(2), 165-174.
- [430] Pashine, L., Singh, J. V., Vaish, A. K., Ojha, S. K., & Mahdi, A. A. (2012). Effect of turmeric (*Curcuma longa*) on overweight hyperlipidemic subjects: Double blind study. *Indian Journal of Community Health*, 24(2), 113-117.
- [431] Pérez-Torres, I., Ruiz-Ramírez, A., Baños, G., & El-Hafidi, M. (2013). *Hibiscus sabdariffa* Linnaeus (Malvaceae), curcumin and resveratrol as alternative medicinal agents against metabolic syndrome. *Cardiovascular & Hematological Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Cardiovascular & Hematological Agents)*, 11(1), 25-37.
- [432] Elseweidy, M. M., Younis, N. N., Elswefy, S. E., Abdallah, F. R., El-Dahmy, S. I., Elnagar, G., & Kassem, H. M. (2015). Atheroprotective potentials of curcuminoids against ginger extract in hypercholesterolaemic rabbits. *Natural product research*, 29(10), 961-965.
- [433] Zou, J., Zhang, S., Li, P., Zheng, X., & Feng, D. (2018). Supplementation with curcumin inhibits intestinal cholesterol absorption and prevents atherosclerosis in high-fat diet-fed apolipoprotein E knockout mice. *Nutrition Research*, 56, 32-40.
- [434] Altobelli, E., Angeletti, P. M., Marziliano, C., Mastrodomenico, M., Giuliani, A. R., & Petrocelli, R. (2021). Potential Therapeutic Effects of Curcumin on Glycemic and Lipid Profile in Uncomplicated Type 2 Diabetes—A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trial. *Nutrients*, 13(2), 404

- [435] **Kim, M., & Kim, Y.** (2010). Hypocholesterolemic effects of curcumin via up-regulation of cholesterol 7 α -hydroxylase in rats fed a high fat diet. *Nutrition research and practice*, 4(3), 191.
- [436] **Li, Z. Y., Ding, L. L., Li, J. M., Xu, B. L., Yang, L., Bi, K. S., & Wang, Z. T.** (2015). ¹H-NMR and MS based metabolomics study of the intervention effect of curcumin on hyperlipidemia mice induced by high-fat diet. *Plos one*, 10(3), e0120950.
- [437] **Afzalzadeh, M. R., Ahangarpour, A., Amirzargar, A., et al.** (2015). The effect of *Vitis vinifera* L. juice on serum levels of inhibin B, sperm count in adult male rats. *World J Mens Health* 33: 109–116.
- [438] **Arshami, J., Pilevar, M., Azghadi, M. A., & Raji, A. R.** (2013). Hypolipidemic and antioxidative effects of curcumin on blood parameters, humoral immunity, and jejunum histology in Hy-line hens. *Avicenna journal of phytomedicine*, 3(2), 178.
- [439] **Fontana, A. R., Antonioli, A., Bottini, R. et al.** (2013). Grape pomace as a sustainable source of bioactive compounds: extraction, characterization, and biotechnological applications of phenolics. *J Agric Food Chem* 61: 8987–9003.
- [440] **Gupta, M., Dey, S., Marbaniang, D., Pal, P., Ray, S., & Mazumder, B.** (2020). Grape seed extract: Having a potential health benefits. *Journal of food science and technology*, 57(4), 1205-1215.
- [441] **Nassiri-Asl, M., & Hosseinzadeh, H.** (2016). Review of the Pharmacological Effects of *Vitis vinifera* (Grape) and its Bioactive Constituents: An Update. *Phytotherapy Research*, 30(9), 1392–1403.
- [442] **Tang, Y. L., Chan, S. W.** (2014). A review of the pharmacological effects of piceatannol on cardiovascular diseases. *Phytother Res* 28: 1581–1588.
- [443] **Weidner, S., Rybarczyk, A., Karamać, M. et al.** (2013). Differences in the phenolic composition and antioxidant properties between *Vitis coignetiae* and *Vitis vinifera* seeds extracts. *Molecules* 18: 3410–3426.
- [444] **De la Cerda-Carrasco, A., López-Solís, R., Nuñez-Kalasic, H. et al.** (2015). Phenolic composition and antioxidant capacity of pomaces from four grape varieties (*Vitis vinifera* L.) *J Sci Food Agric* 95: 1521–1527.
- [445] **Matthaus, B.** (2008) Virgin grape seed oil: is it really a nutritional highlight? *Eur J Lipid Sci Technol* 110(7):645–650
- [446] **Shinagawa, F. B., de Santana, F. C., Torres, L. R. O. et al** (2015) Grape seed oil: a potential functional food? *Food Sci Technol* 35(3):399–406.
- [447] Resveratrol, Monograph, *Altern. Med. Rev.* 15 (2010) 152–158.
- [448] **A Kroon, P., Iyer, A., Chunduri, P., Chan, V., & Brown, L.** (2010). The cardiovascular nutraceutical pharmacology of resveratrol: pharmacokinetics, molecular mechanisms and therapeutic potential. *Current Medicinal Chemistry*, 17(23), 2442-2455.
- [449] **Berardi, V., Ricci, F., Castelli, M. et al.** (2009). Resveratrol exhibits a strong cytotoxic activity in cultured cells and has an antiviral action against polyomavirus: potential clinical use. *J Exp Clin Cancer Res* 28: 96.

- [450] Patel, K. R., Scott, E., Brown, V. A., Gescher, A. J., Steward, W. P., & Brown, K. (2011). Clinical trials of resveratrol. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1215(1), 161-169.
- [451] Cottart, C. H., Nivet-Antoine, V., Laguillier-Morizot, C., & Beaudeau, J. L. (2010). Resveratrol bioavailability and toxicity in humans. *Molecular nutrition & food research*, 54(1), 7-16.
- [452] Fraternali, D., De Bellis, R., Calcabrini, C., et al. (2011). Aqueous extract from *Vitis vinifera* tendrils is able to enrich keratinocyte antioxidant defences. *Nat Prod Commun* 6: 1315–1319.
- [453] Tenore, G. C., Manfra, M., Stiuso, P., et al. (2012). Antioxidant profile and in vitro cardiac radical-scavenging versus pro-oxidant effects of commercial red grape juices (*Vitis vinifera* L. cv. Aglianico N.) *J Agric Food Chem* 60: 9680–9687.
- [454] Veskoukis, A. S., Kyparos, A., Nikolaidis, M. G., et al. (2012). The antioxidant effects of a polyphenol-rich grape pomace extract in vitro do not correspond in vivo using exercise as an oxidant stimulus. *Oxid Med Cell Longev* 2012: 185867.
- [455] Cheah, K. Y., Howarth, G. S., Bindon, K. A. et al. (2014). Low molecular weight procyanidins from grape seeds enhance the impact of 5-Fluorouracil chemotherapy on Caco-2 human colon cancer cells. *PLoS One* 9e98921
- [456] Al-Habib, A., Al-Saleh, E., Safer, A. M. et al. (2010). Bactericidal effect of grape seed extract on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J Toxicol Sci* 35: 357–364.
- [457] Salmabadi, Z., Kouchesfahani, H. M., Parivar, K., & Karimzadeh, L. (2017). Effect of grape seed extract on lipid profile and expression of interleukin-6 in polycystic ovarian syndrome wistar rat model. *International journal of fertility & sterility*, 11(3), 176.
- [458] Hemmati, A. A., Aghel, N., Rashidi, I. et al. (2011). Topical grape (*Vitis vinifera*) seed extract promotes repair of full thickness wound in rabbit. *Int Wound J* 8: 514–520.
- [459] Charradi, K., Elkahoui, S., Karkouch, I., Limam, F., Hamdaoui, G., Hassine, F. B., ... & Aouani, E. (2013). Grape seed and skin extract alleviates high-fat diet-induced renal lipotoxicity and prevents copper depletion in rat. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 38(3), 259-267.
- [460] Da Silva, J. M. R., Rigaud, J., Cheynier, V., Cheminat, A., & Moutounet, M. (1991). Procyanidin dimers and trimers from grape seeds. *Phytochemistry*, 30(4), 1259-1264.
- [461] Moreno, D. A., Ilic, N., Poulev, A., Brasaemle, D. L., Fried, S. K., & Raskin, I. (2003). Inhibitory effects of grape seed extract on lipases. *Nutrition*, 19(10), 876-879.
- [462] Cai, Y., Yu, Y., Duan, G., & Li, Y. (2011). Study on infrared-assisted extraction coupled with high performance liquid chromatography (HPLC) for determination of catechin, epicatechin, and procyanidin B2 in grape seeds. *Food Chemistry*, 127(4), 1872-1877.

- [463] Hsu, C. L., & Yen, G. C. (2007). Effect of gallic acid on high fat diet-induced dyslipidaemia, hepatosteatosis and oxidative stress in rats. *British Journal of Nutrition*, 98(4), 727-735.
- [464] Simonetti, P., Ciappellano, S., Gardana, C., Bramati, L., & Pietta, P. (2002). Procyanidins from *Vitis vinifera* seeds: in vivo effects on oxidative stress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 6217-6221.
- [465] Steffen, Y., Schewe, T., & Sies, H. (2005). Epicatechin protects endothelial cells against oxidized LDL and maintains NO synthase. *Biochemical and biophysical research communications*, 331(4), 1277-1283.
- [466] Filip, A., Daicoviciu, D., Clichici, S., Bolfa, P., Catoi, C., Baldea, I., ... & Postescu, I. D. (2011). The effects of grape seeds polyphenols on SKH-1 mice skin irradiated with multiple doses of UV-B. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 105(2), 133-142.
- [467] Markus, M. A., Morris, B. J. (2008). Resveratrol in prevention and treatment of common clinical conditions of aging. *Clin Interv Aging* 3(2):331–339
- [468] Gao, Z., Liu, G., Hu, Z. et al. (2014). Grape seed proanthocyanidin extract protects from cisplatin-induced nephrotoxicity by inhibiting endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *Mol Med Rep* 9(3):801–807
- [469] Soobrattee, M. A., Neergheen, V. S., Luximon-Ramma, A. et al (2005). Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions. *Mutat Res* 579(1–2):200–213.
- [470] Zaidi, S. F., Ahmed, K., Yamamoto, T., et al. (2009). Effect of resveratrol on *Helicobacter pylori*-induced interleukin-8 secretion, reactive oxygen species generation and morphological changes in human gastric epithelial cells. *Biol Pharm Bull* 32: 1931–1935.
- [471] Chen, X. W., Serag, E. S., Sneed, K. B., & Zhou, S. F. (2011). Herbal bioactivation, molecular targets and the toxicity relevance. *Chemico-biological interactions*, 192(3), 161-176.
- [472] Mohamed, M. E. F., & Frye, R. F. (2011). Effects of herbal supplements on drug glucuronidation. Review of clinical, animal, and in vitro studies. *Planta Medica-Natural Products and Medicinal Plant Research*, 77(4), 311.
- [473] Brill, S. S., Furimsky, A. M., Ho, M. N., Furniss, M. J., Li, Y., Green, A. G., ... & Kapetanovic, I. M. (2006). Glucuronidation of trans-resveratrol by human liver and intestinal microsomes and UGT isoforms. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 58(4), 469-479.
- [474] Mansouri, E., Khorsandi, L., & Moaiedi, M. Z. (2015). Grape seed proanthocyanidin extract improved some of biochemical parameters and antioxidant disturbances of red blood cells in diabetic rats. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 14(1), 329.
- [475] Ali Rajput, S., Sun, L., Zhang, N., Mohamed Khalil, M., Gao, X., Ling, Z., ... & Qi, D. (2017). Ameliorative effects of grape seed proanthocyanidin extract on growth performance, immune function, antioxidant capacity, biochemical constituents, liver histopathology and aflatoxin residues in broilers exposed to aflatoxin B1. *Toxins*, 9(11), 371.

- [476] Ngamukote, S., Mäkynen, K., Thilawech, T., & Adisakwattana, S. (2011). Cholesterol-lowering activity of the major polyphenols in grape seed. *Molecules*, 16(6), 5054-5061.
- [477] Robich, M. P., Chu, L. M., Chaudray, M., Nezafat, R., Han, Y., Clements, R. T., ... & Sellke, F. W. (2010). Anti-angiogenic effect of high-dose resveratrol in a swine model of metabolic syndrome. *Surgery*, 148(2), 453-462.
- [478] Borradaile, N. M., de Dreu, L. E., Barrett, P. H. R., & Huff, M. W. (2002). Inhibition of hepatocyte apoB secretion by naringenin. *Journal of Lipid Research*, 43(9), 1544-1554.
- [479] Jin, H. Y., Cha, Y. S., Baek, H. S., et al. (2013). Neuroprotective effects of *Vitis vinifera* extract on prediabetic mice induced by a high-fat diet. *Korean J Intern Med* 28: 579–586.
- [480] Hamlaoui-Gasmi, S., Mokni, M., Limam, N., N'guessan, P., Carrier, A., Limam, F., ... & Marzouki, L. (2012). Grape seed and skin extract mitigates garlic-induced oxidative stress in rat liver. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 90(5), 547-556.
- [481] Nash, D. T. (2004). Cardiovascular risk beyond LDL-C levels: Other lipids are performers in cholesterol story. *Postgraduate medicine*, 116(3), 11-15.
- [482] Maheswari, M. U., & Rao, P. G. M. (2005). Antihepatotoxic effect of grape seed oil in rat. *Indian Journal of pharmacology*, 37(3), 179.
- [483] EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP). (2012). Scientific Opinion on the safety and efficacy of bentonite as a technological feed additive for all species. *EFSA journal*, 10(7), 2787.
- [484] Pan, A., Yu, D., Demark-Wahnefried, W., Franco, O. H., and Lin, X. (2009). Meta-analysis of the effects of flaxseed interventions on blood lipids. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 90(2), 288-297.
- [485] EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP). (2016). Safety and efficacy of dry grape extract when used as a feed flavouring for all animal species and categories. *EFSA Journal*, 14(6), e04476.
- [486] Qinna, N. A., Kamona, B. S., Alhussainy, T. M., Taha, H., Badwan, A. A., and Matalka, K. Z. (2012). Effects of Prickly Pear Dried Leaves, Artichoke Leaves, Turmeric and Garlic Extracts, and Their Combinations on Preventing Dyslipidemia in Rats. *ISRN Pharmacology*, 2012, 1-7.
- [487] Wei, Z., Wang, H., Chen, X., Wang, B., Rong, Z., Wang, B., ... Chen, H. (2008). Time-and dose- dependent effect of psyllium on serum lipids in mild-to-moderate hypercholesterolemia: a meta-analysis of controlled clinical trials. *European Journal of Clinical Nutrition*, 63(7), 821-827.
- [488] Koracevic, F., Koracevic, G., Djordjevic, V., Andrejevic, S., Cosic, V. (2001). Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. *Journal of Clinical Pathology* 54, 356-361.
- [489] Miranda, K.M., Espey, M.G., Wink, D.A. (2001). A rapid simple spectrophotometric method for detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide* 5, 62-71.

- [490] Talamillo, A., Ajuria, L., Grillo, M., Barroso-Gomila, O., Mayor, U., & Barrio, R. (2020). SUMOylation in the control of cholesterol homeostasis. *Open biology*, 10(5), 200054.
- [491] Kurtel, H. I. Z. I. R., Granger, D. N., Tso, P. A. T. R. I. C. K., & Grisham, M. B. (1992). Vulnerability of intestinal interstitial fluid to oxidant stress. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 263(4), G573-G578.
- [492] Sedlak, J., Lindsay, R.H. (1968). Estimation of total protein bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissues with Ellman's reagent. *Anal Biochem.* 25 (1), 192–205.
- [493] Paglia, D., Valentine, W. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.*, 70: 158-169.
- [494] Misra, H.P., Fridovich, I. (1972). The role of superoxide anion in the auto-oxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.* 247 (10), 3170–3175.
- [495] Takahara, S., Hamilton, H. B., Neel, J. W., Kobara, T. Y., Ogura, Y., Nishimura, E. T. (1960). Hypocatalasemia: a new genetic carrier state. *J Clin Invest.* 39, 610–619.
- [496] Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* 95(2), 351-358.
- [497] Noyan, A. (1996). Lipid Metabolizması. Yaşam ve Hekimlikte Fizyoloji. 8.baskı, Meteksan yayınları.
- [498] Soltanian, N., & Janghorbani, M. (2019). Effect of flaxseed or psyllium vs. placebo on management of constipation, weight, glycemia, and lipids: A randomized trial in constipated patients with type 2 diabetes. *Clinical nutrition ESPEN*, 29, 41-48.
- [499] Nofer, J.R., Kehrel, B., Fobker, M., Levkau, B., Assmann, G., von Eckardstein, A. (2002). HDL and arteriosclerosis: beyond reverse cholesterol transport. *Atherosclerosis* 161, 1-16.
- [500] Das, S., Vasisht, S., Das, S. N., Srivastava L. M. (2000). Correlation between total antioxidant status and lipid peroxidation in hypercholesterolemia. *Current Science* 78, 486-487.
- [501] Draper, H. H., Hardley, M. (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 186, 421-431.
- [502] Choe, S., Kim, H., Jeong, T., Bok, S., Park, Y. (2001). Naringin has an antiatherogenic effect with the inhibition of intercellular adhesion molecule-1 in hypercholesterolemic rabbits. *Cardiovascular Pharmacology* 38, 947-55.
- [503] Szczeklik, A., Gryglewski, R. J., Domagala, B., Dworski, R. and Basista, M. (1985). Dietary supplementation with vitamin E in hyperlipoproteinemias: effects on plasma lipid peroxides, antioxidant activity, prostacyclin generation and platelet aggregability. *Thromb. Haemost.* 54, 425–430.
- [504] Milagro, F. I., Campion, J., Martinez, J. A. (2006): Weight gain induced by high-fat feeding involves increased liver oxidative stress. *Obesity* 14: 1118-1123.

[505] **Yang, J. S., Lee, S. J., Park, H. W., Cha, Y. S.** (2006): Effect of genistein with carnitine administration on lipid parameters and obesity in C57Bl/6J mice fed a high-fat diet. *J Med Food* 9: 459-467.



EKLER

EK A: Etik Kurul Onayı	133
-------------------------------------	-----



EK A: Etik Kurul Onayı



ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Rana TURGUT

Doğum Tarihi ve Yeri :

E-posta :

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2018, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik

STAJLAR:

- Staj 1: Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi
- Staj 2: Aydın Huzurevi Yaşlı Bakım ve Rehabilitasyon Merkezi
- Staj 3: Università Degli Studi Di Parma, İtalya