T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SİLYBUM MARİANUM EKSTRESİNİN YÜKSEK YAĞLI DİYETLE BESLENEN RATLARDA İNSÜLİN REZİSTANSI, KARACİĞER FONKSİYONLARI, LİPİT DÜZEYLERİ VE LEPTİN SEVİYESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Fatma Kübra SAYIN

DOKTORA TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA (TIP) ANABİLİM DALI

Danışman

Prof.Dr. Sadık BÜYÜKBAŞ

KONYA-2012

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SİLYBUM MARİANUM EKSTRESİNİN YÜKSEK YAĞLI DİYETLE BESLENEN RATLARDA İNSÜLİN REZİSTANSI, KARACİĞER FONKSİYONLARI, LİPİT DÜZEYLERİ VE LEPTİN SEVİYESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Fatma Kübra SAYIN

DOKTORA TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA (TIP) ANABİLİM DALI

Danışman

Prof.Dr.Sadık BÜYÜKBAŞ

"Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 10102033 proje numarası ile desteklenmiştir."

KONYA-2012

ÖNSÖZ

Doktora tezimi yöneten ve çalışmalarımın her safhasında yakın ilgi ve yardımlarını gördüğüm değerli hocam Prof.Dr. Sadık Büyükbaş'a deneysel çalışmalarımda yardımını esirgemeyen sayın Doç. Dr. Serdar Gergerlioğlu ve tüm Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi çalışanlarına teşekkür ederim.

Ayrıca tüm hayatım boyunca bana örnek olan ve bugünlere ulaşmamda en büyük pay sahibi olan sevgili anne ve babama, desteklerini hep arkamda hissettiğim değerli eşim ve biricik kızım Bengisu'ya teşekkür ederim.

Yine tez çalışmalarım süresince maddi desteğini esirgemeyen S.Ü. Bilimsel Araştırma Projesi Daire Başkanlığı'na teşekkürü borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR..……...…….……v

1.GİRİŞ……...……..…1

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Obezite……3

2.1.1.Obezitenin Tanımı…….……...…….……..3

2.1.2.Obezitenin Komplikasyonları …….3

2.1.3. Obezite Tedavisi ……..5

2.2.İnsülin Direnci…….……...…….……11

2.2.1.İnsülin Direncinin Tanımı ……..……..……....11

2.2.2.İnsülin Direncinin Nedenleri ……..…….….12

2.2.3.İnsülin Direncinin Komplikasyonları...……..…….13

2.2.4.İnsülin Direncinin Ölçümü...……...……13

2.3.Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı……..…….…14

2.3.1.Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığının tanımı……...…….....14

2.3.2.Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığının patogenezi……...……15

2.4.Lipit Parametreleri……...……15

2.4.1.Dislipidemi……..……..16

2.5.Leptin……...……18

2.5.1.Yapısı ve işlevi……...……...18

2.5.2.Leptin Direnci…….……..….20

2.6.Yüksek Duyarlılıklı C-reaktif Protein……..…….……..…..21

2.7.Silybum marianum……...……...…….22

2.7.1.Biyokimyası…….....…...…..23

2.7.2.Farmakokinetiği……..……...……..…..…...24

2.7.3.Silybum Marianum Ekstresinin Etkileri……..….……...24

3.GEREÇ ve YÖNTEM……..…...…….….....29

3.1.Vakaların Oluşturulması, Gruplama ve Deneysel Uygulama İle İlgili Hususlar ……..…….……29

3.1.1. Deney hayvanları ve çalışma grupları…….……..…..29

3.1.2.Standart ve yüksek yağlı diyet……...……...…..…..…….29

3.1.3. Ratların ağırlık ölçümü ve BKİ hesaplanması…….…..……..31

3.1.4. Numunelerin Alınışı ve Hazırlanışı…….……..…...…31

3.2.Yöntem……..…..…...……..…...…31

3.2.1.Kullanılan Cihazlar……..……..…....31

3.2.2.Rutin Biyokimyasal Analizler…….……...…...……31

3.2.3.Leptin Tayini……..**.....**34

3.2.4.İnsülin Tayini……..……....…..…34

3.2.5.Karaciğer Patolojisinin İncelenmesi…….…..……35

3.2.6.İstatistiksel Analizler……...…….35

4.BULGULAR…….…….…….....36

4.1.Ağırlık Ölçümleri ……..……...…….…..….36

4.2. Karaciğer Fonksiyon Testleri, Lipit Profilleri, hsCRP ve Leptin değerleri……..38

4.3. Kan Glukoz, İnsülin ve HOMA-IR Değerleri ……....41

4.4. Karaciğer Patolojisinin Bulguları……..…..44

5.TARTIŞMA ……..……46

6.SONUÇ……...……...…….....57

7.ÖZET…….……..…..……..….61

8.SUMMARY…….……...……..…….…….62

9.KAYNAKLAR…….……...…….……..63

10.EKLER.....72

10.1.Etik İzin Raporu…….….72

11.ÖZGEÇMİŞ……..……..……...…….…73

SİMGELER VE KISALTMALAR

ALT: Alanin Amino Transferaz

AST: Aspartat Amino Transferaz

AMPK: Adenozin 5 monofosfat aktivated protein kinaz

BKİ: Beden Kütle İndeksi

C/EBPa: CCAAT/enhancer binding proteins (CCAAT bağlanmayı arttırıcı proteinler)

cAMP: Siklik Adenozin Monofostat

EGCG:Epigallocateşin gallat

FDA: Food and Drug Administration (ABD Gıda ve İlaç Dairesi)

GGT: Gama Glutamil Transferaz

GLUT4: Glukoz Transport Protein-4

HDL-K: High Density Lipoprotein (Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein)

HOMA-IR: Homeostasis Model of Assessment - Insulin Resistance (İnsülin direnci homeostazis modeli değerlendirme indeksi)

hsCRP: High sensitive C-Reaktif Protein

IL-6: İnterlökin-6

LDL: Low Density Lipoprotein (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein)

LCAT: Lesitin kolesterol açiltransferaz

MDA: Malondialdehit

NAS:Non-alkolik steatoz

NASH: Non-alkolik steatohepatit

NAYKH: Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı

NO: Nitrik oksit

PAİ-1: Plazminojen Aktivatör İnhibitörü-1

PPARs: Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (Peroksizom Proliferatörlerile Aktive Olan Reseptörler)

RT-PCR: Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (Ters transkriptaz-PCR)

RNA:Ribonükleik asit

SOD: Süperoksid Dismutaz

STAT-3: Signal Transducer and Activator of Transcription 3 (Transkripsiyonunun sinyal dönüştürücü ve aktivatörü 3)

SME: Silybum Marianum Ekstresi

UCP1: Uncoupling Protein-1 (Eşlenmemiş protein-1)

UCP3: Uncoupling Protein -3 (Eşlenmemiş protein-3)

VLDL-K: Very Low Density Lipoprotein (Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein)

YYD: Yüksek Yağlı Diyet

TNF-α: Tümör Nekroz Faktörü-α

TGF-β: Transforming Growth Factor- β (Transform edici büyüme faktörü- β)

1.GİRİŞ

Obezite çağımızda sanayileşmiş ülkelerde ana sağlık sorunlarından bir tanesidir ve hiperlipidemi, diyabet ve ateroskleroz gibi pek çok hastalığın gelişminde de etkendir. Obezitenin etiyolojisi karışıktır ve pek çok çevresel ve genetik faktörleri içerir. Yine de temelde enerji alımı ve harcanması arasındaki eşitsizlikten doğduğunu söyleyebiliriz. Ayrıca diyet yağlarının çeşidi de obezitede etken rol oynar (Bray ve Popkin 1998, Golya ve Bobbioni 1997). Ağırlıkla hayvan iç yağı içeren yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda viseral yağlanma, hiperglisemi, dislipidemi, hiperinsülinemi ve hepatik yağlanma gibi insan obezite mekanizmalarına benzer bozukluklar gelişebilmektedir. Ratlarda ve insanlarda serbest yağ asitleri ve doymuş yağların diyette artması sadece yağlanmaya değil aynı zamanda metabolik hastalıklara ve inflamasyon cevabın kronik aktivasyonuna da sebep olur (Woods ve ark 2003).

Silybum marianum (Deve dikeni) Asteraceae familyasına bağlı bir bitki olup ülkemizde özellikle Akdeniz, Karadeniz ve Ege bölgesinde daha çok yol kenarlarında doğal olarak yetişmektedir (Gümüşçü ve ark 1998). Bitki yüzyıllardır halk arasında karaciğer ve safra kesesi hastalıklarına karşı bir çare olarak kullanılagelmiştir (Saller ve ark 2001). Siroz ve sarılık gibi bazı karaciğer hastalıklarında karaciğeri koruyup kendini yenilemesine yardım eder (Flora ve ark 1998). Silybum marianumun aktif kompleksi bitkinin tohumlarından elde edilen lipofilik ekstredir ve silymarin olarak bilinir. Silymarin bitkinin her yerinde bulunmakla birlikte tohumda yoğunlaşmıştır (Saller ve ark 2001).

Silymarinin, hayvan çalışmalarında asetaminofen, karbon tetraklorür, radyasyon, ağır metal yüklemesi, fenilhidrazin ve alkol kaynaklı karaciğer hasarını azaltıcı etkisi görülmüştür (Mourelle ve ark 1989, Valenzuela ve ark 1985). Alkolik karaciğer hastalığı, akut ve kronik viral hepatit ve toksin kaynaklı karaciğer hastalıklarında tedavi amaçlı kullanılmıştır (Abenavoli ve ark 2010). Ayrıca lipit peroksidasyonuna karşı koruyucu (Lahiri ve ark 1999), düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oksidasyonunu inhibe edici (Skottova ve ark 1999) ve reaktif oksijen türlerini kovucu (Dehmlow ve ark 1996) etkileri de görülmüştür. Sonuçta obezite, diyabet ve metabolik sendromla ilişkili olan nonalkolik steatohepatitde silibinin tedavisinin

antioksidan, hipoinsülinemik ve hepatoprotektive olduğu görülmüştür (Haddad ve ark 2009).

Son yıllarda yapılan *invivo* ve *invitro* çalışmalarda birçok bitki ekstresinin yağ ve karbonhidrat metabolizmasını değiştirerek kilo kontrolünü sağlama potansiyeline sahip olduğu bulunmuştur. Bu ekstrelere örnek olarak deniz üzümünden elde edilen Efedra'nın etkinliği kanıtlansa da ortaya çıkan ciddi yan etkiler sebebiyle, bu bitkiyi veya ekstrelerini taşıyan ürünler Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından yasaklanmıştır. Bunun yerine içerdiği sinefrinden dolayı turunç ekstrelerini içeren preparatlar üretilmeye ve kullanılmaya başlanmıştır. Kafein ve kafein taşıyan bitkiler uygun dozda kullanıldıklarında kilo kontrolüne yardımcı olabilirler. Yeşil çay içerdiği epigallokateşingallat ve kafein nedeniyle yağ metabolizmasını arttırarak ve kilo kontrolüne yardımcı olmaktadır. Meksika biberi adıyla bilinen ve içinde kapsaisin bulunan preparatlar da termojenezisi artırırırlar ve kilo kontrollüne destek olabilirler (Aslan ve Orhan 2010). Günümüzde bu şekilde kilo kontrolüne yardım amacıyla kullanılan daha pek çok bitkisel ürün mevcuttur.

Yüksek yağlı diyetle beslenen ratlara aynı zamanda silybum marianum ekstresini vererek bu bitkinin obeziteye ve metabolik sendroma karşı koruyucu etkisini araştıran çalışmaları literatürde yeterince göremedik. Literatürdeki bu eksikliği belirli düzeyde giderme düşüncemiz bu projenin kaynağıdır. Bu çalışmamızın ayrıca halk arasında bitkisel ilaç olarak kullanılan ve özellikle son dönemde medya tarafından çok fazla üzerinde durulan bitkisel tedavilerin bilimsel zeminde açıklanmasına katkı sağlayabileceğine de inanmaktayız.

Yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda farklı gruplara 4 hafta ve 11 hafta süreyle silybum marianum ekstresi verilmesinin ardından ağırlık, kan lipit ve lipoprotein profili, leptin, insülin, glukoz seviyeleri ve karaciğer fonksiyon parametreleri ölçülerek; Silybum marianum'un karaciğer yağlanması, insülin direnci ve kilo artışına karşı olası koruyucu etkinliğini ortaya koymak amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2. 1. Obezite

2. 1. 1. Obezitenin Tanımı

Obezite vücutta aşırı derecede yağ dokusu bulunması durumudur. Obezite tanısında kullanılan birçok yöntem olmasına rağmen günümüzde tanıda ve sınıflamada beden kitle indeksi (BKİ) ve bel çevresi ölçümü önerilmektedir. BKİ kilogram olarak vücut ağırlığının metrekare olarak boya bölünmesi ile hesaplanır. Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüleri'nin BKİ'ye göre obezite sınıflaması Çizelge 2.1'de gösterilmiştir (Dünya sağlık organizasyonu 1998). BKİ'nin en önemli eksikliği obezitenin metabolik komplikasyonları ile ilişkili olan vücut yağ dağılımı hakkında bilgi vermemesidir. Santral ya da visseral abdominal obezite (elma biçimli/erkek tipi obezite), gluteal-femoral obezite (armut biçimli/kadın tipi obezite) ile karşılaştırıldığında metabolik komplikasyonlarla daha yakından ilişkilidir. Bu nedenle günümüzde BKİ'ne ek olarak bel çevresi ölçümü de yaygın olarak kullanılmaktadır. Tek başına bel çevresinin erkeklerde 102 cm kadınlarda 88 cm'nin üzerinde olması artmış kardiyovasküler hastalık riski ile ilişkilidir (Bethesta 2000).

Çizelge 2.1. Beden kitle indeksi'ne göre obezite sınıflaması

Sınıflama	BKI (kg/m^2)
Zayıf	<18,5
Normal kilo	18,5-24,9
Fazla kilolu	25-29,9
Obezite derece 1	30-34,9
Obezite derece 2	35-39,9
Morbid (Aşırı) Obezite derece 3	>40

2.1.2. Obezitenin Komplikasyonları

Fazla kiloya ve obeziteye bağlı komplikasyonların oranı bütün dünyada giderek artmaktadır. Obezitede klinik durumu belirleyen en önemli faktör kardiovasküler komplikasyonlar olmakla birlikte obezite yüksek metabolik sendrom, tip 2 diyabet ve kanser riski ile de ilişkilidir. Komplikasyonların gelişimi vücut yağ miktarı ve endokrin fonksiyonlarına bağlıdır. Adipoz dokudan salınan hormonlar

(leptin, adiponectin ve resistin) ve sitokinler (TNF-α, IL-6, PAI-1) obezite ve obeziteye bağlı komplikasyonlarla ilişkilidir (Gnacinska ve ark 2009).

Obeziteyle, hipertansiyon ve kalp hastalığı riski artmaktadır. Dolaşan kan hacminin artması, artmış vazokonstrüksiyon ve kalp atım hacmindeki artış obezitede hipertansiyon gelişiminde rol oynamaktadır. Serbest yağ asitlerinin vazokonstrüksiyonu arttırdığı ve nitrik okside bağlı damar gevşemesini azalttığı yine bazı çalışmalarda artmış sempatik aktivitenin bu duruma katkıda bulunduğu belirtilmektedir. Hiperinsülinemiye bağlı olarak böbrek sodyum emiliminin artması da obez kişilerde kan basıncının yükselmesine yol açmaktadır. Kilolu kişilerde hipertansiyon varlığında ventrikül duvar kalınlığı, kalp boşluklarının hacmi artmakta ve bunların sonucunda kalp yetmezliği riski artmaktadır (Bray ve ark 2004).

Göğüs duvarında ve karında aşırı miktarda yağ birikmesi göğüs solunum hareketlerini sınırlayabilir. Bazen solunum fonksiyonları o kadar bozulabilir ki altta belirli bir akciğer ve kalp hastalığı olmadığı halde solunum ve kalp yetmezliği ortaya çıkabilir (Yılmaz 1995).

Obezite bazı kanser türleri ile ilişkili bulunmuştur. Obezite ile erkeklerde kolon, rektum, prostat kanseri artarken kadınlarda ise rahim, safra yolları, meme ve yumurtalık kanseri sıklığı artmaktadır (Bray ve ark 2004). Obez kişilerde alt ekstremite dejeneratif eklem hastalığı sıklığı artmakta ve erken yaşta osteoartrit gelişmektedir (Felson ve ark 1988). Overlerde polikist varlığı ve ovulasyon bozukluğu (düzensiz menstrüel siklus, menstrüel siklusun olmaması ve anovulatuar siklus) görülen polikistik over sendromlu kadınların % 30-70'inde obezite tespit edilmiştir (Vrbikova ve Hainer 2009) .

Bu durumların dışında obezitede üriner taş, tromboemboli sıklığı artmakta, bazı cilt değişiklikleri (cilt çatlakları, acantozis nigricans vs.) görülebilmektedir. Psiko-sosyal bozukluklarda (anksiyete, depresyon, sosyal fobi vs) artış olmaktadır. Ek olarak cerrahi komplikasyon (enfeksiyon, insizyonel herni, anestezi ve yara komplikasyonları) sıklığı artmaktadır (Jensen 2008). Obeziteye bağlı hastalıklar Çizelge 2.2'de özetlenmiştir.

Çizelge 2.2. Obezitenin yol açtığı hastalıklar

1.Metabolik-hormonal komplikasyonlar	Metabolik sendrom, Tip 2 diyabet, İnsülin direnci, hiperinsülinemi, Dislipidemi
2.Kardiyovasküler sistem hastalıkları	Serebrovasküler hastalık, Konjestif kalp yetersizliği, Koroner kalp hastalığı, Tromboembolik hatsalık
3.Solunum sistemi hastalıkları	Obezite-hipoventilasyon sendromu, Uyku apnesi
4.Sindirim Sistemi Hastalıkları	Safra kesesi hastalığı, Karaciğer Hastalığı, Gastroözofajiyal Reflü Hastalığı
5.Polikistik Over Sendromu	
6.İmmün sistem disfonksiyonu	
7.Cilt hastalıkları	
8.Cerrahi komplikasyonlar	
9.Kanser	Meme, Kolon, Dişi üreme: serviks, endometrium, over, Safra kesesi, Prostat
10.Obezitenin mekanik komplikasyonları	Osteoartrit, Artmış karın içi basıncı, herni
11.Psiko-sosyal komplikasyonlar	

2.1.3. Obezite Tedavisi

Obezite tedavisinde egzersiz ve diyet

Diyete yönelik ve davranışsal tedavi, özellikle de hipokalorik diyet önerilmesi son 40 yılda obezite tedavisinin temelini oluşturmuştur. Ne yazık ki yalnızca kalori kısıtlaması yapılması genelde etkisiz olmaktadır. Pek çok diyet yaklaşımının ilk

dönemde kilo kaybına yol açtığı, fakat uzun vadede kilo kaybının korunamadığı bilinmektedir. BKİ 30'un üzerindeki kişilerde çok düşük kalorili diyetlerin (günlük 800 kalori) uygulanması haftada 2 kg kayıp sağlayarak 4 ayda 20 kg kaybedilmesini sağlayabilir. Ancak kaybedilen bu kiloların tamamı yağ dokusundan olmaz. Tahminen %16-20'si vücut için çok yararlı olan destek dokudan kaybedilir. Bu destek doku ise genellikle 50'li yaşlardan sonra arttırılamaz. Tıbbi denetim önemlidir, çünkü önemli derecede elektrolit kaybedilebilir. En az 1 g/kg ideal vücut ağırlığı miktarında protein alınması da gerekmektedir. Bu diyete başladıktan sonra kilo kaybının korunmasının özellikle hasta eğitimi yapılmamışsa zor olduğu gösterilmiştir. Bunun nedeni enerji yoksunluğuna bağlı olarak enerji harcamasının azalması olabilir. Yarı açlık durumunun davranışsal sonuçları da (yorgunluk, halsizlik, motivasyon kaybı) kilo kaybının kalıcı olmasını engellemektedir. Böyle bir kalori kısıtlamasına pek çok insan hayat stresleri içerisinde devam ettirmesi mümkün olmamaktadır (Maguire ve Haslam 2010).

Daha iyi yapılandırılmış ve diyet (günlük 1200-1800 kalori sınırlaması) ile egzersizi birleştiren ve davranışsal tedavi de uygulayan programlar daha başarılı olabilir fakat bu başarı dahi tartışılmaktadır. Bu tür programlar 5-6 aylık süreler içerisinde 9-14 kg kayıp sağlayabilir ve başarısızlık % 20-24 kadar düşük olmaktadır. Ortalama kilo kaybı çoğunlukla % 9-10 olmuştur ve 1 yıl sonra kilo düzeyinin korunma oranı % 60-80'dir. Çoğu katılımcı bu programları bıraktıktan sonra tekrar kilo alsa da 1-2 yıl sonunda alınan kilo sıklıkla ilk kilo kaybından daha az olmaktadır. En büyük sorun uzun dönemde kişilerin izlenebilmesidir. 3 yıllık izlem verileri çok az olmakla birlikte mevcut veriler 3-5 yıl sonra % 100 başarısızlık göstermektedir.

Amerikan Milli Kilo Kontrol Kayıtlarından yapılan yakın tarihli bir çalışma kilo kaybını başarılı bir şekilde koruyabilen çok sayıda kişi bildirmektedir. Bu kişiler arasında gözlenen en büyük özellikler, haftalık 3000 kalorilik egzersiz (örneğin günlük 400-450 kalorilik egzersiz) ve düşük yağ içerikli diyettir. Bu özelliklerin gelecekte tasarlanacak kilo kayıp programlarına yol göstereceği ümit edilmektedir. Unutulmamalıdır ki genel sağlık veya yaşam süresine bu diyet programlarının etkisi bilinmemektedir ve bu diyet programlarına katılanlar 3-5 yıl takip edildiğinde kaybettikleri kilonun çoğunu geri almaktadırlar (Maguire ve Haslam 2010).

Obezite tedavisinde cerrahi yöntemler

Morbid obezitenin cerrahi tedavisi 1950'lerde jejunoileal by-pass geliştirildiğinden beri bir seçenek olarak kullanılmaktadır. Çok çeşitli cerrahi yöntemler olsa da hepsinin ciddi komplikasyon riskleri söz konusudur. İntraoperatif komplikasyonlar, anestezi riskleri ve postoperatif problemler (sepsis, kör barsağın bakteriyel kontaminasyonu, yağlı karaciğer gelişmesi ve siroz) sayılabilir. Fazla kilonun % 61.2'sini kaybedenlerde ko-morbiditeler (diyabet, hiperlipidemi, hipertansiyon ve obstrüktif uyku apnesi) gibi durumlar hastaların % 60-80'inde düzelir. Cerrahiyi halk sağlığında sıkça kullanılacak bir yaklaşım olarak görmek imkânsız olsa da morbid obezite için en etkili tedavi yöntemi olduğunu kabul etmek gerekir. Bu işlemler ile ilgili riskler morbid obezite durumunda diğer tedavi yöntemleriyle kıyaslanmalı ve yıllarca bu durumda olan kişilerde sıklıkla hayatı tehdit edebilen ko-morbiditeler de göz önüne alınmalıdır (Maguire ve Haslam 2010).

Obezite tedavisinde kullanılan bitkisel materyaller

Günümüzde obezite tedavisinde kullanılan ilaçlar iki tiptir. Bir tanesi pankreatik lipaz inhibisyonuyla bağırsaktan yağ emilimini azaltan Orlistat (Xenical) dır. Diğeri bir anorektik veya iştah baskılayıcı olan sibutramine (reductil) dir. İki ilaç da kan basıncını yükseltmesi, ağız kuruluğu, baş ağrısı, kabızlık ve uykusuzluk gibi yan etkilere sebep olduğu için kullanılmamaktadır. Bugün etkili ve yan etkileri olmayan güvenli anti-obezite ilaçları üretmek için potansiyel bitkiler araştırılmakta ve denenmektedir. Bitkisel bileşikler ve ekstrelerden elde edilmiş pek çok farklı ürün kilo korumaya yardımcı olabilir ve diyet kaynaklı obeziteye karşı koruyucu olabilir.

Anti-obezite etkisi gösteren bitkiler etki mekanizmalarına göre 5 kategoride incelenebilir (Yun 2010):

1-Lipit emilimini düşürme

2-Enerji alımını düşürme

3-Enerji harcanmasını artırma

4-Pre-adiposit farklılaşmasını ve çoğalmasını azaltma

5-Lipogenezi düşürüp, lipolizi artırma

1-Lipaz inhibe edici etki

İstenmeyen kalorilerin büyük çoğunluğunu lipitler oluşturur, bu sebeple lipit metabolizması enerji homeostazını ayarlayan hayati unsurdur diyebiliriz. Lipit metabolizmasının ilaçlarla kontrolü obezite tedavisinde ve obeziteden korunmada olası bir yoldur. Obezite ve diğer metabolik bozukluklarla mücadelede lipit metabolizmasındaki enzimler ilaçların potansiyel hedefleridir (Shi ve Burn 2004).

Obezite tedavilerinin içinde en tercih edilen stratejilerden bir tanesi gastrointestinal mekanizmalardan enerji alımını azaltmaktır. Diyetle alınan yağ pankreatik lipazın etkisine maruz kalmadan bağırsaktan emilemez. Bu yüzden pankreatik lipaz mekanizması potansiyel doğal anti-obezite ajanlarının etkisi açısından en çok çalışılandır. Obezite tedavisinde kullanılan bir pankreatik lipaz inhibitörü orlistatdır. Orlistat lipaz aktif bölgesindeki serine kovalent bağlanarak etki eder. Fakat yağlı kanama, sıvı feçes, karın krampları, mide gazı, feçes tutamama gibi gastrointestinal yan etkileri vardır. Bu yan etkilere sebep olmayan, bitki ve doğal kaynaklardan sağlanan lipaz inhibitörleri üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Panax japonicus (Japon ginsengi), platycodi radix, salacia reticulata, nelumbo nucifera (mavi lotus, Hint lotusu) gibi pankreatik lipaz inhibitörü etkisi olan pek çok bitki vardır. Bu fitokimyasallar temelde saponinler, polyfenoller, flavonoidler ve kafein içermektedir (Weigle 2003).

Bazı karbonhidratlar da pankreatik lipaz inhibitörü etkisi gösterir. Örneğin araştırmacılar hayvanları %7-15 chitin içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) besledikleri zaman feçesle yağ atılımı artar (Weigle 2003).

2-Gıda alımını baskılama

Kilo kontrolünda iştah baskılanması nörolojik ve hormonal etkilerle düzenlenen multifaktörel bir olaydır. Serotonin, dopamin, histamin ve onların reseptörlerinin aktivitelerinin tokluk durumuyla doğrudan bağlantılı olduğu çalışmalarda görülmüştür (Chantre ve Lairon 2002).

Beslenme çevresel, homeostatik ve beynin belli bölgelerinden gelen uyarılarla ödül bağlantılı kompleks müdahalelerin sonucu olan bir davranıştır. Hipotalmik

nöronlar beslenmenin homeostatik kısmını düzenlerken, merkezi orta beynin dopaminerjik nöronlarının gıda alımının arzu ve hedonik bileşenlerinin üzerinde etkili olduğu düşünülür. Örnek olarak leptin ventral tegmental alanda dopaminerjik nöronların yangısın azaltır, aynı şekilde insülin de sadece hipotalamik hücreler üzerinde değil aynı zamanda orta beyin dopaminerjik nöronlarının yangısını düzenleyen hormondur.

Garcinia (Asya ormanlarında özellikle Hindistan ve Malezyada yetişen bir ağaç) meyve ve meyve kabuğu ekstrelerinin, taşıdığı hidroksisitrik asit (HCA) nedeniyle; iştahı baskıladığı, hepatik glikojen sentezini arttırdığı, sitrat liyaz inhibisyonu ile karbonhidratların yağlara dönüşümünü ve vücut ağırlığı artışını engellediği düşünülmektedir. Bu sebeple obezite tedavisi için üretilen gıda desteklerinin çoğunda bu bitkiye yer verilmektedir (Hofbauer ve ark 2004).

Son yıllarda kilo verme amacıyla kullanılan en popüler gıda desteklerinden biri de Hoodya'dır. Bitki Afrika'nın güneyinde yer alan Kalahari Çölü'nde yetişen bir kaktüstür. Bölgede yaşayan yerlilerin, uzun süren avlar sırasında açlık çekmemek için hoodya yediği bilinmektedir. Hoodyadan elde edilen ve P57 adı verilen maddenin iştah baskılayıcı etkili olduğu bulunmuştur. Bu madde bitki ekstresinde düşük miktarda bulunan maddelerden biridir fakat bitkinin iştah baskılayıcı etkisinden sorumlu madde olarak izole edilmiştir. Kesin etki mekanizması bilinmemekle beraber, bu bileşiğin sinir sistemini etkileyerek tokluk hissini oluşturduğu düşünülmektedir (Hofbauer ve ark 2004).

3-Enerji harcanmasını artıran etkenler

Enerji harcanmasının pek çok etkeni vardır. En basit şekilde 3 kategoriye ayrılabilir: (1) fiziksel aktivite (2) zorunlu harcanan enerji (3) vücut ısısının korunması (Yun 2010).

Memeli kahverengi yağ dokusu termogenezle vücudun ısı dağılımını sağlarken kilo kontrolü ve enerji harcanmasını düzenler. Kahverengi yağ dokusu enerji dengesini sağlayarak obezite kontrolünde önemli bir rol oynar. Bu süreçte anahtar, oksidatif fosforilasyonda yeralan proton gradientini salıverip (boşaltıp) enerjinin ısı olarak çıkışını sağlayan, uncoupling protein-1 (UCP-1) dir. Bu sebeple

UCP-1 gen ekspresyonunu artıran maddeleri araştırmak enerji harcanmasını artırarak obezite kontrolünde iyi bir yöntem olabilir (Kumar ve ark 1999). UCP-1 in analoğu olan UCP-3 de potansiyel anti-obezite ajanıdır çünkü o da tiroit hormonu, beta3-adrenerjik agonistler ve leptin ile uyarılarak termogenezi ayarlar. Örneğin solanum tuberosum (patates)'un etanolik ekstresi karaciğerde UCP-3 ekspresyonunu uyararak YYD kaynaklı obez ratlarda yağlı kütleyi azaltmıştır (Yun 2010).

Son 25 yılda yapılan çalışmalar sempatik sinir sistemini uyaran bileşikler üzerine odaklanmıştır. Sempatomimetikler; i. noradrenalin miktarını arttırarak, ii. cAMP düzeyini arttırarak, iii. sinaptik aralıktaki noradrenalin inhibitörlerini bloke ederek ve iv. noradrenalin yıkımından sorumlu fosfodiesterazları inhibe ederek enerji dengesini kontrol ederler. Termojenezi ve yağ yakılmasını arttıran etkileri vardır. Metabolizmayı uyararak etki gösteren bitkilerden en çok tanınanları deniz üzümü (kullanımı yasaklanmıştır), turunç, kahve, yeşil çay ve kırmızı biberdir (Hofbauer ve ark 2004) .

4-Adiposit farklılaşmasını inhibe eden etkenler

Adipositler trigliserit depolayarak ve yağ asiti serbest bırakma işini yaparak enerji dengesinin ve lipit homeostazisinin sağlanmasında merkezi rol oynar. Adipoz doku hem hiperplazi hem de hipertropi şeklinde büyüdüğü için birçok anti-obezite çalışması adipositlerin çoğalmasına ve farklılaşmasına odaklanmıştır. Bu sebeple 3T3-L1 pre-adipositler in vitro çalışma modeli olarak kullanılmışlardır çünkü bu hücreler kültürde farklılaşarak trigliserit depolamaktadırlar. Bu adiposit uyarıcı genlerin peroksizom proliferatöri ile aktive olan reseptörler (PPARs) ve CCAAT-enhancer-bağlanma proteinlerinin (C/EBP) ekspresyonunun artmasıyla olur (Kim ve ark. 2006).

Adiposit farklılaşmasını inhibe edici etki göstermesinin yanında pek çok doğal içerikli bileşik gelişmekte olan pre-adipositlerin üzerinde apoptotik etki gösterirler. Örneğin esculetin, resveratrol, quercetin, genistein, epigallocatechin galat (EGCG), capsaicin ve konjugated linoleik asitler gibi bazı fito kimyasallar gelişmekte olan 3T3-L1 pre-adipositler üzerinde extracellular-signal-regulated kinas 1 ve 2 (ERKs) fosforilasyonu baskılayarak, mitokondriyal kestirmeleri aktive

ederek, adenozin 5 monofosfat aktiveted protein kinaz (AMPK) aktivasyonuyla ve antioksidan aktiviteyle apoptotik etki gösterirler (Yun 2010).

5- Lipit metabolizmasını düzenleyen etkenler

Lipolizin farmakolojik olarak hedeflenmesi iki farklı şekilde tasarlanır. İlk strateji yağ depolarını azaltmak için trigliserit hidrolizini artırmayı gerektirir. Bu olasılık yeni salınan yağ asitlerinin birleşik oksidasyonuna ihtiyaç duyar ve beta3-adrenarjik agonistlerin gelişimine yol açar. Ölçüsüz lipoliz yağ asiti seviyesinin dolaşımda yükselmesine ve dislipidemiye (metabolik sendromda olduğu gibi) yol açar (Langin ve ark 2006). Örneğin Nelumbo nucifera yapraklarındaki flavonoidler beta-adrenerjik reseptör aktivasyonuna sebep olarak YYD ile beslenen farelerde kilo alımını anlamlı bir biçimde baskılamıştır (Ohkoshi ve ark 2007).

2. 2. İnsülin Direnci

2. 2. 1. İnsülin Direncinin Tanımı

İnsülin direnci insüline normalde cevap veren yağ, karaciğer, iskelet kası ve kalp kası gibi hedef dokularda insülin sinyal yolunda yetersizlik olarak tanımlanabilir (Kayaalp ve ark 1998). İnsülin direnci, hastalarda doğal olarak gelişebildiği gibi insülin tedavisi sırasında anti-insülin antikorlarının oluşması ve insüline duyarlılığın azalması sonucu da gelişebilir. Gerçekte, insülin reseptör sayısı azalmıştır ve plazma insülin düzeyi normal veya yüksektir (Defronzo 1998). İnsülin direnci glukozun hücre içine alınmasını geciktirerek veya önleyerek hücre metabolizmasının bozulmasına yol açar (Hollenbeck ve Reaven 1987).

Normalde insülin, karaciğerde glukoneogenezi ve glukojenolizi inhibe ederek hepatik glukoz üretimini baskılar. Ayrıca glukozu, kas ve yağ dokusu gibi periferik dokulara taşıyarak burada ya glikojen olarak depolanmasını ya da enerji üretmek üzere okside olmasını sağlar. İnsülin direncinde insülinin karaciğer, kas ve yağ dokularındaki etkilerine karşı direnç oluşarak hepatik glukoz sekresyonu bozulur. Kas ve yağ dokusunda da, insülin aracılığı ile olan glukoz alımı azalır. Bu durumda oluşan insülin direncini karşılayacak ve dolayısıyla normal biyolojik yanıtı sağlayacak kadar insülin salgısı artışı ile metabolik durum kompanse edilir.

Böylelikle hipergliseminin önlenebilmesi için beta hücreleri, sürekli olarak insülin salgısını artırmaya yönelik bir çaba içerisine girer (Yenigün ve Altuntaş 2001).

2.2.2. İnsülin Direncinin Nedenleri

İnsülin direncini oluşturan moleküler nedenler

Başlıca üç moleküler nedenle oluşur. Bu moleküller tümör nekroz faktörü-α (TNF-α), interlökin-6 (IL-6) ve leptin olarak sayılabilir.

TNF-α önceleri makrofajlardan salgılanan, immün fonksiyonları modüle eden bir sitokin olarak biliniyordu. Ancak yakın zamanda yapılan çeşitli çalışmalar TNF-α'nın adipoz dokudan da salgılanan ve adipoz dokuyu düzenleyen bir adipokin olduğunu göstermiştir (Leclercq ve ark 2000). Araştırmalar TNF-α'nın insülin direnci sendromunda kilit bir role sahip olduğunu göstermektedir. TNF-α hepatosit membranında insülin reseptörü tirozin kinaz aktivitesini etkiler ve pankreasın beta hücrelerinden insülin serbestlenmesini azaltır. Bunların ikisi de hiperglisemiye ve ilki ayrıca hiperinsülinemiye yol açar (Hotamışlıgil ve ark 2000). Ayrıca TNF-α, adiponektinin etkisini antagonize ederek de insülin direnci oluşturur çünkü adiponektinin insülin direncini azaltıcı etkisi vardır (Sheu ve ark 2000).

İnterlökin-6 lökositler gibi birçok immun hücre tarafından üretildiği gibi yağ hücresinden de diğer hücrelere göre daha fazla miktarda üretilir. Visseral yağ hücrelerinde deri altı yağ hücrelerine göre üretimi 3 kat daha fazladır. IL-6 glukoz reseptörü glukoz transport protein-4 (GLUT-4) translokasyonunu azaltarak insülin direnci oluşturur (Chan ve ark 2004).

Leptin adipoz kütleye orantılı olarak salınmaktadır ve beyne yağ dokusunun düzeyini göstermektedir. Leptinin insülin reseptörü substrat-1'in defosforilasyonunu indükleyerek insülin reseptör direnci oluşturduğu belirlenmiştir (Weltman ve ark 1998).

İnsülin direncini oluşturan çevresel nedenler:

Aşırı yağlı diyet ve hareketsiz bir yaşam tarzı en önemli çevresel nedenlerdir.

İnsülin direncini oluşturan genetik nedenler:

İnsülin reseptörü geninin her iki allelinde de mutasyon pek az vakada saptanmış olup bunlarda çok ciddi insülin rezistansı ile seyreden nadir ve genelliklede yaşamın ilk yılında ölüme neden olan sendromlar geliştiği gösterilmiştir (örn: Rabson-Mendenhall sendromu) (Bikhazi ve ark 2000). İnsülin reseptörünün sadece bir allelini etkileyen mutasyonlar 50 civarında olup ciddi insülin direncine yol açabilmekle birlikte yaşamla daha bağdaşır ve hastalarda genç erişkin yaşlara kadar genellikle hiperglisemi izlenmez (örn: Tip A insülin rezistansı). Bu mutasyonlar insülin reseptörlerinde, insülin reseptör substrat-1 ve glikojen sentaz genlerinde gerçekleşmektedir (Bikhazi ve ark 2000).

2.2.3. İnsülin Direncinin Komplikasyonları

Obezite ve insülin direnci metabolik sendrom patogenezinde rol alan en önemli komponentlerdendir. İnsülin direnci ve eşlik eden hiperinsülinemi diğer metabolik risk faktörlerinin direk nedenidir. İnsülin direncinde plazma lipoprotein lipaz aktivitesinde azalma olup, plazma trigliseritleri artar ve bir yandan da yüksek duyarlılıklı lipoprotein (HDL-K) yıkımı artar, hepatik glukoneogenez artar, karaciğer ve kaslarda glukoz intoleransına yatkınlık ortaya çıkar. Yine insülin direncinde artmış plazma serbest yağ asidi konsantrasyonu gözlenir ve serbest yağ asitleri de karaciğerde trigliserit birikimini uyarır (Mykkanen ve ark 1998).

Bazı çalışma grupları non-alkolik yağlı karaciğer hastalarında portal kandaki insülin klirensinin azalmış olduğunu göstermişlerdir. Hiperinsülinizm periferik yağ dokularında lipolizi artırarak bir yandan karaciğere yağ asidi akımını artırmakta öte yandan insülin direnci beta oksidasyonu önleyerek trigliseridlerin hepatositlerde toplanmasına yol açmaktadır. Lipid peroksidasyonun non-alkolik yağlı karaciğer hastalığının (NAYKH) patogenezinde önemli olması ve lipid peroksidasyonun sıklıkla insülin direnciyle birlikte olması, insülin direncinin nonalkolik steatohepatit oluşumundaki rolünü göstermektedir (Everhart 1995).

2.2.4. İnsülin Direncinin Ölçümü

İnsülin direncinin kantitatif olarak ölçümü için en duyarlı yöntem öglisemik hiperinsülinemik klemp tekniğidir. Bu tekniğin kullanımının pratik olmaması

nedeniyle bugün sıklıkla başka yöntemler de kullanılmaktadır. Bu yöntemler arasında olan "insülin direncinin değerlendirilmesinde homeostazis modeli" (HOMA-IR) indeksinin ölçümü en çok kullanılan yöntemler arasındadır (Jaber ve ark 2004). HOMA-IR indeksini hesaplama; HOMA-IR = Açlık Glukozu (mmol/l) x Açlık İnsülini (mU/I) / 22,5 formülü ile yapılır. Değişik epidemiyolojik çalışmalarda, sağlıklı bireylerin ve değişik düzeydeki glukoz intoleransı olanların insülin direnç durumları HOMA-IR indeksi kullanılarak araştırılmıştır. Bu çalışmalarda insülin direnç varlığı HOMA-IR değerinin 2,5 üzerindeki değerler olarak alınmıştır (Jaber ve ark 2004).

2.3. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı

2.3.1. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığının Tanımı

Karaciğer yağlanması, histopatolojik incelemede hepatositlerin %5'ten fazlasında yağ vakuollerinin görülmesi veya lipid miktarının karaciğer ağırlığının %5'inden daha fazla olması şeklinde tanımlanmaktadır (Adams ve ark 2005). Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH), iki ayrı hastalığı bir arada ifade etmek için kullanılır, birincisi inflamasyon ve fibrozisin eşlik etmediği sadece yağlanma ile seyreden non-alkolik steatoz (NAS), diğeri ise yağlanma ile birlikte nekroinflamatuar aktivitenin olduğu non alkolik steatohepatittir (NASH) (Brunt ve Elizabeth 2001).

NAYKH, basit steatozisten, steatohepatit, ileri derecede fibrozis ve siroza kadar, karaciğer hasarının geniş spektrumunu içeren klinikopatolojik bir tablodur (Ananina 2004). Patolojik olarak hastalığın birkaç bileşeni vardır ama olmazsa olmaz özelliği makroveziküler yağlanma ve steatozisin bulunmasıdır. Eğer bu izole ise hastanın basit steatozis ve yağlı karaciğeri olduğu söylenir. Hastaların çoğu bu durumu kolay tolere ederler ve siroza ilerleme potansiyeli çok nadirdir.

NAYKH olan hastalarda en sık rastlanılan laboratuvar bulgusu hafif ya da orta derecede aminotransferaz (ALT, AST) yüksekliğidir. AST / ALT oranı NAYKH ile alkolik karaciğerin ayırıcı tanısında yardımcı olur (Ananina 2004). Birçok NAYKH hastasında AST /ALT oranı birden küçüktür, ancak bu oran karaciğer hastalığı siroza ilerledikçe yükselir ve NAYKH'nın sirotik dönemde teşhisi açısından geçerliliğini kaybeder.

2.3.2.Non-alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığının Patogenezi

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığının patogenezi net değildir. Bazı hastalarda sadece steatoz, diğerlerinde steatohepatit ve progresif fibroz gelişmesinin nedenleri bilinmemekle beraber, vücut yağ dağılımı veya antioksidan sistemlerdeki farklılıklarla beraber genetik yatkınlık suçlanmaktadır. İlk olarak patogenez iki darbe hipotezine göre açıklanmaya çalışılmıştır, buna göre metabolik faktörler ilk darbeyi oluştururken serbest radikaller, oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu gibi olaylar ikinci darbeyi oluşturmuştur (Brunt ve Elizabeth 2001).

İnsülin direncinin NAYKH oluşumundaki ilk basamak olan "birinci darbe" gelişiminde en önemli faktör olduğu düşünülmektedir. İnsülin direnci hiperinsülinemiye neden olarak hormona duyarlı lipoprotein lipazı uyarır ve periferal lipolizi arttırır. Karaciğere gelen yağ asidi miktarında artışa bağlı olarak karaciğer yağ asidi alımı artar. Hiperinsülinemi, karaciğerde yağ asitlerinin mitokondriyal beta oksidasyonunu engelleyerek ve glikolizi uyararak yağ sentezini arttırır. Hiperinsülinemi aynı zamanda karaciğerde yağ asitlerinin trigliseridlere esterleşmesini ve karaciğerden salınımını da azaltır. Böylece insülin direnci NAYKH gelişiminde esas mekanizmayı oluşturmaktadır. Steaotozis oluştuktan sonra karaciğer, ikinci vuruş olarak adlandırılan oksidatif strese duyarlı hale gelir (Day ve James 1998).

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada ülkemizde NAYKH sıklığı kadınlarda %16,5 iken erkeklerde %23,7 olarak bulunmuştur ve santral obezitenin önemli bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir (Çelebi ve ark 2006). NAYKH'nın prevelansı; tip 2 diyabet ve trigiserid yüksekliği olan hastalarda %50-55'e, obez bireylerde %75'e çıkmaktadır ve obez olan diyabetik bireylerin hemen tamamında mevcuttur (Akbar ve Kawther 2006). Obezite, diyabet ve metabolik sendrom; NAYKH ve ilerlemiş fibrozisin risk faktörlerindendir.

2.4. Lipit Parametreleri

Lipitler suda çözünmeyen bileşikler olduğundan sulu bir ortam olan plazmada apolipoprotein (apoprotein) denilen özgün proteinlerle kompleks olarak taşınabilirler. Bu lipit-protein kompleksleri lipoprotein olarak adlandırılırlar. Lipoproteinlerin

yapısında triaçilglisol, kolesterol esteri, kolesterol ve fosfolipitler taşınır. Plazma lipoproteinleri apoprotein içerikleri ve lipit profillerine göre şilomikron, VLDL, LDL ve HDL olmak üzere 4 ana sınıfta incelenmektedir. Şilomikron ve VLDL triaçilgliserol taşınmasından LDL ve HDL ise kolesterol taşınmasından sorumludur (Gürdöl ve Ademoğlu 2010).

Diyetle alınan triaçilgliserollerin ince bağırsaktan diğer dokulara taşınmasını yapan, dansitesi en az ve en büyük lipoprotein şilomikrondur. Diyet o anda yakıt olarak gerektiğinden daha fazla yağ asiti içeriyorsa bunlar karaciğerde triaçilgliserollere çevrilir ve VLDL'ye paketlenir. VLDL karaciğerde sentezlenen trigliserit ve kolesterolü ekstrahepatik dokulara taşır. Bir miktar VLDL triaçilgliserol kaybıyla IDL'ye dönüşürken, daha fazla triaçilgliserol kaybı LDL'yi oluşturur. Ana apoprotein olarak APO-B taşıyan ve kolesterol ve kolesterol esteri bakımından çok zengin olan LDL'ler karaciğer dışı dokulara kolesterol taşırlar. Dördüncü ana lipoprotein tipi olan HDL küçük, kolesterol esteri taşımayan ve göreceli az kolesterol taşıyan proteince zengin partiküller halinde karaciğer ve ince bağırsaktan salgılanırlar. Yeni oluşan HDL partiküllerinin yüzeyinde lesitin kolesterol açil transferaz (LCAT) şilomikron ve VLDL kalıntılarının kolesterolünü kolesrol esterlerine çevirerek disk şeklindeki büyüyen HDL'yi olgun HDL partikülüne çeviren bir çekirdek oluşturmaya başlar. Bu kolesterolce zengin lipoprotein daha sonra karaciğere dönerek kolesterolü boşaltır, bu kolesterolün bir kısmı safra tuzlarına çevrilir (Nelson ve Cox 2005).

2.4.1.Dislipidemi

Kan yağlarının oranlarında ve düzeylerinde insan sağlığını bozacak yöndeki değişikliklere dislipidemi denir. Dislipidemi çok önemli bir laboratuvar semptomudur. Yağ dokusundan serbest yağ asitlerinin artışı ve karaciğerde trigliserid sentezinin artışı obezitedeki lipid anormalliklerinin başında gelir.

Dislipideminin oluşumu şöyle açıklanabilir:

Yağ dokusundaki yağ hücrelerinden dolaşıma salınan serbest yağ asitleri, karaciğer ve kas dokusuna gönderilir. Serbest yağ asitleri karaciğerde sınırlı miktarda oksidasyona uğrarken, çoğu trigliseridleri oluşturmak için reesterifiye olur. Böylece

yağ asitleri ve trigliseridler karaciğer ve yağ dokusu arasında sürekli taşınmaya başlar. Eğer adipoz dokuya doğru taşınma yeterli derecede değilse, o zaman trigliseridler karaciğerde birikir. Bu durum genel olarak yağlı karaciğer olarak bilinir. Trigliseridler yetersiz oksidasyon ve serbest yağ asitlerinin kasa transportunun artışından dolayı kas hücresinde de birikirler (Tkac 2005).

İnsülin direncinin varlığında yağ dokusunda lipoliz artar, plazma serbest yağ asitlerinin miktarı artar, daha fazla serbest yağ asidi karaciğer ve kasa taşınır. Aynı zamanda insülin karaciğerde direkt olarak lipogeneze neden olur. Yükselen plazma glukoz miktarı gliserolden karbon iskeletini sağlayarak karaciğer trigliserid sentezini artırır. Karaciğerde artan trigliserid düzeyi VLDL sekresyonunun artışında ana rolü oynar (Krauss ve Siri 2004).

VLDL-trigliserid kolesterol ester transfer protein (CETP)'nin etkisi ile HDL ve LDL kolesterol esteri ile değişime uğrar. VLDL, TG lipoprotein lipaz ile hidrolize olduktan sonra, VLDL'ye dağıtılmış kolesterol esterinin çoğu remnant partiküller olarak karaciğere döner. Bu tersine kolesterol yolunun bir kısmıdır. Remnant partiküllerdeki ester kolesterolün bir kısmı da arter duvarında sonlanır. Aynı zamanda bu değişim sonucunda HDL ve IDL trigliseridden zenginleşir ve hepatik lipaz ile lipolize uğrarlar. Lipoliz sonucu HDL ve LDL küçülür. Lipolize uğramış HDL hızla dolaşımdan temizlenir ve HDL ve apo A-1 miktarında azalmayla sonuçlanır. Böylece VLDL trigliseridin artışı ile başlayan bu metabolik bozukluk HDL azalması ile aterogenik özelliğe dönüşür (Reusch 2002).

Trigliseridden zengin VLDL'nin lipoprotein lipaz ve hepatik lipaz aracılığı ile lipolizi ve trigliseridden zengin IDL ve LDL'nin hepatik lipaz aracılığı ile lipolizinden sonra küçük ve yoğun LDL'ler oluşur. Bu LDL'ler kolay okside olur, okside LDL vasküler scavenger LDL reseptörleri ile temizlenir ve vasküler damar duvarında uzun zaman kalır. Bunun sonucu damar duvarı lipid kompozisyonu değişir. Okside LDL endotel hücreleri için toksik olup nitrik oksit salınımında azalma, sitokin ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunda değişikliklerle sonuçlanır. Bunlar vasküler inflamasyona yol açarlar. Arter duvarında oluşan inflamatuar ve hücresel proliferasyon ateroskleroz için başlangıçtır (Reusch 2002).

2.5. Leptin

2.5.1. Yapısı ve işlevi

Leptin l67 aminoasit içeren, sitokinlere benzer, peptit yapılı bir hormondur ve 16 kDa büyüklüğündedir. Adipositlerde üretilen bu küçük protein kan aracılığı ile beyne taşınarak iştahı azaltmak üzere hipotalamustaki reseptörler üzerine etki eder. İnsanlarda leptin geni 7q32 kromozomunda bulunmaktadır ve 20 kilobazlık DNA içeren üç ekson ve iki introndan oluşmaktadır. Fare ve insan leptini %84 homolojiye sahiptir. Yakın zamanda yapılan araştırmalar leptinin plasenta, overler, iskelet kası, mide, hipofiz ve karaciğerde de üretildiğini ortaya koymuştur. Leptin hipotalamustaki santral devreleri etkileyerek gıda alımını baskılamakta ve enerji tüketimini artırmaktadır. Çalışmalar leptinin periferik etkilerinin de var olduğunu ve bunu periferik etkileri olan diğer hormonlarla (insülin vb.) etkileşerek gerçekleştirdiğini göstermiştir (Sinha 1997).

Leptin hiperfajik obez ob/ob fareleriyle yapılan deneyler sonucu keşfedilmiştir. Aşırı obez olmanın yanında bu farelerin büyümesi yavaştır ve gonadal hipofonksiyona bağlı infertildirler. Gerçekleştirilen çalışmalar ob/ob farelerin bu genlerdeki mutasyon sonucu leptini sentezlemediklerini göstermiştir. Bu hayvanlara leptin verilmesi gıda alımında dramatik azalmaya, ağırlık kaybına ve büyümelerinin hızlanmasına neden olmuştur. ob/ob Farelerin fenotipik olarak benzeri olan db/db farelerde ise leptine direnç bulunduğu gösterilmiştir (Koerner ve ark 2005).

Leptin doygunluk ve enerji dengesi ile ilgili bir hormondur. Yarılanma ömrü insanlarda yaklaşık 25 dakikadır. Genel olarak leptin yemekten 2-3 saat sonra salgılanır. Leptinin plazma konsantrasyonu sirkadian bir değişim gösterir. Öğleden sonra yükselmeye başlar, gece yarısı pik yapar, gün doğumuna doğru seviyesi düşer ve en alt seviyelere iner (Hekimoğlu 2006). Yiyecek alımı ve enerji harcanması hipotalamik aracılı etkilerle düzenler (Narin ve ark 2005).

Leptin reseptörü (OB-R) izoformları üç gruba ayrılır: uzun, kısa ve çözünebilir izoformlar. Uzun izoform (OB-Rb) leptin sinyallerini ileten reseptördür. OB-Rb yaygın olarak tüm vücutta bulunabilir ama özellikle hipotalamus, monositler, lenfositler, pankreas beta hücreleri, enterositler ve endoteliyal düz kas hücrelerinde gösterilmiştir. Kısa izoformun (OB-Ra) fonksiyonu tam olarak bilinmese de leptinin

kan beyin bariyerinden geçmesinde rol oynadığı varsayılmaktadır. Çözünebilir izoform (sOB-R) ise bir leptin taşıyıcı protein olup kanda biyolojik olarak aktif leptinin potansiyel rezervuarı olarak görev görmektedir. Leptin nöroendokrin etkileri yanında immün hücreleri, pankreatik beta hücrelerini, adipositleri, kas ve kan hücrelerini doğrudan uyarmaktadır. Böylelikle leptin puberte ve fertilite regülasyonunda endokrin ve parakrin faktör olarak rol oynamakta, plasental ve fetal fonksiyonları, kas ve karaciğerde insülin duyarlılığını etkilemekte, ektopik lipid birikimini önlemekte ve deri onarımında endokrin ve immün sistem arasındaki bağı kurmaktadır (Koerner ve ark 2005).

Leptinin etkilerine, temelde merkezi sinir sisteminde ve adipositler ve endotel hücreleri bulunan diğer dokularda yer alan reseptörler aracılık eder. Leptin reseptörleri sitokin reseptör ailesinin birinci sınıfına dahildir ve hem sinyal dönüştürücü hem de STAT3 yolağı ve insülin reseptör substratı fosfoinositide-3 kinaz yolağını tutar (Buettner ve ark 2006). STAT3'ın gıda alımını, karaciğer glukoz üretimini ve gonadotropin salınımını düzenlemede gerekli olduğu bilinmekle birlikte leptinin adipoz doku metabolizması üzerindeki etkisi STAT3'den bağımsızdır (Buettner ve ark 2008). Leptinin hipotalamusa girmesi fosfoinositid-3 kinaz yolağının ve sempatik nöron sisteminin aktivasyonuyla adipoz dokuda lipogenezin baskılanmasına yol açar.

Obezite ile kardiovasküler hastalıkların artması leptini aterosklerozu körükleyen bir etken haline getirir. Geniş bir bakış açısıyla bakıldığında leptin koroner arter hastalıklarıyla indirek olarak ilişkilidir (Wallace ve ark 2001). Obez bireylerde leptinin direk aterosklerozla ilişkili olup olmadığı sorusu tam cevaplanmamıştır. Farklı aterojenik özellikler ile leptin arasındaki ilişki üzerine in vitro çalışmalar ve hayvan çalışmaları sürdürülmektedir (Koh ve ark 2008).

Leptin'in insan ve memelilerde fonksiyonlarını şöyle özetleyebiliriz;

1. Beslenme davranışlarını düzenler,
2. Otonom sinir sistemi fonksiyonlarını ayarlar,
3. Metabolizma hızını ayarlar,
4. Termoregülasyonda rol oynar,
5. Sempatik aktivitede artışa sebep olur,
6. Büyüme ve gelişmede rolü vardır,

7. Üreme ve hematopoeziste etkindir (Ergün 1999).

İnsan obezitesinin yüksek leptin seviyesiyle genel bir ilişki gösterdiği açıktır, birçok çalışmada insülin düzeyleri ve insülin direnci ile uyumlu olduğu gösterilmiştir. Leptin eksikliği oluşturulan ob/ob farelerde leptin tedavisi kilo kaybından bağımsız olarak kandaki glukoz ve insülin konsantrasyonlarını da düşürmüştür.

İnsanlarda leptinle ilgili obezite nedenleri şunlardır;

1. Yağ hücrelerinde leptinin sentezi ve sekresyonunda bozukluk olabilir,
2. Kana geçen leptinin taşınmasında bir problem olabilir,
3. Leptinin kan beyin bariyeri ve kan beyin omurilik sıvısı bariyerini aşmasında bir problem olabilir,
4. Hipotalamusta leptin reseptör ve sinyal iletimi yetersizliği olabilir (Ergün 1999).

Kadınlar erkeklerden daha fazla leptin üretmektedir. Bunun nedenleri arasında testesteronun leptin üzerine baskılayıcı etkisi olması ve cinsiyete bağlı farklı miktarda yağ depolanması gösterilebilir (Altunkaynak ve Özbek 2005).

Plazmadaki leptin miktarını düzenleyen etkenler;

1. Hiperinsülinemi,
2. Vücut yağ kitlesi,
3. Cinsiyet,
4. Metabolik hormonlar,
5. Günlük besin alımı,
6. Günlük enerji harcanması,
7. Farmakolojik ajanlar (isoproterenol, propranol v.s).

2.5.2. Leptin Direnci

Çoğu obez kişinin endojen leptin düzeyi yüksektir ama buna karşılık olarak gıda alımlarını azaltmazlar. Bu kişilere eksojen leptin verildiğinde de etkisiz olduğu gözlenmiştir. Bu verilerin ışığında tip 2 diabette insülin direncinin var olması gibi obezitede de leptin direncinden söz etmek mümkün olmaktadır.

Leptin direnci mekanizması tam açıklığıyla bilinmemekle birlikte leptinin kan beyin bariyerini yeterli derecede geçememesi ve/veya hipotalamik iletiyi başlatamaması direncin oluşmasında rol oynuyor olabilir. Bundan OB-Rb sinyal iletisini inhibe eden iki molekül sorumlu tutulabilir: "Suppressor of cytokine signalling 3" (SOCS3) ve tirozin fosfataz (PTP1B). Bazı kemirici obezite modellerinde hipotalamik SOCS3 ekspresyonunun artmış olduğu ve yüksek leptin düzeylerinin SOCS3 düzeyini artırabileceği bildirilmiştir. Hücre kültürlerinde PTP1B'nin aşırı ekspresyonunun leptin sinyal iletisini zayıflattığı ama PTP1B'den yoksun fibroblastlarda artmış leptin duyarlılığının olduğu gösterilmiştir (Koerner ve ark 2005).

2.6. Yüksek Duyarlılıklı C-Reaktif Protein

23 kD'luk 5 subünitten oluşan CRP, temel immun yanıt proteinlerinden pentraksin ailesinin bir üyesidir. CRP, enfeksiyonlara ve romatoid artrit, kardiyovasküler hastalık ve periferal vasküler hastalık gibi enfeksiyonlu olmayan inflammatuar süreçlere verilen cevaplar sırasında serum ve plazma seviyeleri yükselen "akut fazlı" proteinlerden biridir. CRP karaciğerde sentezlenir ve normalde serum veya plazmanın bir iz bileşeni olarak bulunur. Doku yaralanması, enfeksiyon veya inflamasyon ile sonuçlanan çeşitli hastalık durumlarında, CRP seviyeleri akut bir olayın ardından normalin üzerine çıkabilir (Hind ve Pepys 1984). Yükselen CRP değerleri her zaman patolojik değişimlerle ilişkilendirildiğinden, CRP inflammatuar süreçler ve ilişkili hastalıkların tanı, tedavi ve izlenmesinde yararlı bilgiler sağlar. CRP kardiyovasküler ve periferal vasküler hastalık riskinin değerlendirilmesinde kullanılırken, ölçümler eski değerler ile karşılaştırılmalıdır. CRP'nin yüksek hassasiyetli testler ile ölçümü, kardiyovasküler ve periferal vasküler hastalık riskinin değerlendirilmesinde kullanılan diğer markerlerin prediktif değerine katkıda bulunabilir (Ridker ve ark 1998).

Ateroskleroz ve koroner kalp hastalığı gelişiminde kronik inflamasyonun önemli bir faktör olduğu artık bilinmektedir. Düşük derecedeki inflamasyon ateroskleroza yol açarken akut faz proteini yanıtına da neden olduğu için yüksek duyarlı C-reaktif protein (hsCRP) düzeylerinin ölçümü ile de izlenebilir (Retterstol ve ark 2003). Son çalışmalar esas olarak vücuttaki inflamatuvar yanıtın erken bir göstergesi olarak düzeyleri yükselen CRP ile koroner arter hastalığı arasında pozitif

ilişkiye işaret etmektedir. CRP'nin kardiyovasküler olayı göstermede LDL-kolesterole nazaran daha güçlü bir risk göstergesi olduğu açıklanmıştır (Altekin ve Önvural 2004). Kesin fizyolojik rolü ile ilgili tartışmaların sürmesine karşın, kardiyovasküler riskin bir belirteci olarak hsCRP tahmin edici değeri artık kesin şekilde belirlenmiştir (Shari ve ark 2004).

Başlangıçta IL-6'ya yanıt olarak yalnızca karaciğer tarafından sentez edildiğine inanılmasına rağmen, yeni bulgular CRP'nin insan koroner arter düz kas hücrelerinden ve tercihen hastalıklı damardakilerden üretildiğini göstermiştir. Aterosklerotik plaktaki CRP mRNA'sı, karaciğerdekinin 7 katı, normal damarlardakinin ise 10 katı bulunmuştur. Yıllar süren araştırmalar, tek başına hsCRP ölçümünün myokard infarktüsü veya kalp hastalığı mortalitesinin, inmenin, periferik damar hastalığının, konjestif kalp yetmezliğinin, atriyal fibrilasyonun ve ani kardiyak ölümün güçlü bir tahmin ettiricisi olduğunu göstermiştir (Shari ve ark 2004).

2.7. Silybum Marianum (Deve Dikeni)



Resim 2.1. Silybum marianum (Deve dikeni)

Genellikle 'Milk thistle' ismiyle bilinen Silybum marianum bitkisi (Familya: Asteraceae/Compositae) karaciğer hastalıklarının tedavisi için araştırılan en eski bitkilerden bir tanesidir. Bu bitki Almanya'da Meryemana'yı andıran bir dinsel sembol olarak görüldüğü için ona Meryem ana dikeni ismi verilmiştir. Kızılderililer ise bu bitkiye Deve Dikeni, Kutsal Diken, Okunmuş Diken olarak adlandırmışlardır.

Türkiye'de ise deve dikeni olarak bilinir. Taşlı topraklarda yetişen bitki dikenli ve mor veya beyaz bir çiçeğe ve süt damarları içeren yapraklara sahiptir (Luper 1998).

Bitki dünyada Güney-Batı Avrupa, Avustralya, Kuzey Afrika ve Batı Asya'da yetişmektedir. Akdeniz ülkeleri ve Rusya'nın güneyinde yaygındır. Amerika'da yetişenler Avrupa ve Asya'dakilere göre daha verimlidir. Akdeniz ülkelerinde sebze olarak kullanılmaktadır. Türkiye'de ise Batı ve Güney Anadolu'da İzmir, Aydın, Denizli, Mersin, Adana ve Antakya yörelerinde ve Marmara bölgesinin sahil kesiminde; yol ve tarla kenarları ile boş alanlarda yetişmektedir ve bir çit bitkisidir. Özellikle Akdeniz çevresindeki ülkelerde uzun yıllardır karaciğer için tonik olarak kullanılmaktadır. Bitkinin tüm kısımları yiyecek olarak kullanılabilir, çünkü toksik değildir (Meriçli 1984).

Bitkinin tarihine baktığımızda 4.yy'da bile medikal bir bitki olarak görüldüğüne dair kanıtlar vardır ve 16.yy'da hepatobiliyer hastalıklarda kullanılan bir tıbbi bitki haline gelmiştir (Schuppan ve ark 1999).

Bitkinin aktif komplesi kurutulmuş tohumlarından elde edilir ve silymarin olarak adlandırılır. Silymarini %70-80 flavonolignanlar ve % 20-30 oranında tanımlanmamış polifenolik bileşenler oluşturur. Silymarinin doğal bileşenlerinden olan silybin en etkili olandır ve silymarinin % 80'ini oluşturur. Bunun dışında isosilybin, silychristin ve silydianin diğer bileşenlerdir (Morazzoni ve ark 1993). Silybum marianum tohumları kanıtlanmış bir hepatoprotektif madde olan betaine ve esansiyel yağ asitleri de içerir. Bu maddeler silymarinin antiinflamatuvar etkisine katkıda bulunmaktadır (Morazzoni ve ark 1993).

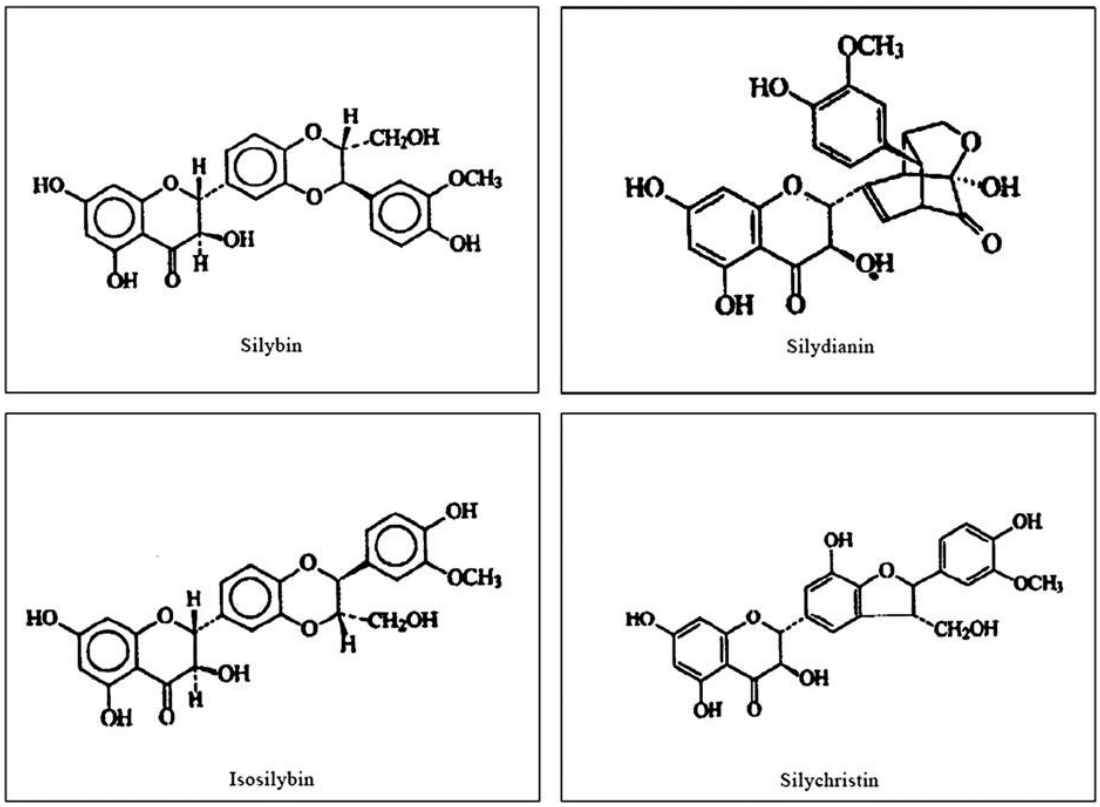
2.7.1. Biyokimyası

Kuru ekstresi %15-30 trigliserit (% 60 linoleik, % 30 oleik, % 9 palmitik asit) formunda lipit, % 30 protein, şeker (arabinoz, ramnoz, ksiloz, glukoz), % 0,038 tokoferol, % 0,063 steroller ve kuerçetin, taksifolin, eriodiktiol, krisoeriol formunda flavoidler içerir. Silymarin kuru tohum ağırlığının % 1,5-3 ünü oluşturur ve silybinin (% 50-60), isosilibin (% 5), silychristin (% 20) ve silydianin (% 10) bunların yanında silimonin, isosilychritin, isosilibinin de içerir. İlaçlarının mikroskopik

karakteri ince tabaka kromotografisi (TLC) veya yüksek performanslı sıvı kromotografisi (HPLC) kullanılarak anlaşılabilir (Wu ve ark 2009).

2.7.2. Farmakokinetiği

Silymarin suda çözünmez, bu nedenle bitkisel çay olarak tüketilememektedir. Standart kapsüllenmiş bitki ekstresi olarak kullanılır. Yapılan çalışmalarda ratlarda oral uygulamadan 24 saat sonra safrada % 2-3 oranında tespit edilmiştir. Hayvanlarda ve insanlarda oral alımı takiben pik plazma konsantrasyonuna 4-6 saat sonra ulaşılır. Vücuttan atılımı esas olarak safra yoluyla az bir kısmı da böbrekler yoluyla olmaktadır. Yarılanma ömrü 6-8 saattir (Morazzoni ve ark 1993).



Şekil 2.1. Silybin, silydianin, isosilibin ve silychristin'in kimyasal formülleri (Wu ve ark 2009).

2.7.3. Silybum Marianum Ekstresinin Etkileri

Silybum marianum ekstresinin (SME) aktif kısmı olan silymarin Amanita falloides (Blumenthal ve ark 2000), etanol, parasetamol ve karbon tetraklorid kaynaklı karaciğer hasarına karşı antihepatotoksik etki gösterir (Negi ve ark 2008).

Tıbbi bir bitki olarak SM siroz, kronik hepatit ve safra kesesi hastalıklarında kullanılmıştır. Meme, servikal ve prostat kanser hücrelerinin büyümesini yavaşlatma ve antiviral aktivitelerine de bakılmıştır. SM'nin halk tarafından kullanıldığı bazı diğer durumlar malarya ateşi, bronşit, safta kesesi taşı, sarılık, rahim tıkanıklığı, emziren annelerde süt artırıcı olarak. Kökleri suda bir gece bekletildikten sonra yiyecek olarak, yaprakları da salataların içinde tüketilmekle beraber kavrulmuş meyvelerinin kahve gibi kullanımı da mevcuttur (Dunnick ve ark 2011).

Anti-inflammatuar ve immüno-modülatör aktivitesi

Pek çok çalışma silymarinin bir anti-inflammatuar olduğunu göstermiştir. Silymarin, tümör nekroz faktör- α (TNF-α), nitrik oksit (NO), interlökin-6 (IL-6), interlökin-1 (IL-1) gibi inflamasyon mediatörlerini düzenler ayrıca lenfosit proliferasyonunu ve interferon gamma (IF-γ), interlökin-4 (IL-4) ve interlökin-10 (IL-10) sitokinlerini artırır (Zi ve ark 1997, Tager ve ark 2001). Bu etkiler, birlikte ele alındığında, infeksiyon hastalıklarında koruyucu ve tedavi edici bir rol oynar.

Hücre koruyucu olarak birkaç mekanizması ortaya çıkmıştır. Bazı çalışmalarda nöron farklılaşmasını ve hayatta kalmasını sağlarken bazı çalışmalarda kupffer hücreleri tarafından lökotrien oluşturulmasını inhibe etmiştir ve büyüme faktör β-1'in ekspresyonunu artırmıştır (Dehmlow ve ark 1996, He ve ark 2002). Hayvan çalışmalarında cyclosporine (Sandimmune) kaynaklı pankreas hasarına karşı pankreası ve acetaminofen, cisplatin (Platinol), and vincristine (Oncovin) hasarlarına karşı böbreği, karbon tetraklorid hasarına karşı da karaciğeri korumuştur (Von Schonfeld ve ark 1997, Sonnenbichler ve ark 1999, Kravchenko ve ark 2000, Batakov 2001).

Protein sentezini artırma etkisi

Akut ve kronik durumlarda zarar gören karaciğer hücrelerinin yerine konması için hücre rejenerasyonu çok önemlidir. Kronik hastalıklarda fibrozis ve hücre yenilenmesi eş zamanlı olarak gerçekleşir. Hangisinin baskın geleceğine süreç karar verir. Pradhan ve Girish (2006) silibinini intraperitonel uygulanması rat karaciğerinde ribosomal RNA sentezini uyardığını göstermişlerdir. Aynı araştırmacılar silibininin hepatoktemi yapılmış ratlarda DNA sentezini uyarırken

sağlıklı kontrollerde hepatomalarda ve diğer neoplastik hücrelerde aynı etkiyi göstermediğini göstermişlerdir (Pradhan ve Girish 2006).

Antioksidan etkisi

Silymarin radikal oluşumunu inhibe ederek, bazı radikalleri bağlayarak (radikal süpürücü) membranların lipit peroksidasyonunu engelleyerek (böylece membran permeabilitesini korur) ve hücre içi radikal süpürücülerin sayısını artırarak antioksidan etki gösterir (Hrbác ve ark 2008). Oksidatif ve nitrosatif stres varlığında silymarin süperoksit anyon radikallerinin ve nitrik oksitin oluşumunu inhibe eder, malondialdehit (MDA) içeriğini düşürür, glutatyon, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon reduktaz düşüşünü tamamen ortadan kaldırır. Bu doz bağımlı sonuçlar izole edilmiş rat Kupffer hücreleri, hepatositler, HEPG2 hücreleri, rat hepatositlerinden izole edilmiş mitokondriler, iskemi-reperfüzyon modeli uygulanmış rat karaciğerinde gösterilmişlerdir (Dehmlow ve ark 1996, Rolo ve ark 2003, Comoglio ve ark 1995, Carini ve ark 1992, Ligeret ve ark 2008, Bosisio ve ark 1992, Fu ve ark 2008, Tager ve ark 2001). Son olarak silymarin antioksidan etkisinin bir nedeni de demir şelatı olarak etki göstermesinden kaynaklanır (Borsari ve ark 2001, Pietrangelo ve ark 2002). Böylece Fenton reaksiyonunu engelleyerek hidroksil radikallerinin üretimi azaltılır.

Toksin blokaj etkisi

Silymarin hücresel ve mitokondrial membran permeabilitesinde düzenleyici bir etkiye sahip olmakla birlikte aynı zamanda ksenobiyotik saldırısına karşı membran kararlılığını da artırır. Hepatositlerin içine toksinlerin absorpsiyonunu membrandaki transport proteinleri inhibe etmek suretiyle önler. Falloidin (zehirli bazı mantarlardan salgılanan ciddi düzeyde hepatotoksik madde) transport sistemi silymarin tarafından membran akışkanlığına hiçbir zarar vermeden, yarışmalı inhibisyon ile inhibe edilir (Fehrenbach ve ark 2003, Sebastian ve ark 2004).

Diğer etkileri

ABD de ulusal çevre sağlık bilimleri enstitüsü tarafından yapılan bir çalışmada 10'ar ratlık ve 10'ar farelik dişi ve erkek gruplarına 260, 525, 1,050, 2,180, or 4,500 mg/kg lık günlük SME 3 ay ve 2 yıl boyunca verilmiştir. 3 aylık

çalışmanın ratlardaki bazı sonuçları şöyledir; deney grupları ile kontrol grupları yedikleri yiyecek miktarı aynıdır, aldıkları kilo bakımından deney grubu %10 daha az kilo almıştır. Hiç ölen rat olmamıştır, sperm hareketliliğinde ve sperm sayısında 1,050, 2,150, or 4,550 mg/kg lık gruplarda düşme olmuştur, SME kaynaklı hiçbir histopatolojik lezyona rastlanmamıştır. 2 yıllık çalışmanın ratlardaki bazı sonuçları şöyledir; gıda tüketme miktarı ve kilo alım miktarı deney ve kontrol gruplarında aynıdır, 2,150, or 4,550 mg/kg SME verilen dişi gruplarında memebezi fibroadenoma, adenoma veya karsinomalarında anlamlı bir düşme ve karaciğerde sağlıklı hücrelerde anlamlı bir artış görülmüştür, 4,550mg/kg SME verilen erkeklerde safra kanalında oluşan hiperplazi ve karışık inflamatuar hücre inflamasyonu anlamlı oranda düşmüştür. Ayrıca 2 yıllık çalışmalarda en yüksek dozlarda bile SME'nin hiçbir karsinogenetik etkisine rastlanmamıştır, ratlarda tersine sağlıklı hücre sayısında artmaya ve farelerde daha az kilo almaya sebep olmuştur (Dunnick ve ark 2011).

Silibinin adipogenez üzerine etkisinin araştırıldığı bir hücre kültürü çalışmasında silibinin tedavisinin 3T3-L1 hücrelerinin adipositlere farklılaşmasını baskıladığı görülmüştür. Ayrıca RT-PCR analizlarinin sonuçlarına göre silibinin, CAAT/güçlendirici bağlayıcı protein (C/EBPs), yağ asiti sentaz, sterol cevap elementini bağlayan protein 1c (SREBP1c), adiposite özel yağ asiti bağlayıcı protein (A-FABP), peroksizom proliferatörleriyle aktive olan reseptör-α (PPARα), lipoprotein lipaz gibi adipogenezle ilgili genlerin ekspresyonlarını düşürürken preadiposit faktör-1, preadiposit işaretleyici gen ekspresyonlarını artırmıştır. Son olarak adiposit farklılaşmasının erken fazlarında silibinin uygulanmasının insig-1 (insülinle uyarılan gen-1) ve insig-2 (insülinle uyarılan gen-2) upregülasyonu ile adiposit farklılaşmasını baskıladığı görülmüştür (Sun-o ve ark. 2009).

Murata ve arkadaşları (2010) silymarin tedavisinin PC12 hücrelerinde amiloid β-protein (Aβ) fibril formasyonunu ve nörotoksisitesini baskıladığını göstermiştir. Çalışmalarının sonucu Alzheimer hastalığının karakterik özelliği olan seril plaklarda amiloid birikimini engelleyerek Alzheimer hastalığında koruyucu ajan olabileceğini göstermiştir (Murata 2010).

Streptozotosin kaynaklı tip 1 diyabetik ratlarda silybum marianum ekstresinin kullanıldığı çeşitli çalışmalarda TNF-α and IL-1β yı ve miyeloperoksidaz aktivitesi

ve lipit peroksidasyonu düşürmüştür, antioksidan enzimlerin seviyesini yükseltmekle kalmamış, insülin seviyesini de artırmış ve pankreatik fonksiyonda da düzelme göstermiştir (Malihi 2009, Soto ve ark 2004).

SME'nin akut hepatit biyomarkırları ve semptomları üzerine etkililiği ve kullanımının güvenirliği üzerine yapılan bir çalışmada akut klinik hepatit ve ALT seviyesi normalin 2.5 katından büyük olan hastalar seçilmiştir. Kontrol grubuna plasebo, deney grubuna günde 3 kez 140 mg'lık silymarin içeren tabletler verilmiştir. Her iki grupta da ilaçlar iyi tolere edilirken, safra akışının engellendiğini gösteren semptomlar silymarin grubunda hızlı düzelmiştir. ALT, AST ve bilirubin seviyesinde anlamlı bir düşüş görülmemiştir (Kamarya ve ark 2009).

Silybum marianum tohumunun etilasetat ve etanol ekstrelerinin karbon tetraklorid kaynaklı karaciğer hasarına karşı etkilerine bakılan çalışmada SME standart hepatik ilaç hepaticum ile karşılaştırılmıştır. İlaç kullanımının 10 gün sürdüğü çalışmada ALT, AST, ALP, GSH, Malondialdehit, α-L-fucosidaz, TG, HDL, LDL, total kolesterol değerlerine bakılmıştır. Etanolik ekstre karaciğer enzimlerinde en anlamlı düşüşe sebep olmuştur. Oksidatif ölçümlerde etil asetat glutatyon seviyesinde ve HDL/LDL oranında en anlamlı yükselmeye sebep olmuştur. Malondialdehit ve fukosidaz aktivitelerinin düşüşünün en anlamlı olduğu grup hepatikum kullanılan gruptur (Shaker ve ark 2010).

Ramaknishnan (2009) çalışmasında ratlarda N-nitrosodietil-amin kaynaklı karaciğer kanseri oluşturmuş ve Silymarin kullanımının mast hücre yoğunluğunundaki artışı inhibe ettiğini ve matriks metalloproteinaz 2 (MMP-2) ve matriks metalloproteinaz 9 (MMP-9) ekspresyonunu düşürdüğünü göstermiştir. Bu çalışmada karaciğer kanserine karşı Silymarinin etkili olacağı gösterilmiştir.

Çizelge 2.3. Silybum marianum'la ilgili anahtar bilgiler

Etkinlik	Akut ve kronik hepatit, alkolik karaciğer hastalığı: çelişen kanıtlar. Hücre koruyucu: yararlı olduğunu gösteren çalışmalar sınırlı, kontrollü deneyler devam ediyor. Antikarsinojen: klinik deneyler devam ediyor. Amanita phalloides zehrine karşı tedavide: yeterli veri mevcut.
Yan etkiler	Genellikle iyi tolore edilir; nadir gastrointestinal bozukluk, egzema ve ciltte döküntü rapor edilmiştir.
Etkileşimleri	Anlamlı bir ilaç etkileşimi saptanmamıştır.
Dozaj	SME 150-175 mg lık, % 80 silymarin içeren standardize edilmiş kapsüller, günde 3 defa şeklinde kullanılıyor.
Sonuç	Güvenli, bilinen ilaç etkileşimi yok, karaciğer hastalıklarının tedavisiyle ilgili veri yeterli değil; antikarsinojenik ve kemoprotektif etkileri araştırılmakta.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız; T.C. Selçuk Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurulunun 10.12.2009-1 tarih ve sayılı kararı ile tez projesi olarak onaylandıktan sonra Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Koordinatörlüğünün 10102033 proje numarası ile desteklenerek gerçekleştirilmiştir. Deneysel çalışmalarımız Selçuk Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezinde (SÜDAM) yapılmıştır.

3.1.Vakaların Oluşturulması, Gruplama ve Deneysel Uygulama İle İlgili Hususlar

3.1.1. Deney Hayvanları ve Çalışma Grupları

Araştırmamız Selçuk Üniversitesi deneysel araştırma merkezinden temin edilen, 40 adet Wistar cinsi erkek rat ile gerçekleştirildi. Hayvanlar 8 haftalık iken çalışma başlatıldı. Sıçanlar, standart kafeslerde barındırılıp, yem ve su alımı serbest bırakıldı. Hayvanların bulunduğu oda 22 ± 2 C°'de, 12 saat karanlık-12 saat ışık ortamında tutuldu. Wistar cinsi erkek ratlar rastgele 4 gruba ayrıldı.

1.Grup (standart diyet grubu (SD)): Deneyin başından sonuna kadar standart bazal diyetle beslendi (n=10).

2.Grup (Yüksek yağlı diyet grubu (YYD)): Deneyin başından sonuna kadar yüksek yağlı diyetle beslendi. (n=10).

3.Grup (YYD+4 hafta SME grubu): Deneyin ilk 7 haftası yüksek yağlı diyetle beslendiler. Takip eden 4 haftada yüksek yağlı diyete ek olarak 200 mg/kg/gün gavaj yoluyla Silybum marianum ekstresi verildi.

4.Grup (YYD+11hafta SME grubu): Deneyin başından sonuna kadar, 11 hafta boyunca, yüksek yağlı diyete ek olarak 200 mg/kg/gün gavaj yoluyla Silybum marianum ekstresi verildi.

3.1.2.Standart ve Yüksek Yağlı Diyet

Kontrol grubu standart diyetle beslenmektedir ve diyet içeriği toplam enerjinin % 14'ü yağ olacak şekilde 3,2 kcal/g dır. Yüksek yağlı diyet (YYD) gruplarının diyet içeriği ise toplam enerjinin % 54'ü yağ olacak şekilde 5 kcal/g dır.

Bu şekilde diyetle indüklenen obezite modeli oluşturulması amaçlanmıştır (Terra ve ark. 2010).

Yüksek yağlı diyet hazırlanması: 100 gram standart diyete 25 gram domuz yağı eklenerek oluşturuldu. Böylece toplam enerjinin % 54'ü yağdan kaynaklanan bir diyet sağlandı (Terra ve ark 2010). Uygun oranda domuz yağı eritilerek standart pelletlere eklendi, iyice karıştırılarak pelletlerin yağı çekmesi sağlandı. Pelletler oldukça kuru olduğundan yağı kolayca çektiği gözlendi. Sonrasında bu haliyle soğumaya bırakıldı. YYD üç günde bir taze olarak hazırlandı. Deney başlangıcından sonuna kadar sıçanların yağlı diyete uyum sağladığı gözlendi.

Çizelge 3.1. Diyet kompozisyonu (g/kg)

	SD	YYD	YYD+ SME
Toplam protein (g)	230	184	184
Toplam karbonhidrat (g)	500	350	350
Toplam yağ (g)	50	300	300
Ayçiçeği,fındık,soya yağı karışık (g)	50	50	50
Domuz yağı (g)	-	250	250
Vitamin ve mineraller (g)	45	45	45
Selüloz (g)	90	40	40
Kül (g)	15	12	12
Silybum marianum ekstresi (mg)	-	-	15
Yağdan sağlanan enerjinin oranı %	14	54	54
Toplam Enerji (kkal/kg)	3200	5000	5000

SME ratlara gavaj yoluyla midelerine verilmektedir. SME Gaia Herbs Dr. (ABD) firmasından temin edildi. Ekstrenin içeriği %80 oranında Silymarin, %20 oranında soya lesitin, bitkisel gliserin ve selüloz içermektedir.

3.1.3. Ratların ağırlık ölçümü ve BKİ hesaplanması

Deney başlangıcından sonuna kadar her 4 günde bir ratların ağırlıkları ve boyları ölçüldü. Ratların BKİ değerleri BKİ:beden ağırlığı (g)/uzunluk^2 (cm^2) olarak hesaplanmıştır. Ratların boyu ölçülürken burundan anüse kadar olan uzunluk ölçülmüştür (Novelli ve ark 2007).

3.1.4. Numunelerin Alınışı ve Hazırlanışı

Tüm ratların 11 hafta sonunda Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde 12 saatlik açlık sonrasında ketasol anestezi yapılarak, intrakardiyak punksiyon ile kanları alındı ve servikal dislokasyon yoluyla yaşamları sonlandırıldı. Histopatolojik inceleme için karaciğerden parça alınarak %10 luk formalin solüsyonunda tespit edildi. Kan numuneleri jelli biyokimya tüpüne alındı. Ardından numuneler 3000 devir/dakika 10 dakika santrifüj edilip serumları elde edildi. Numuneler gruplamaya uygun olarak ependorf tüplerine ayrıldı ve çalışılmak üzere -20ºC'de bekletildi.

3.2.Yöntem

3.2.1.Kullanılan Cihazlar

1. Elisa cihazı RAYTO RT-2100 C microplate reader
2. Elisa cihazı RAYTO RT-2600 T microplate washer
3. Biyokimya cihazı Dade Behring Dimension RxL Max
4. Santrifüj nüve NF 100012
4. Hassas terazi nüve NM 110
6. Vorteks nüve NM 400
7. Medispec mikropipetler (10-100 µl ve 100-1000 µl ayarlamalı)

3.2.2.Rutin Biyokimyasal Analizler

ALT, AST, GGT, hsCRP, TG, TK, HDL-K ve glukoz analizleri fotometrik yöntemle ölçüldü. LDL-K değerleri ise Friedewald formülüne göre [total kolesterol-(trigliserit/5+HDL-K)] hesaplandı. Tüm lipid konsantrasyonları mg/dL cinsinden verildi. ALT, AST, GGT konsantrasyonları U/L cinsinden hesaplandı.

HOMA-IR değerinin hesaplanması Açlık Glukozu (mmol/l) x Açlık İnsülini (mU/I) / 22,5 formülü ile yapıldı. İnsülin rezistansının tespitinde kullanılan HOMA-IR için açlık serum insülin düzeyleri 24.15 sabiti ile çarpılarak ng/ml'den μU/ml'ye ve açlık serum glukoz düzeyleri 0.055 sabiti ile çarpılarak mg/dl'den mmol/ml'ye çevrildi.

Total Kolesterol test prensibi: Kolesterol tayin prensibinde kolesterol esteraz, kolesterol esterlerinin hidrolizini kataliz ederek serbest kolesterol oluşturur; oluşan serbest kolesteroller, daha önceki serbest kolesterol ile birlikte, kolesterol oksidazın katalize ettiği bir reaksiyon içinde oksitlenerek kolest-4-ene-3-one ve hidrojen peroksit oluşturur. Horseradish peroksidaz (HPO) beraberinde, bu şekilde oluşan hidrojen peroksit, 540 nm'de absorbe eden bir kromofor oluşturmak üzere N,N dietilanilin-HCl/4-aminoantipirini (DEA-HCl/AAP) oksitlemek için kullanılır. Oksitlenen DEA-HCl/AAP'nin neden olduğu emilim toplam kolesterol konsantrasyonuyla doğru orantılıdır ve polikromatik (452, 540, 700 nm) son nokta tekniği kullanılarak ölçülür (Rautela ve Liedtke 1978). Cihaz, kolesterol konsantrasyonunu hesaplama şemasını kullanarak mg/dL cinsinden otomatik olarak hesaplar .

Trigliserit test prensibi: Örnek, trigliseridleri serbest gliserol ve yağ asitlerine dönüştüren lipaz enzimiyle ön inkübasyona bırakılmaktadır. Serbest kalan gliserol, gliserol dehidrogenaz (GDH) ve nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) kullanılarak enzimatik olarak belirlenmektedir. NADH oluşumuna bağlı olarak 340 nm'deki absorbans değişikliği, örnekte bulunan gliserol ve öncü moleküllerinin toplam miktarıyla doğru orantılıdır ve 340 nm dalga boyunda absorbans ölçülmektedir (Rautela ve ark 1973).

HDL-K test prensibi: Bu yöntemde HDL-K seviyeleri ön hazırlık veya santrifüj aşamalarına gerek duyulmadan doğrudan ölçmektedir. Bu yöntem iki reaktiflidir ve reaksiyon benzersiz bir deterjanın özelliklerine dayanmaktadır. Bu yöntem, kolesterol oksidazın HDL-K olmayan esterleştirilmemiş kolesterol ile reaksiyonunun hızlandırılmasına ve spesifik bir deterjan kullanarak HDL'nin seçici şekilde eritilmesine dayanır. Birinci reaktifte, HDL olmayan esterleştirilmemiş kolesterol bir enzim reaksiyonuna tabi tutulur ve oluşan peroksit, N,N,bis (4-sulphobutyl)-m- toluidine-disodium (DSBmT) ile peroksidaz reaksiyonuyla tüketilir

ve ortaya renksiz bir ürün çıkar. İkinci reaktif, HDL'yi özellikle kolesterol esteraz ve kromajenik bağlayıcıyı çözündürerek, nicel HDL-K belirlemesi için renk oluşturan bir deterjandan oluşur. Bu işlem Hızlandırıcı Seçici Deterjan metodolojisi olarak adlandırılabilir (Warnick ve Wood 1995).

ALT test prensibi: Alanin aminotransferaz (ALT) L-alaninin α-ketoglutarata (α-KG) transaminasyonunu katalize ederek, L-glutamat ve piruvat oluşturur. Oluşturulan piruvat, laktat dehidrojenaz (LDH) ile laktata indirgenir ve aynı anda indirgenen nikotinamid-adenin dinükleotid (NADH) oksitlenir. Emilimdeki değişiklik ALT aktivitesiyle doğru orantılıdır ve bikromatik (340, 700 nm) hız tekniği kullanılarak ölçülür (Tietz 1994). ALT konsantrasyonu U/L cinsinden hesaplanır.

AST test prensibi: Yöntemde piruvat interferansını ortadan kaldırmak amacıyla apoenzim ve laktik asit dehidrojenazı (LDH) aktifleştirmek için koenzim piridoksal-5-fosfat (P5P) kullanılır. Aspartat aminotransferaz (AST) L-aspartatın α-ketoglutarata transaminasyonunu katalize ederek, L-glutamat ve oksalasetat oluşturur. Oluşturulan oksalasetat, malat dehidrojenaz (MDH) ile malata indirgenir ve aynı anda indirgenen NADH oksitlenir. NADH'nin NAD'ye dönüşümü nedeniyle zaman içinde oluşan emilim değişikliği AST aktivitesiyle doğru orantılıdır ve bikromatik (340, 700 nm) hız tekniği kullanılarak ölçülür ve U/L cinsinden hesaplanır (Bergmeyer 1978).

GGT test prensibi: Bu yöntemde L-gamma-glutamil-3-karboksi-4-nitranilid substratı ile glisilglisin kullanılır. γ-glutamil transferaz glutamil yarım parçasının γ-glutamil-3-karboksi-4-nitranilid'den (GCNA) glisilglisine transferini katalize ederek 405 nm'de emen 5-amino-2-nitrobenzoatı açığa çıkarır. Bu değişim γ-glutamil transferaz aktivitesiyle orantılıdır ve bikromatik (405, 600 nm) hız tekniği kullanılarak ölçülür (Shaw ve ark 1983).

Glukoz test prensibi: Glukoz yöntemi Kunst ve ark. tarafından genel bir klinik laboratuar yöntemi olarak sunulan heksokinaz-glukoz-6-fosfat dehidrojenaz yönteminin bir uyarlamasıdır. Heksokinaz, adenozin-5'-trifosfat (ATP) ve magnezyum ile birlikte glukozun fosforlanmasını katalize ederek, glukoz-6-fosfat (G-6-P) ve adenozindifosfat (ADP) oluşturur. Ardından G-6-P, NAD ile birlikte

glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G-6-PDH) tarafından oksitlenerek, 6-fosfoglukonat ve NADH oluşturur. Mevcut her bir mol glukoz için bir mol NAD NADH'ye indirgenir. NADH'nin neden olduğu emilim (ve glukoz konsantrasyonu) bikromatik (340 ve 383 nm) son nokta tekniği kullanılarak belirlenir (Kunst ve ark 1983).

C-reaktif protein test prensibi: CRP yöntemi partikülü artırılmış türbidimetrik immünoassay (PETIA) tekniğine dayanmaktadır. C-Reaktif Protein (AbPR) antikoru ile kaplı sentetik partiküller, örnekte C-Reaktif Protein bulunduğunda birikir. Birikim ile beraber oluşan türbidite artışı C-Reaktif Protein konsantrasyonuyla orantılıdır. CRP konsantrasyonu mg/dL cinsinden hesaplanır.

3.2.3. Leptin Tayini

Serum leptin düzeyleri, Biovendor marka fare ve rat leptin ELİZA kiti (katolok. No: RD291001200R) kullanılarak çalışıldı. Testin prensibi kısaca şu şekildedir: Standartlar, kontrol örnekleri ve rat serum numuneleri fare leptin antikoru ile kaplanmış kuyucuklarda inkübe edilir. İnkübasyon ve yıkamanın ardından biotin ile işaretli poliklonal fare leptin antikoru kuyucuklara ilave edilir. İmmobilize leptin antikor kompleksi ile inkübe edilir. İkinci yıkamanın ardından, Streptavidin- HRP konjugatı eklenir. İnkübasyon ve son yıkamanın ardından kalan konjugat, substrat solüsyonu (TMB) ile reaksiyona girer. Reaksiyon asidik solüsyon eklenerek durdurulur. Meydana gelen sarı rengin absorbansı 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Absorbanslar leptin konsantrasyonuyla doğru orantılıdır. Standart leptin konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri ile standart eğrisi çizilir. Bu standart eğrisi kullanılarak numunelerin leptin konsantrasyonları pg/ml cinsinden hesaplanır.

3.2.4. İnsülin Tayini

Serum insülin düzeyleri sandviç ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) yöntemi ile ticari kit (Biovendor Cat. No: RSHAKRIN010HR) kullanılarak tespit edildi. Testin prensibi kısaca şu şekildeydi: Standartlar, kontrol örnekleri ve rat serum numuneleri fare insülin antikoru ile kaplanmış kuyucuklarda inkübe edilir. İnkübasyon ve yıkamanın ardından insülin antikoru kuyucuklara ilave edilir. Tekrar inkübasyon ve yıkamanın ardından kuyucuklara enzim substratı çözeltisi eklenir. 30

dakika oda ısısında güneş görmeden inkübe edilir. Reaksiyon durdurucu çözelti eklenir ve meydana gelen rengin absorbansı 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür.

3.2.5. Karaciğer Patolojisinin İncelenmesi

Karaciğer dokuları %10'luk formalin ile fiske edildi. Rutin takip ve parafine gömülmesinden sonra mikroton aracılığı ile 5 µ luk kesitler alındı. Hematoksilen eozin ile bağlanarak ışık mikroskobunda incelendi. Karaciğer hücrelerindeki yağ oranı % olarak ifade edildi.

3.2.6. İstatistiksel Analizler

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 16 programı kullanıldı. Grupların denek sayısının azlığından dolayı non-parametrik testler kullanıldı. İkiden fazla bağımsız gruplar arası değişkenlerin karşılaştırılması Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi ile yapıldı. Gruplardan en az birinin diğerlerinden farklı olması halinde ($p<0.05$), farklılığı oluşturan grubun tespitinde Bonferroli düzeltmeli Mann Whitney U test ile ikili karşılaştırma yapıldı. Ayrıca her bir grubun Silybum marianum ekstresi kullanmadan önceki ve kullandıktan sonraki ağırlıklarının ve beden kitle indekslerinin grup içi karşılaştırmaları Wilcoxon Signed Rank Testi ile yapıldı. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık $p<0,05$ düzeyinde değerlendirildi. Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verildi.

4.BULGULAR

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar ve bu sonuçların istatistiksel analizleri aşağıda çizelgeler halinde sunulmuştur.

4. 1. Ağırlık Ölçümleri

Standart diyet (SD) uygulanan grup, yüksek yağlı diyet (YYD) uygulanan grup, yüksek yağlı diyete ek olarak son 4 hafta SME verilen grup (YYD+4 hafta SME) ve yüksek yağlı diyete ek olarak 11 hafta boyunca SME verilen grupların (YYD+11 hafta SME) başlangıç ağırlıkları, son ağırlıkları, ağırlık artış ve BKİ değerleri arasındaki ilişkiler çizelge 4.1'de, grupların başlangıç ve son BKİ değerleri arasındaki ilişkiler çizelge 4.2'de görülmektedir.

Çizelge 4.1. Gruplarının başlangıç ağırlıkları, son ağırlıkları, ağırlık artış ve BKİ Ortalama±Standart Sapma değerleri ve Bonferrroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi sonuçları

Gruplar	**Grup 1** SD	**Grup 2** YYD	**Grup 3** YYD+4 hafta SME	**Grup 4** YYD+11 hafta SME	**P**
Başlangıç ağırlıkları (g)	83,55±18,10	90,75±28,72	90,80±8,28	86,11±28,63	P=0,128
Son ağırlıklar (g)	220,55±30,17	286,87±33,49	272,4±28,58	249,11±31,71	1-2 için p=0,002 1-3 için p=0,004 2-4 için p=0,007
Ağırlık artışı (g)	137,12±31,77	195,38±26,46	184,42±29,40	162,22±30,47	1-2 için p=0,002 1-3 için p=0,008 2-4 için p=0,008
Başlangıç BKİ (g/cm^2)	0,45±0,05	0,47±0,06	0,45±0,07	0,46±0,09	P=0,249
Son BKİ (g/cm^2)	0,62±0,11	0,87±0,46	0,77±0,05	0,65±0,08	1-2 için p=0,001 2-3 için p=0,004 2-4 içinp=0,001 1-3 için p=0,004
BKİ değişimi (g/cm^2)	0,17±0,05	0,40±0,07	0,32±0,09	0,19±0,08	1-2 için p=0,001 2-4 için p=0,001

SD; standart diyet verilen grup, YYD; yüksek yağlı diyet verilen grup, YYD+4 hafta SME; yüksek yağlı diyete ek olarak son 4 hafta SME verilen grup, YYD+11 hafta SME; yüksek yağlı diyete ek olarak 11 hafta boyunca SME verilen grup.

Çizelge 4.2. Grupların başlangıç ve son BKİ değerleri içi yapılan Wilcoxon Signed Rank Testi sonuçları.

	Başlangıç BKİ	**Son BKİ**	**P**
SD	0,45±0,046	0,62±0,11	P=0,011
YYD	0,47±0,063	0,87±0,46	P=0,008
YYD+4 hafta SME	0,45±0,075	0,77±0,05	P=0,008
YYD+11 hafta SME	0,46±0,086	0,65±0,08	P=0,005

SD; standart diyet verilen grup, YYD; yüksek yağlı diyet verilen grup, YYD+4 hafta SME; yüksek yağlı diyete ek olarak son 4 hafta SME verilen grup, YYD+11 hafta SME; yüksek yağlı diyete ek olarak 11 hafta boyunca SME verilen grup.

Muhtemel karşılaştırma sayısı "6" olduğundan, her bir Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testinde dikkate alınacak önemlilik seviyesi $\alpha/k=0.05/6=0.0083$'dür. İkişerli olarak yapılan Mann-Whitney U testinin sonucunda elde edilen P değerlerinin anlamlılık durumları aşağıdaki gibidir.

Çizelge 4.1 ve 4.2'deki bulguları değerlendirdiğimizde;

Yapılan Kruskal Wallis testi sonucuna göre başlangıç ağırlıkları açısından gruplar arasında anlamlı bir fark yoktur (p=0,128).

Yapılan Kruskal Wallis testi sonucuna göre son ağırlıkları açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık vardır (p=0,002). SD grubunun son ağırlığı YYD grubunun ve 4 hafta SME verilen grubun son ağırlığına göre anlamlı düzeyde düşüktür. Aynı zamanda 11 hafta SME verilen grubun son ağırlığı YYD grubuna göre anlamlı düzeyde düşüktür.

Yapılan Kruskal Wallis testi sonucuna göre ağırlık artışı açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık vardır (p=0,03). SD grubunun ağırlık artışı YYD grubunun ve 4 hafta SME verilen grubun ağırlık artışına göre anlamlı düzeyde

düşüktür. Aynı zamanda 11 hafta SME verilen grubun ağırlık artışı YYD grubuna göre anlamlı düzeyde düşüktür.

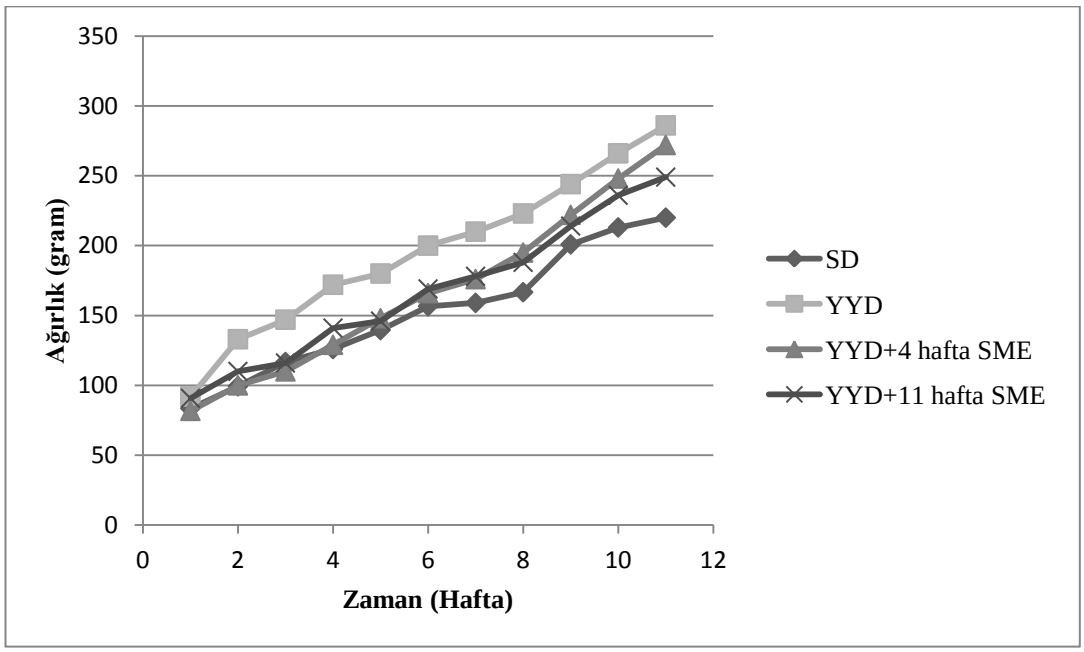
Yapılan Kruskal Wallis testi sonucuna göre başlangıç BKİ'leri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark yoktur (p=0,249).

Yapılan Kruskal Wallis testi sonucuna göre son BKİ'leri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık vardır (p=0,001). SD grubunun son BKİ, YYD grubuna göre anlamlı düzeyde düşüktür. Aynı zamanda SME verilen iki grubun son BKİ'i YYD grubuna göre anlamlı düşüktür.

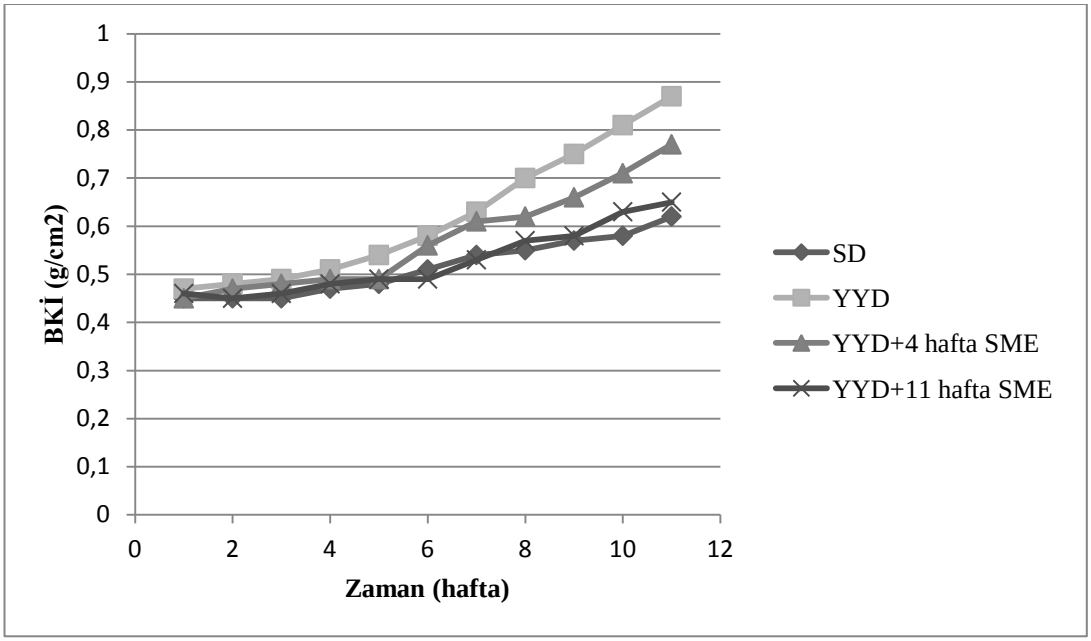
Yapılan Kruskal Wallis testi sonucuna göre BKİ değişimi açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık vardır (p=0,001). YYD grubunun BKİ değişimi SD grubu ve 11 hafta SME verilen grubun BKİ değişimine göre anlamlı düzeyde yüksektir.

Yapılan Wilcoxon Signed Rank testi sonucuna göre bütün grupların başlangıç BKİ'leri ile son BKİ'leri arasından anlamlı farklılık vardır.

Grupların haftalık ağırlık değişimleri ve BMİ değişimleri grafik 4.1 ve 4.2 de görülmektedir.



Grafik 4.1. Grupların haftalık ağırlık değişimleri. SD; standart diyet verilen grup, YYD; yüksek yağlı diyet verilen grup, YYD+4 hafta SME; yüksek yağlı diyete ek olarak son 4 hafta SME verilen grup, YYD+11 hafta SME; yüksek yağlı diyete ek olarak 11 hafta boyunca SME verilen grup.



Grafik 4.2.Grupların haftalık BKİ değişimleri. SD; standart diyet verilen grup, YYD; yüksek yağlı diyet verilen grup, YYD+4 hafta SME; yüksek yağlı diyete ek olarak son 4 hafta SME verilen grup, YYD+11 hafta SME; yüksek yağlı diyete ek olarak 11 hafta boyunca SME verilen grup.

4.2. Karaciğer Fonksiyon Testleri, Lipit Profilleri, hsCRP ve Leptin değerleri

Standart diyet (SD) uygulanan grup, yüksek yağlı diyet (YYD) uygulanan grup, yüksek yağlı diyete ek olarak son 4 hafta SME verilen grup (YYD+4 hafta SME) ve yüksek yağlı diyete ek olarak 11 hafta boyunca SME verilen grupların (YYD+11 hafta SME) karaciğer fonksiyon testleri, lipit profilleri, hsCRP ve leptin seviyesi ortalamaları ve gruplar arasındaki ikili ilişkiler çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Ratların serum karaciğer fonksiyon testleri, lipit profilleri, hsCRP ve leptin seviyesi Ortalama±Standart Sapma değerleri ve Bonferrroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1 SD	**Grup 2** YYD	**Grup 3** YYD+4 hafta SME	**Grup 4** YYD+11 hafta SME	**P**
TK (mg/dL)	70,33 ± 15	93,33 ± 15,26	71,44 ±7,81	78,22 ± 8,70	1-2 için p=0,005 2-3 için p=0,001 2-4 için p=0,008
HDL-K (mg/dL)	18,66 ± 4,82	23,22 ± 6,05	23,77 ±7,13	25,11 ± 5,70	1-4 için p=0,004
LDL-K (mg/dL)	43,55 ± 9,12	62,20 ± 13,96	40,11 ± 7,41	45,00 ± 7,84	1-2 için p=0,005 2-3 için p=0,003 2-4 için p=0,007
TG (mg/dL)	27,33 ± 4,38	51,55 ±4,45	36,11±6,63	27,88 ± 8,55	1-2 için p=0,007 2-4 için p=0,007
ALT (U/L)	102,42 ±24,31	154,5 ± 36,46	120,36±33,21	99,97±19,85	1-2 için p=0,004 2-4 için p=0,003
AST (U/L)	50,25 ± 9,44	58,68 ± 14,73	47,70 ±13,95	50,15 ± 7,23	P=0,169
GGT (U/L)	13,91 ± 4,10	18,36 ± 6,07	11,77 ± 4,88	11,51 ± 4,24	2-3 için p=0,027 2-4 için p=0,021
hsCRP (mg/dL)	3,24 ± 1,18	4,98 ± 1,71	2,40 ± 0,88	2,02 ± 0,69	2-3 için p=0,001 2-4 için p=0,001
Leptin (pg/L)	2,321±0,294	3,168±0,353	2,367±0,368	1,754 ±0,298	1-2 için p=0,001 2-3 için p=0,001 2-4 için p=0,0001

SD; standart diyet verilen grup, YYD; yüksek yağlı diyet verilen grup, YYD+4 hafta SME; yüksek yağlı diyete ek olarak son 4 hafta SME verilen grup, YYD+11 hafta SME; yüksek yağlı diyete ek olarak 11 hafta boyunca SME verilen grup.

Çizelge 4.3'deki bulguları değerlendirdiğimizde;

Yapılan Kruskal Wallis testi sonucuna göre serum total kolesterol değerleri açısından gruplar arasında anlamlı fark vardır (p=0,001). YYD grubunun total kolesterol düzeyi SD grubuna ve SME verilen iki gruba göre anlamlı düzeyde yüksektir.

Yapılan Kruskal Wallis testi sonucuna göre serum HDL-K değerleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık vardır (p=0,008). SD grubunun HDL değeri 11 hafta SME verilen gruptan anlamlı düzeyde düşüktür.

Yapılan Kruskal Wallis testi sonucuna göre serum LDL-K değerleri açısında gruplar arasında anlamlı bir farklılık vardır (p=0,007). YYD grubunun LDL-K değerleri diğer üç gruba göre anlamlı düzeyde yüksektir.

Yapılan Kruskal Wallis testi sonucuna göre serum TG değerleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık vardır (p=0,02). YYD grubunun TG değerleri SD grubu ve 11 hafta SME verilen gruba göre anlamlı düzeyde yüksektir.

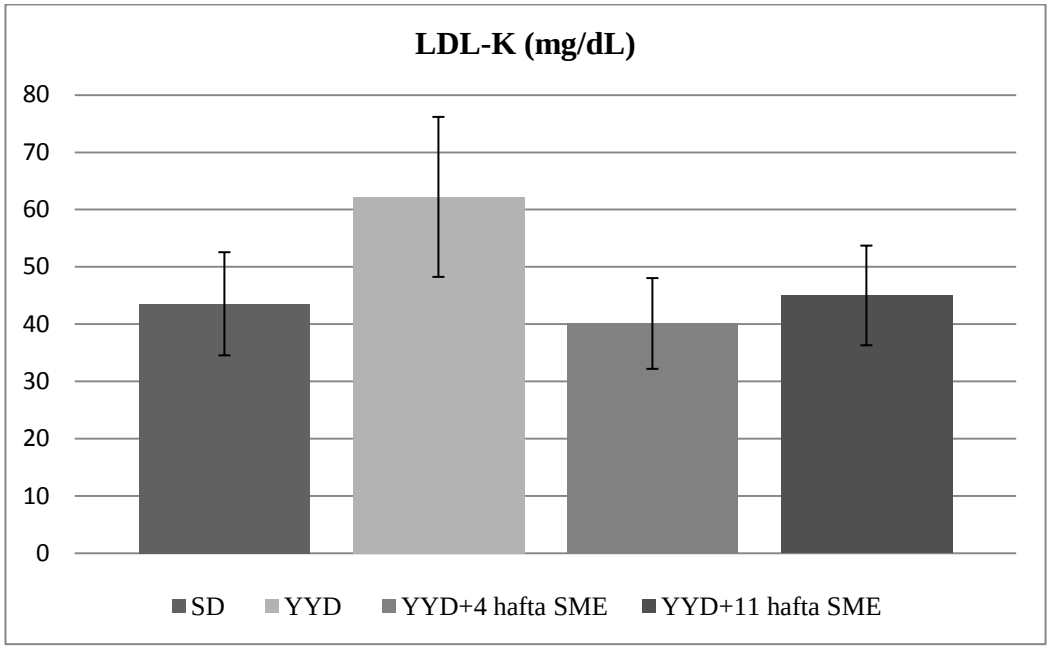
Yapılan Kruskal Wallis testi sonucuna göre serum ALT değerleri açısında gruplar arasında anlamlı bir farklılık vardır (p=0,008). YYD grubunun ALT değeri 11 hafta SME verilen gruba göre anlamlı düzeyde yüksektir.

Yapılan Kruskal Wallis testi sonucuna göre serum AST değerleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktur (p=0,169).

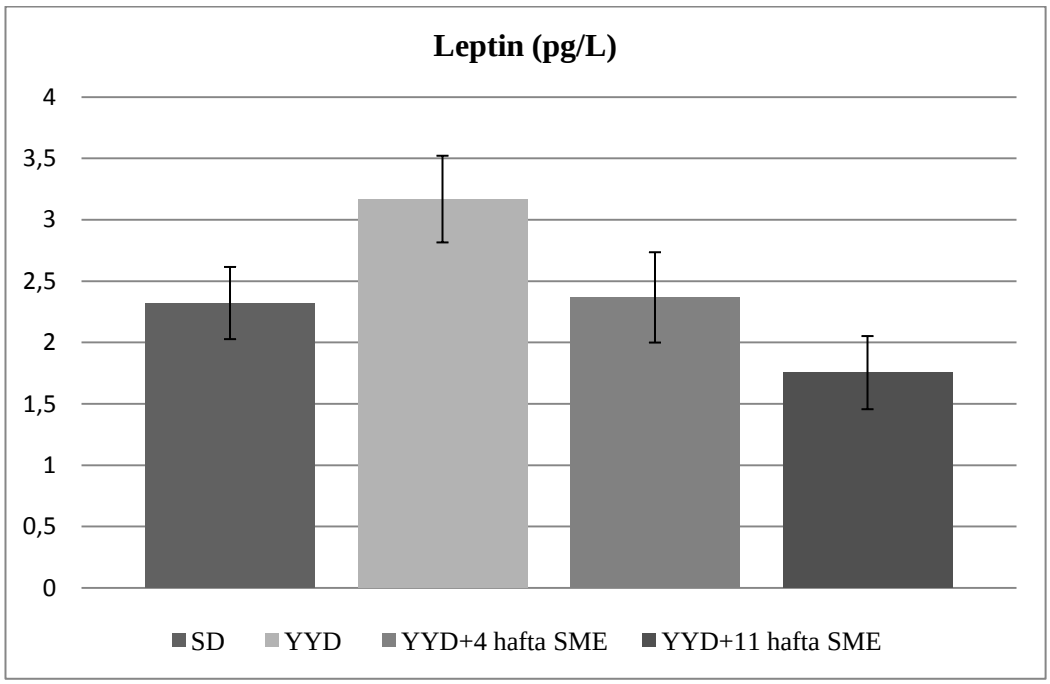
Yapılan Kruskal Wallis testi sonucuna göre serum GGT değerleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık vardır (p=0,025). Fakat ikili karşılaştırmalarda gruplar arasındaki p değerinin 0,008'den büyük olmasından dolayı gruplar birbirinden anlamlı düzeyde farklıdır diyemeyiz.

Yapılan Kruskal Wallis testi sonucuna göre serum hsCRP değeri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık vardır (p=0,001). YYD grubunun hsCRP değeri SME verilen iki gruba göre anlamlı düzeyde yüksektir.

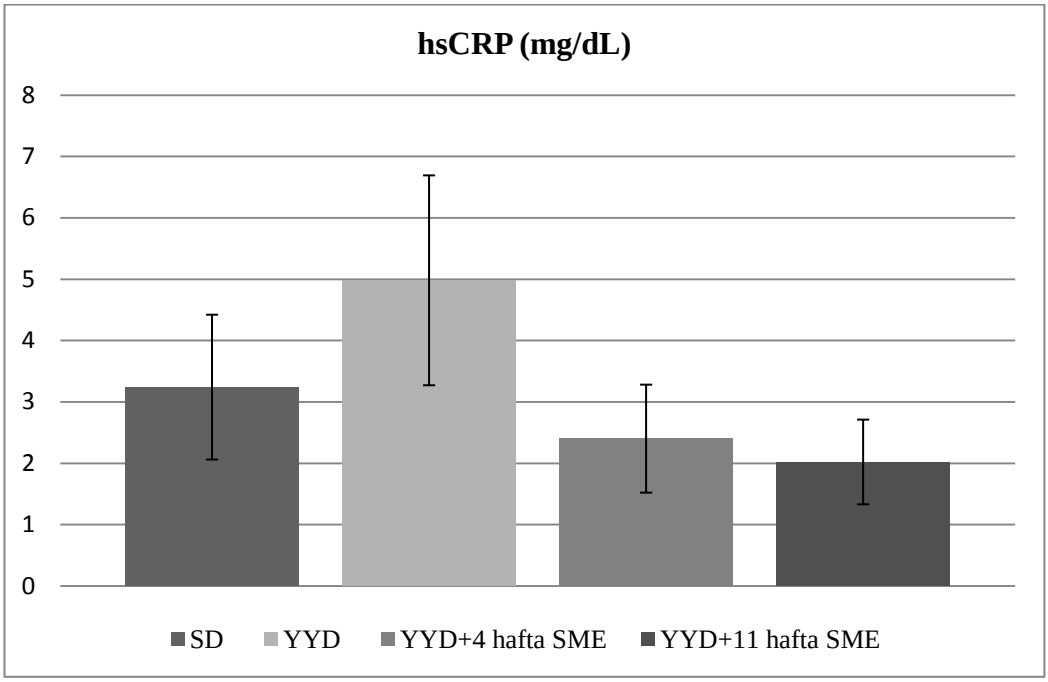
Yapılan Kruskal Wallis testi sonucuna göre serum leptin değerleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık vardır (p=0,001). YYD grubunun leptin düzeyi diğer üç gruba göre anlamlı düzeyde yüksektir.



Grafik 4.3. Grupların LDL-K düzeyleri. SD; standart diyet verilen grup, YYD; yüksek yağlı diyet verilen grup, YYD+4 hafta SME; yüksek yağlı diyete ek olarak son 4 hafta SME verilen grup, YYD+11 hafta SME; yüksek yağlı diyete ek olarak 11 hafta boyunca SME verilen grup.



Grafik 4.4. Grupların leptin değerleri. SD; standart diyet verilen grup, YYD; yüksek yağlı diyet verilen grup, YYD+4 hafta SME; yüksek yağlı diyete ek olarak son 4 hafta SME verilen grup, YYD+11 hafta SME; yüksek yağlı diyete ek olarak 11 hafta boyunca SME verilen grup.



Grafik 4.5. Grupların hsCRP değerleri. SD; standart diyet verilen grup, YYD; yüksek yağlı diyet verilen grup, YYD+4 hafta SME; yüksek yağlı diyete ek olarak son 4 hafta SME verilen grup, YYD+11 hafta SME; yüksek yağlı diyete ek olarak 11 hafta boyunca SME verilen grup.

4.3. Kan Glukoz, İnsülin ve HOMA-IR Değerleri

Standart diyet (SD) uygulanan grup, yüksek yağlı diyet (YYD) uygulanan grup, yüksek yağlı diyete ek olarak son 4 hafta SME verilen grup (YYD+4 hafta SME) ve yüksek yağlı diyete ek olarak 11 hafta boyunca SME verilen (YYD+11 hafta SME) grupların glukoz, insülin ve HOMA-IR değerleri Ortalama±Standart Sapma değerleri ve Bonferrroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi sonuçlarıçizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.4: Ratların serum glukoz, insülin ve HOMA-IR seviyesi Ortalama±Standart Sapma değerleri ve Bonferroli düzeltmeli Mann-Whitney U testi sonuçları

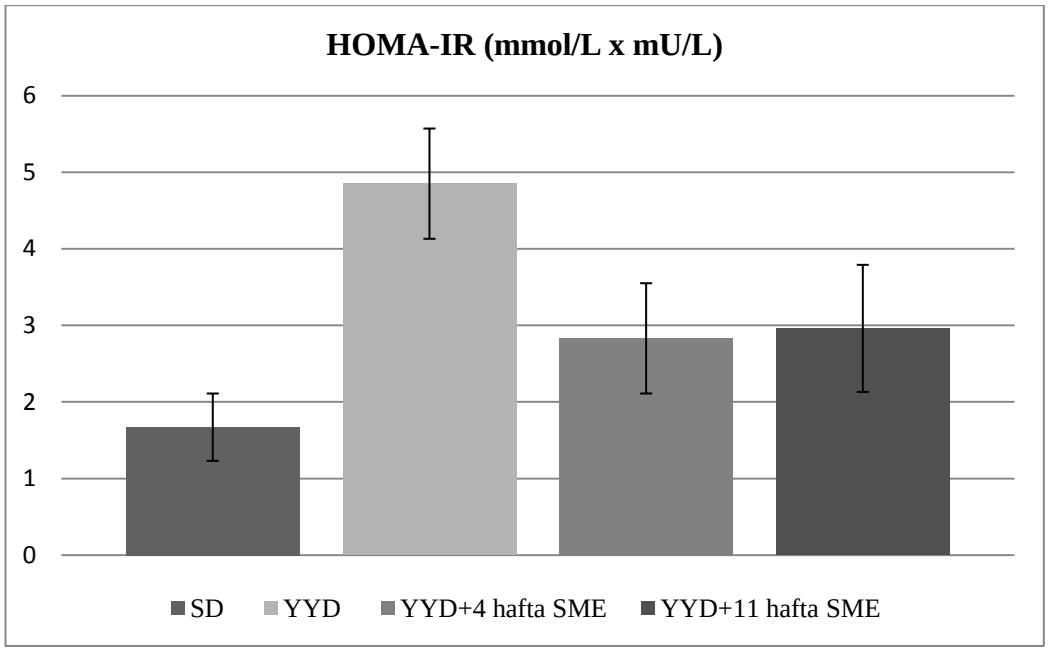
	Grup 1 SD	**Grup 2** YYD	**Grup 3** YYD+4 hafta SME	**Grup 4** YYD+11 hafta SME	**P**
Glukoz (mg/dl)	140,11±37,45	279,87±44,88	246,5±92,86	281,5±33,56	1-3 için p=0,001 1-4 için p=0,001
İnsülin (ng/ml)	20,04±2,68	30,82±2,61	21,77±2,26	20,01±3,12	1-2 için p=0,001 2-3içinp=0,0001 2-4 için p=0,001
HOMA-IR (İnsülin x Glukoz/22,5)	1,67±0,44	4,85±0,85	2,83±0,72	2,96±0,83	1-2 için p=0,001 2-3 için p=0,002 2-4 için p=0,006

SD; standart diyet verilen grup, YYD; yüksek yağlı diyet verilen grup, YYD+4 hafta SME; yüksek yağlı diyete ek olarak son 4 hafta SME verilen grup, YYD+11 hafta SME; yüksek yağlı diyete ek olarak 11 hafta boyunca SME verilen grup.

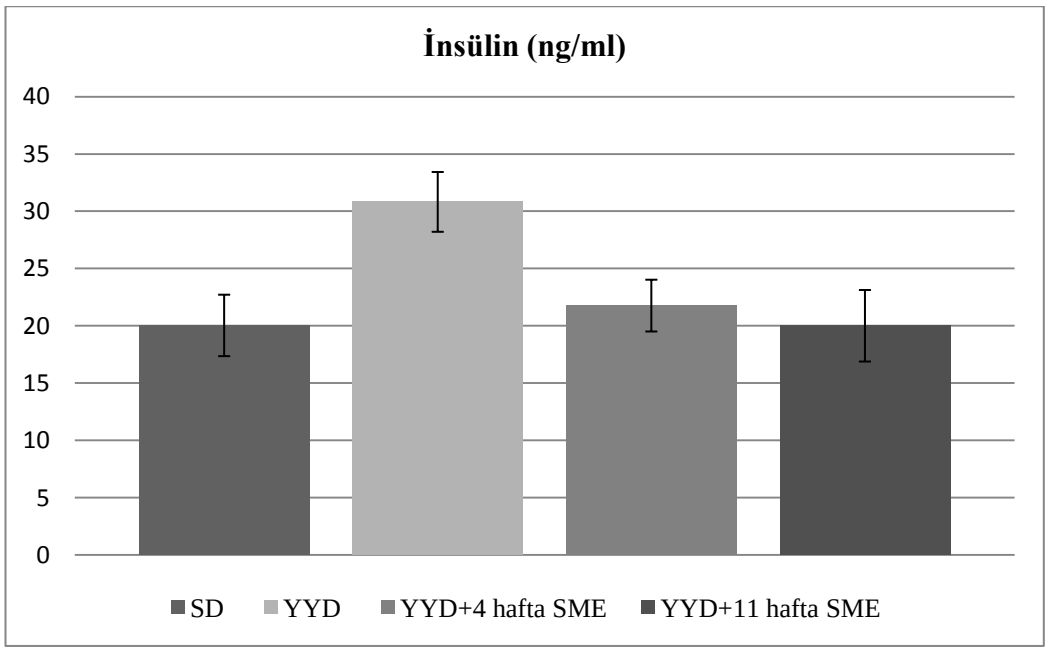
Yapılan Kruskal Wallis testi sonucuna göre serum glukoz değerleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık vardır (p=0,001). SD grubunun glukoz değerleri diğer üç gruba göre anlamlı düzeyde düşüktür.

Yapılan Kruskal Wallis testi sonucuna göre serum insülin değerleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık vardır (p=0,001). YYD grubunun insülin değerleri diğer üç gruba göre anlamlı düzeyde yüksektir.

Yapılan Kruskal Wallis testi sonucuna göre HOMA-IR değerleri açısından gruplar arasında anlamlı farklılık vardır (p=0,001). YYD grubunun HOMA-IR değerleri diğer üç gruba göre anlamlı düzeyde yüksektir.



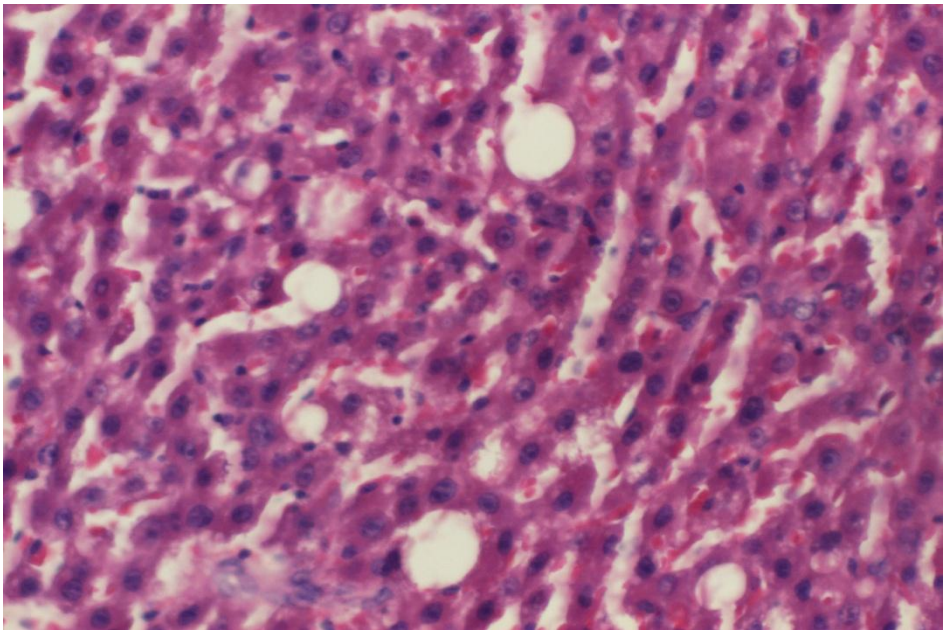
Grafik 4.6. Grupların HOMA-IR değerleri. SD; standart diyet verilen grup, YYD; yüksek yağlı diyet verilen grup, YYD+4 hafta SME; yüksek yağlı diyete ek olarak son 4 hafta SME verilen grup, YYD+11 hafta SME; yüksek yağlı diyete ek olarak 11 hafta boyunca SME verilen grup.



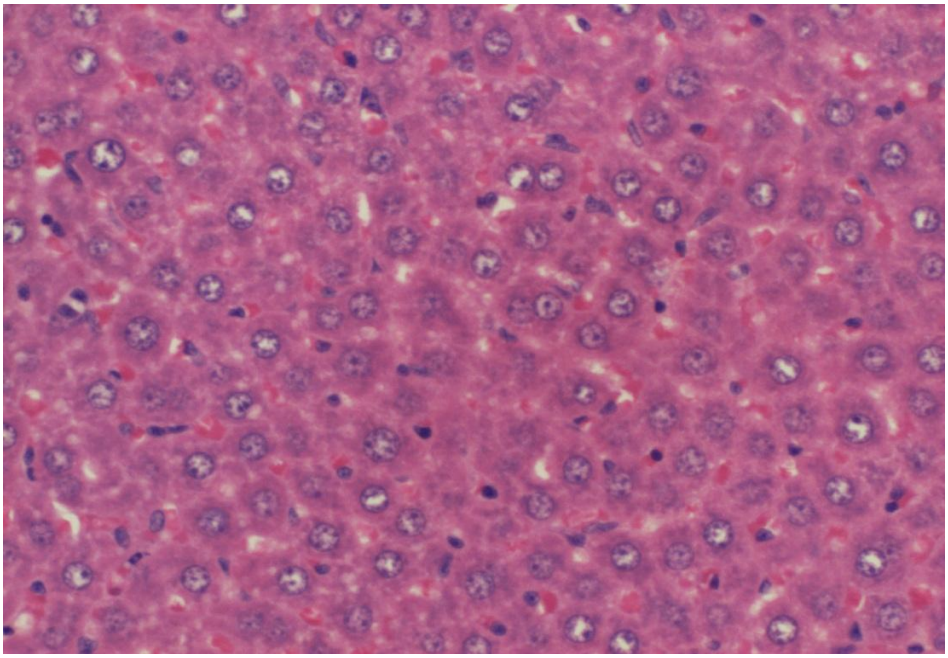
Grafik 4.7. Grupların insülin değerleri SD; standart diyet verilen grup, YYD; yüksek yağlı diyet verilen grup, YYD+4 hafta SME; yüksek yağlı diyete ek olarak son 4 hafta SME verilen grup, YYD+11 hafta SME; yüksek yağlı diyete ek olarak 11 hafta boyunca SME verilen grup.

4.4. Karaciğer Patolojisinin Bulguları

Yağdan zengin diyet grubunda karaciğer hücrelerinde makro veziküler yağlanma (% 4-5) izlenmektedir (x200. H.E.). Bu yağlanmanın dışında karaciğerde harabiyet gözlenmemiştir. Silybum marianum ekstresi uygulanan gruplarda yağlanma görülmemektedir (Şekil 4.1 ve 4.2).



Şekil 4.1. Yüksek yağlı diyet grubunun HE x200 preparatı.



Şekil 4.2. Silymarin grubunun HE x200 preparatı.

5. TARTIŞMA

Deneysel hayvan çalışmalarında çeşitli obezite modelleri literatürde yer almaktadır. Biz çalışmamızda Terra ve arkadaşlarının (2010) çalışmasındaki obezite modelinden yararlandık. Seçtiğimiz bu modelde karaciğer hücre hasarı olmaksızın non-alkolik yağlanma sağlanması önemli olup bu yağlanma üzerine SME uygulamasının etkileri ortaya konulmuştur. Çalışmamızda deney hayvanlarına 11 hafta 100 gram standart rat diyetine 25 gram hayvansal bir yağ türü olan domuz yağı ekleyerek oluşturduğumuz toplam enerjinin % 54'ü yağdan sağlanan bir diyet uyguladık.

Literatürdeki farklı hayvan obezite çalışmalarına baktığımızda; 2003 yılında Woods ve arkadaşları 75 gün enerjinin % 45'i yağdan sağlanacak şekilde tereyağı eklenmiş diyetle leptin seviyesinin standart diyet grubuna göre % 66 oranında artış, serum insülinde % 35 oranında artış ve kiloda % 10 oranında artış görmüşlerdir. Briaund ve arkadaşları 2002 yılında 42 gün enerjinin % 58'i yağdan sağlanacak şekilde domuz yağı eklenmiş diyetle serum glukoz seviyesinde ve vücut ağırlığında %10 artış, serum trigiserit seviyesinde % 90 artış görmüşlerdir. ABD'de 2004 yılında Lieber ve arkadaşları 3 hafta % 70 yağlı diyet verilen ratlarda karaciğer enzimlerinde yükselme ve nonalkolik yağlanma geliştiğini ortaya koymuşlardır. İtalya'da 2008 yılında Mattace Raso ve arkadaşları 4 hafta % 71 yağlı diyet verilen ratlarda karaciğer enzimlerinde yükselme ve nonalkolik yağlanma geliştiğini ortaya koymuşlardır.

Çalışma konumuza yakın olduğunu düşündüğümüz çeşitli literatürler ve bu literatürlerin bizim çalışmamızla benzerlik ve farlılıkları aşağıda yer almaktadır. ABD de ulusal çevre sağlık bilimleri enstitüsü tarafından yapılan bir çalışmada 10'ar ratlık ve 10'ar farelik dişi ve erkek gruplarına 260, 525, 1050, 2180, ve 4500 mg/kg/günlük SME 3 ay ve 2 yıl boyunca verilmiştir. 3 aylık çalışmanın ratlardaki bazı sonuçları şöyledir; deney grupları ile kontrol gruplarının yedikleri yiyecek miktarı aynıdır, aldıkları kilo bakımından deney grubu %10 daha az kilo almıştır. Hiç ölen rat olmamıştır. SME kaynaklı hiçbir histopatolojik lezyona rastlanmamıştır. 2 yıllık çalışmanın ratlardaki bazı sonuçları şöyledir; gıda tüketme miktarı ve kilo alım miktarı deney ve kontrol gruplarında aynıdır. 4550 mg/kg SME verilen erkeklerde

safra kanalında oluşan hiperplazi ve karışık inflamatuar hücre inflamasyonu anlamlı oranda düşmüştür. Ayrıca 2 yıllık çalışmalarda farelerde daha az kilo almaya sebep olmuştur (Dunnick ve ark 2011).

Haddah ve arkadaşları 12 hafta boyunca yüksek yağlı sıvı diyet ile nonalkolik steatohepatit oluşturmayı hedefledikleri ratlarda 200 mg/kg gün dozda silibinin (SME'sinin etken maddesi olan Silymarinde en fazla miktarda bulunan bileşik)+fosfatidilkolin kompleksinin etkilerine bakmışlardır. Ratlarda silibinin verilen grubun son kilosu kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşmüştür, fakat aynı çalışmada YYD grubuna göre silibinin grubunda son kiloda düşme olmakla birlikte anlamlı değildir. Aynı zamanda silibinin ekstresinin ratlarda TK seviyesini düşürdüğü fakat anlamlı bir fark olmamasına rağmen LDL-K seviyesinde anlamlı bir düşmeye sebep olduğu görülmüştür (Haddah ve ark 2009).

Silibinin adipogenez üzerine etkisinin araştırıldığı bir hücre kültürü çalışmasında silibinin tedavisinin 3T3-L1 hücrelerinin adipositlere farklılaşmasını baskıladığını oil kırmızı O ve trigliserit assay sonuçları ile görülmüştür. Ayrıca RT-PCR analizlarinin sonuçlarına göre silibinin C/EBPs, yağ asiti sentaz, SREBP-1c, A-FABP, PPAR-α, lipoprotein lipase gibi adipogenezle ilgili genlerin ekspresyonlarını düşürürken preadiposit faktör-1 ve preadiposit işaretleyici gen ekspresyonlarını artırmıştır. Son olarak adiposit farklılaşmasının erken fazlarında silibinin uygulanmasının insig-1 ve insig-2 upregülasyonu ile adiposit farklılaşmasını baskıladığı görülmüştür (Sun-o ve ark. 2009).

Skottova ve arkadaşları (2003) kolesterolden zengin diyetle beslenen ratlarda diyete %1 oranında eklenen silymarinin polifenolik fraksiyonunun kan lipitlerinin üzerine etkilerine bakmışlardır. Bu amaçla bir grup ratı domuz yağıyla (doymuş ve tekli doymamış yağ asitlerinden zengin) bir grubu Frenk üzümü yağı (çoklu doymamış yağ asitlerinden zengin) ile 3 hafta boyunca beslemişlerdir. Polimerize olmuş polifenoller iki grupta da VLDL-K'ü düşürmüş ve HDL-K/VLDL-K oranını yükseltmiş bu sırada LDL-K ve TK'de fark yaratmamışlardır. Ayrıca domuz yağı içeren diyetle beslenen ratlarda karaciğer triaçilgliserol içeriğini düşürmüştür. Çalışma sonunda silymarinin polifenolik fraksiyonunun lipoprotein profilini olumlu yönde etkilediği sonucuna varılmıştır.

Sobolova ve arkadaşları (2006) yüksek kolesterol içeren diyetle beslenen ratlarda silymarinin ve onun polifenolik ekstresinin bağırsaktan kolesterol emilimine etkisine baktıkları çalışmalarında %1 oranında kolesterol içeren diyet hepatik ve serum VLDL ve LDL kolesterolde anlamlı yükselme ve HDL de düşmeye sebep olurken triaçilgliserol seviyelerinde de yükselmeye yol açmıştır. Silymarinin polifenolik fraksiyonu ve kendisi ayrı gruplara verilmiştir. Çalışma sonunda yüksek kolesterol grubuna göre Silymarinin de polifenolik fraksiyonun da son vücut kilosunda anlamlı olmasa da düşüşe, karaciğer ağırlığında ise anlamlı bir düşüşe sebep olduğu görülmüştür. Aynı zamanda Silymarinin kolesterol emilimini anlamlı düzeyde azaltıp, HDL-K'yı yükseltmiş, karaciğer kolesterol ve triaçilgliserol seviyelerinde de anlamlı bir düşüşe sebep olmuştur.

SME'nin kalıtsal hipertriglisemik ratlarda karaciğer ve kan antioksidan durumuna ve lipoprotein metabolizmasına etkisine bakılan bir çalışmada hipertriglisemiye sahip ratların 2 hafta boyunca bir grubu standart diyetle bir grubu yüksek sükroz içeren diyetle (toplam enerjinin %70'i sükrozdan) beslenmiştir. Diyete %1 lik silymarin eklenmesi kan ve karaciğer lipit seviyesini anlamlı bir düzeyde etkilememiş fakat plazma VLDL-K seviyesini düşürmüştür (Skottova ve ark 2004).

Huseini ve arkadaşlarının (2006) çalışmasında 51 tip 2 diyabet hastasının 25 ine günde 3 kez 200mg SME tableti geri kalanlara ise plasebo verilmiştir. 4 ay devam eden çalışmanın sonunda HbA1c, TK, LDL-K, TG, ALT ve AST değerlerinde başlangıç değerlerinde göre ve plasebo kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşme vardır. Çalışma tip 2 diyabet hastalarında 4 ay süreyle SME kullanımının glisemik profil üzerinde yararlı etkileri olduğunu göstermektedir (Huseini ve ark.2006).

Karbon tetraklorid (2 ml/kg bw) kaynaklı karaciğer hasarına karşı SM etil asetat ve etanol ile hazırlanmış ekstrelerinin etkinliklerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada Shaker ve arkadaşları (2010) karaciğer enzimlerinde en anlamlı düşüşü etanolik ekstrenin ve HDL-K/LDL-K oranında anlamlı yükselişi de etilasetat ekstresinin yarattığını göstermişlerdir. Histopatolojik incelemede ise iki deneysel ekstrenin etkileri arasında fark yoktur (Shaker ve ark 2010).

Aghazadeh ve arkadaşlarının (2010) deneysel steatohepatitde Silybum marianum tedavisinin antiapoptotik ve antiinflamasyon etkilerini göstermeyi amaçlayan çalışmasında 8 hafta boyunca metiyonin ve kolin eksik diyet uygulanarak nonalkolik steatohepatit geliştirilen ratlara 3 hafta süreyle SME (1.0g/kg/gün) verilmiştir. Çalışma sonunda plazma ALT, AST, Glutatyon düzeyleri, TNF-α ve TGF-β gen ekspresyonları, karaciğer histolojisi ve malondialdehit bakılmıştır. ALT ve AST seviyelerinde anlamlı bir düzelme olması, karaciğer örneklerinin histolojik incelenmesi, karaciğer TNF-α ve TGF-β mRNA larının düşmesi ve glutatyon içeriğinin artması göstermiştir ki nonalkolik steatohepatitde SME kullanımının yararlı etkileri vardır.

Graffari ve arkadaşları (2011) SME'nin metotraksat kaynaklı karaciğer hasarı üzerine etkilerine baktıkları çalışmalarında metotraksat uygulaması ile yükselen ALT, AST, ALP ve bilirubin seviyelerinin anlamlı şekilde düştüğünü göstermişlerdir. Buzzeli ve arkadaşlarının (1993) çalışmasından 20 kronik aktif hepatit hastasında 7 haftalık SME uygulamasında serum karaciğer enzimleri ve bilirubin seviyesinde düşüş gerçekleşmiştir.

Farelerde tioasetamid etkisiyle kronik karaciğer fibrozu oluşturup 8 hafta boyunca günlük 150 mg/kg silymarin verilen çalışmada tioasetamid serum kolesterol ve trigliseriti düşürürken ALT, AST ve LDH seviyelerini yükseltmiştir. Silymarin uygulaması karaciğer lezyonlarıyla birlikte ALT, AST ve LDH seviyelerinde de düzelmeye sebep olmuştur (Chen ve arkadaşları 2011). Tsai ve arkadaşları (2008) deneysel karaciğer fibrozu ve oksidatif stres oluşturmak amaçlı en sık kullanılan ksenobiyotik olan karbon tetraklorid kaynaklı karaciğer hasarına karşı haftada 4 kez 200mg/kg lık silymarin verilen ratlarda ALT, AST ve alkalen fosfataz seviyelerinde düşme olduğunu tespit etmişlerdir.

Guigas (2007) çalışmasında silymarinin hepatik glukoz-6-fosfatazı ve glukoneogenezi inhibe ederek anti-hiperglisemik etkiye sebep olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde Vengerovskii (2007) silymarinin yine streptozotosin kaynaklı diyabette glukoza yönelik hepatosit membran geçirgenliğini artırdığını göstermiştir.

Trappoliera ve arkadaşları (2005) silibin kullanımının non-alkolik yağlı karaciğer hastalarında metabolik sendrom belirtileri üzerine etkisine baktıkları

çalışmalarında insülin resistansında ve karaciğer fonksiyon testlerinde düzelmeye sebep olduğunu görmüşlerdir.

Malihi (2009) çalışmasında silymarinin streptozotosin kaynaklı diyabetik ratlarda pankreasta inflamasyon faktörlerinden TNF-α ve IL-1β seviyelerini anlamlı düzeyde düşürdüğünü göstermiştir. Bu çalışma sonunda silymarinin tip1 diyabette koruyucu tedavi veya tedaviye destek aşamalarında kullanılabileceği söylenmiştir.

Falaska ve arkadaşları (2008) silibin-fosfolipid ve E-vitamini kompleksinin (SFV) karaciğer koruyucu ve anti-inflamatuar etkisine bakmayı amaçladıkları çalışmalarında 30 hepatit-C hastasına ve 10 hepatit-C enfeksiyonu taşımayan steatoz teşhisli hastaya 3 ay boyunca SFV kompleksi verilmiş, ayrıca 10 tane hepatit-C li hastaya hiçbir tedavi uygulanmamıştır. Çalışma başlamadan önce ve 3 ay sonra bakılan değerlere göre SFV kompleksiyle tedavi gören hepatit-C grubunda ALT ve AST de düşme, IL-2 ve IL-6 değerlerinde azalma görülmüştür. Tedaviden sonra hepatik steatoz grubunda ALT, AST, GGT, TK, insülin, HOMA-IR ve CRP değerlerinde anlamlı bir düşme olmuştur. Aynı zamanda IFN-γ, TNF-α ve IL-6 seviyelerinde de düşme olmuştur.

Yukarıda sunulan literatür bilgilerini araştırmamızın sonuçlarıyla karşılaştırmak için bulgularımızı özetlediğimizde:

1-Onbir hafta sonunda YYD standart diyete göre anlamlı düzeyde daha fazla kilo aldırmıştır. 11 hafta boyunca YYD'e ek olarak SME uygulaması, sadece YYD verilen gruba kıyasla ratlarda anlamlı düzeyde daha az ağırlık artışına sebep olmuştur. Son BKİ'lerine baktığımızda 4 hafta ve 11 hafta süreyle SME kullanılan grupların BKİ değerleri YYD grubuna göre anlamlı düzeyde düşüktür.

2-YYD uygulaması standart diyet grubuna göre TK, LDL-K ve TG değerlerinde anlamlı bir yükselmeye yol açarken, 4 hafta ve 11 hafta süreyle SME uygulaması YYD grubuna göre TK ve LDL-K'de anlamlı bir düşme sağlamıştır. Bunun yanında, TG seviyesinde sadece 11 hafta SME uygulanan grupta anlamlı bir düşme olmuştur.

3-Çalışmamızda karaciğer yağlanmasını değerlendirmek için karaciğer fonksiyon testleri ve karaciğer yağlanması açısından patolojik incelenmesine başvurduk. SME verilen iki grupta da karaciğer yağlanması görülmezken, YYD uygulanan grupta % 4-5 oranında yağlanma görülmüştür. Karaciğer fonksiyon testleri sonuçlarına göre YYD, ALT değerlerinde anlamlı derecede yükselmeye sebep olurken, 11 hafta SME kullanımı bu değerleri normal seviyeye düşürmüştür. YYD, AST ve GGT değerlerinde anlamlı olmamakla birlikte yükselmeye yol açarken SME uygulaması bu değerlerde yine anlamlı olmamakla birlikte düşmeye sebep olmuştur.

4-YYD kan hsCRP seviyelerinde anlamlı olmamakla birlikte bir yükselmeye yol açarken 4 ve 11 hafta SME uygulanan gruplarda bu değerin sadece YYD uygulanan gruba göre anlamlı düzeyde düşük olduğu görülmüştür.

5-Çalışmamızda insülin ve leptin seviyelerinin ve HOMA-IR değerinin YYD ile anlamlı seviyede yükseldiği SME uygulanan gruplarda ise bu değerlerin sadece YYD uygulanan gruba göre anlamlı düzeyde düşük olduğu görülmüştür.

Haddah ve arkadaşlarının (2009) çalışmasında ratlarda silibinin verilen grubun son kilosu YYD grubuna göre daha düşük olmakla birlikte fark anlamlı değildir. Bu durumun sebebinin bu çalışmada uygulanan diyetin sıvı olmasının ve kilo aldırmaktan çok karaciğer yağlanmasını hedeflemesinin etkisi olduğunu düşünüyoruz. Dunrik ve arkadaşlarının (2011) çalışmasında ratlarda silymarin ekstresinin 3 ay süre ile uygulandığında kilo almayı yavaşlattığı fakat 2 yıl süre uygulandığında aynı etkiyi göstermediği görülmüştür, bu çalışma bizim çalışmamızdan farklı olarak standart diyet uygulanan hayvanlarda gerçekleştirilmiş olmakla ve uygulanan ekstrenin dozu farklı olmakla birlikte bizim çalışmamızda 11 hafta boyunca SME uygulanan grupta da bu çalışmada 3 ay ekstre uygulanan grupta da hayvanların kilo alma hızlarında bir yavaşlama görülmüştür.

Novelli ve arkadaşları (2007) Wistar cinsi yetişkin (60 günlük) erkek ratlarda BKİ değerlerinin normalde 0,45 ile 0,68 g/cm^2 arasında olduğunu ve standart diyet değiştirilerek bu rakamların üzerine çıkıldığında dislipidemi ve oksidatif stres oluştuğunu göstermişlerdir. Onların çalışmasının sonucuna bakarak ratlarda BMİ ölçümünün obezite gelişimini ve lipit profilinde özellikle TG düzeyinde değişiklik

olduğunu tahmin etmekte kullanılabilir. Bu çalışmayı dikkate aldığımızda, çalışmızda YYD verilen grupta normal BMİ sınırının üzerine çıkıldığı ve YYD'e ek olarak 11 hafta SME verilen grubun ise BMİ sınırları içine girdiği görülmüştür. Novelli ve arkadaşlarının çalışmasıyla bizim çalışmamızda aynı cins rat kullanıldığını düşünürsek, sonuçların birbirini desteklediği, bizim uyguladığımız YYD'nin ratların BMİ değerlerini bozduğu fakat ek olarak SME verilmesinin bu bozulmaya engel olduğu görülmüştür.

Sun-o ve arkadaşlarının (2009) çalışmasında obeziteyle mücadelede önemli bir çalışma alanı olan pre-adiposit farklılaşmasını ve çoğalmasını yavaşlatma üzerine etkisine bakılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda silymarinin pre-adiposit farklılaşmasını baskıladığı görülmüştür. Silymarinin yağ doku hücrelerinin hızlı artışını baskılama yoluyla antiobezite etki gösterdiği söylenebilir. Bu çalışmanın in vivo çalışmalarla desteklenmesi obeziteye karşı koruyucu hekimlik açısından önemlidir.

Çalışmamızda YYD, TK, LDL-K ve TG seviyelerini anlamlı bir şekilde yükseltirken, SME'sinin bu değerlerde anlamlı bir düşmeye sebep olduğu görülmüştür. Haddad'ın (2009) çalışmasında yüksek yağlı sıvı diyet uyguladığı ratlarda silibinin (200ml/kg) ekstresinin TK seviyesini düşürdüğü fakat anlamlı bir fark yaratmadığı bununla birlikte LDL-K seviyesinde anlamlı bir düşmeye sebep olduğu görülmüştür. Yine benzer bir çalışmada silymarin karaciğer TK seviyesini kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşürürken, plazma HDL-K/VLDL-K oranını yükseltmiştir (Skottova ve ark 2003). Sobolova (2006) yüksek kolesterol içeren diyetle beslenen ratlarda silymarin kullanımının TK ve VLDL-K'ü düşürdüğü ve HDL-K'ü yükselttiğini göstermiştir. Bu çalışmalar serum kolesterol seviyesini yükseltip, lipoprotein profilini bozmayı amaçlamakla birlikte diyet içeriği olarak bizim çalışmamızdan farklılık gösteren çalışmalardır.

Ayrıca çalışmamızda 11 haftalık SME uygulaması TG seviyesinde anlamlı bir düşmeye sebep olurken 4 haftalık SME uygulaması anlamlı bir düşme göstermemiş, fakat 4 haftalık SME uygulaması LDL-K seviyesinde 11 haftalık uygulamaya göre daha anlamlı bir düşmeye sebep olmuştur. Bu durum kısa süreli uygulamanın LDL-K seviyesi üzerinde etkili olurken, TG seviyesi üzerinde daha uzun süreli uygulamanın etkili olabileceği konusunda bir fikir vermektedir.

HDL-K seviyesindeki farklılığı uygulanan diyetlerin içerik ve sürelerinin farklı olmasıyla açıklamak mümkündür. Çünkü bizim çalışmamızda kontrol grubuyla kıyaslandığında SME alan ratlarda HDL-K düzeylerinin artmış olduğu, buna karşılık ilginç bir şekilde HDL-K düzeyinin sadece YYD alan ratlarda da artış gösterdiği saptanmıştır. Bu durum, ratların lipid metabolizmasında şu an izah edemediğimiz farklı mekanizmaların da rol alabileceğini göstermektedir. Örneğin; Sobolova, plazma lipoprotein profilini olumlu yönde değiştiren mekanizmalardan birisinin de silymarin ile kolesterol absorbsiyonunun inhibe edilmesi olabileceğini öne sürmüştür (Sobolova 2006). Son olarak genel anlamda bu çalışmalarında bizim çalışmamızın da SME kullanımının total kolesterol ve LDL-K seviyeleri üzerine olumlu etkileri olduğu konusunda hem fikir olduğunu söyleyebiliriz.

Çalışmamızda karaciğer patoloji bulgularında karaciğerde yağlanma görülmüş fakat plazma GGT ve AST seviyelerinde anlamlı bir fark ortaya çıkmamıştır. Farkın ortaya çıkmaması karaciğerde yağlanmanın olması fakat hücre harabiyetinin olmamasıyla açıklanabilir ki bu durum bizim diyet modelimizin avantajıdır. Deneysel non-alkolik karaciğer hastalığı oluşturmayı amaçlayan Aghazadeh ve arkadaşları (2010) bizim çalışmamızdan farklı olarak metionin ve kolin eksik diyet kullanarak ALT ve AST seviyelerinde kontrol grubuna göre deneysel grupta anlamlı bir yükselme ve SME uygulanan grupta ise anlamlı bir düşme saptamışlardır. Metiyonin ve kolin eksik diyetin karaciğer hücre harabiyeti oluşturma açısından YYD uygulamasına göre daha etkili olduğu bilinmektedir.

Hayvan çalışmaları ve klinik deneyler silymarinin alkol kaynaklı karaciğer hasarının erken veya ileri aşamalarında 3 ila 6 aylık farklı kullanımlarda faydalı etkilerini göstermişlerdir (Flora ve ark 1998, Wang ve ark 1996). Ancak sonuçları çelişen çalışmalar da mevcuttur, bu durum alkolik karaciğer hastalığının patolojisinin karmaşıklığı, hastaların veya çalışılan hayvanların farklılıkları ve çalışma protokolü sırasında alkol kullanımındaki farklılıklarla açıklanabilir (Saller ve ark 2001, Saraswat ve ark 1995).

Yapılan çalışmaları incelediğimizda SME kullanımının karbon tetra klorid, metotraksat, tioasetat ve alkol kaynaklı karaciğer hasarının yol açtığı ALT ve AST yükselmesi durumlarında bu parametreleri düşürdüğü söylenebilir. Bunun dışında

daha önce bahsettiğimiz çalışmalarda SME'nin yağlı karaciğer hastalığı (Laguercio ve ark 2007), siroz, hepatit (Buzzelini ve ark 1993) gibi hastalıklarda koruyucu etkileri görülmüştür. Bu koruyucu etkilerin sebepleri çeşitli mekanizmalara dayanmakla birlikte temelde SME'nin süperoksit anyon radikallerinin ve nitrik oksitin oluşumunu inhibe etme, lipit peroksidasyonu gibi oksidatif stres mediatörlerinin seviyesini azaltma, antioksidan enzimlerde artışa sebep olma ve inflamasyon sitokinlerinin kan seviyesini düşürerek anti-inflamatuar etki göstermesinden kaynaklandığını söyleyebiliriz (Pradeep ve ark 2007, Tsai ve ark 2008, Chen ve ark 2011, Aghazadeh ve ark 2010, Falaska ve ark 2008).

Çalışmamızda hsCRP seviyesinin YYD ile anlamlı seviyede yükseldiği SME'si uygulanan gruplarda ise anlamlı düzeyde düştüğü görülmüştür. SME'nin hsCRP üzerine etkisine bakılan pek fazla sayıda çalışmaya rastlamamakla birlikte Falaska ve arkadaşlarının (2008) çalışmasında kronik hepatit-C'li hastalarda silibin-vitaminE-fosfolipit karışımının kullanılması CRP değerlerinde anlamlı düşmeye sebep olmuştur. Kronik inflamasyon hem metabolik sendrom, hem de gelecekteki kardiyovasküler olaylar ile ilişkilidir. Bu durum artmış hsCRP değeri ile ifade edilir. Metabolik sendrom ve CRP alakası yağ dokusundan sitokinlerin salınımı ile ilişkilidir. İnsülin rezistansı fazla miktarda CRP salınımına sebep olabilir, bu etki insülinin hepatik akut faz proteini sentezi üzerine olan etkisine bağlıdır. Kesin mekanizma tam olarak bilinmemekte olup insülin rezistansı, dislipidemi ile inflamatuar süreç metabolik sendrom ve kardiyovasküler hastalık arasındaki ilişkiden sorumlu görülmektedir (Michael ve Davidson 2005). Yıllar süren araştırmalar, tek başına hsCRP ölçümünün myokard infarktüsü veya kalp hastalığı mortalitesinin, inmenin, periferik damar hastalığının, konjestif kalp yetmezliğinin, atriyal fibrilasyonun ve ani kardiyak ölümün güçlü bir belirteci olduğunu göstermiştir (Shari ve ark 2004). Dolayısıyla SME kullanımın, lipit profilini ve insülin direncini düzeltme etkilerinin yanı sıra hsCRP seviyesini düşürme etkisinin kalp-damar sağlığı açısından önemli olduğu noktası kanaatimizce vurgulanmalıdır.

Çalışmamızda YYD ile beslenen üç grubun da glukoz seviyelerinin standart diyet grubundan anlamlı derecede yüksek olduğu, insülin seviyesinin ise yalnızca YYD verilen 2. grupta diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür. Yani çalışmamızda SME kan glukoz seviyesini düşürmüş fakat anlamlı

bir düşüş olmamıştır. Farklı çalışmalara baktığımızda SME streptozotosin (Maghrani ve ark 2004) ve alloksan kaynaklı (Soto ve ark 2004) diyabetik ratlarda hipoglisemik ve antihiperglisemik etki etmiştir. Bu etki hepatik glukoz üretiminde bir azalmanın sonucu olarak görülmektedir. Böyle düşünmemizin sebebi Guigas ve arkadaşlarının (2007) çalışmasında, silybininin, hepatositlerde glukoz-6-fosfat hidrolizini azaltarak glukoneogenezi kısa süreli inhibe edebildiğinin görülmesidir.

Hücre kültüründe yapılmış çalışmaları destekleyen in-vivo çalışmalar da mevcuttur. Tip 1 diyabetli bir hayvan çalışmasında (Maghrani ve ark 2004) ve çeşitli diyabetik insan çalışmalarında silymarinin plazma glukoz seviyesini anlamlı düzeyde düşürdüğü görülmüştür (Lirussi ve ark 2002, Huseini ve ark 2006). Yine diyabet modellerinde pankreas morfolojisini ve endokrin fonksiyonunu ayrıca glutatyon ve antioksidan enzimlerin pankreatik aktivitesini iyileştirici etki edebilmektedir (Soto ve ark 2003,2004). Ayrıca diyabetiklerde renal fonksiyonu düzelterek diyabetik nefropati gelişimine karşı koruyucu olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Lee ve ark 2007, Soto ve ark 2010).

Silybinin bazı mekanizmalarla insülin salgılanmasını etkileyebilmektedir. Adiposit kültüründe yapılan bir çalışmada silibinin insülin bağımlı glukoz taşıyıcı protein-4'ü (GLUT-4) bloke ederek adipositlerden glukozun içeri alınmasını düzenlemiştir (Nomura ve ark 2008). Yine farklı çalışmalarda SME'nin insülin direnci üzerine etkisine bakılmıştır örneğin hayvanlarda Trappoliera ve ark (2005) nonalkolik yağlı karaciğer hastalığında ve Malihi ve arkadaşları streptozotosin kaynaklı tip-1 diyabette silibinin kullanımının insülin resiztansı üzerine olumlu etkisi olduğunu göstermişlerdir. Tip 2 diyabet hastalarında kullanılan silibininin açlık insülinini ve dışarıdan alınan insülin ihtiyacını azaltarak glisemik kontrole fayda ettiği görülmüştür (Lirussi ve ark 2002, Velussi ve ark 1997).

Benzer şekilde bizim çalışmamızda da insülin direncini göstermek için kullanılan HOMA-IR değerinde YYD grubu ile SME verilen iki grup arasında anlamlı fark vardır ve SME HOMA-IR değerinde anlamlı bir düşmeye sebep olmuştur. Görüldüğü üzere literatürde SME'nin glukoz ve insülin üzerine etkisi konusu genellikle diyabet hastalarında ve diyabetik rat modellerinde çalışılmıştır. Bizim çalışmamız diyabetsiz obezite modelinde SME'sinin insülin direnci üzerine olumlu etkileri olduğunu göstermektedir.

Leptin ve insülin vücudun yağlanma sinyalleridir, yani dolaşımdaki leptin ve insülin miktarı bütün vücut yağ miktarı ile doğru orantılıdır. Çalışmalarda standart yemle beslenenlere göre YYD ile beslenen ratlarda leptin ve insülin konsantrasyonları yükselmiştir (Hoffler ve ark 2009). Esasen obezite ve hiperinsülinizm leptinin yağ dokusunda üretimi yönünden majör uyarıcılar olarak kabul edilmektedir. Bazı tür farelerde hiperinsülinemi ile birlikte hiperleptinemi gelişmesi bunu doğrulamaktadır (Dumber ve Xu 1997, Panarotto ve ark 2000). Leptin seviyeleri artan vücut yağına bağımlı olarak artar. Ancak leptin seviyeleri, açlık insülin seviyeleri ile vücut yağından bağımsız olarak pozitif korelasyon gösterir (Zimmet ve ark 1996, McNelly ve ark 1999). Çalışmamızda YYD'in leptini yükselttiği, SME verilen grupların ise leptin seviyelerinde düşüş olduğu görülmüştür. SME'nin leptin seviyesi üzerine etkisine bakılan bulgularımızı karşılaştıracak yeterli herhangi bir literatür bulgusuna rastlayamadık. Dolayısı ile çalışmamız YYD ile beslenen ratlarda silymarin kullanımının leptin üzerindeki etkisine bakılan nadir bir çalışmadır.

6.SONUÇ

Giriş bölümünde belirttiğimiz amaçlarımız doğrultusunda aşağıdaki sonuçlara ulaşıldı:

1-Çalışmamızda 7 haftalık YYD uygulamasında sonra 4 hafta diyete SM desteği verilmesinin ağırlık değişiminde ve BKİ'de anlamlı olmamakla birlikte bir düşüşe sebep olduğu, bunu yanında TK, LDL-K, hsCRP ve leptin değerlerinde anlamlı bir düşüşe yol açtığı görülmüştür. Kan glukoz değerlerinde anlamlı bir fark olmamakla birlikte insülin ve HOMA-IR değerlerini anlamlı derecede düşürmüştür. Karaciğer enzimlerine baktığımızda AST, ALT ve GGT seviyelerinde anlamlı olmamakla beraber düşüş görülmüştür.

2- Çalışmamızda 11 hafta YYD ile birlikte aynı süre SME desteği verilen grupta YYD grubuna göre ağırlık değişiminde, son ağırlıkta ve BKİ'de, bunun yanında TK, LDL-K, hsCRP ve leptin değerlerinde de anlamlı bir düşüş görülmüştür. Ayrıca ekstrenin 11 hafta kullanımı ALT değerlerine YYD grubuna göre anlamlı bir düşmeye sebep olurken, AST ve GGT değerlerinde ancak anlamlı olmayan bir düşmeye sebep olmuştur. SME'nin uzun süreli kullanımının kan lipitlerini ve karaciğer enzimlerini düşürmede daha etkili olduğu görülmüştür.

3- Farklı insan ve hayvan çalışma modellerinin verileri ile bizim verilerimiz değerlendirildiğinde; SME'nin kilo verme amacıyla kullanımından daha çok obezitenin yol açtığı hiperlipidemi, karaciğer yağlanması, insülin ve leptin direnci ve kalp damar hastalıkları gibi sorunların kontrol ve önlenmesinde; beslenme desteği olarak kullanılabileceği sonucuna ulaştığımızı söyleyebiliriz.

Çalışmamızda SME'nin glukoz değerlerinde anlamlı bir değişime sebep olmamasına rağmen insülin değerlerinde düşmeye yol açması nedeniyle böyle bir modelde ekstrenin pankreas dokusu üzerine etkilerine bakılması gerektiğini söyleyebiliriz.

SME ağızdan kullanımda etkinliği, yan etki açısında güvenilirliği ve maddi anlamda kolay ulaşılabilir olması nedeniyle farklı karaciğer hastalıklarının tedavisi için başvurulabilecek bir tedavi desteği olarak görülmektedir. Karaciğer

fonksiyonlarını düzeltme ve karaciğer hücre yenilenmesine yardım etme konularında etkisi kabul edilmektedir. SME'nin karaciğere ek olarak diğer organların korunmasında da etkili olabileceği fikri araştırılmaya değer. Ayrıca içeriğinden en iyi yararlanılacak şekilde standardizasyonunun ayarlanması, mikrobial toksinlerden ve ağır metallerden ayrıştırılması etkinliğinin en iyi şekilde olması için araştırılma konularıdır.

7. ÖZET

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Biyokimya (Tıp) Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ / KONYA-2012

Fatma Kübra Sayın

Danışman

Prof. Dr.Sadık BÜYÜKBAŞ

Silybum marianum fenolik bileşikler açısından zengin bir bitki olup uzun yıllardır karaciğer ve safra yolu hastalıklarında bitkisel destek tedavi yöntemi olarak kullanıla gelmektedir. Son zamanlarda Silybum marianum ekstresi (SME) sağlıklı karaciğer fonksiyonları için ve metabolik hastalık kaynaklı risklere karşı yararlı olması açısından diyet desteği olarak gösterilebilmektedir. Bizim çalışmamızda; bu ekstrenin yüksek yağlı diyet ile beslenen ratlarda beden kitle indeksi, serum lipit düzeyleri, karaciğer fonksiyon testleri, glukoz, insülin ve leptin düzeyleri üzerine olası etkilerini belirlemek amaçlandı.

Çalışma, 40 adet Wistar cinsi erkek rat üzerinde 11 hafta süresince gerçekleştirildi. Dört gruba ayrılan ratlara; kontrol grubunda standart diyet (grup 1), diğer gruplarda yüksek yağlı diyet uygulanırken (grup 2, grup 3 ve grup 4), grup 3'e 8.-11. haftalarda 4 hafta süreyle 200 mg/kg/gün ve grup 4'e ise 1.-11. haftalarda 11 hafta süreyle 200 mg/kg/gün SME gavaj yoluyla verildi. Ratlardan alınan serum örneklerinde leptin ve insülin düzeyleri ELISA tekniği, lipid değerleri, karaciğer enzimleri ve glukoz konsantrasyonları fotometrik yöntemlerle ölçüldü.

SME plazma toplam kolesterol, düşük yoğunluklu kolesterol, yüksek duyarlılıklı C-reaktif protein ve ALT seviyelerini düşürdüğü, buna ek olarak bozulan plazma leptin ve insülin düzeyini düzelttiği görülmüştür. Ayrıca SME'nin etkisinde uygulama süresine bağlı değişimler de görülmüştür, 11 haftalık kullanım 4 haftalık kullanıma göre BKİ, leptin ve ALT seviyeleri üzerinde daha iyi etki göstermiştir. Sonuç olarak SME'nin lipit metabolizmasını, leptin ve insülin düzeylerini düzenleyerek kandaki obeziteyle ilişkili parametreleri düzelttiğini ve bu yönüyle obezite eğilimli canlılarda beslenme desteği olarak kullanılabileceğini söyleyebiliriz.

Anahtar Sözcükler : İnsülin; leptin; obezite; Silybum marianum; yüksek yağlı diyet.

8. SUMMARY

Effects of Silybum marianum extract on insulin resistance, liver functions, lipit and leptin levels in rats fed with high fat diet

Silybum marianum is a plant rich in phenolics and has been used for centuries as a natural remedy for diseases of liver and biliary tract. Lately, Silybum marianum extract (SME) has been promoted as a nutritional supplement for healthy liver functions and for beneficial effects on some risk factors of metabolic diseases. So we aimed to determine the influence of silymarin on body mass index, serum lipit profile, liver functions, glucose, insulin and leptin level in rats fed with a high fat diet.

This study was performed on 40 Wistar male rats at 11 weeks. Rats divided in to 4 groups; control group fed a standard chow diet and other groups (group 2, group 3 and group 4) fed with a high-fat diet for 11 weeks. SME (200 mg/kg/gün) have gaven to group-3 for 4 weeks between 8th-11th weeks and to group-4 for 11 weeks with gavage. Leptin and insulin levels were measured by a commercially available kits based on ELISA method, lipid concentrations, liver enzyme and glucose levels were measured with photometric methods in serum samples obtained from rats.

It was observed that SME decreased the levels of serum total cholesterol, lowdensity lipoprotein (LDL), hsCRP and ALT levels. Moreover, it decreased plasma leptin and insulin. An application time-dependant effect of SME is detected, where SME used for 11 weeks showed better effect, than 4 weeks on body mass index, leptin and ALT levels. In conclusion, we can say that SME improves obesity-related parameters in blood possibly by regulating lipid metabolism and lowering plasma leptin and insulin and it can be used as a therapeutic for hypercholesterolemic obese or potential obese organisms.

Key Words: High fat diet; insulin; leptin; obesity; Silybum marianum.

9. KAYNAKLAR

1.Abenavoli L, Capasso R, Milic N and Capasso F. Milk thistle in liver diseases: past, present, future. Phytotherapy Reserarch. 2010;58:116-27.

2.Adams LA, Angulo P, Lindor KD. Nonalcoholic fatty liver disease. CMAJ. 2005;172:899-05.

3.Aghazadeh S., Aminia R, Yazdanparasta R., Ghaffarib S.H. Anti-apoptotic and anti- inflammatory effects of Silybum marianum in treatment of experimental steatohepatitis. Experimental and Toxicologic Pathology. 2010;940-6.

4.Akbar DH, Kawther AH. Non-alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome: what we know and what we don't know. Med Sci Monit. 2006;12:23-6.

5.Altekin E, Önvural B. Kardiyovasküler hastalıklarda bir risk faktörü olarak C-reaktif proteinden yararlanım. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi. 2004;24:57-61.

6.Altunkaynak B.Z., Özbek E. Yağ dokusu endokrin bir organ mıdır? Dicle Tıp Derg. 2005;32(4):211-7.

7.Ananina FA. Nonalcoholic fatty liver disease. Gastroenterology. 2004; 4: 1.

8.Aslan M,Orhan N. Obezite tedavisinde yardımcı olarak kullanılan doğal ürünler. MİSED. 2010;24:91-105.

9.Batakov EA. Effect of Silybum marianum oil and legalon on lipid peroxidation and liver antioxidant systems in rats intoxicated with carbon tetrachloride. Eksp Klin Farmakol. 2001;64:53–5.

10.Bergmeyer HU; Horder M; Moss DW. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 3. Revised IFCC method of aspartate aminotransferase (L-Aspartate:2-oxoglutarate aminotransferase, EC 2.6.1.1) (1977) Dept. MD. Chem., Univ. Helsinki, Finland, Clin Chem USA, 1978, 24/4; 720-721.

11.Bethesda MD. Clinical guideness on the identification, evaluation and treatement of overweight and obesity in adults. National, heart, lung and blood institute.2000;56-65.

12.Bikhazi AB, Azar ST, Birbari AE, El-Zein GN, Haddad GE, Haddad RE, Bitar KM. Characterization of insulin- resistance: role of receptor alteration in insulindependent diabetes mellitus, essential hypertension and cardiac hypertrophy. Eur J Pharm Sci. 2000;11:299-306.

13. Blumenthal M Sr, editor. Herbal medicine: Expanded commission E monographs. 1st edition. Newton,MA: Integrative Med Commun. 2000;56:257-263.

14. Borsari M, Gabbi C, Ghelfi F, Grandi R, Saladini M, Severi S, Borella F. Silybin, a new iron chelating agent. J Inorg Biochem. 2001;85:123-9.

15. Bosisio E, Benelli C, Pirola O. Effect of the flavanolignans of Silybum marianum L. on lipid peroxidation in rat liver microsomes and freshly isolated hepatocytes. Pharmacol Res. 1992;25:147-54.

16. Bray GA.,PopkinBM. Dietary fat intake does affect obesity! Am J Clin. Nutr.1998;68:1157-73.

17. Bray GA. Medical consequences of obesity. J Clin Endocrinol Metab. 2004;89:2583-9.

18. Briaud I, Kelpe CL, Johnson LM, Tran PO, Poitout V. Differential effects of hyperlipidemia on insulin secretion in islets of Langerhans from hyperglycemic versus normoglycemic rats. Diabetes. 2002;51:662– 8.

19. Brunt EM, Elizabeth M. Nonalcoholic steatohepatit: Definition and pathology. Semınars In Lıver

Dısease. 2001; 21: 3-16.

20. Buettner C, Pocai A, Muse ED, Etgen AM, Myers Jr MG, Rossetti L. Critical role of STAT3 in leptin's metabolic actions. Cell Metab. 2006;4:49–60.

21. Buettner C, Muse ED, Cheng A, Chen L, Scherer T, Pocai A, Su K, Cheng B, Li X, Harvey-White J, Schwartz GJ, Kunos G, Rossetti L, Buettner C. Leptin controls adipose tissue lipogenesis via central, STAT3-independent mechanisms. Nat Med. 2008;14:667–75.

22. Buzzelli G, Moscarella S, Giusti A, Duchini A, Marena C, Lampertico M. A pilot study on the liver protective effect of silybin-phosphatidylcholine complex (IdB1016) in chronic active hepatitis. Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol. 1993;31:456-60.

23. Carini R, Comoglio A, Albano E, Poli G. Lipid peroxidation and irreversible damage in the rat hepatocyte model. Protection by the silybin-phospholipid complex IdB 1016. Biochem Pharmacol 1992;43:2111-5.

24. Chantre P, Lairon D. Recent findings of green tea extract AR25 (exolise) and its activity for the treatment of obesity. Phytomedicine. 2002;9:3–8.

25. Chan WB, Ma RC, Chan NN, Ng MC, Lee ZS, Lai CW, Tong PC, So WY, Chan JC; Increased leptin concentrations and lack of gender difference in Type 2 diabetic patients with nephropathy. Diabetes Res Clin Pract. 2004;64:93-8.

26. Chen IS, Chen YC, Chou CH, Chuang RF, Sheend LY and Chiub CH. Hepatoprotection of silymarin against thioacetamide-induced chronic liver fibrosis. J Sci Food Agric. 2012;92:1441–7.

27. Comoglio A, Tomasi A, Malandrino S, Poli G, Albano E. Scavenging effect of silipide, a new silybin-phospholipid complex, on ethanol-derived free radicals. Biochem Pharmacol. 1995;50:1313-6.

28. Çelebi S, Atasever H, Mengücük D, Açık Y, Bahçecioğlu H. Elazığ kent toplumunda nonlkolik yağlı karaciğerin epidemiyolojik özellikleri. Akademi Gastroenteroloji Dergisi. 2006;5:41-6.

29. Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two 'hits'? Gastroenterology. 1998;114:842-5.

30. Dehmlow C, Erhard J, de Groot H. Inhibition of Kupffer cell functions as an explanation for the hepatoprotective properties of silibinin. Hepatology. 1996;23:749–54.

31. DeFronzo RA, Current Management of Diabetes Mellitus. Mosby a Times Mirror Company. 1998;59-60.

32. Dumber JC, Xu Y. Intracerebroventricular leptin increases lumbar and renal sympathetic nerve activity and blood pressure in normal rats. Diabetes. 1997;46:2040-3.

33. Dunnick JK, Nyska A, Bishop JB, Bucher JR, Chhabra RS, Foster PM, Herbert RA, Hooth MJ, King-Herbert AP, Kissling GE, Malarkey DE, Roycroft JH, Sanders JM, Singh BP, Smith CS, Travlos GS, Walker NJ, Witt KL, Hébert CD, Heath JE, Mann JF, Hamlin MH 2nd, Allison N, Kolenda-Roberts HM, Peckham JC, Wolfe GW, Seung HS, Brecher S, Iyer S, Tharakan VS, Newbigging S, Dixon D, Elmore SA, Flake GP, Blackshear PE, Hobbie K, Nold JB, Crockett PW, Betz LJ, McGowan KP, Gunnels SR, Hall BF, Harper LM, Powers JI, Serbus DC. Toxicology and carcinogenesis studies of milk thistle extract (CAS No. 84604-20-6) in F344/N rats and B6C3F1 mice (Feed Studies). National Toxicology Program Tech Rrep Ser. 2011;565:1-177.

34. Ergün A. Leptin (ob protein). T Klin Tıp Bil. 1999;19:130-6.

35. Everhart JE. Diabetes in America. 2.Baskı. NIH Publ. 1995;1468-457.

36. Falasca K, Ucciferri C, Mancino P, Vitacolonna E, Tullio D, Pizzigallo E, Conti P, Vecchiet J. Treatment With Silybin-Vitamin E-Phospholipid Complex in Patients With Hepatitis C Infection Journal of Medical Virology.2008;80:1900–6.

37. Fehrenbach T, Cui Y, Faulstich H, Keppler D. Characterization of the transport of the bicyclic peptide phalloidin by human hepatic transport proteins. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.2003;368: 415–20.

38. Felson DT, Anderson JJ, Naimark A, Walker AM, Meenan RF. Obesity and knee osteoarthritis. The Framingham Study. Ann Intern Med. 1988;109:18-24.

39. Flora K, Hahn M, Rosen H, Benner K. Milk Thistle (Silybum marianum) for the therapy of liver disease. Am J Gastroenterol.1998;93:139–43.

40. Fu H, Katsumura Y, Lin M, Hata K, Muroya Y, Hatano Y. Fast repair activities towards dGMP hydroxyl radical adducts by silybin and its analogues. J Radiat Res. 2008;49:609-14.

41. Ghaffari AR, Noshad H, Ostadi A, Ghojazadeh M, Asadi P. The effects of milk thistle on hepatic fibrosis due to methotrexate in rat. Hepat Mon. 2011;11:464-8.

42. Giese LA. Milk thistle and the treatment of hepatitis. Gastroenterol Nurs. 2001;24:95-7.

43. Golay A, Bobbioni E. The role of dietary fat in obesity.İnt J Obes Relat Metab Disord. 1997;21:2-11.

44. Gnacińska M, Małgorzewicz S, Stojek M, Łysiak-Szydłowska W, Sworczak K. Adv Med Sci. Role of adipokines in complications related to obesity: a review.2009;54:150-7.

45. Guigas B, Naboulsi R, Villanueva GR, Taleux N, Lopez-Novoa JM, Leverve XM. The flavonoid silibinin decreases glucose-6-phosphate hydrolysis in perfused rat hepatocytes by an inhibitory effect on glucose-6-phosphatase. Cell Physiol. Biochem. 2007;20:925-34.

46. Gümüşçü A, Arslan N, Gürbüz B. Farklı ekim zamanlarının meryemana dikeni S. Marianum'ın verim ve bazı özelliklerine etkisi, Prooceedings of XIIth International Symposium on Plant Originated Crude Drugs. Ankara. 1998;106.

47. Gürdöl F, Ademoğlu E. Biyokimya. 2.baskı. Nobel yayınevi. İstanbul. 2010;248-53.

48. Haddad Y, Vallerand D, Brault A, Haddad PS. Antioxidant and Hepatoprotective Effects of. Silibinin in a Rat Model of Nonalcoholic Steatohepatitis. Oxford University Press.2009;35:98-115.

49. He Q, Osuchowski MF, Johnson VJ, Sharma RP. Physiological responses to a natural antioxidant flavonoid mixture, silymarin, in BALB/c mice: I. Induction of transforming growth factor beta1 and c-myc in liver with marginal effects on other genes. Planta Med. 2002;68:676–9.

50. Hekimoglu A. Leptin ve fizyopatolojik olaylardaki rolü. Dicle Tıp Derg. 2006;33: 259-267.

51. Hind CRK, Pepys MB. The role of serum C-reactive Protein (PCR) measurement in Clinical Practice. Int Med. 1984;5:112-151.

52. Hofbauer KG, Keller V, Boss O. Pharmacotherapy of obesity:options and alternatives. CRC Press, London,UK. 2004;78-96.

53. Hoffler U, Hobbie K, Wilson R, Bai R, Rahman A, Malarkey D, Travlos G, Ghanayem BI. Diet-induced obesity is associated with hyperleptinemia, hyperinsulinemia, hepatic steatosis, and glomerulopathy in C57Bl/6J mice. Endocr.2009;36:311–25.

54. Hollenbeck C, Reaven GM. Variations in insulin stimulated glucose uptake in healthy inidividuals with normal glucose tolerance. J Clin Endocrinal Metab. 1987;64:1169-76.

55. Hotamıslıgil GS, Peraldi P, Budavari A Ellis R, White MF, et al. Insulın resistance influences irom metobolism and hepatic steatosis in type 2 diabetes. Gastroenterology 2000;118:986-96.

56. Hrbác J, Sedmera P, Kren V, Lazzaroni R, Duroux JL, Walterová D. Mechanism of the antioxidant action of silybin and 2,3-dehydrosilybin flavonolignans: a joint experimental and theoretical study. J Phys Chem A. 2008;112:1054-63.

57. Huseini HF, Larijani B, Heshmat R, Fakhrzadeh H, Radjabipour B, Toliat T, Raza M. The efficacy of Silybum marianum (L.) Gaertn. (silymarin) in the treatment of type II diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. Phytother Res. 2006;20:1036-9.

58. Jaber LA, Brown MB, Hammad A, Zhu Q, Herman WH. The prevelance of the metabolic syndrome among arab americans. Diabetes Care. 2004;27:234-8.

59. Jensen MD. Obesity. In: Cecil Medicine, 23rd Edition. USA. Elsevier PA. 2008;1643- 52.

60. Kamarya SS. Shardella MD, Abdel-Hamidb M, Ismailb S, El-Ateekc M, Metwallyb M, Mikhailb N, Hashema Aboul-Fotouhe A, El-Kassasb M, Esmatb G, Stricklanda T. A randomized controlled trial to assess the safety and efficacy of silymarin on symptoms, signs and biomarkers of acute hepatitis. Phytomedicine. 2009;16:391–400.

61. Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 8. Baskı. Ankara. Hacettepe-Tas. 1998; 1241-56.

62. Kim HK, Della-Fera M, Lin J, Baile CA. Docosahexaenoic acid inhibits adipocyte differentiation and induces apoptosis in 3T3-L1 preadipocytes. J.Nutr. 2006;136:2965–9.

63. Koerner A, Kratzsch J and Kiess W. Adipocytokines: leptin-the classical, resistin- the controversical, adiponectin-the promising, and more to come. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2005;19:525-46.

64. Koh KK, Park SM, Quon MJ. Leptin and cardiovascular disease: response to therapeutic interventions. Circulation. 2008;117:3238–49.

65. Krauss RM, Siri PW. Metabolic Abnormalities: Triglyceride and Low-Density Lipoprotein. Endocrinol Metab Clin N Am. 2004;33:405-15.

66. Kravchenko LV, Avreńeva LI, Tutelĺian VA. Effects of bioflavonoids on the toxicity of T-toxin in rats. A biochemical study. Vopr Pitan. 2000;69:20–3.

67. Kumar MV, Sunvold GD, Scarpace PJ. Dietary vitamin a supplementation in rats: suppression of leptin and induction of UCP1 mRNA. J. Lipid Res. 1999; 40:824–29.

68. Kunst A, Drager B, Ziegenhorn J. UV methods with hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase, Methods of Enzymatic Analysis, Vol. VI, Bergmeyer, HY, Ed, Verlag Chemie, Deerfield, FL 1983, pp. 163-172.

69. Lahiri-Chatterjee M, Katiyar SK, Mohan RR, Agarwal R. A flavonoid antioxidant, silymarin, affords exceptionally high protection against tumor promotion in the SENCAR mouse skin tumorigenesis model. Can Res. 1999;59:622-32.

70. Leclercq IA, Farrell GC, Field J, Bell DR, Gonzalez FJ, Robertson GR. CYP2E1 and CYP4A as microsomal catalysts of lipid peroxides in murine nonalcoholic steatohepatitis. J.Clin Invest. 2000;105:1067-75.

71. Lee HB, Seo JY, Yu MR, Uh ST, Ha H. Radical approach to diabetic nephropathy. Kidney Int. 2007;88:67–70.

72. Lieber CS, Leo MA, Mak KM, et al. Model of nonalcoholic steatohepatitis. Am J Clin Nutr.

2004;79:502-9.

73. Ligeret H, Brault A, Vallerand D, Haddad Y, Haddad PS. Antioxidant and mitochondrial protective effects of silibinin in cold preservation-warm reperfusion liver injury. J Ethnopharmacol. 2008;115:507-14.

74. Lirussi F, Beccarello A, Zanette G, De Monte A, Donadon V, Velussi M, Crepaldi G. Silybin-beta-cyclodextrin in the treatment of patients with diabetes mellitus and alcoholic liver disease. Efficacy study of a new preparation of an antioxidant agent. Diabetes Nutr Metab. 2002;15:222-31.

75. Loguercio C, Federico A, Trappoliere M, Tuccillo C, de Sio I, Di Leva A, et al. The effect of a silybin-vitamin e-phospholipid complex on nonalcoholic fatty liver disease: a pilot study. Dig Dis Sci. 2007;52:2387-95.

76. Luper S. A review of plants used in the treatment of liver diseases: Part 1. Altern Med Rev 1998;3:410-21.

77. Maghrani M, Zeggwagh NA, Lemhadri A, El Amraoui M, Michel JB, Eddouks M. Study of the hypoglycaemic activity of Fraxinus excelsior and Silybum marianum in an animal model of type 1 diabetes mellitus. J Ethnopharmacol. 2004;91:309-16.

78. Maguire T. and Haslam D. The Obesity Epidemic and its Management. London. Pharmaceutical Press. 2010;264-70.

79. Malihi F, Hosseini-Tabatabaei A, Esmaily H, Khorasani R, Baeeri M, AbdollahiM. Improvement of inflammatory and toxic stres biomarkers by silymarin in a murine model of type one diabetes mellitus Cent Eur J Biol. 2009;4:369-80.

80. McNelly MJ, Boyko EJ, Weigle D, Shofer JB, Chessler SD, Leonetti DL, Fujimoto WY. Association between baseline plasma leptin levels and subsequent development of diabetes in Japanese Americans. Diabetes Care. 1999;22:65-70.

81. Meriçli AH. Türkiye'nin değişik bilgelerinde yetişen silybum marianum türlerinin meyvelerinin flavonolignan bileşikleri yönünden incelenmesi. Doğa Bilim der.1984;8:203-8.

82. Michael H, Davidson MD. Management of Dyslipidemia in Patients with Complicated Metabolic Syndrome American journal of cardiology. 2005;96:22-5.

83. Morazzoni P, Montalbetti A, Malandrino S. Comparative pharmacokinetics of silipide and silymarin in rats. Eur J Drug Metab Pharmacokinet. 1993;18:289-97.

84. Mourelle M, Muriel P, Favari L, Franco T. Prevention of CCl4-induced liver cirrhosis by silymarin. Fundam Clin Pharmacol 1989;3:183-91.

85. Murata N, Murakami K, Ozawa Y, Kınoshita N, Irie K, Shırasawa T, Shımızu T. Silymarin attenuated the amyloid beta plaque burden and improved behavioral abnormalities in an alzheimer's disease Mouse model. Biosci.biotechnol.biochem. 2010;74,2299-306.

86. Mykkanen L, Zaccaro DJ, Wagenknecht LE, Robbins DC, Gabriel M, Haffner SM. Microalbuminuria is associated with insulin resistance in nondiabetic subjects: the insulin resistance atherosclerosis study. Diabetes. 1998;47:793-800.

87. Narin F, Atabek ME, Karakukcu M, Narin N, Kurtoglu S, Gumus H, Çoksevim B, Erez R. The association of plasma homocysteine levels with serum leptin and apolipoprotein B levels in childhood obesity. Ann Saudi Med. 2005;25:209-14.

88. Negi AS, Kumar JK, Luqman S, Shanker K, Gupta MM, Khanuja SPS. Recent Advances in PlantHepatoprotectives: AChemical and Biological Proćle of Some Important Leads MedicinalR esearch Reviews. 2008;285:746-72.

89. Nelson DL, Cox MM. Lehninger biyokimyanın ilkeleri. Wisconsin üniversitesi Madison. Palme yayıncılık. 2005;132-44.

90. Novelli EL, Diniz YS, Galhardi CM, Ebaid GM, Rodrigues HG, Mani F, Fernandes AA, Cicogna AC, Novelli Filho JL. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. Lab. Anim. 2007;41:111–19.

91. Ohkoshi E, Miyazaki H, Shindo K, Watanabe H, Yoshida A, Yajima H. 2007. Constituents from the leaves of Nelumbo nucifera stimulate lipolysis in the white adipose tissue of mice. Planta Med. 2007;73:1255–9.

92. Panarotto D, Ardilouce JL, Tessier D, Maheux P. The degree of hyperinsulinemia and impaired glucose tolerance predicts plasma leptin concentrations in women only. Metabolism. 2000;49:1055-62.

93. Pietrangelo A, Montosi G, Garuti C, Contri M, Giovannini F, Ceccarelli D, Masini A. Iron-induced oxidant stress in nonparenchymal liver cells: mitochondrial derangement and fibrosis in acutely iron-dosed gerbils and its prevention by silybin. J Bioenerg Biomembr. 2002;34:67-79.

94. Pradhan SC, Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. Indian J Med Res. 2006;124:491-504.

95. Pradeep K, Mohan CV, Gobianand K, Karthikeyan S. Silymarin modulates the oxidant-antioxidant imbalance during diethylnitrosamine induced oxidative stress in rats. Eur J Pharmacol. 2007;560:110-6.

96. Ramakrishnan G, Jagan S, Kamaraj S, Anandakumar P, Devaki T. Silymarin attenuated mast cell recruitment thereby decreased the expressions of matrix metalloproteinases-2 and 9 in rat liver carcinogenesis. Invest New Drugs. 2009;27:233-40.

97. Rautela, GS, Slater, S, Arvan, DA, Assessment of the need for triglyceride blank measurements, Clin Chem 1973;19:1193-9.

98. Rautela GS, Liedtke RJ. Automated enzymic measurement of total cholesterol in serum, Clin Chem 1978;24:284-8.

99. Retterstol L, Eikvar L, Berg K. A twin study of Creactive protein compared to other risk factors for coronary heart disease. Atherosclerosis. 2003;169:279-82.

100. Reusch JEB: Current Concepts in Insulin Resistance, Type 2 Diabetes Mellitus, and Metabolic Syndrome. Am J Cardiol. 2002;90:19-26.

101. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Plasma concentration of c-Reactive Protein and risk of developing peripheral vascular Disease. Circulation 1998;97:425-8.

102. Rolo AP, Oliveira PJ, Moreno AJ, Palmeira CM. Protection against post-ischemic mitochondrial injury in rat liver by silymarin or TUDC. Hepatol Res. 2003;26:217-24.

103. Saller R, Meier R, Brignoli R. The use of silymarin in the treatment of liver diseases. Drugs 2001;61:2035–63.

104. Saraswat B, Visen PKS, Patnaik GK, Dhawan BN. Effect of andrographolide against galactosamine-induced hepatotoxicity. Fitoterapia. 1995;66:415-20.

105. Schuppan D, Jia J, Brinkhaus B, Hahn EG. Herbal products for liver diseases: A therapeutic challenge for the new millennium. Hepatology 1999;30:1099-104.

106. Sebastian J, Sebestianova SB, Moulisova V. Membrane transport without receptors? The role of cyclosporines and silymarines structures for their interactions with lipids of hepatocyte plasma membrane. Mater Struct. 2004;11:15-7.

107. Shaker E, Mahmoud H, Mnaa S. Silymarin, the antioxidant component and Silybum marianum extracts prevent liver damage. Food and Chemical Toxicology. 2010;48:803-6.

108. Shari SB, Nader R, Paul MR. Highsensitivity C-reactive protein: Clinical importance. Curr Probl Cardiol. 2004;29:439-93.

109. Shaw LM, Stromme JH, London JL, Theodorsen L. IFCC methods for the determination of enzymes part 4. IFCC method for gamma-glutamyl transferase [(gamma-glutamyl)-peptide; amino acid gamma-glutamyl transferase, EC 2.3.2.2], Clinica Chimica Acta 1983: 15F-338F.

110. Sheu WHH, Lee WJ, Chang RL, Chen YT. Plasma tumor necrosis factor alpha levels and insulin sensitivity in hypertensive subjects. Clin Exp Hypertens. 2000;22:595-606.

111. Shi Y, Burn P. Lipid metabolic enzymes: emerging drug targets for the treatment of obesity. Nat Rev Drug Discov 2004;3:695-710.

112. Sinha MK. Human leptin: the hormone of adipose tissue. Eur J Endocrinol.1997;136:461-4.

113. Skottova N, Krecman V, Simanek V. Activities of silymarin and its flavonolignans upon low density lipoprotein oxidizability in vitro. Phytotherapy Research.1999;13:535-7.

114. Skottova N, Veˇceˇra R, Urbánek K, Váˇna P, Walterová D, Cvak L. Effects of polyphenolic fraction of silymarin on lipoprotein profile in rats fed cholesterol-rich diets. Pharmacological Research. 2003;47:17–26.

115. Skottová N, Kazdová L, Oliyarnyk O,Večeřa R, Sobolová L, Ulrichová J. Phenolics-rich extracts from Silybum marianum and Prunella vulgaris reduce a high-sucrose diet induced oxidative stress in hereditary hypertriglyceridemic rats.Pharmacological Research. 2004;50:123-30.

116. Sobolová L, Skottová N, Vecera R, Urbánek K.
Effect of silymarin and its polyphenolic fraction on cholesterol absorption in rats. Pharmacol Res. 2006;53:104-12.

117. Sonnenbichler J, Scalera F, Sonnenbichler I, Weyhenmeyer R. Stimulatory effects of silibinin and silicristin from the milk thistle Silybum marianum on kidney cells. J Pharmacol Exp Ther. 1999;290:1375-83.

118. Soto CP, Mena R, Luna J, Cerbon M, Larrieta E, Vital P, Uria E, Sanchez M, Recoba R, Barron H, Favari LP, Lara A. Silymarin induces recovery of pancreatic function after alloxan damage in rats. Life Sciences.2004;75:2167-80.

119. Sun-o K., Kyung-AH K., Kang-Beom K., Jın-Woo P. and Byung-Hyun P. Silibinin attenuates adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes through a potential upregulation of the insig pathway. İnternational Journal of Molecular Medicine. 2009;23:633-7.

120. Täger M, Dietzmann J, Thiel U, Hinrich Neumann K, Ansorge S. Restoration of the cellular thiol status of peritoneal macrophages from CAPD patients by the flavonoids silibinin and silymarin. Free Radic Res.2001;34:137-51.

121. Terra X, Pallarés V, Ardèvol A, Bladé C, Fernández-Larrea J, Pujadas G, Salvadó J, Arola L, Blay M. Modulatory effect of grape-seed procyanidins on local and systemic inflammation in diet-induced obesity rats. Journal of Nutritional Biochemistry. 2010;48:79-87.

122. Tietz NW. Textbook of Clinical Chemistry, W.B.Saunders Co. Philadelphia, PA. 1994;54-55.

123. Tkac I: Metabolic Syndrome in Relationship to Type 2 Diabetes and Atherosclerosis. Diabetes

Research and Clin Pract. 2005;6851:2-9.

124. Trappoliere M, Federico A, Tuccillo C, de Sio I, Di Leva A, Niosi M, D'Auria M, Loguercio C. Effects of a new pharmacological complex (silybin + vitamin-E + phospholipids) on some markers of the metabolic syndrome and of liver fibrosis in patients with hepatic steatosis. Preliminary study. Minerva Gastroenterol Dietol. 2005;51(2):193-9.

125. Tsai JH, Liu JY, Wu TT, Ho PC, Huang CY, Shyu JC, Hsieh YS, Tsai CC, Liu YC. Effects of silymarin on the resolution of liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats. J Viral Hepat. 2008;15:508-14.

126. Valenzuela A, Lagos C, Schmidt K, Videla LA. Silymarin protection against hepatic lipid peroxidation by acute ethanol intoxication in the rat. Biochem Phramacol. 1985;34:2209-12.

127. Velussi M, Cernigoi AM, De Monte A, Dapas F, Caffau C, Zilli M. Long-term (12 months) treatment with an anti-oxidant drug (silymarin) is effective on hyperinsulinemia, exogenous insulin need and malondialdehyde levels in cirrhotic diabetic patients. Journal of Hepatology.1997;26:871-9.

128. Vengerovskii AI, Khazanov VA, Eskina KA, Vasilyev KY. Effects of silymarin and succinic acid on metabolic disorders in experimental diabetes mellitus. Bull Exp Biol Med. 2007;144:53-6.

129. Von Schonfeld J, Weisbrod B, Muller MK. Silibinin, a plant extract with antioxidant and membrane stabilizing properties, protects exocrine pancreas from cyclosporin A toxicity. Cell Mol Life Sci. 1997;53:917-20.

130. Vrbikova J, Hainer V. Obesity and polycystic ovary syndrome. Obes Facts. 2009;2:26-35.

131. Wallace AM, McMahon AD, Packard CJ, Kelly A, Shepherd J, Gaw A, Sattar N. Plasma leptin and the risk of cardiovascular disease in the west of Scotland coronary prevention study (WOSCOPS). Circulation.2001;104:3052–6.

132. Wang M, Grange LL, Tao J. Hepatoprotective properties of Silybum marianum herbal preparation on ethanolinduced liver damage. Fitoterapia.1996;67:167-71.

133. Warnick GR, Wood PD. National Cholesterol Education Program recommendations for measurement of high-density lipoprotein cholesterol: Executive summary, Clin. Chem. 1995;41:1427-33.

134. Weigle DS. Pharmacological therapy of obesity: past, present, and future. J Clin Endocrinol Metab. 2003;88:2462-9.

135. Weltman MD, Farrell GC, Hall P, Ingelman-Sundberg M, Liddle C. Hepatic cytochrome P450 2E1 is increased in patients with nonalcoholic steatohepatitis. Hepatology.1998;27:128-133.

136. Woods SC, Seeley RJ, Rushing PA, D'Alessio D, Tso P. A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. J Nutr. 2003;133:1081-7.

137. Wu JW, Lin LC, Tsai TH. Drug–drug interactions of silymarin on the perspective of pharmacokinetics. J Ethnopharmacol. 2009;21:185-93.

138. Yenigün M. Altuntaş Y. Her Yönüyle Diabetes Mellitus.2.Baskı.Nobel Tıp Kitabevi 2001;848-9.

139. Yılmaz C. Obezite. Nobel tıp Kitabevi. 1995;134-44.

140. Yun JW. Possible anti-obesity therapeutics from nature. Phytochemistry. 2010;71:1625-41.

141. Zi X, Mukhtar H, Agarwal R. Novel cancer chemopreventive effects of a flavonoid antioxidant

silymarin: inhibition of mRNA expression of an endogenous tumor promoter TNF alpha.Biochem Biophys Res Commun. 1997;239:334-9.

142. Zimmet P, Hodge A, Nicolson M, Staten M, Courten M, Moore J. Serum leptin concentration, obesity and insulin resistance in Western Samoans. BMJ. 1996; 313:965-9.

11. ÖZGEÇMİŞ

26.07.1982 yılında Kayseri'de doğdu. 2000 yılında Dokuz Eylül Üniversitesi Buca Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Öğretmenliği bölümünü kazandı ve 2004 yılında mezun oldu. Aynı yıl Selçuk Üniversitesi Ahmet Keleşoğlu Eğitim Fakültesinde yüksek lisans eğitimine başladı. Yüksek lisans eğitimini 2007 yılında tamamlayıp aynı yıl Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya (Tıp) Anabilim Dalında doktora eğitimine başladı ve halen bu eğitimini sürdürmektedir.