T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK KOLESTEROLLÜ DİYETLE BESLENEN RATLARDA GİNSENGİN TNF-α, LEPTİN VE BAZI SERUM LİPİD PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Mehmet ALTIN

DOKTORA TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof.Dr.Ercan KESKİN

KONYA–2013

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK KOLESTEROLLÜ DİYETLE BESLENEN RATLARDA GİNSENGİN TNF-α, LEPTİN VE BAZI SERUM LİPİD PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Mehmet ALTIN

DOKTORA TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof.Dr.Ercan KESKİN

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 12102002 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA–2013

ÖNSÖZ

Global bir sorun haline gelen obezitenin insan sağlığı üzerine olan olumsuz etkileri yanında tedavisine ve önlenmesine yönelik arayışlar da hız kazanmıştır. Obezite ve hiperlipideminin aterosklerozis gibi kardiyovasküler hastalık risklerini artırdığı bilinmektedir. Kan lipid profilini olumsuz yönde etkileyen obezite ve aşırı yağlı diyetle beslenme serum total lipid, total kolesterol ve trigliserid düzeylerini artırmaktadır. Metabolizmaya olan olumsuz etkilerine bağlı olarak şeker hastalığına zemin hazırlaması en kabul gören sonuçlarındandır. Aterosklerozis arter duvarlarında sadece lipid birikimin pasif bir sonucu olmaktan öte birçok yangısal mediatörün işe karıştığı kompleks olaylar dizisinin bir sonucu olarak gelişmektedir. Bu yangısal faktörler aterosklerozisin neredeyse bütün aşamalarına karışmaktadır. Adipoz dokunun da durağan bir doku olmaktan başka aktif olarak bazı hormon ve sitokinleri ürettiği bilinmektedir. Bu olayların gelişiminde adipoz doku artışına bağlı olarak bu dokulardan salınan TNF-α ve IL-6 gibi proinflamatuar sitokinlerin önemli katkısı olduğu ve yangısal süreci provake ettiği ileri sürülmektedir. Adipoz doku artışından bağımsız olarak hiperlipideminin de aterosklerozise ve diğer metabolik süreçlerin bozulmasına neden olduğu bilinmektedir. Birçok hastalıkta olduğu gibi obezite, hiperlipidemi ve buna bağlı olarak gelişen kardiyovasküler ve metabolik hastalıklarda da bitkisel ürünler en çok başvurulan yöntemler arasındadır. Son yıllarda, bitkisel destek anlamında kullanımı gittikçe yaygınlaşan bitkilerden biri olan ginsengin birçok sistem ve organ fonksiyonu üzerine etkileri konusunda araştırmalar yoğunluk kazanmış olup, bu alanlardan biri de hiperlipidemi üzerine olan etkileridir. Ginsengin kan lipid parametreleri üzerine olan etkileri yanında hiperlipidemi ve buna bağlı olarak gelişebilecek proinflamatuar sitokinlerdeki değişiklikler ile bir adipoz doku göstergesi olan leptinin birlikte ele alındığı çalışmalar sınırlıdır.

Bu projede; insan ve hayvanlarda birçok sistem üzerine olumsuz etkileri olan, insanlar arasında oranı gittikçe artan ve yaşam konforunu düşürmesi yanında önemli patolojilere yol açan obezite ve hiperlipidemiye karşı yararlı etkilerinden bahsedilen ve çeşitli amaçlarla kullanımı yaygınlaşan ginsengin yüksek oranda kolesterol içeren yemle birlikte ratlara verilmesinin bir proinflamatuar sitokin olan TNF-α ile adipoz

doku göstergelerinden leptin ve serum lipid profili üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Doktora tez çalışmamın her aşamasında yanımda olan, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. ERCAN KESKİN'e teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER Sayfa

1. GİRİŞ **1**
1.1. Lipid Metabolizması **2**
1.1.1. Trigliseridler **3**
1.1.2. Fosfolipidler **4**
1.1.3. Kolesterol **4**
1.1.4. Lipoproteinler **5**
1.1.5. Eksojen Lipid Metabolizması **6**
1.1.6. Endojen Lipid Metabolizması **8**
1.1.7. HDL-Kolesterol **10**
1.2. Adipoz Doku Hormonları **13**
1.2.1. Leptin **13**
1.3. Stokinler **17**
1.3.1. TNF-α **17**
Moleküler genetiği **17**
TNF reseptörü ve sinyal transdüksiyonu **18**
İmmun hücreler üzerine etkileri **19**
İnflamasyon **19**
1.4. Ginseng **21**
1.4.1. Botaniği **22**
1.4.2. Tarihsel ve Popüler Kullanımı **22**
1.4.3. Kimyasal Bileşimi **23**
1.4.4. İmmunomodülasyon ve Antiinflamatuar Etki **23**
1.4.5. Kardiyovasküler Etkileri **25**
1.4.6. Kan Lipidleri Üzerine Etkileri **25**
1.4.7. Olumsuz Etkileri ve Güvenlik **27**
2. GEREÇ ve YÖNTEM **28**
2.1. Serum Lipid Profilinin Belirlenmesi **29**
2.2. Plazma TNF- α Düzeyinin Belirlenmesi **29**
2.3. Plazma Leptin Düzeyinin Belirlenmesi **29**
2.4. İstatistik **30**
3. BULGULAR **31**
4. TARTIŞMA **39**

5. SONUÇ ve ÖNERİLER **53**
6. ÖZET **54**
7. SUMMARY **55**
8. KAYNAKLAR **56**
9. EKLER **71**
EK-A: Etik Kurul Kararı **71**
10. ÖZGEÇMİŞ **72**

SİMGELER ve KISALTMALAR

ABC1	ATP-Binding Cassette Protein 1
ABCG5	ATP-Binding Cassette Tarnsporter G5
ABCG8	ATP-Binding Cassette Tarnsporter G8
AgRP	Aguti – Realeted Protein
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
AMPK	AMP-Activated Protein Kinase
Apo	Apolipoprotein
ARC	Arcuate Nucleus
BBB	Blood-Brain Barrier
CART	Cocaine Amphetamine Regulatory Transcript
CCL20	Chemokine (c-c motif) Ligand 20
CETP	Cholesteryl Ester Transfer Protein
COX-2	Cyclooxypenase-2
CREB	CAMP Response Element-Binding Protein
CYP7A1	Cholesterol 7α-Hydroxylase
DMH	Dorsomedial Hypothalamus
FCR	Fractionel Catabolic Rate
FXR	Farnesoid X Receptor
GM-CSF	Granuctye Macrophage - Colony Stimulating Factor
HDL	High Density Lipoprotein
HMG-CoA	3-Hidroxy-3-methylglutaryl-CoenzymeA
HTGL	Hepatic Triglyceride Lipase
IDL	Intermediate Density Protein
LCAT	Lecithin – Cholesterol Acyltransferase
LDL	Low Density Lipoprotein
LDLR	LDL Receptor
LHA	Lateral Hipotalamik Area
LPL	Lipoprotein Lipaz
LPS	Lipopolysaccharide
LXR	Liver X Receptor
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinases
M-CSF	Macrophage Colony-Stimulating Factor
MPOA	Medial Preoptic Area
NF-κB	Nuclear Factor-κ Beta
NO	Nitric Oxide
NPY	Nöropeptit Y
PAF	Platelet Activation Factor
PAI-1	Plazminojen Aktivatör Inhibitor-1
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cell
POMC	Proopiomelanocortin
PPAR	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor
SHP-1	Short Heterodimer Partner-1

SOCS-3	Suppressor Cytokine Signal-3
SR-BI	Scavenger Receptor Class-B Member1
SREBP	Sterol Regulatory Element-Binding Protein
STAT-3	Signal Transducer and Activator of Transcription -3
TACA	TNF-α Converting Activity
TACE	TNF-α Converting Enzyme
TNF	Tumor Necrosis Factor
TPA	12-O-Tetradekanoilforbol-13-Asetat
t-PA	Tissue-Plasminogen Activator
VLDL	Very Low Density Protein
VMH	Ventromedial Hypothalamus

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1.	Rat Yemi İçeriği (%)	**28**
Çizelge 3.1.	Tüm gruplara ait 20. ve 40. gün serum lipid profili, TNF-α ve Leptin düzeyleri	**31**

ŞEKİL LİSTESİ Sayfa

Şekil 1.1.1.	Plazma Lipidleri	**3**
Şekil 1.1.3.1.	Kolesterol Biyosentezi	**5**
Şekil 1.1.5.1.	Eksojen Lipid Metabolizması	**7**
Şekil 1.1.6.1.	Endojen Lipid Metabolizması	**9**
Şekil 3.1.	20. gün serum total kolesterol, LDL, HDL ve trigliserid düzeyleri	**31**
Şekil 3.2.	20. gün plazma leptin düzeyleri	**32**
Şekil 3.3.	20. gün plazma TNF-α düzeyleri	**32**
Şekil 3.4.	40. gün serum total kolesterol, LDL, HDL ve trigliserid düzeyleri	**33**
Şekil 3.5.	40. gün plazma leptin düzeyleri	**33**
Şekil 3.6.	40. gün plazma TNF-α düzeyleri	**34**
Şekil 3.7.	Kontrol grubu 20 ve 40. gün serum total kolesterol, LDL, HDL ve trigliserid düzeyleri	**34**
Şekil 3.8.	Kontrol grubu 20 ve 40. gün plazma leptin düzeyleri	**35**
Şekil 3.9.	Kontrol grubu 20 ve 40. gün TNF-α düzeyleri	**35**
Şekil 3.10.	Kolesterol grubu 20 ve 40. gün serum total kolesterol, LDL, HDL ve trigliserid düzeyleri	**36**
Şekil 3.11.	Kolesterol grubu 20 ve 40. gün plazma leptin düzeyleri	**36**
Şekil 3.12.	Kolesterol grubu 20 ve 40. gün plazma TNF-α düzeyleri	**37**
Şekil 3.13.	Kolesterol+ginseng grubu 20 ve 40. gün serum total kolesterol, LDL, HDL ve trigliserid düzeyleri	**37**
Şekil 3.14.	Kolesterol+ginseng grubu 20 ve 40. gün plazma leptin düzeyleri	**38**
Şekil 3.15.	Kolesterol+ginseng grubu 20 ve 40. gün plazma TNF-α düzeyleri	**38**

1. GİRİŞ

Besin alınımı ve vücut ağırlığının kontrolü, merkezi sinir sistemi ve özellikle hipotalamus nükleuslarınca salınan nöropeptitler ile gastrointestinal kanal ve adipoz dokudan kaynaklı peptitlerle ayarlanan kompleks bir olaydır (Stanley ve ark 2005). Normal beslenme alışkanlıklarının değişmesi bu kontrol mekanizmalarının etkinliğini değiştirebildiği gibi adı geçen merkez ve dokulardan salınan mediatörlerin genetik veya mutasyonel değişimleri de besin alınımının artması ya da azalmasına sebep olabilmektedir (Stanley ve ark 2005). Hiperlipidemi, obezite, diyabet, hipertansiyon ve diğer kardiyovasküler hastalıklar dünya genelinde gittikçe yaygınlaşan, yaşam konforunu düşüren ve yüksek oranda mortaliteye yol açan hastalıklar olarak dikkati çekmektedir (Gerenli ve ark 2008, Xiong ve ark 2010). Hemen hemen bütün yaş gruplarında görülen ve pandemik bir hal alan adı geçen patolojilerin gelişimi sedanter yaşam, yüksek yağlı diyetler, fast food tarzı beslenme stili, alkol, psikolojik problemler, eğitim düzeyi, cinsiyet ve genetik faktörlere bağlanmaktadır (AGA 2002, Schröder ve ark 2007). Bunlar arasında yer alan hiperlipidemi ya da hiperkolesterolemi obeziteye bağlı olarak sıklıkla görülebildiği gibi vücut yağ oranı ya da vücut ağırlığı normal bireylerde de karşılaşılan bir durumdur. Nedeni ne olursa olsun, hiperkolesterolemi ve hiperlipideminin gelişimi bütün organ sistemlerini etkileyen birçok olumsuz sonuçları da beraberinde getirmektedir. Bunlar arasında başta kardiyovasküler sistem hastalıkları olmak üzere diyabet, gastrointestinal bozukluklar, yağlı karaciğer ve kanser gibi birçok hastalık kan lipidlerindeki anormalite ile ilişkilendirilmiştir. Obezite ve hiperkolesterolemi bu etkilerini çeşitli metabolik süreçlere olumsuz yönde etki yaparak göstermektedir (AGA 2002).

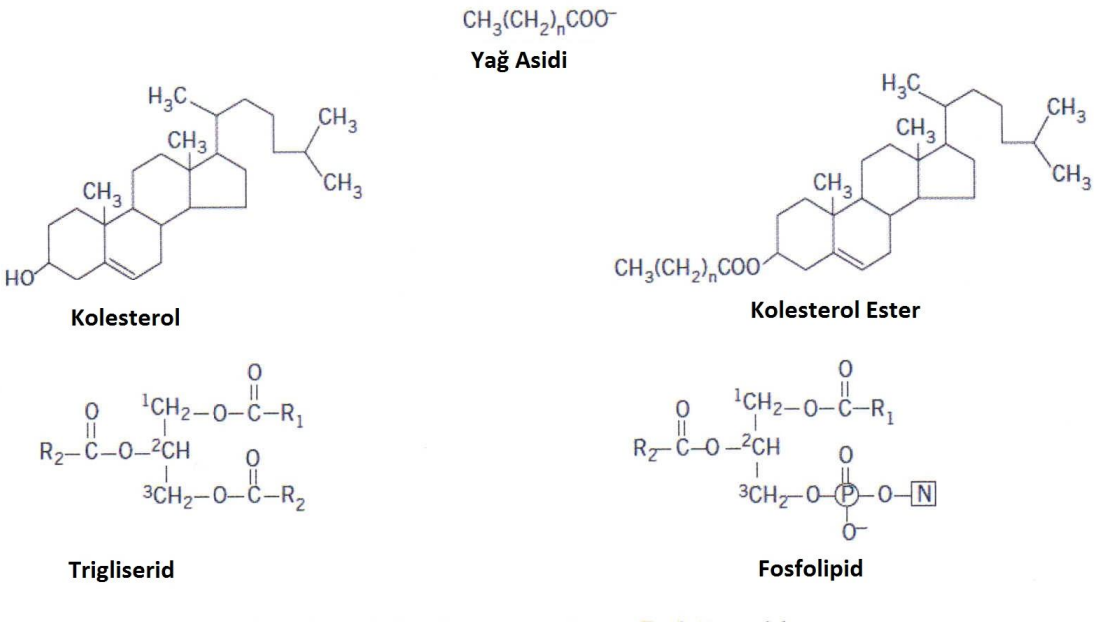
Birçok kan parametresini olumsuz yönde etkileyen obezite ve aşırı yağlı diyetlerle beslenmenin total lipid, total kolesterol, trigliserid düzeylerini artırdığı bildirilmektedir (Ismail ve ark 1999, Joo ve ark 2010). Diğer yandan, insülin rezistansı ve kan glikoz düzeylerindeki artışlar da vücut yağ oranı ve kan lipid düzeylerindeki artışlara bağlı olarak sık görülen olumsuz değişiklikler arasında bilinmektedir (Yun ve ark 2004, Wang ve ark 2006). Ayrıca fizyolojik olarak aktif olan vücut yağ dokusu oranındaki artış bu dokulardan salınan leptin, adiponektin, vaspin gibi peptitlerin artışına yol açarken bu dokularda üretilen bazı proinflamatuar

sitokinlerde de artış görülmektedir (Kim ve ark 2005, Stanley ve ark 2005, Li ve ark 2008).

1.1. Lipid Metabolizması

Lipidler biyolojik yaşamın her alanında kritik rol oynarlar. Hücrelerin yapısal unsurları oldukları gibi metabolik ve hormonal yollarla da yakından ilişkilidirler. Lipid metabolizmasına ilişkin bozukluklar her zaman dikkatle ve önemle ele alınmalıdır. Lipid profilindeki bozuklukların klinik olarak başta aterosklerozis olmak üzere koroner kalp hastalıkları ile yakından ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu tür bozukluklar özellikle kentsel popülasyonlarda yaygın ölüm sebeplerindendir (Chapman ve ark 2011). Aterosklerotik lezyonlar arter duvarı düz kasları ve endotelyumuna zarar veren çeşitli durumlara yanıt olarak gelişen aşırı yangısal fibroproliferatif olaylardan kaynaklanır (Libby 2002). Bu olayların başlangıcında damar endotelinde lipidlerin ilerleyici depolanmasını takiben inflamatuar süreçlerin tetiklenmesi yatmaktadır (Joo ve ark 2010). Genel olarak aterosklerozis arteriyel duvarın normal hücresel yapısı ile monosit kökenli makrofajlar, T hücreleri ve modifiye lipoproteinler arasındaki etkileşimden kaynaklanan kronik bir yangı türü olarak değerlendirilir (Navab ve ark 1996, Ross 1999, Steinberg ve Witztum 1999). Nitekim hiperlipideminin C-reaktif protein ve TNF-α ile yakından ilişkili olduğu ve hiperlipideminin tetiklediği yangısal süreçlere karşı antiinflamatuar uygulamanın etkin olabileceği ileri sürülmektedir (Micallef ve Garg 2009). İnflamatuar yanıtın hiperlipidemiden bağımsız olarak da aterosklerozisin başlangıç semptomları ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Ridker ve Silvertown 2008). Bu yangısal süreç sonuç olarak arteriyel lümenin içerisine doğru çıkıntı oluşturan kompleks lezyon ya da plakların gelişimine yol açabilmektedir. Plak rupturu ve trombozis felç ya da myokart enfarktüsü gibi akut klinik komplikasyonlarla sonuçlanabilmektedir (Navab ve ark 1996, Ross 1999, Steinberg ve Witztum 1999). Buna ilişkin birçok genetik ve çevresel risk faktörleri epidemiyolojik çalışmalarla belirlenmiştir. Bilinen risk faktörlerinin yokluğunda bile tek başına serum kolesterol seviyesinin yüksekliği insan ve hayvanlarda aterosklerozis gelişimine yol açabilen bir sebep olarak değerlendirilmektedir (Goldstein ve Brown 1977).

Plazma lipid metabolizmasının patofizyolojisi genellikle lipoprotein kavramı üzerine dayandırılmaktadır. Lipoproteinler lipidlerin plazmada sirküle olmasına aracılık eden yapılardır. Plazma lipidlerinin dört ana formu trigliserid, kolesterol, kolesterol ester ve fosfolipidlerdir. Bu lipid kompleksleri plazma proteinlerine (lipoprotein) bağlı olarak taşınırlar. Ayrıca plazmada yağ asitleri de mevcuttur ve genellikle albumine bağlı olarak taşınmaktadırlar. (Ginsberg ve ark 2005)



Şekil 1.1.1. Plazma Lipidleri

1.1.1. Trigliseridler

Trigliserid (triasilgliserol), gliserol (gliserin) ve üç yağ asidinden oluşan bir esterdir. Bitkisel ve hayvansal yağların ana bileşenidir. Doğal trigliseridlerde rastalanan yağ asitlerinin zincir uzunlukları 3 ila 22 karbon atomu uzunluğu arasında değişebilmekle beraber 16 ve 18 karbon atomu en yaygın uzunluktur. Bazı maddelerde daha kısa zincirler de olabilmektedir (tereyağdaki 4 karbonlu butirik asit gibi) (Ganong 2005).

Trigliseridler enerji kaynağı olarak metabolizmada önemli rol oynarlar. Karbohidratlar ve proteinlerin iki katı enerji sağlarlar (9 kalori/gram). İnce barsakta trigliseridler, lipaz enzimleri ve safranın etkisiyle gliserol ve yağ asitlerine ayrışırlar,

bunlar da kana geçerler (Ganong 2005). Kanda, gliserid ve yağ asitlerinin bir araya gelmesiyle trigliseridler tekrar oluşurlar ve lipoproteinlere katılırlar. Lipoproteinler, diğer işlevlerinin yanı sıra, yağ hücreleriyle diğer hücreler arasında (trigliserid moleküllerinin parçası olarak) yağ asitleri taşımaya da yararlar. Vücuttaki çoğu hücre, gereksinimlerine bağlı olarak yağ asitlerini ya salgılar veya içine alır. Yağ hücreleri ayrıca trigliseridleri sentezleyip depolama yetenegine sahiptirler. Enerji kaynağı olarak yağ asitlerine ihtiyaç duyulduğunda lipaz enzimi trigliseridleri yağ asitlerine parçalamaktadır (Crook 2012).

İnsan vücudunda kanda yüksek trigliserid seviyesi ile ateroskleroz ve dolayısıyla koroner kalp hastalıkları ve felç arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Ancak bu ilişkinin LDL/HDL-kolesterol oranının olumsuz etkisi kadar yüksek olmadığı bildirilmektedir. HDL-kolesterol düzeyleri ile trigliserid düzeyleri arasındaki ters ilişki, yüksek trigliseridin taşıdığı riski kısmen açıklamaktadır. Yüksek trigliseridin yol açtığı hastalıklar arasında pankreatit de bulunmaktadır (Brinton ve ark 1991, Chapman ve ark 2011).

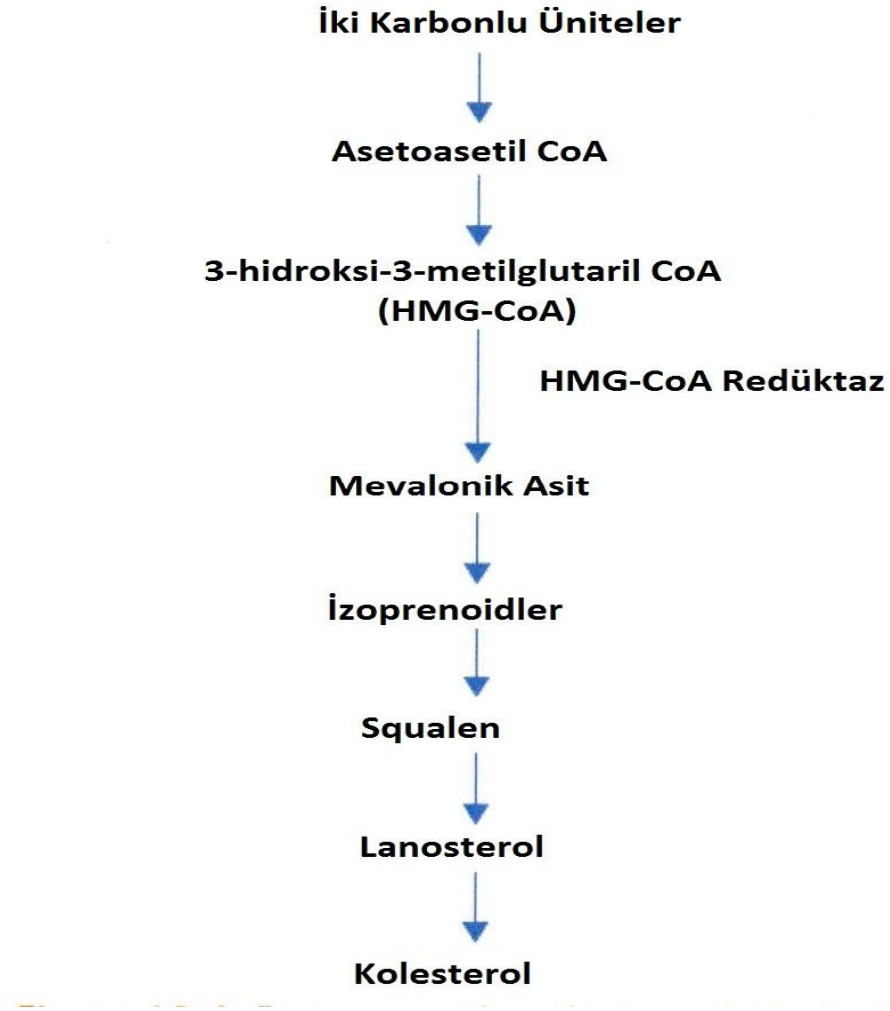
1.1.2. Fosfolipidler

Fosfolipidler, bir veya iki yağ asidi grubu, negatif yüklü bir fosfat grubu, bir alkol grubu ve bunları birbirine bağlayan bir omurga olmak üzere dört bileşenden oluşurlar. Gliserol omurgalı fosfolipidlere gliserofosfolipid veya fosfogliserid denilirken, sfingomiyelin ise sfingozin omurgalı tek fosfolipiddir. Hücre membranlarının ana bileşenleri fosfolipidler, kolesterol ve glikolipidlerdir (Ganong 2005).

1.1.3. Kolesterol

Kolesterol insan ve hayvanların bütün hücrelerinde bulunan ve yaşamsal öneme sahip olan bir steroid alkoldür. Steroid hormonlar ve safra asitleri de dahil fizyolojik öneme sahip çok sayıda steroidin yapısal unsurudur. Kolesterol sentez hızını sınırlayan enzim 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A redüktaz (HMG-CoA redüktaz)'dır. Bu enzimin aktivasyonu hücre içi kolesterol konsantrasyonunca negatif feedback yolu ile kontrol edilir. Plazma kolesterolünün üçte ikisi yağ asitleri

ile esterifiye olmuş kolesterol ester formundadır (Qureshi ve ark 1983, Angelin ve ark 1987, Reihner ve ark 1990).



Şekil 1.1.3.1. Kolesterol Biyosentezi

1.1.4. Lipoproteinler

Lipidler sıvı ortamda nispeten az çözündüklerinden vücut sıvılarında lipoproteinler olarak adlandırılan küresel, çözünebilir protein kompleksleri halinde taşınırlar. Lipidler dışarıdan besinlerle alınabildikleri gibi vücutta da sentezlenebilmektedirler. Proteinlerin suda çözünebilir (polar) grupları, fosfolipidler ve serbest kolesterol dış yüzeye dönüktürler ve içteki çözünmeyen kolesterol ester ve trigliseridlerin de etrafını kaplarlar (Chapman ve ark 2011, Crook 2012).

Lipoproteinler dansitelerine göre sınıflandırılırlar, dansiteleri ile büyüklükleri ters orantılıdır. Daha büyük lipid/protein oranına sahip olanlar daha büyük hacimli ve daha küçük dansitelidirler. Lipoproteinler beş ana grupta sınıflandırılırlar. İlk üçü trigliseridlerce zengin ve bu yüzden de hacimleri büyüktür ve yüksek konsantrasyonda olduklarında plazmaya lipemik (bulanık) görüntü verirler (Ehnholm 2009, Crook 2012).

1) Şilomikronlar en büyük hacme en küçük dansiteye sahip lipoproteinlerdir. Bunlar eksojen lipidleri bağırsaklardan bütün hücrelere taşırlar.

2) Çok aşağı dansiteli lipoproteinler (very low density lipoprotein, VLDL) endojen lipidleri karaciğerden hücrelere taşırlar.

3) Orta dansiteli lipoproteinler (indermediate density lipoprotein, IDL) geçici ara form olup, VLDL'nin LDL'ye dönüşümü esnasında şekillenirler ve normal olarak plazmada bulunmazlar.

Lipoproteinlerin diğer iki sınıfı ise başlıca kolesterol içeren ve daha küçük hacme sahip olan lipoproteinlerdir.

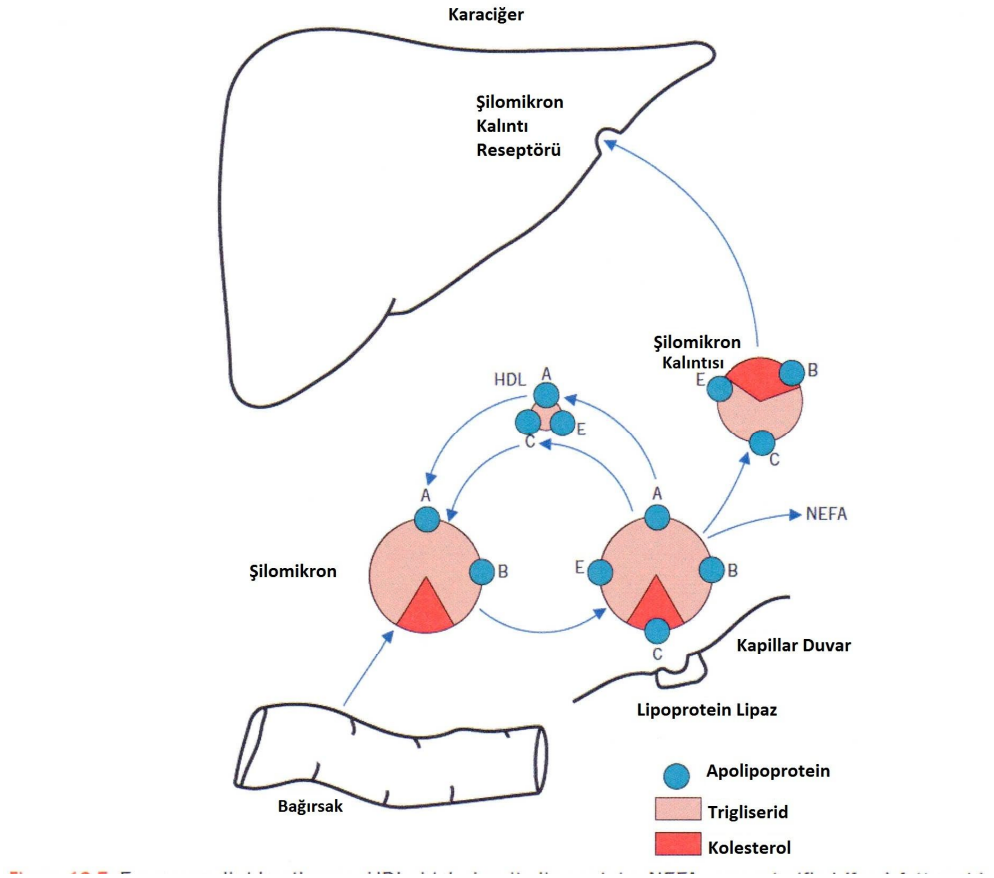
4) Aşağı dansiteli lipoproteinler (low density lipoprotein, LDL) VLDL'den oluşur ve hücrelere kolesterol taşırlar.

5) Yüksek dansiteli lipoproteinler (high density lipoprotein, HDL) en yüksek dansiteye sahip lipoproteinlerdir ve kolesterolü hücrelerden tekrar karaciğere taşımakla görevlidirler. (Chapman ve ark 2011, Crook 2012)

1.1.5. Eksojen Lipid Metabolizması

Safra yardımı ile sindirilen besinlerdeki yağlardan salınan kolesterol ve yağ asitleri bağırsak mukoza hücrelerince absorbe edilir. Burada kolesterol esterleri ve trigliseridleri şekillendirmek üzere reesterifiye edilirler. Bunlar Apolipoprotein A (apoA), Apolipoprotein B (apoB) ve fosfolipidlerle birlikte şilomikronlar halinde lenfatik sisteme salınırlar. Bu sekresyon apoB48'e bağlıdır (Mahley 1996, Chapman ve ark 2011). Bu şilomikronlar torasik kanal vasıtası ile sistemik sirkülasyona girerler. Apolipoprotein C (apoC) ve Apolipoprotein E (apoE)'nin her ikisi HDL'den elde edilirler. Bu apolipoproteinler lenf ve plazma içerisinde şilomikronlara

eklenirler. Lipoprotein lipaz enzimi kapillar duvarda lokalize olmuştur. Bu enzim apoC2 tarafından aktive edilirken, apoC3 tarafından inhibe edilmektedir. Lipoprotein lipaz enzimi trigliseridleri yağ asitleri ve gliserole hidrolize etmektedir (Mahley 1996, Kwiterovich 2000). Yağ asitleri adipoz doku ya da kas hücreleri tarafından alınırlar veya plazmada albumine bağlı olarak taşınırlar. Gliserol ise hepatik glikolitik yola girer. Şilomikron partikülleri sirkülasyonda kaldıkları bu kısa süre içerisinde gittikçe küçülürler ve fosfolipidlerle birlikte bazı apoA ve apoC moleküllerini salarlar ve daha sonra bu moleküller HDL-kolesterol partiküllerine katılırlar. Kolesterol, apoB ve apoE bakımından zengin olan bu şilomikronlar daha sonra hızlı bir şekilde apo E ligandını tanıyan hepatik LDL-reseptör ile ilişkili proteine bağlanırlar (Watson ve Barrie 1993, Chapman ve ark 2011). Hepatik hücrelerde kolesterol kullanılır ve apolipoproteinler katabolize edilirler. Böylece eksojen yol sonuç olarak trigliseridleri adipoz doku ve kaslara, kolesterolü ise karaciğere taşımış olur (Kwiterovich 2000, Fisher 2010, Chan ve Watts 2011).



Şekil 1.1.5.1. Eksojen Lipid Metabolizması

1.1.6. Endojen Lipid Metabolizması

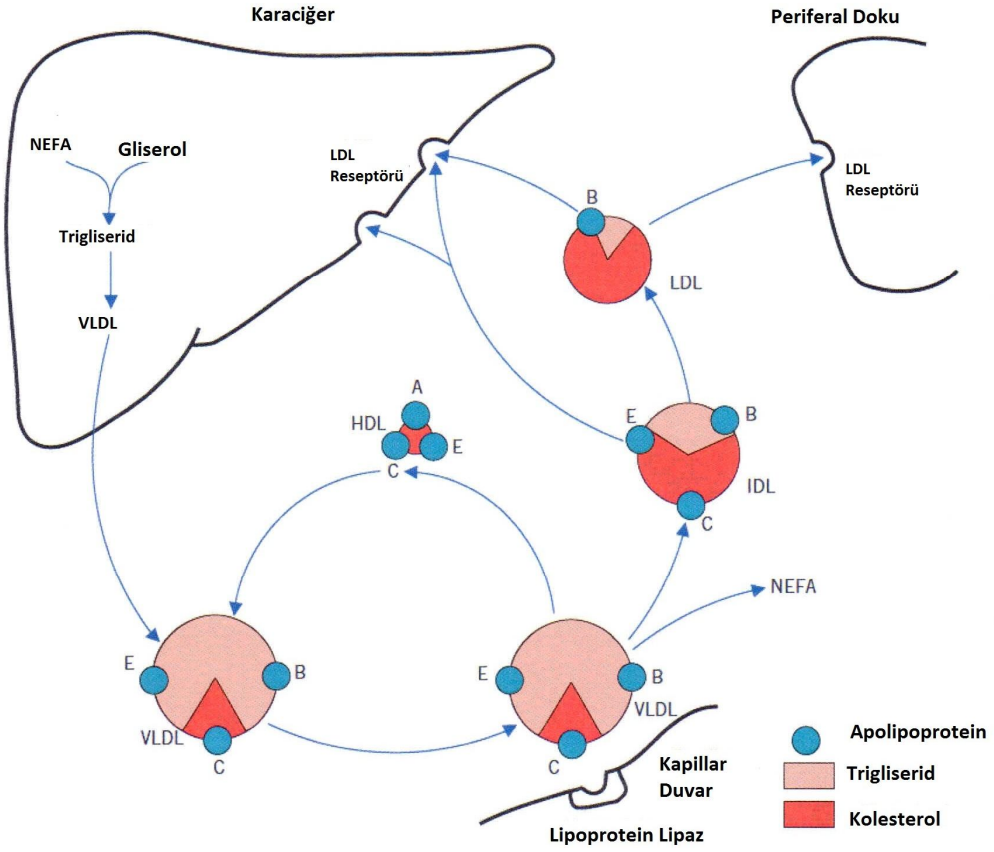
Endojen lipid metabolizmasının başlıca kaynağı karaciğerdir. Trigliseridler, yağ asitleri ve gliserolden sentezlenirler. Yağ asitleri yağ depolarından, gliserol ise glikozdan temin edilir. Hepatik kolesterol hem eksojen yolla şilomikron kalıntılarından hem de lokal olarak sentez yolu ile oluşturulur. Bu lipidler karaciğerden VLDL-kolesterol olarak transfer edilirler (Chapman ve ark 2011, Crook 2012).

VLDL-kolesterol bol miktarda trigliserid ve aynı zamanda apoB100, apoC ve apoE içerir. Hepatik sekresyonu takiben sirkülasyondaki HDL-kolesterol partiküllerinden de apoC alır. Şilomikronlar gibi VLDL-kolesterol çok yavaş da olsa periferal dokularda lipoprotein lipaz tarafından hidrolize edilmektedir. Sonuçta oluşan VLDL kalıntısı ya da IDL kolesterol ve trigliserid yanında apoB ve apoE içerirler ve karaciğer tarafından hızlı bir şekilde alınırlar ya da hepatik lipaz tarafından apoE ve trigliseridlerini kaybederek LDL-kolesterole dönüştürülürler (Watson ve Barrie 1993, Lassel ve ark 1999).

LDL-kolesterol sadece apoB içeren kolesterolce zengin küçük lipoprotein türüdür. Total plazma kolesterol konsantrasyonunun yaklaşık %70'ini oluştururlar. LDL-kolesterol başta karaciğer olmak üzere apoB'yi tanıyan ve bağlayan B/E reseptörler vasıtasıyla pek çok hücre tarafından alınabilmektedir. Hücre içindeki LDL-kolesterol partikülleri lizozomlar tarafından parçalanarak kolesterol salarlar. Bu kolesterol hücre membranlarının yapısına girdiği gibi adrenal korteks ve gonadlar gibi spesifik dokularda steroid sentezinde kullanılırlar (Hobbs ve ark 1992, Alaupovic ve ark 1997, Ginsberg 2002).

Çoğu hücrede kolesterol sentezlenebilmekle birlikte, intraselüler kolesterol birikimini önlemek için LDL-kolesterol reseptörlerinin sentez hızını azaltan bir feedback kontrol sistemi bulunmaktadır. Plazma LDL-kolesterol miktarının çoğu LDL-kolesterol reseptörleri aracılığıyla alınmasına rağmen, plazma kolesterol konsantrasyonu çok fazla ise küçük boyutlarından dolayı pasif difüzyon ile dokulara diffüze olabilmekte, hatta arter duvarlarında ateroma şekillenmesinde olduğu gibi hasara yol açabilmektedirler. LDL-kolesterolün ortadan kaldırılması için alternatif

bir yol da okside LDL-kolesterolü ya da kimyasal olarak modifiye LDL-kolesterolü tanıyan ve kollektif olarak çöpçü hücre yolu adı verilen retiküloendotelyal sistemdir (Chapman ve ark 2011, Crook 2012).



Şekil 1.1.6.1. Endojen Lipid Metabolizması

Karaciğer kolesterol metbolizmasında merkezi bir rol oynar:

1. Çok sayıda LDL-kolesterol reseptörü içerir,
2. Endojen kolesterol sentezinin çoğundan sorumludur,
3. Lipoproteinler vasıtası ile besinlerdeki kolesterolü alır,
4. Safra yolu ile vücuttaki kolesterol ekskre edilir (Nguyen ve ark 2008, Crook 2012).

Kolesterol hız limitleyici bir enzim olan HMG-CoA redüktaz enzimi tarafından bir seri enzimatik reaksiyonla sentezlenmektedir (Joo ve ark 2010). Kolesterol sentezinin aşırı olduğu durumlarda bu enzimin supresyonu meydana gelebilmektedir. Bu sürece ilişkin olarak sterol regülatör element-bağlayıcı protein

(SREBP) adı verilen bir transkripsiyon-regüle edici protein ailesi vardır (Nguyen ve ark 2008). İntreselüler kolesterol birikimi hepatik LDL-kolesterol reseptör sayısını azaltmakta ve bu yüzden LDL-kolesterolün hücre içerisine girişi azalarak plazma konsantrasyonu yükselmektedir. Bununla birlikte eğer diyetle kolesterol alımı fazla ise intraselüler birikim yine de devam edebilmektedir. Diyetteki kolesterol %30-60 oranında absorbe edilebilmektedir (Connor ve Lin 1974, Barona ve Fernandez 2012). Diyet sature yağlardan zengin ise bu miktar artabilmektedir. Sature yağlarca zengin diyetler aynı zamanda LDL-kolesterol reseptör aktivitesini baskılayabilmektedir. Bu olay kolesterol metabolizmasını diyetteki kolesterolden daha çok etkilemektedir (Crook 2012).

Vücuttaki kolesterolün büyük bir bölümü endojen olarak üretilir. Bu miktar 70 kg. (kilogram) bir insanda yaklaşık 1 gr. (gram)'dır. Beslenme şekline ve diyetin kompozisyonuna bağlı olarak besinlerle alınan miktar yaklaşık 200-300 mg. (miligram) olarak ifade edilmektedir. Kolesterolce en zengin kaynaklar yumurta sarısı, süt ürünleri ve kırmızı ettir. Vücut kolesterolünün net kaybı safra ekskresyonu yolu ile olmaktadır. Bazı safra tuzları bağırsak lümeninden tekrar absorbe edilmekte ve enterohepatik sirkülasyon ile tekrar karaciğere dönmektedirler. Bu yolun kesintiye uğraması kolesterolün safra tuzlarına dönüşümünü artırarak hepatik kolesterol depolarını azaltmakta, LDL-kolesterol reseptörlerini ise artırmaktadır. LDL-kolesterol reseptör sentez hızı tiroksin ve östrojenler tarafından artırılmakta, yaş ile ise azalmaktadır (Crook 2012).

1.1.7. HDL-Kolesterol

Karaciğer dışı hücrelerden kolesterolün karaciğere taşınması HDL-kolesterol partikülleri aracılığı ile olmaktadır. Bu süreç ters kolesterol transportu olarak adlandırılmaktadır. HDL-kolesterol hem hepatik hem de intestinal hücreler tarafından sentezlenir ve serbest kolesterol, apoA, apoE ve fosfolipidlerden zengin HDL-kolesterol partikülleri buralardan salınmaktadır (Chapman ve ark 2011, Eren ve ark 2012). Bu kolesterol kazancı adenozin trifosfata-bağımlı cassette protein 1 (ABC1) tarafından stimüle edilmektedir (Hegele 2009). Plazma VLDL-kolesterol ya da şilomikron seviyeleri düşük ise apoC HDL-kolesterol ile de taşınmaktadır, fakat bu lipoproteinlerin plazma konsantrasyonu yüksek olduğunda bu partiküller HDL-

kolesterolden apoC'yi alırlar (Kwiterovich 2000, Eren ve ark 2012). Buna ek olarak, HDL-kolesterol VLDL-kolesterol ve şilomikronların yüzeylerindeki kısımlardan da şekillenebilmektedir. Östrojenler dahil birçok faktör HDL-kolesterol sentezini kontrol etmektedir. Bu durum menstural dönemdeki kadınların erkeklerden ya da menepozal kadınlardan niçin daha yüksek plazma HDL-kolesterol konsantrasyonuna sahip olduğunu açıklamaktadır (Eren ve ark 2012).

Lesitin-kolesterol asiltransferaz (LCAT) enzimi HDL-kolesterolde bulunur ve serbest kolesterolün esterifiye olmasını katalize eder ve HDL-kolesteroller için predominant olan apoA1 tarafından aktive edilmektedir. Bazı HDL-kolesterol partikülleri aynı zamanda apoA2 de içerirler. Bu esterifiye kolesterolün çoğu LDL-kolesterol, VLDL-kolesterol ve şilomikron kalıntılarına transfer edilirler ve böylece nihayi olarak karaciğere ulaşırlar (Chapman ve ark 2011). Bunların bir kısmı HDL-kolesterol içerisinde depo edilebilmekte ve doğrudan karaciğere götürülmektedir. Kolesterol ester transfer protein (CETP) bu süreçte görevlidir (Kwiterovich 2000, Chapman ve ark 2011, Eren ve ark 2012).

HDL-kolesterol partikülleri pre-β (prekürsör) HDL-kolesterol, HDL2-kolesterol ve HDL3-kolesterole ayrılabilmektedir. HDL3-kolesterolün prekürsörü ve daha büyük olan HDL2-kolesterol partikülleri hepatik lipaz ve LCAT etkileri aracılığı ile HDL3-kolesterol tarafından kolesterol alımının bir sonucu olarak birbirine dönüşebilmektedir (Crook 2012).

HDL-kolesterol antioksidan role sahip olduğu düşünülen paroksanaz dahil diğer bazı enzimleri de içermektedir. Ovaryumlar, testisler, adrenal bezler gibi steroidojenik dokular ve karaciğerde murine class B type I scavenger reseptör (SR-BI) adı verilen özel reseptörler bulunmakla birlikte, HDL-kolesterolün ortadan kaldırılması endositozis yolu ile olmaktadır. Böylece HDL-kolesterolden köken alan kolesterol karaciğerde boşaltılabilmekte ve safra yolu ile sekrete edilebilmekte ya da steroid sentezi için kullanılmaktadır (Kwiterovich 2000, Eren ve ark 2012).

Hipertrigliseridemide VLDL-kolesterol konsantrasyonunda artış görülmektedir. Hepatik lipaz etkisi altında HDL-kolesterol trigliseridlerce aşırı yüklenmiş hale gelir ve apoA1 kaybı ile birlikte boyutlarını azaltarak HDL-

kolesterolün konsantrasyonu düşmektedir. Böylece, hipertrigliseridemide plazma HDL-kolesterol konsantrasyonu ile plazma trigliserid konsantrasyonu arasında sıklıkla ters bir ilişki görülür (Brinton ve ark 1991).

HDL-kolesterol, sadece periferal dokulardaki kolesterolün kaldırılmasına yardım eden ters kolesterol transport sisteminden dolayı değil aynı zamanda aterosklerotik plak stabilitesini artıran LDL-kolesterol oksidayonunu önleyen ve vasküler endotelyumun bütünlüğünü koruyan mekaznimalardan dolayı da kardiyoprotektiftir (Brinton ve ark 1991, Glass ve Witztum 2001, Mineo ve ark 2006).

Plazma HDL-kolesterolünün 1 milimol/Litre (mmol/L)'den az olduğu durumlar kardiyovasküler risk artışını ifade eder ve HDL-kolesterol düzeyi sigarayı bırakmak, düzenli egzersiz ve kilo kaybı gibi yaşam tarzındaki çeşitli değişikliklerle artırılabilmektedir. HDL-kolesterol ölçümleri düşükse fibrat içeren ilaçlar (fibrik asit derivatları) ya da nikotinik asit kullanılmaktadır. Düşük HDL-kolesterol konsantrasyonları tip II diyabet, obezite ve metabolik sendrom ile ilişkili bulunmuştur. Plazma non-HDL-kolesterol konsantrasyonu LDL-kolesterolden kardiyovasküler riski gösterme açısından daha yararlı görülmektedir (Chapman ve ark 2010, Chapman ve ark 2011).

LDL-kolesterol reseptörlerinin ekspresyonu intraselüler kolesterol seviyesi tarafından kontrol edilen feedback mekanizmasına bağlıdır. Düşük intraselüler kolesterol düzeyleri SREBP transkripsiyon faktör aktivasyonuna yol açarak LDL-kolesterol reseptör geni ve kolesterol biyosentezi ile ilgili diğer genlerin transkripsiyonunu stimüle ettiği bildirilmektedir (Brown and Goldstein 1997, Glass ve Witztum 2001). Statinler endojen kolesterol biyosentezi için sınırlayıcı enzim olan HMG-CoA redüktazın inhibisyonu ile indirekt olarak dolaşımdaki kolesterol seviyesini düşürürler. İntraselüler kolesterol düzeyindeki bu azalma SREBP'nin aktivasyonuna, LDL-kolesterol reseptörlerinin upregülasyonuna ve sirkülasyondaki LDL-kolesterol seviyesini düşüren LDL-kolesterolün plazma yıkım klirensinin artmasına neden olur (Glass ve Witztum 2001).

LDL-kolesterol reseptör genlerinin ve apo E'nin bozulması ile farelerdeki insan apoB geninin aşırı ekspresyonu VLDL-kolesterol ve/veya LDL-kolesterol seviyesinde belirgin artışlarla sonuçlandığı bildirilmektedir. Bazı hayvanlar kolesterolce zengin yemlerle beslendiklerinde plazma kolesterol seviyesi oldukça artırılabilmekte ve hatta 1500-2000 mg/dl (miligram/desilitre) düzeylerinin de üzerine ulaşabilmektedir (Smithies ve Maeda 1995, Breslow 1996). Fareler normalde aterosklerosiz gelişimine dirençli olmalarına rağmen, bu genetik kombinasyon ve diyet manüplasyonları yoğun hiperkolesterolemiye neden olarak insan lezyonlarıyla bir çok ortak özelliğe sahip aort boyunca meydana gelen şiddetli aterosklerotik hastalıklara yol açmaktadır (Glass ve Witztum 2001).

1.2. Adipoz Doku Hormonları

1.2.1. Leptin

Adipoz doku sadece enerji depolamaya yönelik durağan bir doku olarak düşünülmesine rağmen, şimdi aktif bir endokrin organ olduğu kabul görmektedir. Bu dokunun en önemli hormonlarından biri leptindir. Bir peptit hormon olan leptin, enerji homeostazisi ile nöroendokrin sistem ve immun fonksiyon üzerine birçok etkiye sahiptir. Leptin gastrik epitelyum (Bado ve ark 1998) ve plasentada (Masuzaki ve ark 1997) düşük seviyelerde olmak üzere adipozitlerde (Zhang ve ark 1994) predominant olarak ekspire edilen ob geninin bir ürünüdür. Dolaşımdaki leptin düzeyinin vücudun enerji depoları ve akut enerji dengesini yansıttığı ve plazma leptin düzeyi ile adipoz doku kütlesi arasında sıkı bir ilişki olduğu bildirilmektedir (Maffei ve ark 1995). Besin kısıtlaması dolaşımdaki leptinin baskılanması ile sonuçlanırken, insülin uygulaması ya da yeniden besleme ile tekrar normal düzeylere döndürülebilmektedir (Frederich ve ark 1995, Maffei ve ark 1995). Sentral ve periferal olarak ekzojen leptin uygulaması spontan ve açlığa bağlı hiperfajiyayı azaltırken (Ahima ve ark 1996), kronik periferal uygulama besin alımını azaltarak yağ kütlesi ve vücut ağırlığı kaybı ile sonuçlanmaktadır (Halaas ve ark 1995).

Leptin sinyallerini sitokin reseptör familyasının single transmembran bölge reseptörü vasıtasıyla göndermektedir (Tartaglia ve ark 1995). Alternatif mRNA ürünleri ve posttranslasyonel işlemler reseptörün multiple izoformlarının (Ob-R)

oluşumu ile sonuçlanmaktadır (Chua ve ark 1997, Tartaglia 1997). Reseptörün alternatif değişkenleri kısa, uzun ve sekrete edilen olmak üzere üç form içerisinde sınıflandırılmaktadır (Tartaglia 1997, Ge ve ark 2002). Uzun form, Ob-Rb, reseptörü JAK kinazlar (Lee ve ark 1996) ve STAT3 transkripsiyon faktörlerine (Vaisse ve ark 1996) bağlanan ve leptinin besin alımı üzerine etkilerine aracılık eden sinyal iletimini oluşturan uzun intrasellüler bölgeye sahiptir (Lee ve ark 1996). JAK ve STAT yolunun aktivasyonu sinyal inhibitörlerini uyaran sitokin familyasından biri olan supresör sitokin sinyali-3 (SOCS-3)'ün ekspresyonuna yol açmaktadır. Ob-Rb reseptörünün ekspre edildiği hipotalamik nükleuslarda leptin SOCS-3'ün ekspresyonunu upregüle etmektedir. SOCS-3'ün aşırı ekspresyonu in vitro olarak raportör gen oluşumu üzerine leptinin etkilerini bloke etmektedir. Bu yüzden leptin direncine bağlı obesitenin SOCS-3 ekspresyonunun aşırı artışının bir sonucu olduğu ileri sürülmektedir. Bu hipotezle tutarlı olarak nörona spesifik SOCS-3'ün farelerde silinmesi diyete bağlı obesiteye direnç ile sonuçlanmıştır (Mori ve ark 2004). Benzer şekilde global SOCS-3'den yoksun heterozigot fareler ekzojen leptin uygulamasının ağırlık azaltıcı etkisine daha yatkın, ağırlık kazancına ise dirençli bulunmuşlardır (Howard ve ark 2004). Leptine dirençli obesitenin tedavisinde SOCS-3'ün ekspresyonunun baskılanması potansiyel bir tedavi olarak görülmektedir.

Dolaşımdaki leptin kan-beyin bariyerini (BBB) doyurulabilir bir prosesle geçmekte (Banks ve ark 1996) ve bu geçişte leptinin kısa reseptör formunun rol oynadığı ileri sürülmektedir (El Haschimi ve ark 2000). Sekrete edilen (ya da eriyebilir) leptin reseptör formunun dolaşımdaki leptini bağladığı ve böylece biyolojik yararlılığı ve aktivitesini modüle ettiği düşünülmektedir (Ge ve ark 2002).

Uzun leptin reseptör formu (Ob-Rb) özellikle arkuat nükleus (ARC), ventromedial (VMH) ve dorsomedial (DMH) hipotalamus, lateral hipotalamik area (LHA) ve medial preoptik area (MPOA) olmak üzere en yaygın olarak hipotalamusta eksprese edilmektedir (Fei ve ark 1997, Elmquist ve ark 1998, Hakansson ve ark 1998). Ob-Rb aynı zamanda beyin kökündeki iştahı kontrol eden yollarda da ekspre edilmektedir (Mercer ve ark 1998). Periferal leptin uygulaması beyin kökü ve hipotalamik alanlardaki nöronal aktiviteleri değiştirdiği bildirilmektedir (Elmquist ve ark 1997). ARC'de Ob-Rb mRNA'sı iki önemli sinir grubunca ekspre edilmektedir. Bunlar, oreksijenik nöropeptitler nöropeptit Y (NPY) ve aguti ile ilişkili peptiti

(AgRP) ekspre eden nöronlardır (Mercer ve ark 1996). Ayrıca Ob-Rb mRNA'sı proopiyomelanokortin (POMC) ile kokain ve amfetamince regüle edilen transkripti (CART) ekspre eden nöronlarca ekspre edilmektedir (Cheung ve ark 1997). Leptin oreksijenik NPY/AgRP nöronlarının aktivitesini inhibe etmekte ve NPY ile AgRP'nin ekspresyonunu azaltmaktadır (Stephens ve ark 1995, Schwartz ve ark 1996, Hahn ve ark 1998, Elias ve ark 1999). Bu yüzden dolaşımdaki leptin düzeyinin azlığında oreksijenik NPY ve AgRP nöronları aktive edilerek, NPY ve AgRP ekspresyonları upregüle edilmektedir. Yüksek plazma leptin düzeylerinde POMC ve CART tarafından aracılık edilen anorektik yollar açılmaktadır. Ob-Rb birçok hipotalamik nükleusda ekspre edilmekle birlikte bu hipotalamik alanlar arasında leptinin etkileri farklı olabilmektedir. Viral gen ekspresyonu kullanımı ile ARC, PVN ve VMH de leptinin aşırı kronik ekspresyonu besin alımı ve enerji tüketimini azaltmıştır. Buna karşılık MPOA'da leptin aşırı ekspresyonu besin alımını değiştirmezken, enerji harcanmasını azaltmıştır (Bagnasco ve ark 2002).

Leptin yokluğu vücut ağırlığı üzerine önemli etkilere sahiptir. Bu ob geninin mutasyonuna bağlı leptin yokluğu ob/ob farelerde nöroendokrin ve immun bozukluklar yanında hiperfaji ve obesiteye yol açmıştır. Bu durum leptin uygulaması ile normalize edilmiştir (Campfield ve ark 1995, Halaas ve ark 1995, Pelleymounter ve ark 1995). Benzer olarak, yetişkin ve çocukların her ikisinde leptin yokluğu hipogonadizm (Montague ve ark 1997, Strobel ve ark 1998) ve şiddetli obesiteye yol açarken, bu durum rekombinant leptin terapisi ile düzeltilmiştir (Farooqi ve ark 1999, Licinio ve ark 2004). Besin alınımı üzerine bu etkilerine ilaveten leptinin rodentlerde enerji harcanımı ile gonadal, adrenal ve tiroit aksının hipotalamo-hipofizial kontrolünü (Ahima ve ark 1996, Chehab ve ark 1996) ve immun yanıtı modüle ettiği bildirilmektedir (Lord ve ark 1998). Böylece, enerji depolarındaki azalmaya karşı vücudun cevabı sirkülasyondaki leptinin azalması ile bir bütün olarak görülmektedir. Benzer olarak, leptin reseptör sinyalindeki defekt aynı zamanda vücut ağırlığı ve endokrin fonksiyonu değiştirmektedir. Sinyalizasyonu önleyen intrasellüler Ob-Rb reseptör bölgesinin nokta mutasyonu db/db farelerde obezite ile sonuçlanmaktadır (Chen ve ark 1996, Lee ve ark 1996). İnsan leptin reseptörlerinde de defektler bildirilmiştir. Leptin eksikliği ile birlikte bu bireylerde hipogonadizm ve erken obezite görülürken, ilginç olarak obezitenin plazma leptin yokluğu olan bireylerde görülenden daha az şiddette olduğu bildirilmiştir (Clement ve ark 1998).

Obez insan ve hayvanların büyük bir bölümü yüksek plazma leptinine sahiplerken, obez insanların küçük bir bölümünde mutlak ya da oransal olarak leptin yetersizliği söz konusudur (Maffei ve ark 1995, Considine ve ark 1996). Bu durum leptinin etkilerine karşı bir direnci akla getirmektedir ve gerçekte de obez insanlara rekombinant leptinin subkutan uygulamasının ağırlık üzerine çok hafif bir etkiye sahip olduğu bildirilmektedir (Heymsfield ve ark 1999, Fogteloo ve ark 2003). Leptin rezistansı çeşitli faktörlerin kombinasyonu olarak görülmektedir. Bunlar arasında kan beyin bariyerinde (BBB) transportun bozulması, leptine yanıt veren nöronlarda sinyal defektinin bulunması söz konusudur. Diyete bağlı obezite oluşturulan rodentlerde periferal leptin uygulaması besin alımını azaltmayı başaramadığı, sentral leptin uygulamasına ise yanıt verdikleri bildirilmektedir (Van Heek ve ark 1997). Diyete bağlı obez hayvanlarda intraserebroventriküler leptin uygulamasını takiben hipotalamusta STAT3 aktivasyonu besin alımını azaltmıştır (El Haschimi ve ark 2000). Sürekli sentral leptin infüzyonunun hipotalamik NPY ekspresyonu üzerine bifazik etkiye sahip olduğu da bildirimler arasındadır. Beklenildiği gibi leptin infüzyonu başlangıçta NPY mRNA ekspresyon düzeyini suprese etmiş, fakat sürekli leptin infüzyonu yapılan hayvanlarda NPY ekspresyonu kontrollerde görülen seviyelere dönmüştür (Sahu 2002). Leptine karşı azalan duyarlılığın obezitenin etiyolojisine yardım edebileceği vurgulanmaktadır. Sentral leptin uygulamasının anorektik etkilerine karşı duyarlılığın kayboluşu, yüksek enerjili diyetlerle beslenen rodentlerde daha sonraki dönemlerde obezitenin gelişiminde bir faktör olabileceği belirtilmektedir (Levin ve Dunn-Meynell 2002). Ayrıca vücut kompozisyonundaki değişikliklerden önce yüksek yağlı diyetin de kendi başına leptin rezistansına neden olabileceği bildirimler arasındadır. Çünkü yüksek yağlı diyetle beslenen rodentler vücut ağırlık kazancından önce bile leptin uygulamasına yanıtta bir zayıflık göstermişlerdir (Lin ve ark 2001).

Leptin yokluğu endokrin fonksiyon, vücut ağırlığı ve besin alınımı üzerine derin etkilere sahip olmasına rağmen, yüksek leptin düzeyine sahip obez bireylerin ağırlık kazancını geri döndürmede daha az etkin oldukları ve bu yüzden leptinin bolluktan ziyade bir açlık hormonu olabileceği speküle edilmektedir (Stanley ve ark 2005).

1.3. Stokinler

Sitokinlerin farklı yapı ve fonksiyonel özelliklerinin çoğundan protein yapısında bulunan moleküller sorumludur. Sitokinlerin sekresyonu kısa süreli olup, depo edilmezler ve bunların sentezi yeniden gen ekspresyonu ile başlar. mRNA transkripsiyonunu sağlayan sitokinlerin dayanıksız oluşu ve buna bağlı transkripsiyonunun da kısa periyodlu olması sitokin sentezinin de geçici olduğunu ifade etmektedir. Bazı sitokinler ise inaktif prekürsörden proteolitik enzimlerce aktif ürüne dönüştürülme gibi post-transkripsiyonel mekanizmalarla kontrol edilirler. Bir sitokinin diğerlerinin sentezini artırması ya da baskılaması yangısal cevap ve immun mekanizmaların düzenlenmesinde negatif ya da pozitif rol almaları açısından önemlidir. İki sitokin birbirinin etkilerini antagonize edecek tarzda hareket edebildikleri gibi biri diğerinin etkisini güçlendirebilmektedir. Bazı durumlarda bu etki umulandan veya birinin tek başına etkisinden çok daha büyük olabilmektedir (Abbas ve ark 1997).

Hücresel savunmada çok önemli rolü olan sitokinler fonksiyonel olarak iki grupta sınıflandırılırlar. Bunlardan proinflamatuar olarak nitelendirilenlerden bazıları TNF-α, IFN-γ, IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18 ve antiinflamatuar olarak nitelendirilenlerden bazıları ise IL-4, IL-10, TGF-β'dır (Elenkov ve Chrousos 2002, Paramalingam ve ark 2007).

Salındıkları hücre tipine göre ise sitokinler Th1 ve Th2 olarak sınıflandırılmaktadır. Th1 grubunda İnterferon (IFN)-γ, IL-2, TNF-α ve TNF-β, Th2 grubunda ise IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 ve IL-13 bulunmaktadır (Ng ve ark 2003).

1.3.1. TNF-α

Moleküler genetiği

1975 yılında Lloyd Old ve arkadaşları fare ve tavşanlarda "Basil Calmette - Guerin" (BCG) ile retiküloendotelyal sistemin uyarılması ve takiben lipopolisakkarit (LPS) enjeksiyonu sonucu dolaşıma bir proteinin salındığını bulmuşlar ve bunu da Tümör Nekrozis Faktör (TNF) olarak adlandırmışlardır (Carswell ve ark 1975). TNF-α membrana bağlı olarak ve çözünebilir formda bulunur. Bu formu biyolojik

olarak dinamiktir. TNF-α converting enzim (TACE) ya da TNF-α converting aktivitesi (TACA) 233-amino asitlik bir prekürsör proteinin parçalanmasına ve aynı zamanda 26 kD (kilo Dalton)'luk bir bölümün ayrılmasına yol açarak 17 kD'luk çöznür TNF-α oluşumuna neden olur. Bu TNF-α monomeri membrandan salınırken, 3 tane 17 kD'luk ünitenin kombine olması ile 51 kD'luk trimoleküler kompleksi oluşturur (Babu 2004). Bu moleküler yapı üçgen bir koniye benzer ve her bir alt ünite jelly roll-b yapısındadır (Ysebaert ve ark 1980, Babu 2004). Bu yapı reseptörlerine bağlanmaları açısından önemlidir (Babu 2004).

TNF reseptörü ve sinyal transdüksiyonu

TNF-RI ve TNF-RII olarak adlandırılan iki çeşit TNF reseptörü bilinmektedir (Abbas ve ark 1997, Babu 2004). Bu reseptörlerin hemen hemen bütün hücre tiplerinde var olduğu gösterilmiştir (Abbas ve ark 1997, Babu 2004). Bu reseptörler TNF-α'yı bağladığı gibi TNF-β'yı da bağlarlar (Smith ve ark 1990).

TNF-α'nın başlıca sinyal yolu Nüklear Factor-κ Beta (NF-κB)'nin aktivasyonu aracılığı ile başlar. NF-κB heterodimer yapıda (Beg ve ark 1993) ve sitozolde inaktif olarak bulunur (Loop 2003). Aktif bir sinyal oluşması için yapısında bulunan inhibitör proteinin (IκB) ayrılması gerekir. Böylece TNF-α'nın membrana bağlanması ile TNF-α'nın trimerik yapısı ile karşılaşacak olan reseptörler agrege ve multimerize olurlar. Bu TNF-α ve reseptör etkileşimi IκB kinaz (IKK)'ı aktive eder ve inhibitör rezidünün ayrılmasına yol açar. Bu ayrılmadan sonrada serbest NF-κB çekirdeğe doğru hareket eder ve DNA'ya bağlanmak suretiyle gen transkripsiyonunu başlatır. NF-κB akut faz proteinleri, büyüme faktörleri ve reseptörleri ile hücre adezyon molekülleri, enkode edici reseptörler ve sitokin üreten genleri içeren bir çok kompleks inflamatuar cevabın regülasyonuyla ilgilidir (Loop 2003).

İmmun hücreler üzerine etkileri

TNF-α tümör ve mikrop öldürücü etkileri yanı sıra birçok hücre tipi ve diğer sitokinler üzerine değişik etkiler gösteren önemli bir sitokindir.

Birçok hücre tipinde TNF araşidonik asit salınımına neden olur (Suffys ve ark 1991) ve uygun enzimlerin varlığında bu olay özellikle prostaglandin E2 olmak üzere prostaglandinler ve diğer eicosanoidler ile NO (Nitrik Oksit) sekresyonuna yol açar (Yang ve ark 2005). Böylece, doku perfüzyonunun artmasına neden olur. Endotelyal hücrelerden lökosit aktivasyonuna ve migrasyonuna yardımcı olan sitokinlerin sekresyonunu başlatır (Malaguarnera ve ark 2005). Endotelyal hücrelerin TNF'den etkilenmesi aynı zamanda platelet aktive eden faktör (PAF) sentezine neden olur (Bussolino ve ark 1988). Nötrofillerde ise birkaç dakika içerisinde hücre solunumunun artmasına yol açarken, degranülasyon sonucu elastaz, lizozim ve diğer enzimlerin salınmasına neden olmaktadır (Gamble ve ark 1985, Klebanoff ve ark 1986). TNF, endotelyal hücrelerde granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF), makrofaj koloni stimüle edici faktör (M-CSF), IL-1 ve IL-6 salınımını artırmaktadır (Matsushima ve Oppenheim 1989). TNF-α, IL-8 ekspresyonunun stimülasyonu yoluyla nötrofillerin akümülasyonunu artırmaktadır (Duan ve ark 2001).

TNF-α nitrik oksit üretiminin, proinflamatuar sitokinlerin ve kemokin üretiminin artışına bağlı olarak makrofajların en önemli aktivatörü durumundadır. TNF-α'nın makrofaj inflamatuar protein-3 alfa (CCL20) ve bunun reseptörü (Homey ve ark 2000) ile vasküler endotelyal büyüme faktörü ve heme oksijen az-1'in ekspresyonunun upregülasyonuna yol açtığı belirtilmektedir (Malaguarnera ve ark 2005).

İnflamasyon

TNF'nin in vivo ve in vitro olarak en önemli indükleyicilerinden birinin LPS olduğu bilinmektedir. Yüksek dozda LPS veya gram negatif bakteriyel enfeksiyonlar septik şoka neden olmaktadır. TNF ile ön uygulama ya da TNF'ye karşı antikor kullanılarak fare ve baboonlarda yapılan çalışmalar TNF'nin septik şokta hayati bir

rol oynadığını göstermiştir (Waage ve ark 1987, Cerami ve Beutler 1988, Tracey ve Cerami 1989).

TNF-α güçlü bir proinflamatuar sitokindir. Apoptozis, hücre proliferasyonu ve farklılaşmasının kontrolü yanında inflamasyon ve immunitede de önemli rol oynamaktadır. Moleküler seviyede TNF-α'nın hücresel etkilerine iki farklı reseptör (TNFR1 ve TNFR2) aracılık etmektedir (Schling ve ark 2006). TNF-α'nın reseptörlerine bağlanması birçok immun sistem hücresinin gelişimini ve aktivasyonunu sağlarken, duyarlı tümör hücrelerinin ve virusla enfekte hücrelerin apoptozis yoluyla ölümüne yol açmaktadır. Sistemik olarak pirojen etkisi gösteren ve yüksek ateşe neden olan bu sitokinin aşırı uyarımı şiddetli doku yıkımına hatta şoka neden olabilmektedir (Diker 1998, Schling ve ark 2006). Yangı, mikrobiyel enfeksiyonlar ve kimyasal toksinleri de içeren eksternal zararlı uyaranlara karşı vücudun kompleks biyolojik bir yanıtıdır. Yangısal yanıt proinflamatuar sitokinler, kemokinler ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunu koordine eden sinyal yollarının aktivasyonu dahil iyileşme sürecini başlatan ve zararlı uyaranı ortadan kaldırmaya yönelik başlıca makrofajlar, nötrofiller ve dendritik hücrelerin infiltrasyonu ile damar sisteminden yangısal mediatörlerin salınımını da içeren adımlarda karakterize bir durumdur (Lee ve Lau 2011). Lökositler ve endotelyal hücreler inflamasyonun regülasyonu üzerine aktivitelerine bağlı olmak üzere proinflamatuar ya da antiinflamatuar sitokinler üretirler. TNF-α, IL-6 ve IL-1β dahil olmak üzere proinflamatuar sitokinlerin akut ve kronik inflamatuar hastalıkların patogenezisinde önemli rol oynadıkları gösterilmiştir (Lee ve Lau 2011).

IL-6 ve TNF-α'nın adipoz dokulardan da salındığı ve adipoz doku artışına paralel olarak plazma seviyelerinin arttığı bildirilmektedir (Hotamisligil 1999, McCarty 1999). Ayrıca, bu inflamatuar sitokinler ile endotelyal disfonksiyon ve aterosklerozis gelişimi arasında bir ilişki olduğu bildirimler arasındadır (Yudkin ve ark 1999, Festa ve ark 2000). Aterosklerozis ve trombozise ilişkin olarak hiperkolesteroleminin fibrinolizisi olumsuz yönde etkilediği ve buna da doku plazminojen aktivatör (t-PA) düzeyindeki azalma ile plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) düzeyindeki artışın neden olabileceği yönünde bildirimler mevcuttur (Gerenli ve ark 2008). Bununla ilgili olarak ateroskleroziste lipidemi, hiperinsülinemi, endotel aktivasyon, inflamasyon ve antifibrinolitik durum

göstergelerinin artışının paralel olduğu bildirilmektedir. IL-6 ve TNF-α'nın yaş, cinsiyet, obezite indeksleri ve endotel aktivasyon ile sıkı bir ilişki halinde olduğuna dair bilgiler bulunmaktadır (Chan ve ark 2002). İnsan adipoz doku hücrelerinde ekspre edilen kalsiyuma duyarlı reseptörün (Calcium sensitive receptor, CaSR) inflamasyonla ilgili olarak gelişen hastalıklarda önemli rol oynadığı ifade edilmektedir. Nitekim vücut yağ oranındaki artış ile ilişkili inflamasyonda IL-1, IL-6 ve TNF-α'nın çeşitli adipozitlerde kalsiyuma duyarlı reseptörü artırdığı bulgular arasındadır (Cifuentes ve ark 2010).

1.4. Ginseng

Son zamanlarda global bir sorun haline gelen hiperkolesterolemi, hiperlipidemi, obezite, hipertansiyon ve tromboz riskinin insan sağlığı üzerine olan olumsuz etkileri yanında tedavilerine ve önlemlerine yönelik arayışlar da oldukça hız kazanmıştır. Adı geçen sorunların yaşam konforunu azaltmaları yanında sağlık alanındaki getirdiği ekonomik yük de yüzlerce milyar dolarla ifade edilmektedir. Hiperkolestrolemiyi ve buna bağlı patolojileri önlemek amacıyla diyet, medikal uygulamalar (statinler) gibi yöntemler kullanılmaktadır. Bununla birlikte, birçok hastalıkta olduğu gibi bitkisel tıp da başvurulan yöntemler arasındadır. Medikal uygulamalarda kullanılan ilaçların (statin, sibutramin, orlistat, phentermine) yan etkileri olması nedeniyle bitkisel uygulamalar oldukça rağbet görmektedir (Padwal ve Majumdar 2007).

Son yıllarda tüm dünyada olduğu gibi Amerika'da bitkisel yollara başvurma oranı %380 oranında artmıştır (Eisenberg ve ark 1998). Kullanım kolaylığı, kolay bulunabilmesi ve yan etkilerinin az olması bitkisel seçeneklerin popülaritesini oldukça artırmıştır. Kan kolesterol düzeyini ayarlamaya ve zayıflamaya yönelik birçok bitki veya bitki ekstraktı yanında bunlardan üretilen derivatlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu bitkiler arasında son zamanlarda oldukça popüler olan ginsengin antikarsinojenik, antihipertansif, antidiyabetik, immun sistemi uyarıcı ve vücut zindeliğini artırıcı özellikleri yanında hipolipidemik, hipokolesterolemik ve antiobezitik etkilerinden de bahsedilmektedir (Liu ve Xiao 1992, Kim ve ark 1999, Chung ve ark 2001, Yun ve ark 2004, Lee ve Lau 2011).

1.4.1. Botaniği

Ginseng, panax cinsi bitkilerin bazı türlerinin köklerini ifade etmek için kullanılır. Bunlar arasında en yaygın olarak kullanılan panax ginsengtir ve uzak doğu ülkelerinde özellikle Çin ve Kore'de yetiştirilmektedir. Panax cinsinin diğer türleri panax quinquefolius (Güney Kanada ve Amerika'da bulunur), Panax Japonicus (Japonya'da yetişir) ve daha az sıklıkla Panax notoginseng (Çin'de yetişir), Panax pseudoginseng (Nepal ve Doğu Himalaya'larda yetişir) ve Panax vietnamesi (Vietnam'da yetişir)'dir (Yun 2001). Bu türlerden en çok kullanılan Asia veya Kore ginseng, Amerika ginseng ve Siberian ginsengtir (Block ve Mead 2003).

1.4.2. Tarihsel ve Popüler Kullanımı

Bu bitki binlerce yıldır yaygın olarak geleneksel Çin reçetesinin önemli bir unsuru olarak kullanılmıştır (Himi ve ark 1989, Wen ve ark 1996). Günümüzde de bu bitki çok satan bitkisel destek maddeleri listelerinde ilk sıralardaki yerini korumaktadır (Ernst 2002). İlk olarak M.Ö. 11 yılları civarında üretilmeye başlanmış olan panax ginsengin 5 bin yıldan daha fazla bir tıbbi geçmişe sahip olduğu ileri sürülmektedir. Çin'de, bu bitki 3-6 yıllık veya daha fazla olduğunda kökleri toplanmakta, kuru havada bekletilmekte (beyaz ginseng) veya buharda pişirilmektedir (kırmızı ginseng). Uygulanan bu iki yoldan sonra köklerin saponin içeriklerinin ve etkilerinin de farklılaştığı belirtilmektedir (Nocerino ve ark 2000).

Ginseng ürünleri genellikle homeostazisi korumak ve vücudu fiziksel, kimyasal ve biyolojik her türlü olumsuz yönde etkileyen faktörlere karşı desteklemek amacıyla kullanılan bir tonik ve adaptojen olarak kabul edilmektedir (Nocerino ve ark 2000, Seo ve ark 2008). Ginsengin bu tonik ve adaptojenik etkilerinin yaşlanma sürecinin olumsuz etkilerini azalttığına, sağlıklı bireylerde fiziksel performansı ve genel zindeliği artırdığına, stresle ve hastalıklara karşı vücut fonksiyonlarını güçlendirerek vücudu desteklediğine inanılmaktadır (O'Hara ve ark 1998).

1.4.3. Kimyasal Bileşimi

Sadece fiziksel performansı artırdığı inancıyla değil kavramaya ilişkin mental faydalarından dolayı da tercih edilen bu bitkinin temel aktif komponentleri ginsenozidler olarak bilinen glikosidal saponinler (glikosilat steroidler)'dir. P. ginsengin kök, gövde ve yapraklarından 36 farklı ginsenozid ve bir çok bileşen (esansiyel yağlar, fitosteroller, amino asitler, peptidler, vitaminler ve mineraller) ekstrakte edilmiştir (Wilkie ve Cordess 1994). Cui ve ark (1994) 44 farklı ginseng ürününün ginsenozid miktarlarının 4 kattan daha fazla oranda değişebildiğini bildirmektedir. Benzer olarak satılan ginseng ürünlerinin her bir kapsülündeki ginseng içeriklerinin 6 kat ve ginsenozid bileşimlerinin de 20 kattan daha fazla değiştiği belirlenmiştir (Block ve Mead 2003). Aksi bir bildirim yok ise standardize bir ginseng ürününde %4 oranında ginsenozid içerdiği kabul edilir ve bu miktarlar karşılaştırma standardı olarak kullanılır (Hall ve ark 2001).

Ginsenozidler panax türlerine özgü maddelerdir, çok küçük miktarlarda var olan bu maddelerin ginsengin etkilerinin çoğundan sorumlu olduğuna inanılır (Attele ve ark 1999). Ginsenozidler gittikleri dokulara spesifik olarak değişik mekanizmalarla etkilerini gösterirler (Murphy ve Lee 2002). Ginsenozidlerin temel yapısı birbirine benzerdir. 4 halkada düzenli bir şekilde yerleşmiş 17 karbon atomu ile bir çekirdek içerir. Her bir ginsenozidin biyolojik karakteri C-3 ve C-6'ya glikozitik bağ ile bağlanmış şeker sayısı ve pozisyonuna atfedilir (Byun ve ark 1997). Ginsenozidler: Panaxadiol grup (Rb1, Rb2, Rb3, Rc, Rd, Rg3, Rh2, Rs1), panaxatriol grup (Re, Rf, Rg1, Rg2, Rh1) ve oleanolik asit grup (Ro) olmak üzere üç kategoride ele alınmaktadırlar (Wen ve ark 1996). Ginsengin içerdiği ginsenozidler panax türlerine, bitki yaşına, bitkinin bölümüne, saklama metoduna, ürün toplama sezonuna ve ekstraksiyon metoduna göre değişmektedir (Liberti ve Der Mardersian 1978, Phillipson ve Anderson 1984).

1.4.4. İmmunomodülasyon ve Antiinflamatuar Etki

Son zamanlarda, ginsengin yangı ve alerjik süreçlerdeki rolü üzerine yapılan çalışmalarda bu maddenin immunostimülasyon, antitümör aktivitede artış, kardiyovasküler fonksiyonlarda düzelme, vazodilatasyon ve platelet agregasyonunda

düşme, antioksidan aktivite, hipofiz-böbrek üstü bezi korteksi sisteminde stimülasyon (steroidal etki) gibi yararlarından bahsedilmektedir (Block ve Mead 2003).

Ratlarda kronik inflamasyona karşı ginseng kök saponinlerinin IL-1β ve IL-6 gen ekspresyonu üzerine inhibe edici etkiye sahip olduğu (Yu ve Li 2000), ginsenozid Rb1 ve Rg1'in fare makrofajlarında TNF-α üretimini azalttığı bildirilmektedir (Cho ve ark 1998). Fare derisinde 12-O-tetradekanoilforbol-13-asetat (TPA)'a karşı cevap olarak siklooksijenaz-2 (COX-2) ekspresyonunun ginsenozid Rg3 ile önlendiği (Keum ve ark 2003), ginsenozid Rb1 ve Rc'nin in vitro olarak kobay akciğer mast hücrelerinin aktivasyonu süresince histamin ve lökotrien salınımını baskıladığı ifade edilmektedir (Ro ve ark 1998). Bunlara ek olarak, farelerle yapılan bir denemede interferon üretimi, fagositoz aktivitesi, doğal katil (NK) hücre ile B ve T lenfositlerde görülen artışlar ginsengin immunostimülan etkiye sahip olduğuna referans gösterilmektedir (Ohtani ve ark 1987). Hu ve ark (2001) da ginsengin süt sığırlarında immun sistemi uyardığına ve mastitisten kurtulma oranını artırdığına dair bulgular sunmuşlardır.

Ginsengin immunomodülatör etkisine ilişkin olarak, 10 genç ve 19 yaşlı denekten alınan lenfositlerde ginsenozid Rg1'in lenfosit proliferasyonuna yol açtığı, aynı zamanda bu bireylerde lenfosit membran esnekliğini artırdığı (Liu ve ark 1995), bu artışında ginsenozidlerin antioksidan aktivitesine atfedilebileceği ileri sürülmektedir (Eze 1992, Wu ve ark 1999). 20 sağlıklı kişide ginseng ekstraktlarının periferal kan mononükleer hücre (Peripheral Blood Mononuclear Cell, PBMC)'lerde kemotaksis ve fagositik aktiviteyi önemli oranda artırdığı bildirilirken (Scaglione ve ark 1990), bu etkinin ginseng ekstraktı uygulanan kronik yorgunluk sendromlu ve kazanılmış immun yetmezlik sendrom (Acquired Immune Deficiency Syndrome, AIDS)'lu hastalarda da gözlendiği belirtilmektedir (See ve ark 1997).

Başka bir çalışmada (Ahn ve ark 2006), ginsengin stafilokokkus auerus ile enfekte farelerde makrofaj fagositoz aktivitesini artırdığı, TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-12 ve IL-18'i ise belirgin şekilde azalttığı bildirimler arasındadır. Liou ve ark (2006) farelerde kısa süreli oral ginseng ekstraktı uygulamasının IL-2, interferon-γ (IFN-γ) ve IL-10 miktarını artırdığını belirlemişlerdir.

1.4.5. Kardiyovasküler Etkileri

Ginseng uygulamasının rat (Kim ve ark 1994) ve tavşanlarda (Lei ve Chiou 1986) kan basıncını azalttığı, bu etkinin de ginsengdeki aktif bileşenlerin endotelyal hücrelerde NO salınımına neden olmasından kaynaklandığı ileri sürülmektedir. Bir çalışmada (Kang ve ark 1995), ginsenozidlerin süperoksit anyonları gibi oksijen radikalleri tarafından NO yıkımını önlemelerinin indirekt olarak vazodilatasyona yol açtığı ifade edilmektedir. Ginsenozidlerin yine NO üretimine bağlı olarak kardiyomyosit kontraksiyonu üzerine depresan bir etkiye sahip olduğu vurgulanmaktadır (Scott ve ark 2001). Bir diğer çalışmada da (Sung ve ark 2000), Kore ginsenginin hipertansiyonlu kişilerde yine muhtemelen NO artışına bağlı olarak vasküler ve endotelyal fonksiyon üzerine yararlı etkiye sahip olduğu belirtilmektedir. Li ve ark (2001) ginsenozidlere bağlı vazodilatasyonun vasküler düz kas hücrelerindeki Ca^{2+} ile aktive edilen K^{+} kanalları ile ilgili olduğunu bildirmektedirler.

1.4.6. Kan Lipidleri Üzerine Etkileri

Ginsengin serum lipid profili ve obezite üzerine olan etkilerine dair çalışmalar ve bu çalışmalara ilişkin bulgular ilgi çekmeye devam etmektedir. Panax ginseng uygulamasının insanlarda serum total kolesterol, trigliserid, LDL-kolesterol düzeylerini azalttığı, HDL-kolesterol düzeylerini artırdığı bildirilmektedir (Kim ve Park 2003). Yine gerek tip 2 diyabetik (Vuksan ve ark 2000) gerekse non-diyabetik (Vuksan ve ark 2000a) deneklerde ginseng uygulamasının yemek sonrası glisemiyi azalttığı bildirimler arasındadır. Buna paralel olarak ginseng uygulamasının hiperlipidemili ratlarda (Joo ve ark 2010) ve yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda (Cicero ve ark 2003) serum total kolesterol ve trigliserid düzeylerini azalttığı belirtilmektedir. Yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde ginseng ekstraktı uygulamasının serum trigliserid, total kolestrerol, serbest yağ asidi ve açlık kan glikoz düzeylerindeki artışı önlediği ifade edilmektedir (Yun ve ark 2004). Ginseng saponinlerinin yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda plazma total kolesterol düzeyini düşürdüğü (Moon ve ark 1984), trigliserid düzeyindeki artışı önlediği (Karu ve ark 2007), HDL-kolesterol düzeyinde herhangi bir değişiklik meydana getirmediği bildirilmektedir (Moon ve ark 1984). Yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda 200

mg/kg intraperitoneal yolla ginseng saponin uygulamasının besin tüketimi ve vücut yağ oranını normal diyetle beslenenlerinkine benzer şekilde azalttığı ve beslenmeye ilişkin hipotalamik NPY ekspresyonu ile serum leptin düzeylerini baskıladığı bildirilirken, saponin uygulamasının obezite ve buna ilişkin bozuklukların tedavisinde kullanılabileceği ileri sürülmektedir (Kim ve ark 2005). Buna karşılık hiperkolesterolemik tavşanlarda ginseng uygulamasının hiperkolesterolemi ve buna bağlı aterosklerozis gelişimi üzerine koruyucu bir etki yapmadığı bildirimleri de mevcuttur (Ismail ve ark 1999). Ginsenozidlerle yapılan çalışmalarda intraperitoneal Rb1 uygulamasının besin alınımını baskıladığı, vücut ağırlık kazancını ve vücut yağ içeriğini azalttığı, enerji harcanımını artırdığı, açlık glikoz düzeyini düşürdüğü, glikoz toleransını iyileştirdiği ifade edilmektedir. Bu etkilerinin muhtemelen sentral mekanizmalar aracılığı ile olabileceği görüşü, Rb1'in beynin enerji homeostazisi ile ilgili alanlarında c-fos ekspresyonunu stimüle etmesi yanında hipotalamusta NPY gen ekspresyonunu da inhibe ettiği bildirimlerine dayandırılmaktadır (Xiong ve ark 2010). Bununla ilgili olarak ginsenozidlerin antiobezitik etkileri açısından farklı olduğu yönünde bulgular mevcuttur (Liu ve ark 2010). Nitekim protopanaxdiol grubundaki ginsenozidlerin yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde yağlı karaciğer ve hipertrigliseridemiyi önlediği fakat aynı etkinin protopanaxtriol grubu ginsenozidlerde görülmediği bildirilmektedir (Liu ve ark 2010).

Son yıllarda ginsengin yangısal ve alerjik olaylardaki rolü hakkında çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu konu ile ilgili olarak yaşlı ratlarda kronik yangı modelinde ginseng kökü saponinlerinin IL-1β ve IL-6'nın gen ekspresyonu üzerine inhibitör etkisi olduğu, Rb1 ve Rg1 ginsenozidlerinin fare makrofajlarının TNF-α üretimini azalttığı, Rg3 ginsenozid ön uygulamasının fare derisinde forbol asetata karşı gelişen siklooksijenaz-2 ekspresyonunu önlediği ve Rb1 ve Rc ginsenozidlerinin in vitro olarak kobay akciğer mast hücre aktivasyonu ile histamin ve lökotrien salınımını baskıladığı gösterilmiştir (Cho ve ark 1998, Yu ve Li 2000, Keum ve ark 2003).

İn vivo ve in vitro ginseng uygulamasının makrofajlarda TNF-α, IL-1β, IL-6 ve γ-IFN gibi proinflamatuar sitokinlerin üretimini artırdığı (Shin ve ark 2002), in vitro insan periferal mononükleer hücrelerine uygulandığında IL-12 üretimine katkıda bulunduğu bildirilmektedir (Larsen ve ark 2004). Farelerde strese bağlı IL-6 düzeyindeki artışın ginseng uygulamasıyla önlenebildiği (Kim ve ark 2003) ve

kardiyovasküler hastalıklarda da yararlı etkilere sahip olduğu bildirimler arasındadır (Zhou ve ark 2004).

1.4.7. Olumsuz Etkileri ve Güvenlik

Genel olarak ginsengin nadiren olumsuz etkilere neden olduğu bilinmektedir (Chang ve ark 2003). Panax ginseng kökünün insan, köpek ve ratlarda nontoksik olduğu bildirilmektedir (Hess ve ark 1983). Yanlış kullanıma bağlı görülebilen semptomlar arasında hipertansiyon, diyare, uykusuzluk, deri döküntüsü ve vajinal kanama sayılabilir. İlaç etkileşimleri arasında ise warfarin, fenelzin ve alkol gibi maddelerin adı geçmektedir (Coon ve Ernst 2002).

Yukarda ifade edilen bilgilerden hareketle yüksek oranda kolesterol içeren diyetle beslenen ratlarda ginseng uygulamasının kan lipid profili, proinflamatuar sitokin TNF-α ile adipoz doku hormonlarından leptin düzeyleri üzerine olan etkilerinin birlikte ele alınmasının yararlı olacağı inancı ile bu çalışma planlanmıştır.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

Araştırmada sağlıklı 48 yetişkin erkek Wistar Albino rat kullanıldı. Ratlar Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edildi. Hayvanlar deneme süresi boyunca, S.Ü. Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesi'nde her bir kafeste 4 rat olacak şekilde barındırıldı. Araştırma süresi boyunca ratlar için öngörülen yaşam şartları (ısı, nem ve ışık) sağlandı. Hayvanlar kontrol (K), Kolesterol (C), Kolesterol+Ginseng (CG) olmak üzere üç eşit gruba ayrıldı. Kontrol grubundaki hayvanlar 40 gün süre ile standart rat yemi (Purina®) ile ad libitum olarak beslenirken, C grubundaki hayvanlara %5 kolesterol (Sigma) ilave edilen yem, CG grubuna 1 g/kg (gram/kilogram) ginseng tozu (GNC) ve %5 kolesterol ilave edilen yem verildi. Toz halindeki ginseng ve kolesterol belirtilen oranlarda öğütülen rat yemi ile karıştırılıp yemler tekrar pelet haline getirildi. Araştırmada 20. ve 40. gün sonunda gruplardaki 8'er hayvandan uygun yöntemle kalpten yeterli oranda antikoagulanlı ve antikoagulansız kan alındı. Alınan kan örneklerinin bir kısmının serumları ayrılarak bunlarda Total Kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol, Trigliserid düzeyleri, bir kısmından elde edilen plazmalardan da, Leptin ve TNF-α düzeyleri belirlendi. Kan alınan hayvanlar boyun dislokasyonu yoluyla sakrifiye edildi.

Çizelge 2.1. Rat Yemi İçeriği (%).

Kuru Madde	88	Metiyonin	0,45
Ham Protein	23	Sistin	0,35
Ham Selüloz	5	Vitamin A	15.000 (İ.Ü./kg) (İnternational Unit/kilogram)
Ham Kül	8	Vitamin D_3	3.300 (İ.Ü./kg)
HCL'de Çöz. Kül	1	Vitamin E	40 (mg/kg) (miligram/kilogram)
Kalsiyum	1-1,3	Vitamin B_2	5 (İ.Ü./kg)
Fosfor	0,9	Vitamin B_{12}	20 (mcg/kg) (microgram/kilogram)
Sodyum	0,5-0,6	Vitamin K_3	5 (mg/kg)
NaCL	1	Metabolik Enerji	3100 (Kcal/kg) (Kilokalori/kilogram)
Lizin	1,35		

* Agribrands Purina Besin Maddeleri San. ve Tic. A.Ş. beyan bilgileridir.

Araştırmada kullanılan materyal ve uygulanan yöntemler Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurulu (SUVEK) tarafından 11.01.2012 tarihli ve 2012/001 sayılı etik kurul kararı ile onaylanmıştır.

2.1. Serum Lipid Profilinin Belirlenmesi

Total kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol ve trigliserid düzeyleri ILAB 300 marka otoanalizörde ILAB 300 kitleri kullanılarak belirlendi.

2.2. Plazma TNF- α Düzeyinin Belirlenmesi

Plazma TNF-α düzeyleri sandwich enzyme-linked immunosorbent ölçüm metodu ile ticari rat kitleri (Bendermed) kullanılarak prospektüslere uygun olarak ELISA cihazında belirlendi.

Mikrokuyucuk strip sayısı tespit edildi. Wash buffer ile mikrokuyucuk stripleri yıkandı. Mikroplatedeki standartların 100 µl (mikrolitre) seri dilüsyonları yapıldı. Blank gözüne 100 µl örnek diluent eklendi. Örnek gözlerine 50 µl diluent ve 50 µl örnek eklendi. Tüm gözlere hazırlanan biotin konjugatından 50 µl eklendi. Mikroplate, stripleri ile kaplanarak oda ısısında 2 saat inkube edildi. Mikrokuyucuklar boşaltıldı ve yıkama solusyonu ile 4 kez yıkandı. Tüm gözlere hazırlanan Streptavidin-HRP'den 100 µl konuldu. TMB Substrat solüsyonundan 100 µl tüm gözlere eklendi. Mikroplate, stripleri ile kaplanarak oda ısısında 10 dk inkube edildi. Tüm gözlere 100 µl stop solüsyonu eklendi. Blank gözleri 450 nm dalga boyunda Biotek Marka ELX800 marka elisa okuyucuda okutuldu. Standart ve örneklerin her bir dizisinin ortalama absorbansı hesaplandı. Her bir standarda karşılık gelen ortalama absorbans değerleri kullanılarak standard eğrisi çizildi. Her örnek için ortalama absorbans değeri kullanılarak standard eğriden absorbansa karşılık gelen konsantrasyon hesaplandı. Örnekler test prosedürüne göre iki kat dilüe edildiğinden elde edilen konsantrasyonlar 2 ile çarpıldı.

2.3. Plazma Leptin Düzeyinin Belirlenmesi

Plazma Leptin düzeyleri sandwich enzyme-linked immunosorbent ölçüm metodu ile ticari rat kitleri (DRG) kullanılarak prospektüslere uygun olarak ELISA cihazında belirlendi.

İstenilen sayı kadar mikrotiter gözleri ayrıldı. Standart, kontrol ve örneklerden ayrılan yerlere 15 µl eklendi. Her göze 100 µl Assay buffer eklendi ve

10 sn pipete edildi. Platin kapağı kapatılmadan oda ısısında 120 dk inkube edildi. Her göze 300 µl dilue edilmiş yıkama solüsyonu eklendi ve 3 kez çalkalandı. Sonra gözler absorban bir kâğıt üzerine boşaltıldı. Her göze 100 µl Antiserum eklendi ve oda sıcaklığında 30 dk inkube edildi. Plate içeriği çalkalandıktan sonra her göze 300 µl dilue edilmiş yıkama solüsyonu eklendi ve 3 kez çalkalandı. Sonra gözler absorban bir kâğıt üzerine boşaltıldı. Her göze 100 µl Enzyme Complex dağıtıldı ve oda sıcaklığında 30 dk inkube edildi. Plate içeriği çalkalandı ve her göze 300 µl dilue edilmiş yıkama solüsyonu eklendi ve 3 kez çalkalandı. Sonra gözler absorban bir kâğıt üzerine boşaltıldı. Her göze 100 µl Substrat Solution eklendi. Oda sıcaklığında 15 dk inkube edildi. Daha sonra 50 µl Stop Solution eklendi ve 10 dk içinde 450 nm dalga boyunda Biotek Marka ELX800 marka elisa okuyucuda okutularak ve Optik Dansiteleri tespit edildi. Standart, kontrol ve örneklerin ortalama absorbansı hesaplandı. Her bir standarda karşılık gelen ortalama absorbans değerleri kullanılarak standard eğrisi çizildi. Her örnek için ortalama absorbans değeri kullanılarak Standard eğriden absorbansa karşılık gelen konsantrasyon hesaplandı.

2.4. İstatistik

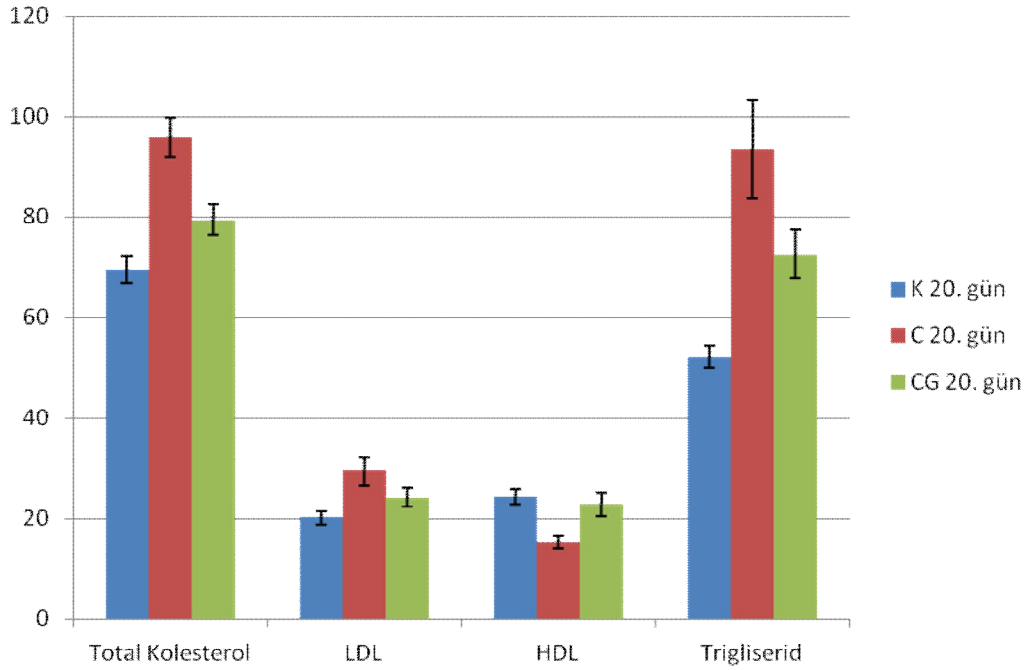
Elde edilen bulguların tek yönlü varyans analizi (One-Way Anova) yapılarak, 20. ve 40. gün karşılaştırılmalarında independent-t testi, gruplar arası farklılıkların belirlenmesinde ise Duncan testi kullanıldı (SPSS).

3. BULGULAR

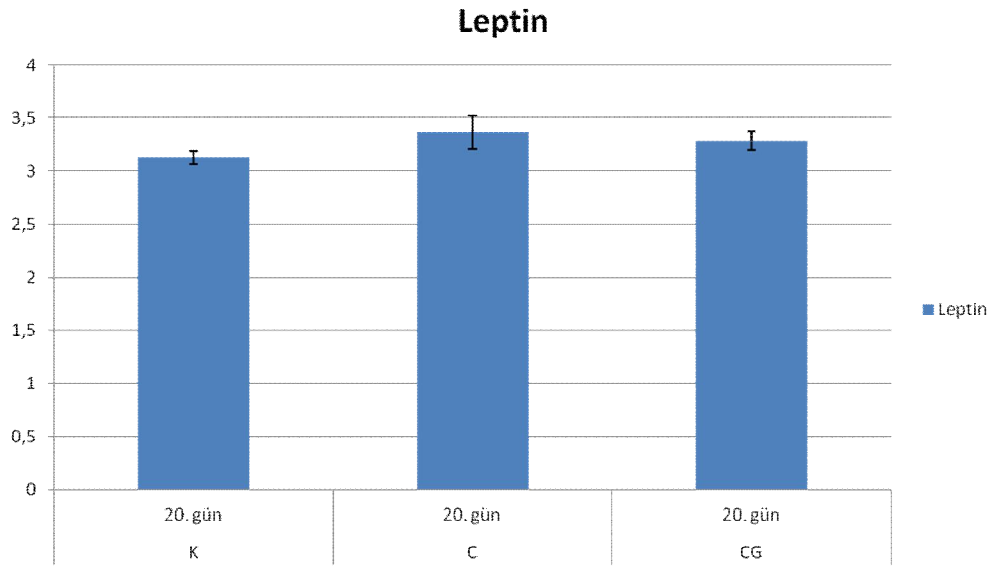
Çizelge 3.1. Tüm gruplara ait 20. ve 40. gün serum lipid profili, TNF-α ve Leptin düzeyleri ($\bar{x} \mp sem$, n=8).

	Kontrol		**Kolesterol**		**Kolesterol+ Ginseng**	
	20. gün	40. gün	20. gün	40. gün	20. gün	40. gün
T.Kolesterol (mg/dl)	69,50±2,71 C	71,88±3,61 c	95,88±4,00 A	98,00±3,32 a	79,38±3,06 B	82,13±2,99 b
LDL (mg/dl)	20,25±1,31 B	21,13±1,09b	29,50±2,82 A	30,50±1,38 a	24,25±1,83 AB	26,13±1,89 a
HDL (mg/dl)	24,38±1,45 A	24,50±2,03 a	15,38±1,24 B	18,38±1,25 b	22,88±2,42 A	21,13±2,11 ab
Trigliserid (mg/dl)	52,25±2,30 C	54,25±3,94b	93,50±9,75 A	98,25±7,93 a	72,50±4,74 B	80,11±7,67 a
Leptin (ng/dl)	3,13±0,06	3,23±0,07 b	3,37±0,16 y	3,46±0,04 xa	3,29±0,09	3,12±0,04 b
TNF (pg/ml)	53,79±5,53	58,77±7,66	76,75±5,58	78,80±10,84	75,22±11,27	69,00±7,22

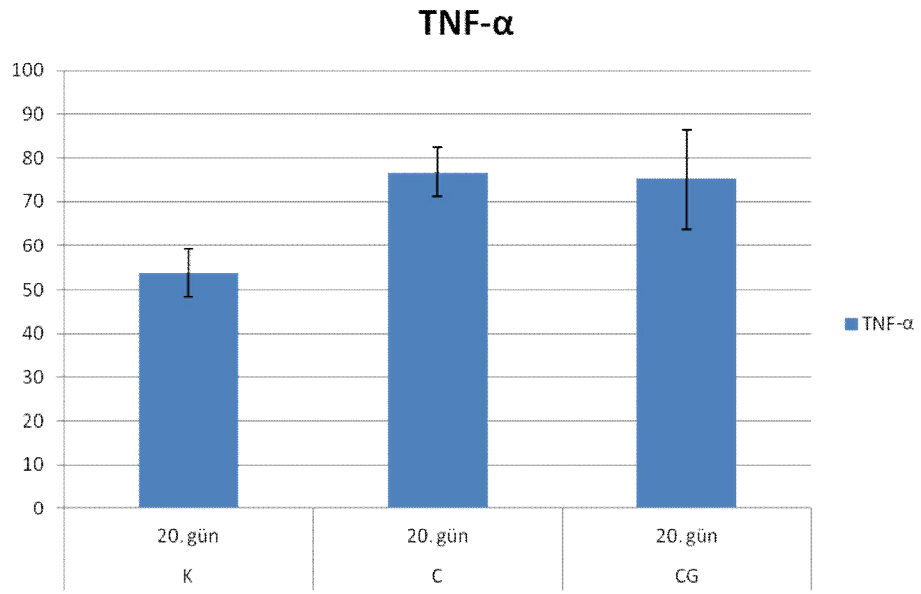
A,B,C: Aynı satırda 20. gün değerleri arasında farklı harf taşıyan gruplararası farklılık önemlidir.
a, b, c: Aynı satırda 40. gün değerleri arasında farklı harf taşıyan gruplararası farklılık önemlidir.
x, y: Aynı satırda her bir grubun farklı harf taşıyan 20. ve 40. gün değerleri arasındaki farklılık önemlidir(P<0,05).



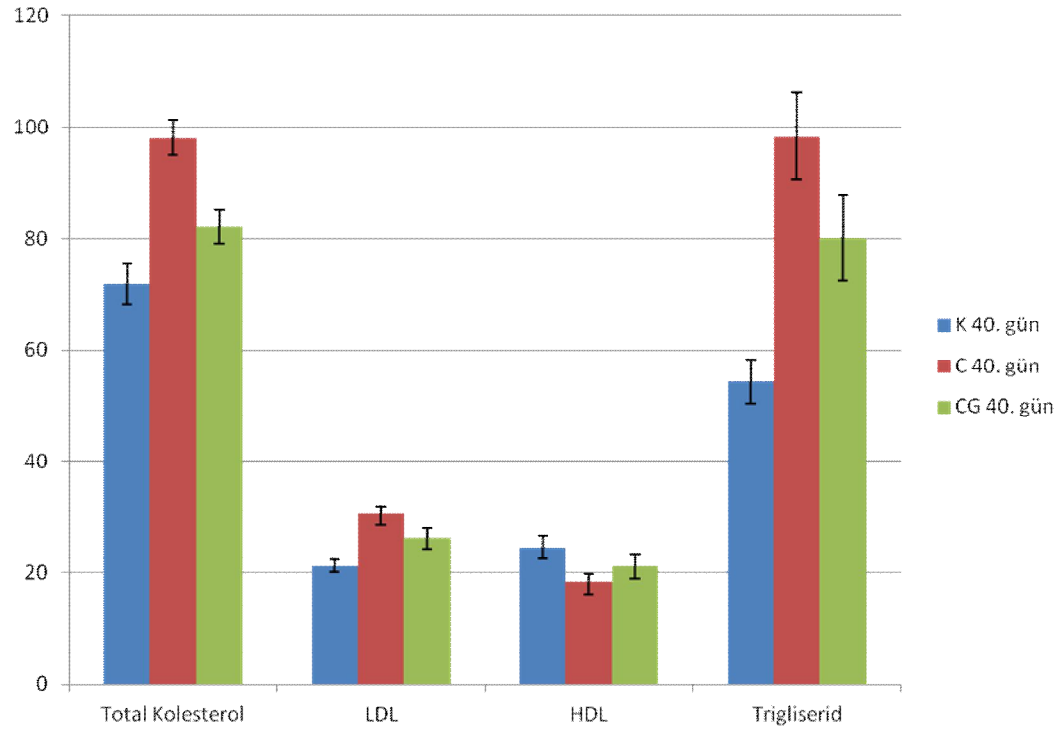
Şekil 3.1. 20. gün serum total kolesterol, LDL, HDL ve trigliserid düzeyleri (mg/dl) miligram/desilitre.



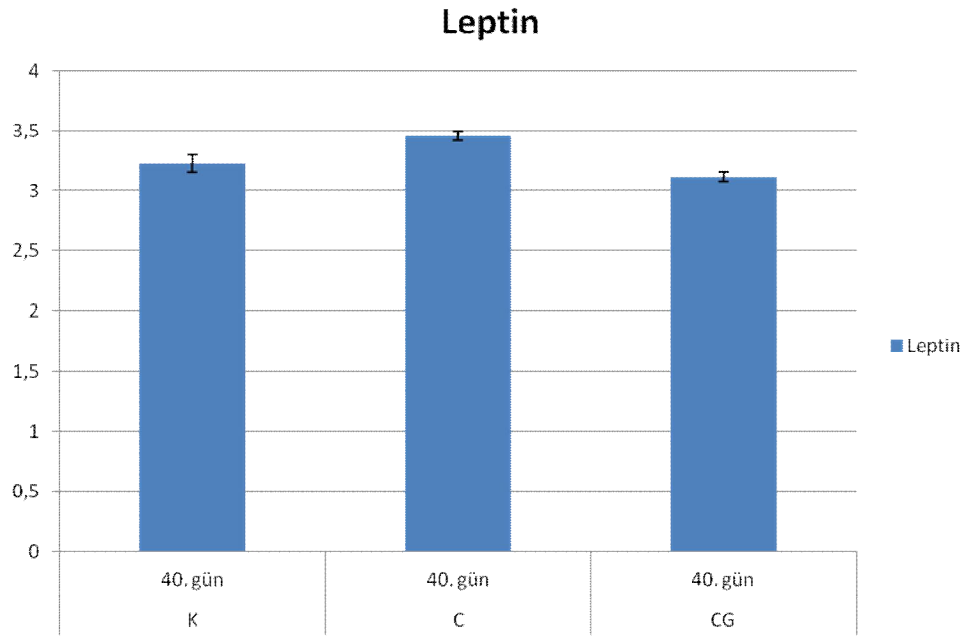
Şekil 3.2. 20. gün plazma leptin düzeyleri (ng/ml) nanogram/mililitre.



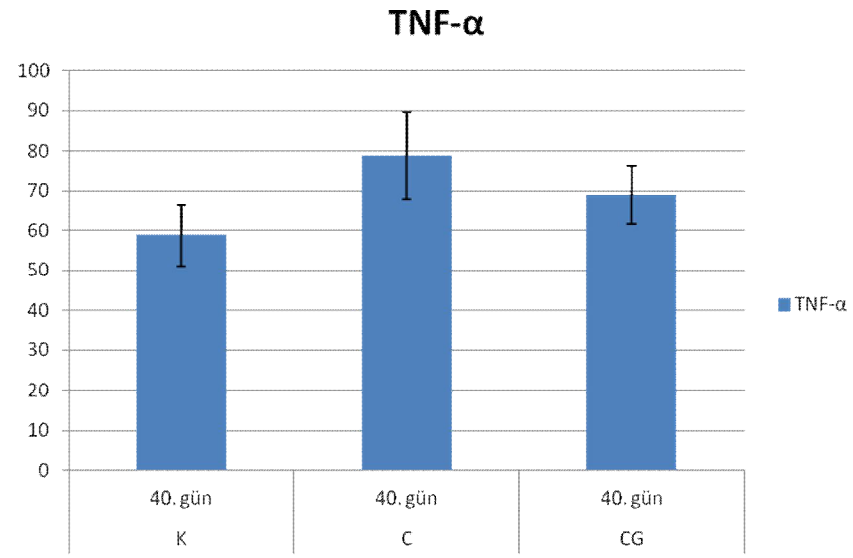
Şekil 3.3. 20. gün plazma TNF-α düzeyleri (pg/ml) pikogram/mililitre.



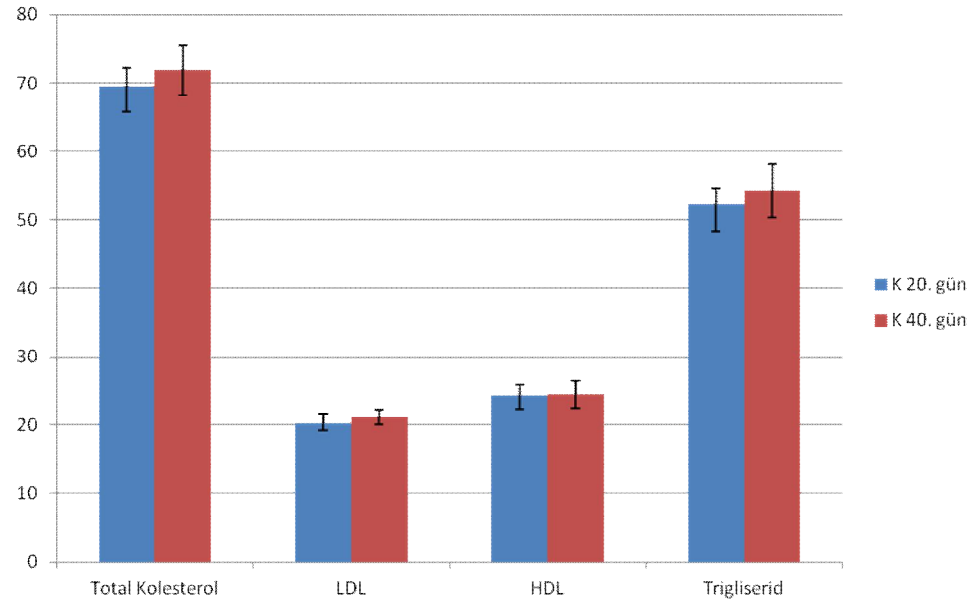
Şekil 3.4. 40. gün serum total kolesterol, LDL, HDL ve trigliserid düzeyleri (mg/dl).



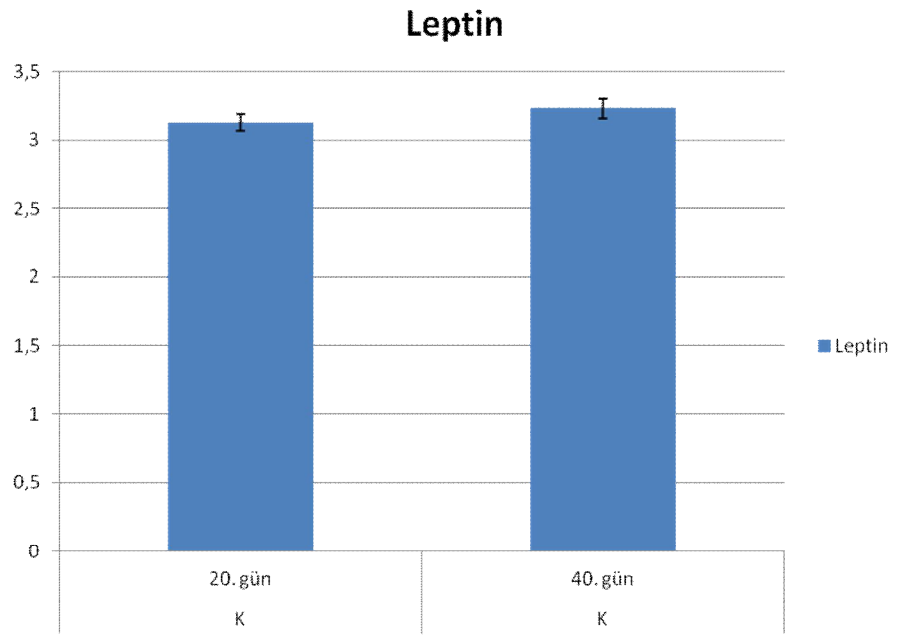
Şekil 3.5. 40. gün plazma leptin düzeyleri (ng/ml).



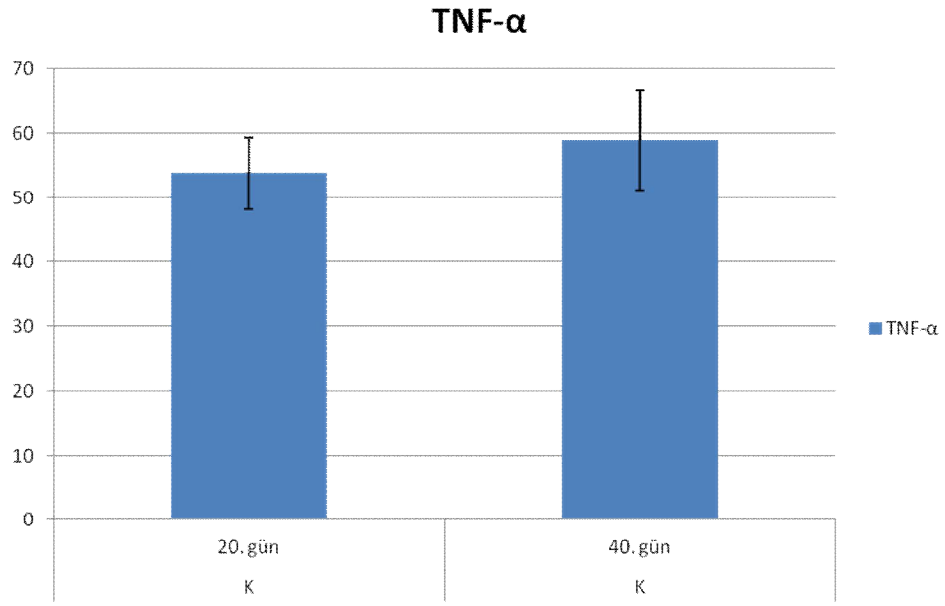
Şekil 3.6. 40. gün plazma TNF-α düzeyleri (pg/ml).



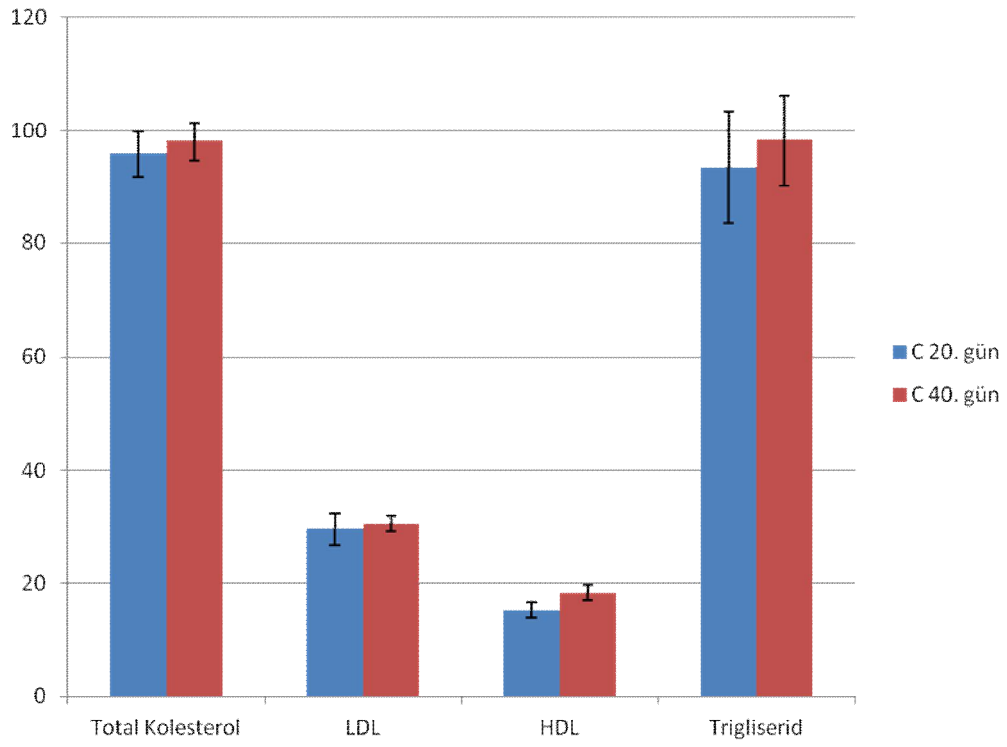
Şekil 3.7. Kontrol grubu 20 ve 40. gün serum total kolesterol, LDL, HDL ve trigliserid düzeyleri (mg/dl).



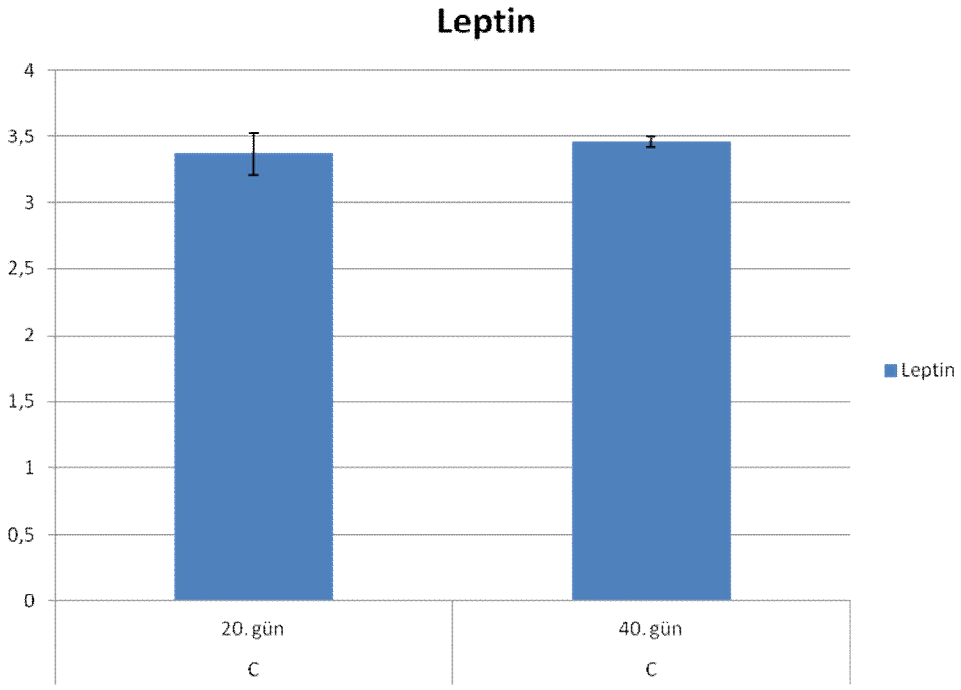
Şekil 3.8. Kontrol grubu 20 ve 40. gün plazma leptin düzeyleri (ng/ml).



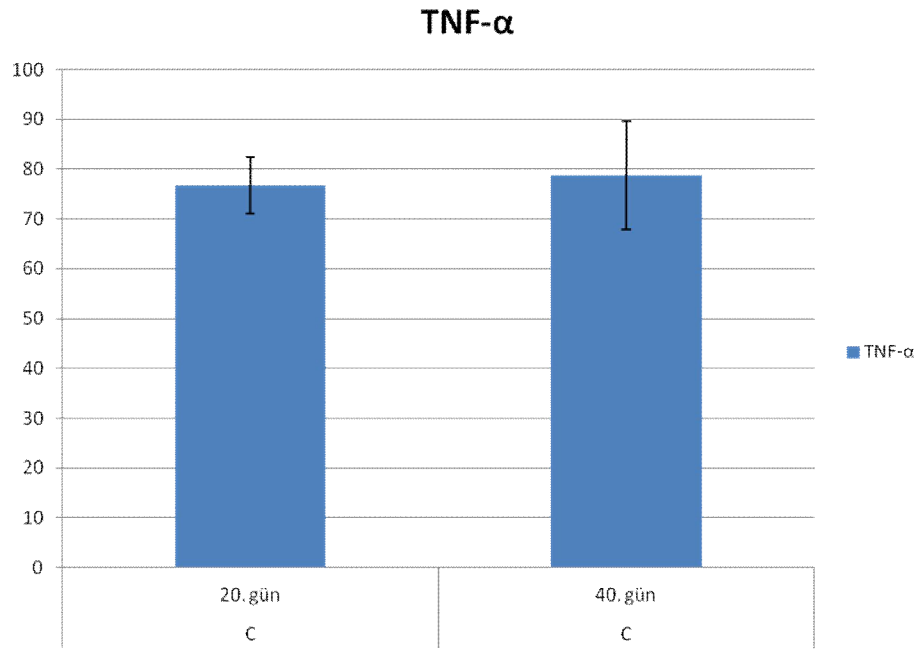
Şekil 3.9. Kontrol grubu 20 ve 40. gün TNF-α düzeyleri (pg/ml).



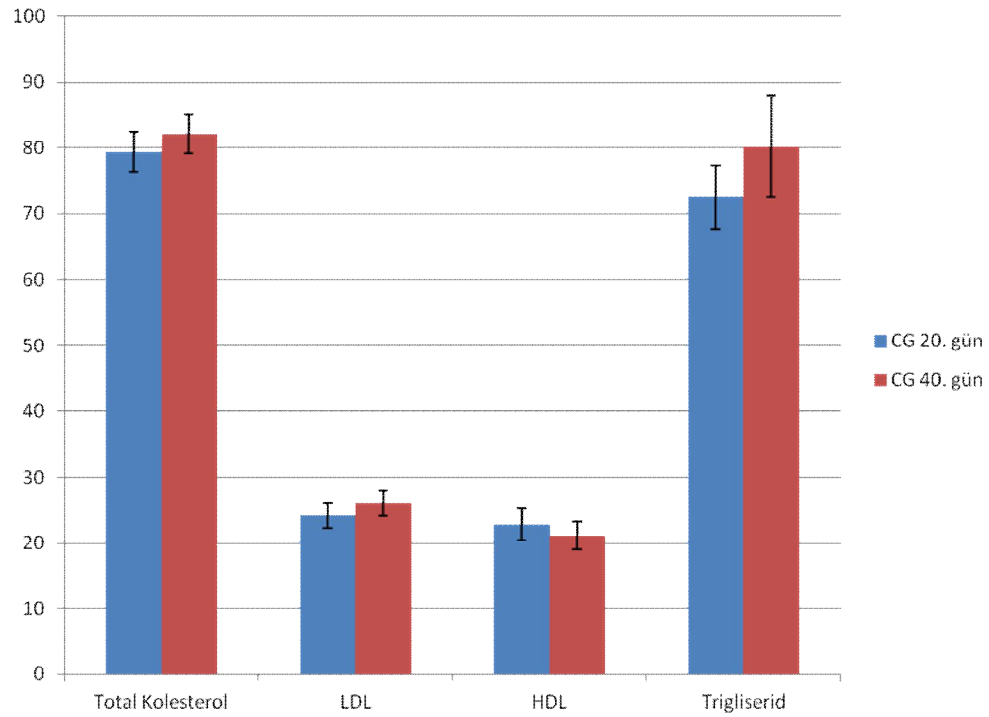
Şekil 3.10. Kolesterol grubu 20 ve 40. gün serum total kolesterol, LDL, HDL ve trigliserid düzeyleri (mg/dl).



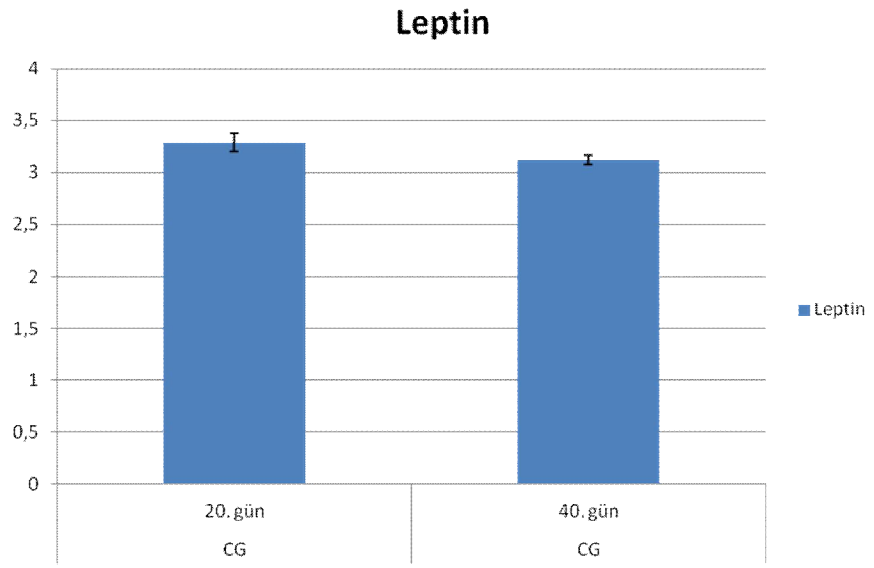
Şekil 3.11. Kolesterol grubu 20 ve 40. gün plazma leptin düzeyleri (ng/ml).



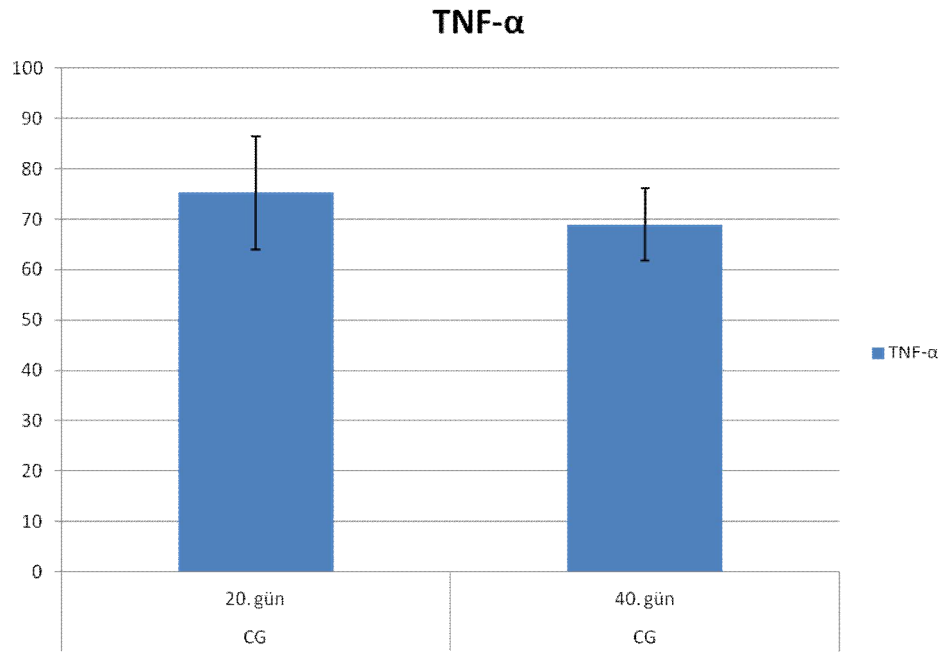
Şekil 3.12. Kolesterol grubu 20 ve 40. gün plazma TNF-α düzeyleri (pg/ml).



Şekil 3.13. Kolesterol+ginseng grubu 20 ve 40. gün serum total kolesterol, LDL, HDL ve trigliserid düzeyleri (mg/dl).



Şekil 3.14. Kolesterol+ginseng grubu 20 ve 40. gün plazma leptin düzeyleri (ng/dl).



Şekil 3.15. Kolesterol+ginseng grubu 20 ve 40. gün plazma TNF-α düzeyleri (pg/ml).

4. TARTIŞMA

Son yıllarda gerek sağlıklı bireylerde gerekse çeşitli hastalık durumlarında vücudun zorlanımlara karşı direncini artırmak, immun sistemi güçlendirmek, yaşam kalitesini iyileştirmek amacı ile bitkisel destek maddeleri bilinçli ya da bilinçsiz olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Block ve Mead 2003). Bu bitkisel destek maddelerinden birisi olan ginsenge ait ürünlerin hiperkolesterolemi, hiperlipidemi ve obeziteye ilişkin etkileri nedeniyle geniş kitlelerce rağbet görmesinden dolayı bu çalışmada yüksek kolesterollü diyetle beslenen sağlıklı ratlarda ginseng kökü tozunun serum lipid profili, adipoz doku hormonlarından leptin ve immunomodülasyonda önemli rolü olan proinflamatuar sitokinlerden TNF-α üzerine etkileri belirlendi.

Çalışmada hiperkolesterolemik diyet oluşturmak amacıyla standart rat yemine %5 oranında toz kolesterol ilavesi yapılırken, diyete katılan ginseng kök tozu miktarı insan ve ratlarda yapılan araştırmalardaki optimal düzeyler, ticari ürünlerde insanlar için belirtilen dozlar ve ratların ortalama yem tüketimleri göz önüne alınarak belirlendi.

Çalışmanın 20. ve 40. günlerinde elde edilen kontrol grubuna ait serum total kolesterol düzeylerinin çeşitli araştırıcıların ratlarda yapmış oldukları araştırmalarda (Harini ve Astirin 2009, Ahmed ve ark 2012) aynı parametreye ilişkin elde edilen değerlere yakın olduğu belirlendi (Çizelge 3.1). Çalışmada 20 gün süreyle %5 oranında kolesterol içeren standart yem ile beslenen ratların serum total kolesterol düzeyleri (Çizelge 3.1, Şekil 3.1) incelendiğinde kontrol grubu değerlerine göre anlamlı oranda arttığı ($p<0,05$) belirlendi. Yine 20. gün sonunda 1 g/kg ginseng kök tozu ve %5 oranında kolesterol içeren yemle beslenen ratlarda ise serum total kolesterol düzeyinin kontrol grubundan anlamlı oranda ($p<0,05$) yüksek olmakla birlikte kolesterol grubu değerlerine göre düşük olduğu ($p<0,05$) belirlendi (Çizelge 3.1, Şekil 3.1). Çalışmanın 40. gün elde edilen serum total kolesterol düzeylerinin 20. günde olduğu gibi kolesterol+ginseng grubunun kontrol grubundan yüksek ($p<0,05$) kolesterol grubundan ise düşük ($p<0,05$) olduğu görüldü (Çizelge 3.1, Şekil 3.4). Her bir grubun 20. ve 40. gün serum total kolesterol değerlerinde hafif değişiklikler

olmakla birlikte istatistiksel olarak herhangi bir fark belirlenmedi (Şekil 3.7, 3.10, 3.13).

Kontrol grubunun 20. ve 40. günde belirlenen serum LDL-kolesterol düzeylerinin çeşitli literatürlerde (Harini ve Astirin 2009, Joo ve ark 2010, Ahmed ve ark 2012) belirtilen ratlara ait referans değerlerle benzer olduğu görüldü (Çizelge 3.1). Yüksek oranda kolesterol içeren yemle 20 gün beslenen ratlarda serum LDL-kolesterol düzeyi anlamlı oranda artış ($p<0,05$) gösterirken, ginseng ilavesi yapılan yüksek kolesterollü yem ile beslenen grupta bu değerin düşerek hem kontrol hem de kolesterol grubu değerlerinden farksız olduğu belirlendi (Çizelge 3.1, Şekil 3.1). Çalışmanın 40. günü serum LDL-kolesterol değerleri incelendiğinde kolesterol+ginseng grubu değerlerinin kontrol grubu değerlerinden anlamlı oranda yüksek olduğu ($p<0,05$), kolesterol grubundan biraz düşük olmakla birlikte istatistiksel olarak fark olmadığı belirlendi (Çizelge 3.1, Şekil 3.4). Çalışmadaki grupların bireysel olarak 20. ve 40. gün elde edilen serum LDL-kolesterol düzeylerindeki değişikliklerin önemli olmadığı görüldü (Şekil 3.7, 3.10, 3.13).

Çalışmada kolesterol grubunda hiperkolesterolemik yemle besleme sonucu serum total kolesterol düzeyinde kontrol grubuna göre belirlenen önemli artış çeşitli araştırmalarda farklı oranlarda kolesterol (Moon ve ark 1984, Yi ve ark 2008) ya da yüksek oranda yağ ilavesi yapılarak (Cicero ve ark 2003, Yun ve ark 2004, Yun ve ark 2007) elde edilen artışlarla paralellik göstermektedir. Diyetteki kolesterol oranın yüksekliği ile serum kolesterol miktarı arasında bazı bireysel farklılıklar olmakla birlikte bir korelasyonun varlığı bilinmektedir (Hopkins 1992, Barona ve Fernandez 2012). Sindirim sisteminden kolesterol absorbsiyonunun serum LDL-kolesterol düzeyi ile pozitif, LDL-kolesterol fraksiyonel katabolik rate (FCR) ile negatif bir korelasyona sahip olduğu bildirilmektedir (Gylling ve ark 1989, Miettinen ve Kesaniemi 1989). Çalışmada yüksek oranda kolesterol ilavesine bağlı olarak kontrol grubu 20. ve 40. gün serum LDL-kolesterol düzeyindeki önemli artış total kolesterol seviyesindeki artışla tutarlı görülmektedir. Nitekim birçok araştırmada total kolesterol seviyesindeki artışla birlikte serum LDL-kolesterol seviyesindeki artış genel bir bulgu olarak karşımıza çıkmaktadır (Cicero ve ark 2003, Yun ve ark 2004, Yun ve ark 2007, Harini ve Astirin 2009, Liu ve ark 2010). Bunlardan Yun ve arkadaşları (2007) 400 gr/kg kuyruk yağı, Mohamed (2011) %1 kolesterol, %7,5

mısır yağı ve %15 kuyruk yağı gibi yüksek yağlı diyetlerle ya da Harini ve Astirin (2009)'in diyete domuz yağı katarak ratlarda yapmış oldukları çalışmalarda total kolesterol seviyesindeki artışa bağlı olarak LDL-kolesterol düzeyinde de önemli artışlar olduğunu belirtmektedirler. Yüksek kolesterollü yeme ginseng kök tozu ilave edilmesi sonucu, gerek 20. gün gerekse 40. gün değerlerinin kontrol grubuna göre önemli oranda yüksek olmasına rağmen kolesterol grubuna göre anlamlı olarak düşüş göstermesi benzer yolla hiperkolesterolemi oluşturulan rat (Cicero ve ark 2003), insan (Kim ve Park 2003) ve fare (Wan ve ark 2009)'lerde ginseng kök tozu ya da ekstraktı uygulamasıyla total kolesterol seviyesinde belirlenen düşüşlerle uyum göstermektedir. Poloxamer-407 gibi kimyasal maddeler kullanılarak hiperkolesterolemi oluşturulan ratlarda da oral ginseng ekstraktı uygulamasının total kolesterol seviyesini önemli oranda düşürdüğü de bildirimler arasındadır (Joo ve ark 2010). Kolesterol+ginseng grubunda kolesterol grubuna göre serum total kolesterol düzeyindeki azalmayı serum LDL-kolesterol düzeyindeki düşüşlerin takip etmesi beklenen bir sonuçken, çalışmada ginseng uygulamasıyla 20. gün LDL-kolesterol düzeylerinin kontrol grubundan istatistiksel olarak farksız olması çeşitli araştırıcıların bu yöndeki bulgularıyla uyum içinde görülmektedir (Cicero ve ark 2003, Yun ve ark 2004, Yun ve ark 2007, Liu ve ark 2010). 40. gün kolesterol+ginseng grubunun serum LDL-kolesterol düzeyinin kontrol grubuna göre yüksek, kolesterol grubundan ise farksız olması uygulanan bu miktardaki ginseng dozunun diyetteki kolesterol miktarına göre yetersiz kaldığı şeklinde değerlendirmek mümkün görülmektedir. Ginseng ekstraktı, ginsenozidler ve ginseng kök tozları ile yapılan çalışmalarda çok farklı miktar ve yolların kullanıldığı dikkate alınarak bu çalışmada verilen ginseng dozu optimum düzey olarak belirlenmiştir (Lee ve Lau 2011).

Çalışmada 20. gün serum HDL-kolesterol düzeylerinin kolesterol grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüş ($p<0,05$) gösterdiği belirlenirken, kolesterol+ginseng grubunda bu düşüşün önemli şekilde baskılandığı ve kontrol grubu değerlerinden farksız olduğu bulundu (Çizelge 3.1, Şekil 3.1). Çalışmanın 40. gününde kolesterol grubu HDL-kolesterol düzeyinin yine kontrol grubundan düşük ($p<0,05$) olduğu görülürken, kolesterol+ginseng grubu değerlerinin kontrol ve kolesterol grubu değerlerinden farksız olduğu belirlendi (Çizelge 3.1, Şekil 3.4). Bu

parametre açısından her bir grubun 20. ve 40. gün değerleri istatistiksel olarak farklılık göstermedi (Şekil 3.7, 3.10, 3.13).

Çalışmada bir başka lipid parametresi olarak belirlenen trigliserid düzeyi 20 gün süre ile yüksek kolesterollü yemle besleme sonucu kontrol grubuna göre önemli oranda artış ($p<0,05$) gösterirken, ginseng ilavesi yapılan grupta kontrol grubundan yüksek ($p<0,05$) olmakla birlikte kolesterol grubuna göre önemli oranda düşük ($p<0,05$) olduğu görüldü (Çizelge 3.1, Şekil 3.1). Aynı parametrenin 40. gün değerleri incelendiğinde kolesterol+ginseng grubu düzeyinin kolesterol grubu düzeyinden düşük olmakla birlikte istatistiksel olarak fark olmadığı ve bu iki grubun trigliserid düzeyinin kontrol grubundan önemli oranda yüksek ($p<0,05$) olduğu belirlendi (Çizelge 3.1, Şekil 3.4). Trigliserid düzeyi açısından her bir grubun 20. ve 40. gün değerleri arasında istatistiksel olarak farklılık belirlenmedi (Şekil 3.7, 3.10, 3.13).

Kardiyovasküler hastalık riski ve aterosklerozis gelişimi açısından daha yaygın bir anlayışla serum kolesterol düzeyindeki değişiklikler risk faktörü olarak değerlendirilirken, serum trigliserid düzeyi göz ardı edilebilmektedir. Nitekim değişik araştırmalarda yüksek yağlı diyetle besleme sonucu trigliserid artışının aterosklerozis gelişimine yardım ettiği hatta iyi kolesterol olarak bilinen HDL-kolesterolün düşük seviyelerinden bağımsız olarak bu olaya yol açtığı ortaya konulmuştur (Harini ve Astirin 2009, Kolovou ve ark 2011). Çalışmada diyete %5 kolesterol ilavesi sonucu kolesterol grubu hayvanların 20. gün serum trigliserid düzeyindeki anlamlı artış çeşitli çalışmalarda diyete kolesterol ilavesi yapılması sonucu elde edilen artışlarla paralellik göstermektedir (Ji ve Gong 2007, Lee ve ark 2010, Park ve ark 2012). Hayvan modellerinde gerçekleştirilen birçok çalışmada yüksek oranda yağ ve kolesterol içeren diyetle besleme sonucu kolesterol düzeyinde görülen artış genel bir bulgu olarak ortaya çıkarken, yüksek oranda kolesterol ilavesinin de hayvanlarda kontrole göre yüksek plazma yağ profiline neden olduğu bulgular arasındadır (Cherng ve Shih 2005, Martinello ve ark 2006). Nitekim HDL-kolesterolü düşüren herhangi bir nedenin aynı zamanda trigliserid seviyesinde bir artışa yol açtığı ve HDL-kolesterol ile trigliserid arasındaki ters orantının kardiyovasküler risk ve aterosklerozis için bir kriter olduğu bildirilmektedir (Ballantyne ve ark 2001, Fauvel ve ark 2001). Çalışmada serum trigliserid

seviyesinde belirlenen artış yüksek oranda kolesterol ilavesine bağlı olarak LDL-kolesterol ve VLDL-kolesteroldeki artışa bağlanabilir (Kissebah ve ark 1982, Miller ve ark 2011). LDL-kolesterol ve özellikle VLDL-kolesterol tiplerinin içerdikleri trigliserid yoğunluğunun HDL-kolesterole oranla daha çok olduğu bilinmektedir (Ginsberg ve ark 2005, Miller ve ark 2011). Nitekim karaciğer tarafından üretilen trigliseridleri dağıtmakla görevli olan VLDL açlık trigliserid düzeyinin yaklaşık %45'ini temsil etmektedir (Ginsberg ve ark 2005) ve açlık trigliserid seviyeleri VLDL-kolesterolün bir indikatörü olarak gösterilmektedir (Ginsberg ve ark 2005, Miller ve ark 2011). Serum total kolesterol düzeyindeki artışa paralel serum LDL-kolesterol ve VLDL-kolesterol miktarındaki artışa bağlı olarak bu lipoproteinlerin taşıdığı ya da yapısına katılan trigliserid artışı bu lipidin sentezinin artmasına neden olarak gösterilmektedir (Ginsberg ve ark 2005, Miller ve ark 2011). VLDL-kolesterolün fazla ya da aşırı üretiminin hipertrigliseridemi ile birlikte bulunduğu da bildirimler arasındadır (Kissebah ve ark 1982, Ginsberg ve ark 2005). Ginsberg ve ark (2005) LDL-kolesterolü düşüren etkenlerin trigliserid düzeylerinde de dramatik düşüşlere yol açtığını, trigliserid düzeyindeki bu azalmanın LDL-kolesteroldeki düşüşle doğrudan ilişkili olduğunu bildirmektedirler. Ginseng uygulaması ile 20. günde kolesterol+ginseng grubunda trigliserid artışının baskılanması ve kolesterol grubuna göre önemli oranda düşüş göstermesi çeşitli ginseng türleri ya da ürünleri ile yapılan çalışmalardaki bulguları destekler niteliktedir (Inoue ve ark 1999, Kim ve Park 2003, Joo ve ark 2010).

Uzun yıllardan beri birçok çalışma HDL-kolesterolü koroner kalp hastalıklarına karşı korunmada çok önemli bir faktör olarak nitelendirmekte ve iyi kolesterol olarak değerlendirilmektedir (Miller ve Miller 1975, Brinton ve ark 1990). Bu nedenle düşük HDL-kolesterol seviyelerinin sebepleri koroner aterosklerozisin belirleyicisi olabileceği ve bunun açıklığa kavuşturulmasının gerektiği genel bir görüştür. Yeterince egzersiz yapılmamasının, sigara kullanımının ve obezite gibi sekonder faktörlerin HDL-kolesterol düzeylerini azalttığı bildirilmektedir. Ayrıca yüksek serum trigliserid oranı düşük HDL-kolesterol düzeyinin altında yatan bir diğer sebep olarak gösterilmektedir. Düşük HDL-kolesterol konsantrasyonuna sebep olan bu çeşitli faktörlerin mekanizmaları tam olarak anlaşılmış değildir. Hatta azımsanmıyacak oranda bireyin bahsedilen sekonder faktörlerin herhangi birisi olmadığı halde düşük HDL-kolesterol düzeylerine sahip oldukları da görülmektedir

(Blades ve ark 1993). Diyetteki kolesterol miktarında (Schaefer ve ark 1981, Nestel ve ark 1982, Zanni ve ark 1987) olduğu gibi diyetin yağ kompozisyonu (Schaefer ve ark 1981, Zanni ve ark 1987) ve miktarının (Lewis ve ark 1981, Schaefer ve ark 1981, Knuiman ve ark 1987) her ikisinin de insan ve hayvan deneklerinde HDL-kolesterol düzeylerini değiştirdiği bildirilmektedir. Kötü kolesterol olarak bilinen LDL-kolesterol seviyelerindeki artışın genellikle koruyucu HDL-kolesterol seviyesinin büyük ölçüde azalmasına yol açtığı ileri sürülmektedir (Schaefer ve ark 1981, Ehnholm ve ark 1982, Zanni ve ark 1987, Brinton ve ark 1990). Bu çalışmada yüksek oranda kolesterol içeren diyetle birlikte LDL-kolesterol düzeylerinde görülen artış ile HDL-kolesterol düzeylerindeki önemli azalma yukardaki bilgileri destekler niteliktedir. Bu sonuç çalışmada yüksek kolesterollü diyete bağlı olarak trigliserid ve total kolesterol düzeylerindeki artışla da tutarlı görülmektedir. Son zamanlardaki çalışmalar düşük HDL-kolesterol düzeyine sahip birçok hastanın HDL-kolesterolün en büyük apolipoprotein komponenti olan Apo A1'in yüksek katabolizmasına sahip olduklarını göstermiştir. Yine de bu anormalliğin düşük HDL-kolesterol seviyesinden doğrudan sorumlu olup olmadığı kesin olarak bilinmemektedir (Blades ve ark 1993). Bu konu ile ilgili olarak hiperlipidemik, hipertrigliseridemik, hiperkolesterolemi ile kombine hiperlipidemik (McPherson ve ark 1991) ve obez kişilerde (Arai ve ark 1994) HDL-kolesterol ile kolesteril ester transfer protein (CETP) aktivitesinin arttığı ve CETP aktivitesi ile HDL-kolesterol seviyesi arasında negatif bir ilişki olduğu da ifade edilmektedir (Arai ve ark 1994). Adı geçen enzimin hiperlipidemiye bağlı aktivite artışı gösterdiği ve HDL-kolesterol içerisindeki kolesterolün Apo B içeren lipoproteinlere transferinde artış olduğu ve HDL-kolesteroldeki düşüş ile LDL-kolesteroldeki artışın bu mekanizma ile olabileceği bir görüş olarak sunulmaktadır (Arai ve ark 1994). Bazı çalışmalarda ise HDL-kolesterol düzeyi ile lipoprotein lipaz (LPL) aktivitesi arasında pozitif, hepatik trigliserid lipaz (HTGL) arasında ise negatif bir ilişkiden bahsedilirken, HTGL ve postheparin LPL ile serum total kolesterol, IDL trigliserid ve HDL2 trigliserid arasında pozitif bir ilişkiden de bahsedilmektedir (Blades ve ark 1993). Nitekim HDL-kolesterol seviyesi düşük olan kişilerde HTGL aktivitesinin yüksek olduğu ve HDL-kolesterol seviyesinin düşüklüğünden büyük oranda sorumlu olanın HTGL aktivitesi olduğu düşünülmektedir (Despres ve ark 1989, Kuusi ve ark 1989). Sigara kullanan bireylerde HTGL ekspresyonunun artmış olduğu da bildirimler arasındadır (Blades ve ark 1993). Yine sigara ve alkol kullananlar (Freeman ve ark 1993) ile trigliserid

yüksekliğine bağlı HDL-kolesterol seviyesindeki düşüklüğün muhtemel sebebinin LPL enzimindeki azalma olabileceği de bir görüş olarak belirtilmektedir (Taskinen ve Nikkila 1981). HTGL yüksek aktivitesi ve LPL'nin düşük aktivitesinin kombine olduğu birçok hastada düşük HDL-kolesterol düzeyleri ortak bir bulgu olarak görülmektedir. Yine bu olayla ilgili olarak düşük HDL-kolesterol seviyesine sahip hem normolipidemik hem de hiperlipidemik bireylerde HTGL aktivitesinin yüksek, LPL aktivitesinin düşük olduğu belirlenmiştir (Blades ve ark 1993). Nitekim bu çalışmada diyete kolesterol ilavesi ile kolesterol grubu hayvanlarda serum LDL-kolesterol miktarının önemli oranda artışı ve serum HDL-kolesterol miktarının önemli oranda azalması belirtilen bu enzimatik mekanizmalar çerçevesinde değerlendirilebilir.

Ratlarda yüksek kolesterol ve yüksek yağlı diyete bağlı hem plazma hem de karaciğer total kolesterol miktarındaki artışın ginseng ekstraktı verilmesiyle engellendiği bildirilmektedir (Ji ve Gong 2007). Karaciğerdeki serbest kolesterol çift taşıyıcı ATP-binding Cassette Transporter G5 (ABCG5) ve ATP-binding Cassette Transporter G8 (ABCG8) tarafından direkt olarak safraya ekskre edilmektedir. Yine bu kolesterol Cholesterol 7α-hydroxylase (CYP7A1) ve diğer enzimlerce safraya katalize edilmektedir. Karaciğer kolesterolün vücuttan eliminasyonu için primer alan olarak görev yapmaktadır. ABCG5 ve ABCG8 bir dimer şekillendirerek hepatositlerin membranına yerleşmektedirler. Bunlar serbest kolesterolün safraya pompalanması işini yapmaktadırlar (Graf ve ark 2002). Liver X Reseptör (LXR) agonistleri uygulanan farelerde ABCG5 ve ABCG8 ekspresyonu artmıştır (Repa ve ark 2002). Diğer yandan hepatositlerdeki aşırı kolesterol oksisteroller oluşturmaktadır (Zhang ve ark 2001). Oksisterol oluşumu LXR aktivasyonu ile CYP7A1'in transkripsiyonunu aktive etmektedir. Böylece indirek olarak kolesterolün safra asitlerine dönüşümünün artırıldığı bildirilmektedir (Lehmann ve ark 1997). Bundan sonra safra asitleri fazla kolesterolün safraya ve dışkıya ekskresyonu için son yol olarak görev yapmaktadır (Princen ve ark 1997). Safra asitleri feed back özelliği göstermektedirler. Safra asitleri tarafından Farnesoid X reseptör (FXR) aktivasyonu Short Heterodimer Partner (SHP)-1 ekspresyonunu indüklemektedir. Bu da liver reseptör homolog-1 (LRH-1) aktivitesini inhibe ederek indirek olarak CYP7A1 ekspresyonunu baskılamış olmaktadır (Goodwin ve ark 2000, Lu ve ark 2000). CYP7A1 ekspresyonunun azalmasının safra asitleri

sentezinin azalmasına neden olduğu bildirilmektedir (Kawase ve ark 2013). Kawase ve arkadaşları (2013), yüksek kolesterollü diyetle beslenen ratlarda bazı ginsenozidlerin oral uygulamasının CYP7A1 ekspresyonunu artırdığını bununda serum LDL-kolesterol ve total kolesterol düzeyinin düşmesi ile serum LDL-kolesterol/HDL-kolesterol oranının azalmasında etkin olduğunu belirtmektedirler. LDL reseptörü (LDLR) vücudun kolesterol homeostazinin korunmasında bir anahtar komponenttir (Kovanen and Schneider 1999). Hepatositlerde intraselüler kolesterol kaybı LDLR mRNA'sını indüklemektedir. Bu da LDL-kolesterol klirensinin hızlanmasına ve serum total kolesterol seviyesinin azalmasına neden olmaktadır (Bilheimer ve ark 1983, Ma ve ark 1986). LDLR ekspresyonu predominant olarak kolesterol ya da oksisterol aracılığıyla transkripsiyonel olarak regüle edilmektedir (Brown and Goldstein 1986). Ji ve Gong (2007) çalışmalarında ginseng n-butanol ekstraktı (NE3) uygulanan ratlarda LDLR ekspresyon düzeyinin yüksek yağlı diyetle beslenen gruba göre önemli oranda arttığını ifade etmektedirler. Bunun da LDL-kolesterol ve total kolesterolün düzeyindeki azalmaya yardım ettiğini bildirmektedirler. Yine de ginseng ekstraktı nın bu etkisinin kolesterol ve oksistreol aracılı yollarla olup olmadığının ortaya konulması için farklı çalışmalar yapılması gerektiğini vurgulamaktadırlar.

Aynı araştırıcılar (Ji ve Gong 2007) ginseng ekstraktı uygulaması ile yağlı diyetle beslenen gruba göre serum ve karaciğer trigliserid düzeyinde doza bağlı anlamlı azalmalar belirlemişlerdir. Bu mekanizmanın altında yatan trigliserid üretimi ile FXR aktivasyonunun ilişkisi izaha muhtaç görülmektedir. Bu olay için iki muhtemel mekanizma öne sürülmektedir. Transkripsiyonel düzeyde, ginseng ekstraktının yağ asitlerini sentez için gerekli enzimlerin genlerini ekspre eden SREBP1-c'nin gen ekspresyonunu azaltmak yolu ile trigliserid seviyesini düşürdüğü gösterilmiş, ginseng ekstraktı uygulanan ratlarda yağlı kontrol ile karşılaştırıldığında SHP ekspresyon düzeyi önemli oranda yüksek ve bunu takiben SREBP1-c ekspresyonunun belirgin olarak düşdüğü belirlenmiştir. SREBP1-c'nin ekspresyonunun azalması ise karaciğerde trigliserid sentezinin azalmasına yardım etmektedir. Çünkü SREBP1-c hepatik yağ asidi ve trigliserid sentezi için ana regülatördür (Horton ve ark 2002). SREBP1-c'nin aktivasyonu FXR-SHP-LRH-1 yolları ile aktive edilen FXR tarafından inhibe edilmektedir (Watanabe ve ark 2004).

Diğer yandan metabolik düzeyde ginseng ekstraktının trigliserid düşürücü etkisi LPL aktivitesindeki artış ile ilgili görülmektedir. Ginseng ekstraktı uygulaması FXR agonisti olarak ApoCII mRNA'sında önemli artış yaparken, takiben ApoCIII mRNA'sında önemli düşüş sağladığı belirtilmektedir. Trigliserid üretimi ile klirensi arasındaki denge dolaşımdaki trigliserid düzeyini belirlemektedir. LPL trigliserid lipoproteininin lipolizi ile ilgili kilit bir enzimdir (Ji ve Gong 2007). ApoCIII LPL aktivitesinin bir inhibitörüyken (Staels ve ark 1995), ApoCII bir LPL aktivatörüdür (Goldberg ve ark 1990). FXR aktivasyonunun hepatik ApoCII ekspresyonunu artırdığı (Kast ve ark 2001) ve karaciğerde ApoCIII ekspresyonunu baskıladığı bildirilmektedir (Claudel ve ark 2003). Yukardaki çalışmada ginseng ekstraktı uygulaması ile trigliserid düzeyindeki düşüş kısmen ApoCII'deki artış ile ApoCIII'deki azalmaya ve her iki durumun birlikte LPL aktivitesini artırmasına atfedilmektedir. Bu sonuçların LXRα aracılığı ile oluşan karaciğerdeki trigliserid birikimi ve hipertrigliserideminin FXR aktivasyonu yolu ile önlenebileceğini göstermesi açısından önemli olduğu belirtilmektedir (Ji ve Gong 2007).

Yapılan diğer bir çalışmada FXR'nin monomer olarak ApoA1 promoterindeki C footpoint olarak adlandırılan bölgeye bağlandığı ve ApoA1 ekspresyonunu azalttığı bildirilmektedir (Claudel ve ark 2002). Yakın zamandaki bir çalışmada ise LRH-1'in insan ApoA1 geninin ekspresyonunu upregüle ettiği ve SHP'nin ise ApoA1 gen ekspresyonunu CYP7A1 geninde olan mekanizmanın aynısında olduğu gibi LRH-1 transkripsiyonel aktivitesinin inhibisyonu yolu ile ApoA1 gen ekspresyonunu suprese ettiği belirlenmiştir (Delerive ve ark 2004). Ji ve Gong (2007) ginseng ekstraktı uygulamasının yağlı diyetle beslenen grupta kontrol grubuna göre HDL-kolesterol düzeyi ile ApoA1 mRNA ekspresyonu üzerinde önemli bir etki göstermediğini bildirmektedirler. Attie ve arkadaşları (2001) ise in vivo olarak ginseng ekstraktı uygulamasının HDL-kolesterol üzerine anlamlı bir etki göstermediğini belirtmelerine rağmen daha önceki çalışmalarına dayanarak ginseng ekstraktının ABCA1 transkripsiyonunu artırmak yolu ile reverse kolesterol transportunu kolaylaştırma potansiyeline sahip olduğu görüşünü ileri sürmektedirler.

Ginsengin bahsedilen hipolipidemik etkilerinin mekanizmaları arasında protopanaxadiol'ün pankreatik lipaz aktivitesini önlemesine bağlayan görüşlerde bulunmaktadır (Liu ve ark 2010). Liu ve arkadaşları (2010) Amerikan ginseng

yapraklarından izole edilen bir ginsenozid tipi olan protopanaxadiol'ün yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde hem serum hem de karaciğer lipid parametrelerini önemli oranda düşürdüğünü belirtmektedirler. Ginseng ile ilgili yapılan başka bir çalışmada ginseng yaprak ekstraktının yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde bir serin treonin kinaz olan AMPK (AMP-activated protein kinase)'nın aktivasyonu yoluyla glikoneogenezisi azaltarak lipolizisi ise stimüle ederek hipolipidemik etki gösterdiği ileri sürülmektedir (Yuan ve ark 2010). Aynı çalışmada asetil CoA karboksilaz aktivitesi ve yağ hücrelerince lipid alımını ve adipogenezisi stimüle eden Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) aktivitesi artışı da ginseng uygulamasına bağlı hipolipidemik faktörler arasında gösterilmektedir (Yuan ve ark 2010). AMPK'nın hepatik aktivasyonunun hepatik yağ asidi, trigliserid, kolesterol sentezi ve glikoz üretiminin inhibisyonu ile sonuçlandığı bulgular arasındadır (Yuan ve ark 2010).

Leptin özellikle adipozitlerin trigliserid depolarına oransal olarak bu hücrelerden salınmaktadır. Dolaşımdaki leptin düzeyleri bunun yanında obezitenin şiddeti ile ilişkili görülmektedir (Maffei ve ark 1995, Havel 2000). Leptin enerji harcanımı ve besin alınımını nöronal sistem ile regüle eden bir hormondur (Matyskova ve ark 2010). Obezler ve yüksek trigliserid düzeyine sahip bireylerin genellikle plazma leptin düzeyleri daha yüksektir. Bu nedenle leptin in vivo ve invitro olarak bahsedilen durumların bir indikatörü olarak kabul edilmektedir (Matsubara ve ark 2002). Bu çalışmada leptinin 20. gün değerleri incelendiğinde kolesterol grubunda kontrol grubuna göre hafif artış ve kolesterol+ginseng grubunda kolesterol grubuna göre yine hafif bir düşüş belirlense de değişikliklerin gruplararasında farklılık oluşturmadığı görülmektedir (Çizelge 3.1, Şekil 3.2). Çalışmanın 40. gününde aynı hormonun yüksek kolesterollü diyetle beslenen grupta kontrol grubuna göre önemli oranda artış gösterdiği gözlenirken, kolesterol+ginseng grubunda kontrol grubuna göre farksız olmakla birlikte kolesterol grubundan anlamlı olarak düşük ($p<0,05$) olduğu belirlendi (Çizelge 3.1, Şekil 3.5). Kontrol ve kolesterol+ginseng gruplarının 20. ve 40. gün leptin değerlerinin birbirinden farksız olduğu tespit edilirken (Şekil 3.8, 3.14), kolesterol grubunun 40. gün leptin değerinin 20. güne göre anlamlı olarak artış ($p<0,05$) gösterdiği belirlendi (Şekil 3.11). Çalışmada 20. gün leptin değerlerindeki değişiklikler istatistiki olarak önemli olmamakla birlikte 40. gün değerlerinin kolesterol grubunda yüksek olması ve ginseng ilavesi ile leptin düzeyinin kolesterol grubuna göre anlamlı olarak düşük

bulunması bu alanda yapılan bazı çalışmalarla (Kim ve ark 2005, Lee ve ark 2010, Yuan ve ark 2010) uyum içinde görülmektedir.

Kim ve ark (2005) yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda saf saponin uygulaması ile serum leptin düzeylerinde sadece yağlı diyetle beslenen ratlara göre önemli düşüş belirlemişlerdir. Bu düşüşün nedenini saponinin vücut yağ kitlesini azaltmasına bunun da leptin düzeyine yansımasına bağladıklarını ifade etmektedirler. Diğer yandan, yüksek yağlı diyet grubunda saponin uygulamasını takiben NPY ekspresyonunun azalmasının leptin düzeyindeki düşüşün de bir göstergesi olduğunu, arkuat-paraventriküler nükleus bağlamında kısmen bu etkileşiminde ginseng saponinlerinin antiobezitik etkisinin altında yatan potansiyel mekanizmalardan biri olabileceği belirtilmektedir (Kim ve ark 2005). Ginseng geleneksel tıpta binlerce yıldır kullanılmakta olan ve en iyi bilinen medikal bitkilerden biridir. Geleneksel çin tıbbında ginseng kökleri bu bitkinin diğer bölümlerinden daha fazla kullanılmaktadır (Yuan ve ark 2010). Yuan ve ark (2010)'nın farelerde yapmış oldukları çalışmada yüksek yağlı diyetle beslemeye bağlı olarak serum trigliserid, total kolesterol, esterifiye olmamış yağ asidi (NEFA) ve leptin düzeylerinde belirlenen önemli artışların ginseng yaprak ekstraktı kullanılması sonucu önemli oranda düştüğünü belirlemişlerdir. Adı geçen çalışmada belirtilen parametrelerdeki düşüş ginseng yaprak ekstraktı uygulanan farelerde fosforile AMPK'nın yüksek seviyelerine atfedilmektedir (Yuan ve ark 2010). Nitekim karaciğerde AMPK aktivitesindeki artışının yağ asidi, trigliserid ve sterol sentezinde önemli düşüşler meydana getirdiği belirtilmektedir (Hardie 2004, Yin ve ark 2007). Araştırıcılar (Yuan ve ark 2010) ginseng yaprak ekstraktının AMPK aktivasyonunun SREBP1 transkripsiyonel aktivitesinin inhibisyonu ile lipojenik enzimlerin inhibisyonuna yol açtığını ileri sürmektedirler. Yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde ginseng ekstraktı uygulanmasına bağlı olarak leptin seviyesinin önemli oranda azaldığı bildirimler arasındadır (Lee ve ark 2010). Lee ve ark (2010) yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde ginseng ekstraktı uygulaması ile plazma leptin düzeyinde belirlenen düşüşü adipoz dokudaki azalmaya atfetmektedirler. Yapılan başka bir çalışmada yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde ginseng ekstraktı uygulamasının lipid profili ve leptin düzeylerindeki anormaliteyi önemli oranda düzelttiği vurgulanırken, ginseng ekstraktının leptin reseptör aktivitesini düzenleyen Lepr gen ekspresyonunu artırdığı ve leptin fonksiyonlarına aracılık eden reseptör üzerindeki bu etkinin lipid

metabolizmasının ayarlanmasında önemli olduğu görüşü dile getirilmektedir (Song ve ark 2012). Kim ve ark (2009) adipozit kültürlerine yüksek kolesterol ilavesi ile SREBP1'de herhangi bir değişiklik olmamasına rağmen leptin düzeyinde hafif bir artış meydana geldiğini belirtirlerken, bu hücre kültürlerine ginsenozid Rb2 uygulamasının SREBP1 ve leptin mRNA'sında önemli artışlara yol açtığını ve bu olayında hipolipidemik etkiye aracılık edebileceğini belirtmektedirler. Bundan dolayı ginsenozid Rb2'nin lipid düşürücü olarak değerlendirilebilir bir komponent olabileceğini ileri sürmektedirler (Kim ve ark 2009). Yukarda verilen bilgiler ışığında ginseng ve ürünlerine dair mekanizmalar tam netleşmemekle birlikte bu çalışmada leptin düzeylerine ilişkin gerek kolesterol grubu gerekse ginseng grubu değerlerindeki değişiklikler adı geçen çalışmalarla tutarlılık arz etmektedir.

Sadece immun sistem hücreleri tarafından değil aynı zamanda adipoz doku tarafındanda salınan bir proinflamatuar sitokin olan TNF-α'nın kontrol grubu 20. ve 40. gün değerlerinin çeşitli çalışmalarda belirtilen ratlara ait normal değer aralıklarında olduğu belirlendi. Çalışmada yüksek kolesterollü yemle besleme sonucu TNF-α düzeyleri kolesterol grubunda belirgin bir artış göstermekle birlikte bunun istatistiki önemde olmadığı görülürken, kolesterol+ginseng grubunda da hafif bir düşüş olmakla birlikte farklılık belirlenmedi (Çizelge 3.1, Şekil 3.3, 3.6). Yine her bir grubun 20. ve 40. gün değerleri incelendiğinde örnekleme zamanları arasında önemli değişikliklerin olmadığı belirlendi (Şekil 3.9, 3.12, 3.15).

Hipertansiyon, sigara ve obeziteye ilave olarak hiperlipidemi serebral kan damarları ve koroner arterlerde aterosklerozis gelişimi için önemli faktörlerden biridir. Aterosklerozisin sadece hiperlipidemiye değil aynı zamanda damar duvarlarındaki inflamasyonlara yanıt olarak geliştiği de bilinmektedir. Bu gibi yangısal prosesler vasküler endotel hücrelerinin hipofonksiyonu, adezyon moleküllerinin gelişimi, nötrofillerin infiltrasyonu, arteriyel intimaya infiltre olan monositlerin hızlı bir şekilde makrofajara dönüşümleri ile açıklanmaktadır (Libby 2002, Taubes 2002). NF-Kβ, cAMP response element-binding protein (CREB) ve aktive protein (AP)-1 nükleer transkripsiyon faktörleri olarak bilinirler. Bunlar TNF-α ve IL-1 gibi proinflamatuar sitokinlerle COX-2 artışına ve bu sürece dahil olmasına neden olurlar (Joo ve ark 2010). Yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerde (Silha ve ark 2006, Park ve ark 2012), ratlarda (Mohamed 2011) ve insanlarda (Yudkin ve ark

1999, Gerenli ve ark 2008) plazma leptin ve TNF-α düzeylerinde meydana gelen artışlar diyete bağlı vücut yağ oranının artışı ve obezitenin gelişimi ile bağlantılı olarak değerlendirilmektedir. Nitekim bu çalışmalarda vücut yağ indeksi ve adipoz doku artışı ile plazma TNF-α düzeyleri arasında pozitif bir korelasyondan bahsedilmektedir. Bu tür araştırmalarda hipolipidemik ajanların kullanılmasını takiben TNF-α ve plazma leptin düzeyinde görülen önemli düşüşlerin nedeni ise hipolipidemik etki yanında adipoz doku oranının sadece yağlı diyetle beslenenlere ve obezlere oranla önemli oranda azalmasından kaynaklı olduğu bildirilmektedir (Park ve ark 2012). Diğer yandan obeziteden bağımsız hiperlipidemiye bağlı olarak da serum TNF-α düzeylerinde artıştan söz edilmektedir. Ahmed ve arkadaşları (2012) aterojenik diyetle besledikleri ratlarda serum kolesterol ve trigliserid artışına paralel olarak gelişen dislipidemiye ilişkin TNF-α düzeylerinde de önemli artış meydana geldiğini bildirmektedirler. Yi ve ark (2008) ise yüksek oranda yağ içeren diyetle beslenen tavşanlarda serum total kolesterol ve trigliserid düzeylerinde belirlenen artışlarla birlikte serum TNF-α düzeyinde de önemli artışlar meydana geldiğini bildirmektedirler. Buna karşılık panax notoginseng saponinleri uygulaması ile adı geçen parametrelerdeki düşüşe paralel olarak TNF-α düzeyinde de önemli bir azalma meydana geldiği belirlenmiş, bu düşüş ise postheparin LPL aktivitesindeki artışa bağlanmıştır. Konu ile ilgili bir başka çalışmada Joo ve arkadaşları (2010) dislipidemi oluşturulan ratlarda total kolesterol, LDL-kolesterol, trigliserid ve TNF-α düzeylerinde önemli artışlar meydana geldiğini panax notoginseng ekstraktının uygulanması ile trigliserid ve LDL-kolesterol düzeyinde önemli düşüşler olmakla birlikte bu düşüşün TNF-α düzeyine yansımadığını belirtmektedirler. Bizim çalışmamızda ginseng uygulaması ile lipid profilindeki önemli değişikliklere rağmen bu değişikliklerin TNF-α düzeyine yansımaması Joo ve arkadaşları (2010)'nın bulguları ile paralellik göstermektedir. Bu çalışmada yüksek oranda kolesterol uygulaması ile TNF-α düzeyinde dalgalanmaların istatistiksel önemde olmaması diyete bağlı hiperlipideminin çok şiddetli olmayışına ve adipoz doku artışının gelişmeyişine bağlanabileceği gibi ginseng kök tozu uygulaması ile görülen hafif düşüş yine uygulanan doz ile açıklanabilir. Ginseng ekstraktı ya da ginsenozidlerinin NF-Kβ yolu vasıtası ile hücre adezyon molekülleri COX-2 ve iNOS gibi inflamatuar substansları inhibe ettiği ve dolayısıyla TNF-α artışını baskıladığı bildirilmektedir (Abate ve ark 1998). Diğer yandan Kim ve arkadaşları (2007) panax ginseng aktif komponentlerinden Rb1'in fare periferal kan mononükleer hücrelerinde TNF-α

indüksiyonunu inhibe ettiğini bildirirlerken, Hu ve arkadaşları (2011) ise ginsenosid Rg1'in farelerde çeşitli organlarda TNF-α ekspresyonunu inhibe ettiği bunuda Rg1'in NF-Kβ ve Mitogen-activated protein kinase (MAPK) yollarını suprese ederek TNF-α üretimini azalttığı şeklinde ifade etmektedirler. Benzer olarak murinlerde Rg3'ün de TNF-α ekspresyonunu azalttığı bildirilmektedir (Joo ve ark 2008).

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmada kolesterol+ginseng grubunda 20. gün ve 40. gün serum total kolesterol düzeyleri kolesterol grubuna göre önemli düşüş gösterirken, 20. gün LDL-kolesterol düzeyi kontrol grubuna göre farksızdı. Ginseng uygulamasıyla 20. gün serum trigliserid düzeyinde kolesterol grubuna göre belirlenen düşüş ve 20. gün serum HDL-kolesterol düzeyindeki kolesterol grubuna göre belirlenen artış ile 40. gün leptin düzeyindeki kolesterol grubuna göre belirlenen azalma önemli bulundu.

Çalışmada ginsengin bu parametreler üzerine olan etkilerine ilişkin elde edilen sonuçlar benzer yönde yapılan araştırmalarda ginseng ve hipolipidemik etkilerine dair verilen mekanizmalarla birlikte ele alındığında ginseng kök tozunun serum lipid profili üzerinde görülen etkilerinin anlamlı olarak değerlendirilmesi yanında çeşitli doz ve kapsamda yapılacak çalışmalara ihtiyaç duyulması gereği ile birlikte mevcut literatüre de katkı sağlayacağı düşüncesine varılmıştır.

6. ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Yüksek Kolesterollü Diyetle Beslenen Ratlarda Ginsengin TNF-α, Leptin ve Bazı Serum Lipid Parametreleri Üzerine Etkileri

Mehmet ALTIN

Fizyoloji Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ / KONYA-2013

Bu çalışmada yetişkin sağlıklı ratlarda yüksek oranda kolesterol içeren diyete ginseng kök tozu ilavesinin serum total kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol, trigliserid, leptin ve TNF-α düzeyleri üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Araştırmada sağlıklı 48 yetişkin erkek Wistar Albino rat kullanıldı. Ratlar Kontrol (K), Kolesterol (C) ve Kolesterol+Ginseng (CG) olmak üzere üç eşit gruba ayrıldı. K grubundaki hayvanlar 40 gün süre ile standart rat yemi (Purina®) ile ad libitum olarak beslenirken, C grubundaki hayvanlara %5 kolesterol (Sigma) ilave edilen yem, CG grubuna 1 g/kg ginseng tozu (GNC) ve %5 kolesterol ilave edilen yem verildi. Araştırmada 20. ve 40. gün sonunda gruplardaki 8'er hayvandan alınan kan örneklerinde serum total kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol, trigliserid, leptin ve TNF-α düzeyleri belirlendi.

Çalışmada kolesterol+ginseng grubunda 20. gün ve 40. gün serum total kolesterol düzeyi kolesterol grubuna göre önemli düşüş gösterirken ($p<0.05$), 20. gün LDL-kolesterol düzeyi kontrol grubuna göre farksızdı. 20. gün serum trigliserid düzeyinde kolesterol grubuna göre belirlenen düşüş ($p<0.05$), 20. gün serum HDL-kolesterol düzeyindeki kolesterol grubuna göre belirlenen artış ($p<0.05$) ve 40. gün leptin düzeyindeki kolesterol grubuna göre belirlenen azalma ($p<0.05$) önemliydi. Çalışmada 20. ve 40. gün plazma TNF-α düzeyi gerek gruplararası gerekse örnekleme zamanları açısından farklılık göstermedi.

Çalışmada yüksek oranda kolesterollü diyetle birlikte ginseng uygulamasının serum total kolesterol, LDL-kolesterol, trigliserid ve leptin düzeyinde meydana gelen düşüşler ile serum HDL-kolesterol düzeyinde meydana gelen değişiklikler bu bitkinin lipid profilindeki anormaliteleri düzeltebileceği yönündeki görüşleri destekler niteliktedir.

Anahtar Sözcükler: Ginseng; kolesterol; leptin; rat; TNF-α

7. SUMMARY

Effects of Ginseng on TNF-α, Leptin and Some Serum Lipid Parameters in Rats Fed a Cholesterol-rich diet

In this study, it was aimed to determine the effect of ginseng root powder on serum levels of total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceride, leptin ve TNF-α in healty adult rats fed cholesterol-rich diet.

In this research, healthy 48 adult male Wistar Albino rats were used. The animals were divided into three equal groups as Control (K), Cholesterol (C) and Cholesterol+Ginseng (CG). While animals in the K group were fed the standart rat diet (Purina ®) as ad libitum for a period of 40 days, C and CG groups animals received the same diet added 5% cholesterol (Sigma) and added 5% cholesterol plus 1 g/kg Panax Ginseng root powder (GNC), respectively. The blood samples were withdrawn from 8 rats of each group at the end of 20th and 40th days. In the blood samples, serum levels of total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceride, leptin ve TNF-α were assessed.

In the 20th end 40th day, while serum total cholesterol levels in the cholesterol+ginseng group was found to be lower ($p<0.05$) when compared to the cholesterol group, in the 20th day, serum LDL-cholesterol level in the cholesterol+ginseng group was not different than the control group. In the 20th day, the decrease in serum trygliceride levels, the increase in serum HDL-cholesterol levels and in the 40th day, the decrease in plasma leptin levels of cholesterol+ginseng group compared to cholesterol group were significant ($p<0.05$). In the 20th end 40th day of the study, the levels of plasma TNF-α didn't show any difference both between sampling times and among the groups.

In this study, the decreases serum total cholesterol, LDL-cholesterol, triglyceride, leptin levels and the changes serum HDL-cholesterol levels with the ginseng application to cholesterol-rich diet support the opinions that this plant ameliorated the abnormalities of lipid profile.

Keywords: Ginseng; cholesterol; leptin; rat; TNF-α

8. KAYNAKLAR

1. Abate A, Oberle S, Schröder H. Lipopolysaccharide-induced expression of cyclooxygenase-2 in mouse macrophages is inhibited by chloromethylketones and a direct inhibitor of NF-kappa B translocation. Prostaglandins Other Lipid Mediat. 1998; 56: 277-90.

2. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and molecular immunology. Third Edition. W.B. Saunders: Philadelphia, 1997; 250-77.

3. Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E, et al. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. Nature. 1996; 382: 250-2.

4. Ahn JY, Choi IS, Shim JY, Yun EK, Yun YS, Jeong G, et al. The immunomodulator ginsan induces resistance to experimental sepsis by inhibiting Toll-like receptormediated inflammatory signals. Eur. J. Immunol. 2006; 36: 37-45.

5. Ahmed HH, Abdalla MS, Eskander EF, Al-khadragy, Massoud MN. Hypolipidemic influence of Sargassum subrepandum: mechanism of action. European Review for Medical and Pharmacological Sciences. 2012; 16(3): 112-20.

6. Alaupovic P, Mack WJ, Knight-Gibson C, Hodis HN. The role of triglyceride-rich lipoprotein families in the progression of atherosclerotic lesions as determined by sequential coronary angiography from a controlled clinical trial. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1997; 17: 715-22.

7. American Gastroenterological Association Clinical Practice Committee (AGA), Technical Review on Obesity, Gastroenterology, 2002; 123: 882-932.

8. Angelin B, Reihner E, Rudling M, Ewerth S. Bjorkhem I, Einarsson K. In vitro studies oflipid metabolism in human liver. Am Heart J. 1987; l13: 482-7.

9. Arai T, Yamashita S, Hirano K, Sakai N, Kotani K, Fujioka S, et al. Increased Plasma Cholesteryl Ester Transfer Protein in Obese Subjects A Possible Mechanism for the Reduction of Serum HDL Cholesterol Levels in Obesity. Arterioscler Thromb. 1994; 14: 1129-36.

10. Attele AS, Wu JA, Yuan CS. Ginseng Pharmacology: Multiple Constituents and Multiple Actions. Biochemical Pharmacology. 1999; 58: 1685-93.

11. Attie AD, Kastelein JP, Hayden MR. Pivotal role of ABCA1 in reverse cholesterol transport influencing HDL levels and susceptibility to atherosclerosis. Journal of Lipid Research. 2001; 42: 1717-26.

12. Babu KS. Role of tumor necrosis factor alpha in asthma. Immunol Allergy Clin North Am. 2004; 24(4): 583-97.

13. Bado A, Levasseur S, Attoub S, Kermorgant S, Laigneau JP, Bortoluzzi MN, et al. The stomach is a source of leptin. Nature. 1998; 394: 790-3.

14. Bagnasco M, Dube MG, Kalra PS, and Kalra SP. Evidence for the existence of distinct central appetite, energy expenditure, and ghrelin stimulation pathways as revealed by hypothalamic sitespecific leptin gene therapy. Endocrinology. 2002; 143: 4409-21.

15. Ballantyne CM, Olsson AG, Cook TJ, Mercuri MF, Pedersen TR, Kjekshus J. Influence of Low High-Density Lipoprotein Cholesterol and Elevated Triglyceride on Coronary Heart Disease Events and Response to Simvastatin Therapy in 4S. Circulation. 2001; 104: 3046-51.

16. Banks WA, Kastin AJ, Huang W, Jaspan JB, and Maness LM. Leptin enters the brain by a saturable system independent of insulin. Peptides. 1996; 17: 305-11.

17. Barona J, Fernandez ML. Dietary Cholesterol Affects Plasma Lipid Levels, the Intravascular Processing of Lipoproteins and Reverse Cholesterol Transport without Increasing the Risk for Heart Disease. Nutrients. 2012; 4: 1015-25.

18. Beg AA, Finco TS, Nantermet PV, Baldwin AS Jr. Tumor necrosis factor and interleukin-1 lead to phosphorylation and loss of IκBα: A mechanism for NF-κB activation. Mol Cell Biol. 1993; 13: 3301-10.

19. Bilheimer DW, Grundy SM, Brown MS, Goldstein JL. Mevinolin and colestipol stimulate receptor-mediated clearance of low density lipoprotein from plasma in familial hypercholesterolemia heterozygotes. Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 1983; 80: 4124-218.

20. Blades B, Vega GL, Grundy SM. Activities of Lipoprotein Lipase and Hepatic Triglyceride Lipase in Postheparin Plasma of Patients with Low Concentrations of HDL Cholesterol. Arteriosclerosis and Thrombosis. 1993; 13: 1227-35.

21. Block KI, Mead MN. Immune System Effects of Echinacea, Ginseng, and Astragalus: A Review. Integrative Cancer Therapies. 2003; 2(3): 247-67.

22. Brinton EA, Eisenberg S, Breslow JL. A Low-fat Diet Decreases High Density Lipoprotein (HDL) Cholesterol Levels by Decreasing HDL Apolipoprotein Transport Rates. J. Clin. Invest. 1990; 85: 144-51.

23. Brinton EA, Eisenberg S, Breslow JL. Increased Apo A-I and Apo A-II Fractional Catabolic Rate in Patients with Low High Density Lipoprotein-Cholesterol Levels with or without Hypertriglyceridemia. J. Clin. Invest. 1991; 87: 536-44.

24. Brown MS, Goldstein JL. Areceptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. Science. 1986; 232: 34-47.

25. Brown MS, Goldstein JL. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. Cell. 1997; 89: 331-40.

26. Breslow JL. Mousemodels of atherosclerosis. Science. 1996; 272: 685-8.

27. Bussolino F, Camussi G, Baglioni C. Synthesis and release of platelet-activating factor by human vascular endothelial cells treated with tumor necrosis factor or interleukin-1α. J. Biol. Chem. 1988; 263: 11856-61.

28. Byun BH, Shin I, Yoon YS, Kim SI, Joe CO. Modulation of protein kinase C activity in NIH 3T3 cells by plant glycosides from Panax ginseng. Planta Med. 1997; 63: 389-92.

29. Campfield LA, Smith FJ, Guisez Y, Devos R, and Burn P. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. Science. 1995; 269: 546-9.

30. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1975; 72: 3666-70.

31. Cerami A, Beutler B. The role of cachetin/TNF in endotoxic shock and cachexia. Immunol. Today. 1988; 9: 28-31.

32. Chan DC, Watts GF. Dyslipidaemia in the metabolic syndrome and type 2 diabetes: pathogenesis, priorities, pharmacotherapies. Expert Opin Pharmacother. 2011; 12: 13-30.

33. Chan JCN, Cheung JCK, Stehouwer CDA, JJ Emeis JJ, Tong PCY, Ko GTC and Yudkin JS. The central roles of obesity-associated dyslipidaemia, endothelial activation and cytokines in the Metabolic Syndrome-an analysis by structural equation modelling. International Journal of Obesity. 2002; 26: 994-1008.

34. Chang YS, Seo E, Gyllenhaal C, Block KI. Panax ginseng: a role in cancer therapy? Int Cancer Ther. 2003; 2(1): 13-33.

35. Chapman MJ, Ginsberg HN, Amarenco P, Andreotti F, Boren J, Catapano AL, et al. Triglyceride-rich lipoproteins and high-density lipoprotein cholesterol in patients at high risk of cardiovascular disease: evidence and guidance for management. European Heart Journal. 2011; 32: 1345-61.

36. Chapman MJ, Redfern JS, McGovern ME, Giral P. Niacin and fibrates in atherogenic dyslipidemia: pharmacotherapy to reduce cardiovascular risk. Pharmacol Ther. 2010; 126: 314-45.

37. Chehab FF, Lim ME, and Lu R. Correction of the sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with the human recombinant leptin. Nat Genet. 1996; 12: 318-20.

38. Chen H, Charlat O, Tartaglia LA, Woolf EA, Weng X, Ellis SJ, et al. Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. Cell. 1996; 84: 491-5.

39. Cherng JY, Shih MF. Preventing dyslipidemia by chorella pyreniidosa in rats and hamsters after chronic high fat diet treatment. Life Sci. 2005; 76: 3001-13.

40. Cheung CC, Clifton DK, and Steiner RA. Proopiomelanocortin neurons are direct targets for leptin in the hypothalamus. Endocrinology. 1997; 138: 4489-92.

41. Cho JY, Park J, Yoo ES, Baik KU and Park MH. Effect of ginseng saponin on tumor necrosis factor-α production and T cell proliferation. Yakhak Hoeji. 1998; 43: 296-301.

42. Chua SC Jr, Koutras IK, Han L, Liu SM, Kay J, Young SJ, et al. Fine structure of the murine leptin receptor gene: splice site suppression is required to form two alternatively spliced transcripts. Genomics. 1997; 45: 264-70.

43. Chung SH, Choi CG and Park SH. Comparisons between white ginseng radix and rootlet for antidiabetic activity and mechanism in KKAy mice. Arch. Pharm. Res. 2001; 24: 214-8.

44. Cicero AFG, Vitale G, Savino G and Arletti R. Panax notoginseng (Burk.) Effects on Fibrinogen and Lipid Plasma Level in Rats Fed on a High-fat Diet. Phytother. Res. 2003; 17: 174-8.

45. Cifuentes M, Fuentes C, Mattar P, Tobar N, Hugo E, Ben-Jonathan N, Rojas C and Martínez J. Obesity-associated proinflammatory cytokines increase calcium sensing receptor (CaSR) protein expression in primary human adipocytes and LS14 human adipose cell line. arch biochem. 2010; 500(2): 151-6.

46. Claudel T, Inoue Y, Barbier O, Duran-Sandoval D, Kosykh V, Fruchart J. et al. Farnesoid X receptor agonists suppress hepatic apolipoprotein CIII expression. Gastroenterology. 2003; 125: 544-55.

47. Claudel T, Sturm E, Duez H, Torra IP, Sirvent A, Kosykh V. et al. Bile acidactivated nuclear receptor FXR suppresses apolipoprotein A-I transcription via a negative FXR response element. Journal of Clinical Investigation. 2002; 109: 961-71.

48. Clement K, Vaisse C, Lahlou N, Cabrol S, Pelloux V, Cassuto D, et al. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. Nature. 1998; 392: 398-401.

49. Connor WE, Lin DS. The intestinal absorption of dietary cholesterol by hypercholesterolemic (Type II) and normocholesterolemic humans. J. Clin. Invest. 1974; 53: 1062-70.

50. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. N Engl J Med. 1996; 334: 292-5.

51. Coon JT, Ernst E. Panax ginseng: a systematic review of adverse effects and drug interactions. Drug Saf. 2002; 25: 323-44.

52. Crook MA, Clinical Biochemistry α Metabolic Medicine. Eighth Edition. London, 2012; 200-15.

53. Cui J, Garle M, Eneroth P, Bjorkhem I. What do commercial ginseng preparations contain? Lancet. 1994; 344(8915): 134.

54. Delerive P, Galardi CM, Bisi JE, Nicodeme E, Goodwin B. Identification of liver receptor homolog-1 as a novel regulator of apolipoprotein AI gene transcription. Molecular Endocrinology. 2004; 18: 2378-87.

55. Despres J-P, Ferland M, Moorjani S, Nadeau A, Tremblay A, Lupien PJ, et al. Role of hepatic-triglyceride lipase activity in the association between intra-abdominal fat and plasma HDL cholesterol in obese women. Arteriosclerosis. 1989; 9: 485-92.

56. Diker KS. İmmunoloji, Medisan yayınevi, Medisan yayın serisi: 37, birinci baskı, Ankara, 1998

57. Duan H, Koga T, Kohda F, Hara H, Urabe K, Furue M. Interleukin-8-positive neutrophils in psoriasis. J Dermatol Sci. 2001; 26(2): 119-24.

58. Eisenberg DM, Davis RB, Ettner SL, Appel S, Wilkey S, Rompay MV, Kessler RC. Trends in alternative medicine use in the United States, 1990-1997: results of a follow-up national survey. JAMA. 1998; 280: 1569-75.

59. Ehnholm C. Cellular Lipid Metabolism. WMXDesign GmbH. Heidelberg, Germany, 2009.

60. Ehnholm C, Huttunen JK, Pietinen P, Leino U, Mutanen M, Kostiainen E, et al. Effect of diet on serum lipoproteins in a population with a high risk of coronary heart disease. N. Engl. J. Med. 1982; 307: 850-5.

61. El Haschimi K, Pierroz DD, Hileman SM, Bjorbaek C, and Flier JS. Two defects contribute to hypothalamic leptin resistance in mice with diet-induced obesity. J Clin Invest. 2000; 105: 1827-32.

62. Elenkov IJ, Chrousos GP. Stress hormones, proinflammatory and antiinflammatory cytokines and autoimmunity. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2002; 966: 290-303.

63. Elias CF, Aschkenasi C, Lee C, Kelly J, Ahima RS, Bjorbaek C, et al. Leptin differentially regulates NPY and POMC neurons projecting to the lateral hypothalamic area. Neuron. 1999; 23: 775-86.

64. Elmquist JK, Ahima RS, Maratos-Flier E, Flier JS, and Saper CB. Leptin activates neurons in ventrobasal hypothalamus and brainstem. Endocrinology. 1997; 138: 839-42.

65. Elmquist JK, Bjorbaek C, Ahima RS, Flier JS, and Saper CB. Distributions of leptin receptor mRNA isoforms in the rat brain. J Comp Neurol. 1998; 395: 535-47.

66. Eren E, Yilmaz N, Aydin O. High Density Lipoprotein and it's Dysfunction. The Open Biochemistry Journal. 2012; 6: 78-93.

67. Ernst E. The Risk–Benefit Profile of Commonly Used Herbal Therapies: Ginkgo, St. John's Wort, Ginseng, Echinacea, Saw Palmetto, and Kava. Ann Intern Med. 2002; 136: 42-53.

68. Eze MO. Membrane fluidity, reactive oxygen species, and cellmediated immunity: implications in nutrition and disease. Med Hypotheses. 1992; 37(4): 220-224.

69. Farooqi IS, Jebb SA, Langmack G, Lawrence E, Cheetham CH, Prentice AM, et al. Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. N Engl J Med. 1999; 341: 879-84.

70. Fauvel J, Bonnet E, Ruidavets JB, FerrieÁres J, Toffoletti A, Massip P et al. An interaction between apo C-III variants and protease inhibitors contributes to high triglyceride/low HDL levels in treated HIV patients. AIDS. 2001; 15: 2397-406.

71. Fei H, Okano HJ, Li C, Lee GH, Zhao C, Darnell R, et al. Anatomic localization of alternatively spliced leptin receptors (Ob-R) in mouse brain and other tissues. Proc Natl Acad Sci USA. 1997; 94: 7001-5.

72. Festa A, D'Agostino R Jr, Howard G, Mykkänen L, Tracy RP, Haffner SM. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). Circulation. 2000; 102: 42-7.

73. Fisher EA. GPIHBP1: lipoprotein lipase's ticket to ride. Cell Metab. 2010; 12: 1-2.

74. Fogteloo AJ, Pijl H, Frolich M, McCamish M, and Meinders AE. Effects of recombinant human leptin treatment as an adjunct of moderate energy restriction on body weight, resting energy expenditure and energy intake in obese humans. Diabetes Nutr Metab. 2003; 16: 109-14.

75. Frederich RC, Lollmann B, Hamann A, Napolitano-Rosen A, Kahn BB, Lowell BB, et al. Expression of ob mRNA and its encoded protein in rodents. Impact of nutrition and obesity. J Clin Invest. 1995; 96: 1658-63.

76. Freeman DJ, Griffin BA, Murray E et al. Smokin and plasma lipoproteins in man: effects on low density lipoprotein cholesterol levels and high density lipoprotein subfraction distribution. Eur J Clin Invest. 1993; 23: 630-40.

77. Gamble JR, Harlan JM, Klebanoff SJ, Vadas MA. Stimulation of the adherence of neutrophils to umbilical vein endothelium by human recombinant tumor necrosis factor. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1985; 82: 8667-71.

78. Ganong WF. Review of Medical Physiology. 22nd Edition. Lange Medical Books/ McGraw-Hill, New York, 2005.

79. Ge H, Huang L, Pourbahrami T, and Li C. Generation of soluble leptin receptor by ectodomain shedding of membrane-spanning receptors in vitro and in vivo. J Biol Chem. 2002; 277: 45898-903.

80. Gerenli M, Tuğrul A, Demir M, Arıkan E, Güldiken S, Azcan Ş. The Relationship Between Proinflammatory Cytokine Levels and Fibrinolytic System in Obese Patients. Trakya Univ Tip Fak Derg. 2008; 25(1): 44-51.

81. Ginsberg HN. New perspectives on atherogenesis. Role of abnormal triglyceride-rich lipoprotein metabolism. Circulation. 2002; 106: 2137-42.

82. Ginsberg HN, Zhang YL, Antonio Hernandez-Ono A. Regulation of Plasma Triglycerides in Insulin Resistance and Diabetes. Archives of Medical Research. 2005; 36: 232-40.

83. Glass CK, Witztum JL. Atherosclerosis: The Road Ahead. Cell. 2001; 104: 503-16.

84. Goldberg IJ, Scheraldi CA, Yacoub LK, Saxena U, Bisgaier CL. Lipoprotein ApoC-II activation of lipoprotein lipase. Modulation by apolipoprotein A-IV. Journal of Biological Chemistry. 1990; 265: 4266-72.

85. Goldstein JL, Brown MS. The low-density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis. Ann. Review Biochem. 1977; 46: 897-930.

86. Goodwin B, Jones SA, Price RR,Watson MA, McKee DD, Moore LB. et al. A regulatory cascade of the nuclear receptors FXR, SHP-l, and LRH-1 represses bile acid biosynthesis. Molecular Cell. 2000; 6: 517-26.

87. Graf GA, Li WP, Gerard RD, Ingrid G, White A, Cohen JC, Hobbs HH. Coexpression of ATP-binding cassette proteins ABCG5 and ABCG8 permits their transport to the apical surface. Journal of Clinical Investigation. 2002; 110: 659-69.

88. Gylling H, Vanhanen H, Ollus A, Miettinen TA. Cholesterol absorption and apo E phenotypes regulate LDL cholesterol and LDL apo B kinetic responses to dietary fat and cholesterol. Artenoscerosis. l989; 9: 736 (abstr).

89. Hahn TM, Breininger JF, Baskin DG, and Schwartz MW. Coexpression of Agrp and NPY in fasting-activated hypothalamic neurons. Nat Neurosci. 1998; 1: 271-2.

90. Hakansson ML, Brown H, Ghilardi N, Skoda RC, and Meister B. Leptin receptor immunoreactivity in chemically defined target neurons of the hypothalamus. J Neurosci. 1998; 18: 559-72.

91. Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, Cohen SL, Chait BT, Rabinowitz D, et al. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. Science. 1995; 269: 543-6.

92. Hall T, Lu ZZ, Yat PN, Fitzloff JF, Arnason JT, Awang DVC, et al. Evaluation of consistency of standardized Asian ginseng products in the Ginseng Evaluation Program. HerbalGram. 2001; 52: 31-45.

93. Hardie DG. The AMP-activated protein kinase pathway: new players upstream and downstream. J Cell Sci. 2004; 117(23): 5479-87.

94. Harini M, Astirin OP. Blood cholesterol levels of hypercholesterolemic rat (Rattus norvegicus) after VCO treatment. Bioscience. 2009; 1(2): 53-8.

95. Havel PJ. Role of adipose tissue in body-weight regulation: Mechanisms regulating leptin production and energy balance. Proc. Nutr. Soc. 2000; 59: 359-71.

96. Hegele RA. Plasma lipoproteins: genetic influences and clinical implications. Nat Rev Genet. 2009; 10: 109-21.

97. Hess FG, Parent RA, Stevens KR, Cox GE, Becci PJ. Effects of subchronic feeding of ginseng extract G115 in beagle dogs. Food Chem Toxicol. 1983; 21: 95-7.

98. Heymsfield SB, Greenberg AS, Fujioka K, Dixon RM, Kushner R, Hunt T, et al. Recombinant leptin for weight loss in obese and lean adults: a randomized, controlled, dose-escalation trial. JAMA. 1999; 282: 1568-75.

99. Himi T, Saito H, Nishiyama N. Effects of ginseng saponins on the survival of cerebral cortex neurons in cell cultures. Chem Pharm Bull (Tokyo). 1989; 37: 481-4.

100. Hobbs HH, Brown MS, Goldstein JL. Molecular genetics of the LDL receptor gene in familial hypercholesterolemia. Hum Mutat. 1992; 1: 445-66.

101. Homey B, Dieu-Nosjean MC, Wiesenborn A, Massacrier C, Pin JJ, Oldham E, et al. Up-regulation of macrophage inflammatory protein-3 alpha/CCL20 and CC chemokine receptor 6 in psoriasis. J Immunol. 2000; 164(12): 6621-32.

102. Hopkins PN. Effects of dietary cholesterol on serum cholesterol: a meta-analysis and review1-3. Am J Clin Nutr. 1992; 55: 1060-70.

103. Horton JD, Goldstein JL, Brown MS. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. Journal of Clinical Investigation. 2002; 109: 1125-31.

104. Hotamisligil GS. Mechanisms of TNF-alpha-induced insulin resistance. Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes. 1999; 107: 119-25.

105. Howard JK, Cave BJ, Oksanen LJ, Tzameli I, Bjorbaek C, and Flier JS. Enhanced leptin sensitivity and attenuation of diet-induced obesity in mice with haploinsufficiency of Socs3. Nat Med. 2004; 10: 734-8.

106. Hu JF, Song XY, Chu SF, Chen J, Ji HJ, Chen XY. et al. Inhibitory effect of ginsenoside Rg1 on lipopolysaccharide-induced microglial activation in mice. Brain Res. 2011; 1374: 8-14.

107. Hu S, Concha C, Johannisson A, Meglia G, Waller KP. Effect of subcutaneous injection of ginseng on cows with subclinical Staphylococcus aureus mastitis. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health. 2001; 48: 519-28.

108. Inoue M, Wu CZ, Dou DQ, Chen YJ, Ogihara Y. Lipoprotein lipase activation by red Ginseng saponins in hyperlipidemia model animals. Phytomedicine. 1999; 6(4): 257-65.

109. Ismail MF, Gad MZ and Hamdy MA. Study of hypolipidemic properties of pectin garlic and ginseng in hypercholesterolemic rabbits. Pharmacological Research. 1999; 39(2): 157-165.

110. Ji W, Gong BQ. Hypolipidemic effects and mechanisms of Panax notoginseng on lipid profile in hyperlipidemic rats. Journal of Ethnopharmacology. 2007; 113: 318-24.

111. Joo IIW, Ryu JH and Oh HJ. The Influence of Sam-Chil-Geun (Panax Notoginseng) on the Serum Lipid Levels and Inflammations of Rats with Hyperlipidemia Induced by Poloxamer-407. Yonsei Med J. 2010; 51(4): 504-10.

112. Joo SS, Yoo YM, Ahn BW, Nam SY, Kim YB, Hwang KW. et al. Prevention of inflammation-mediated neurotoxicity by Rg3 and its role in microglial activation. Biol. Pharm. Bull. 2008; 31: 1392-6.

113. Kang SY, Kim SH, Schini VB, Kim ND. Dietary ginsenosides improve endothelium-dependent relaxation in the thoracic aorta of hypercholesterolemic rabbit. Gen Pharmacol. 1995; 26: 483-7.

114. Karu N, Reifen R, Kerem Z. Weight gain reduction in mice fed Panax ginseng saponin, a pancreatic lipase inhibitor. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2007; 55(8): 2824-8.

115. Kast HR, Nguyen CM, Sinal CJ, Jones SA, Laffitte BA, Reue K. et al. Farnesoid X-activated receptor induces apolipoprotein C-II transcription: a molecular mechanism linking plasma triglyceride levels to bile acids. Molecular Endocrinology. 2001; 15: 1720-8.

116. Kawase A, Yamada A, Gamou Y, Tahara C, Takeshita F, Murata K, et al. Increased effects of ginsenosides on the expression of cholesterol 7a-hydroxylase but not the bile salt export pump are involved in cholesterol metabolism. J Nat Med. 2013; 67: 545-53.

117. Keum YS, Han SS, Chun KS, Park KK, Park JH, Lee SK, et al. Inhibitory effects of the ginsenoside Rg3 on phorbol ester-induced cyclooxygenase-2 expression, NF-kappaB activation and tumor promotion. Mutat Res. 2003; 523-524: 75-85.

118. Kim DH, Moon YS, Lee TH, Jung JS, Suh HW and Song DK. The inhibitory effect of ginseng saponins on the stress-induced plasma interleukin-6 level in mice. Neurosci Lett. 2003; 1: 13-6.

119. Kim EJ, Lee HI, Chung KJ, Noh YH, Ro Y, Koo JH. The Ginsenoside-Rb2 lowers cholesterol and triacylglycerol levels in 3T3-L1 adipocytes cultured under high cholesterol or fatty acids conditions. BMB reports. 2009; 42(4): 194-9.

120. Kim HA, Kim S, Chang SH, Hwang HJ, Choi YN. Anti-arthritic effect of ginsenoside Rb1 on collagen induced arthritis in mice. Int. Immunopharmacol. 2007; 7: 1286-91.

121. Kim JH, Hahm DH, Yang DC, Kim JH, Lee HJ, Shim I. Effect of Crude Saponin of Korean Red Ginseng on High-Fat Diet-Induced Obesity in the Rat. J Pharmacol Sci. 2005; 97(1): 124-31.

122. Kim ND, Kang SY, Schini VB. Ginsenosides evoke endothelium-dependent vascular relaxation in rat aorta. Gen Pharmacol. 1994; 25: 1071-7.

123. Kim SH, Park KS. Effects of panax ginseng extract on lipid metabolism in humans. Pharm. Res. 2003; 48: 511-3.

124. Kim YR, Lee SY, Shin BA, Kim KM. Panax ginseng blocks morphine-induced thymic apoptosis by lowering plasma corticosterone level. Gen Pharmacol. 1999; 32: 647-52.

125. Kissebah AH, Alfarsi S, Evans DJ, Adams PW. Integrated regulation of very low density lipoprotein triglyceride and apolipoprotein-B kinetics in non-insulin-dependent diabetes mellitus. Diabetes. 1982; 31: 217-25.

126. Klebanoff SJ, Vadas MA, Harlan JM, Sparks LH, Gamble JR, Agosti JM, et al. Stimulation of neutrophils by tumor necrosis factor. J. lmmunol. 1986; 136: 4220-5.

127. Knuiman JT, West CE, Katan MB, Hautvast JGAJ. Total cholesterol and high density lipoprotein cholesterol levels in populations differing in fat and carbohydrate intake. Arteriosclerosis. 1987; 7: 612-9.

128. Kolovou GD, Kostakou PM, Anagnostopoulou KK. Familial hypercholesterolemia and triglyceride metabolism. International Journal of Cardiology. 2011; 147: 349-58.

129. Kovanen PT, Schneider WJ. Regulation of the low density lipoprotein (B/E) receptor. Advances in Vascular Biology. 1999; 5: 165-85.

130. Kuusi T, Ehnholm C, Viikari J, Harkonen R, Vartiainen E, Puska P, et al. Post-heparin plasma lipoprotein and hepatic lipase are determinants of hypo and hyper-alphalipoproteinemia. J Lipid Res. 1989; 30: 1117-26.

131. Kwiterovich PO. The Metabolic Pathways of High-Density Lipoprotein, Low-Density Lipoprotein, and Triglycerides: A Current Review. Am J Cardiol. 2000; 86: 5-10.

132. Larsen MW, Moser C, Hoiby N, Song Z and Kharazmi A. Ginseng modulates the immune response by induction of interleukin-12. APMIS. 2004; 112: 369-73.

133. Lassel TS, Guerin M, Auboiron S, Guy-Grand B, Chapman MJ. Evidence for a cholesteryl ester donor activity of LDL particles during alimentary lipemia in normolipidemic subjects. Atherosclerosis. 1999; 147: 41-8.

134. Lee DCW and Lau ASY. Effects of Panax ginseng on Tumor Necrosis Factor-α-Mediated Inflammation: A Mini-Review. Molecules. 2011; 16: 2802-16.

135. Lee GH, Proenca R, Montez JM, Carroll KM, Darvishzadeh JG, Lee JI, et al. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. Nature. 1996; 379: 632-5.

136. Lee YS, Cha BY, Yamaguchi K, Choi SS, Yonezawa T, Teruya T et al. Effects of Korean white ginseng extracts on obesity in highfat diet-induced obese mice. Cytotechnology. 2010; 62: 367-76.

137. Lehmann, J.M., Kliewer, S.A., Moore, L.B., Smith-Oliver, T.A., Oliver, B.B., Su, J.-L., et al. Activation of the nuclear receptor LXR by oxysterols defines a new hormone response pathway. Journal of Biological Chemistry. 1997; 272: 3137-40.

138. Lei XL, Chiou GC. Cardiovascular pharmacology of Panax notoginseng. Am J Chin Med. 1986; 14: 145-52.

139. Levin BE and Dunn-Meynell AA. Reduced central leptin sensitivity in rats with diet-induced obesity. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2002; 283: 941-8.

140. Lewis B, Katan M, Merkx I, Miller NE, Hammett F, Kay RM, Nobels A, Swan AV. Towards an improved lipidlowering diet: additive effects of changes in nutrient intake. Lancet. 1981; ii: 1310-3.

141. Li Q, Chen R, Moriya J, Yamakawa J, Sumino H, Kanda T and Takahashi T. Novel Adipocytokine, Visceral Adipose Tissue-derived Serine Protease Inhibitor (Vaspin), and Obesity. The Journal of International Medical Researc. 2008; 36: 625-9.

142. Li Z, Chen X, Niwa Y, Sakamoto S, Nakaya Y. Involvement of Ca2+ -activated K+ channels in ginsenosides-induced aortic relaxation in rats. J Cardiovasc Pharmacol. 2001; 37: 41-7.

143. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. Nature. 2002; 420: 868-74.

144. Liberti LE, Der Mardersian A. Evaluation of commercial ginseng products. J Pharm Sci. 1978; 10: 1487-9.

145. Licinio J, Caglayan S, Ozata M, Yildiz BO, de Miranda PB, O'Kirwan F, et al. Phenotypic effects of leptin replacement on morbid obesity, diabetes mellitus, hypogonadism, and behavior in leptindeficient adults. Proc Natl Acad Sci USA. 2004; 101: 4531-6.

146. Lin L, Martin R, Schaffhauser AO, and York DA. Acute changes in the response to peripheral leptin with alteration in the diet composition. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2001; 280: 504-9.

147. Liou CJ, Huang WC, Tseng J. Short-Term Oral Administration of Ginseng Extract Induces Type-1 Cytokine Production. Immunopharmacology and Immunotoxicology. 2006; 28: 227-40.

148. Liu CX and Xiao PG. Recent advances on ginseng research in China. J Ethnopharmacol. 1992; 36: 27-38.

149. Liu J, Wang S, Liu H, Yang L, Nan G. Stimulatory effect of saponin from Panax ginseng on immune function of lymphocytes in the elderly. Mech Ageing Dev. 1995; 83(1): 43-53.

150. Liu R, Zhang JZ, Liu WC, Kimura Y, Zheng YN. Anti-Obesity effects of protopanaxdiol types of Ginsenosides isolated from the leaves of American ginseng (Panax quinquefolius L.) in mice fed with a high-fat diet. Fitoterapia. 2010; 81: 1079-87.

151. Loop T. Thiopental inhibits tumor necrosis factor alpha-induced activation of nuclear factor kappaB through suppression of kappaB kinase activity. Anesthesiology. 2003; 99(2): 360-7.

152. Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, and Lechler RI. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. Nature. 1998; 394: 897-901.

153. Lu TT, Makishima M, Repa JJ, Schoonjans K, Kerr TA, Auwerx J. et al. Molecular basis for feedback regulation of bile acid synthesis by nuclear receptors. Molecular Cell. 2000; 6: 507-15.

154. Ma PTS, Gil G, Sudhof TC, Bilheimer DW, Goldstein JL, Brown MS. Mevinolin, an inhibitor of cholesterol synthesis, induces mRNA for lowdensity lipoprotein receptor in liver of hamsters and rabbits. Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 1986; 83: 8370-4.

155. Maffei M, Halaas J, Ravussin E, Pratley RE, Lee GH, Zhang Y. et al. Leptin levels in human and rodent: Measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. Nat. Med. 1995; 1: 1155-61.

156. Mahley RW. Heparan sulfate proteoglycan/low density lipoprotein receptorrelated protein pathway involved in type III hyperlipoproteinemia and Alzheimer's disease. Isr J Med Sci. 1996; 32: 414-29.

157. Malaguarnera L, Imbesi R, Di Rosa M, Scuto A, Castrogiovanni P, Messina A, et al. Action of prolactin, IFN-gamma, TNF-alpha and LPS on heme oxygenase-1 expression and VEGF release in human monocytes/macrophages. Int Immunopharmacol. 2005; 5(9): 1458-69.

158. Martinello F, Soares SM, Franco JJ, Santos AC, Sugohara A, Garcia SB, et al. Hypolipemic and antioxidant activities from Tamarindus indica L; pulp fruit extract in hypercholesterolemic hamsters. Food Chem. Toxicol. 2006; 44(6): 810-8.

159. Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N, Hosoda K, Matsumoto T, Mise H, et al. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. Nat Med. 1997; 3: 1029-33.

160. Matsubara M, Maruoka SS, Katayose S. Inverse relationship between plasma adiponectin and leptin concentrations in normal-weight and obese women. Eur J Endocrinol. 2002; 147: 173-80.

161. Matsushima K, Oppenheim JJ. Interleukin 8 and MCAF: novel inflammatory cytokines inducible by IL1 and TNF. Cytokine. 1989; 1: 2-13.

162. Matysková R, Zelezná B, Maixnerová J, Koutová D, Haluzík M, Maletínská L. Estradiol supplementation helps overcome central leptin resistance of ovariectomized mice on a high fat diet Horm Metab Res. 2010; 42: 182-6.

163. McCarty MF. Interleukin-6 as a central mediator of cardiovascular risk associated with chronic inflammation, smoking, diabetes, and visceral obesity: down-regulation with essential fatty acids, ethanol and pentoxifylline. Med. Hypotheses. 1999; 52: 465-77.

164. McPherson R, Mann CJ, Tall AR, Hogue M, Martin L, Milne RW, Marcel YL. Plasma concentrations of cholesteryl ester transfer protein in hyperlipoproteinemia: relation to cholesteryl ester transfer protein activity and other lipoprotein variables. Arterioscler Thromb. 1991; 11: 797-804.

165. Mercer JG, Hoggard N, Williams LM, Lawrence CB, Hannah LT, Morgan PJ, et al. Coexpression of leptin receptor and preproneuropeptide Y mRNA in arcuate nucleus of Mouse hypothalamus. J Neuroendocrinol. 1996; 8: 733-5.

166. Mercer JG, Moar KM, and Hoggard N. Localization of leptin receptor (Ob-R) messenger ribonucleic acid in the rodent hindbrain. Endocrinology. 1998; 139: 29-34.

167. Micallef MA, Garg ML. Anti-inflammatory and cardioprotective effects of n-3 polyunsaturated fatty acids and plant sterols in hypertlipidemic individuals. Atherosclerosis. 2009; 204: 476-82.

168. Miettinen TA, Kesaniemi YA. Cholesterol absorption: regulation of cholesterol synthesis and elimination and within-population variations of serum cholesterol levels. Am J Clin Nutr. 1989; 49: 629-35.

169. Miller GJ, Miller NE. Plasma-high-density-lipoprotein concentration and development of ischaemic heart-disease. Lancet. 1975; i:16-19.

170. Miller M, Stone NJ, Ballantyne C, Bittner V, Criqui MH, Ginsberg HN et al. Triglycerides and Cardiovascular Disease A Scientific Statement From the American Heart Association. Circulation. 2011; 123: 2292-333.

171. Mineo C, Deguchi H, Griffin JH, Shaul PA. Endothelial and antithrombotic actions of HDL. Circ Res. 2006; 98: 1352-64.

172. Mohamed MM. Effects of Chitosan and Wheat Bran on Serum Leptin, TNF-α, Lipid Profile and Oxidative Status in Animal Model of Non-Alcoholic Fatty Liver. Aust. J Bas. Appl. Sci. 2011; 5(10): 1478-88.

173. Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, Wareham NJ, et al. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. Nature. 1997; 387: 903-8.

174. Moon CK, Kang NY, Yun YP, Lee SH, Lee HA, Kang TL. Effects of Ginseng-Crude Saponin on Plasma Lipid Levels in Rats Fed on a Diet High in Cholesterol and Triglyceride. Arch. Pharm. Res. 1984; 7(1): 41-5.

175. Mori H, Hanada R, Hanada T, Aki D, Mashima R, Nishinakamura H, et al. Socs3 deficiency in the brain elevates leptin sensitivity and confers resistance to diet-induced obesity. Nat Med. 2004; 10: 739-43.

176. Murphy LL, Lee TJ. Ginseng, sex behavior and nitric oxide. Ann NY Acad Sci. 2002; 962: 372-7.

177. Navab M, Berliner JA, Watson AD, Hama SY, Territo MC, Lusis AJ, et al. The yin and yang of oxidation in the development of the fatty streak. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 1996; 16: 831-42.

178. Nestel P, Tada N, Billington T, Huff M, Fidge N. Changes in very low density lipoproteins with cholesterol loading in man. Metab. Clin. Exp. 1982; 31: 398-404.

179. Ng PC, Li K, Wong RPO, Chui K, Wong E, Li G, et al. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokine responses in preterm infants with systemic infections. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 2003; 88: 209-13.

180. Nguyen P, Leray V, Diez M, Serisier S, Bloc'h JL, Siliart B et al. Liver lipid metabolism. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 2008; 92: 272-83.

181. Nocerino E, Amato M, Izzo AA. The aphrodisiac and adaptogenic properties of ginseng. Fitoterapia. 2000; 71: 1-5.

182. O'Hara M, Kiefer D, Farrell K, Kemper K. A review of 12 commonly used medicinal herbs. Arch Fam Med. 1998; 7: 523-36.

183. Ohtani K, Mizutani K, Kasai R. Reticuloendothelial system activating polysacchrides from Panax species: P. notoginseng, P. ginseng and P. japonicus. J Pharmacobio dyn. 1987; 10: 63.

184. Padwal RS and Majumdar SR. Drug treatments for obesity: orlistat, sibutramine, and rimonabant. Lancet. 2007; 369(9555): 71-7.

185. Park NY, Rico CW, Lee SC, Kang MY. Comparative effects of doenjang prepared from soybean and brown rice on the body weight and lipid metabolism in high fat-fed mice. J. Clin. Biochem. Nutr. 2012; 51(3): 235-40.

186. Paramalingam SS, Thumboo J, Vasoo S, Thio ST, Tse C, Fong KY. In vivo pro- and anti-inflammatory cytokines in normal and patients with rheumatoid arthritis. Ann Acad Med Singapore. 2007; 36: 96-9

187. Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, et al. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. Science. 1995; 269: 540-3.

188. Phillipson JD, Anderson LA. Ginseng-quality safety and efficacy? Pharm J. 1984; 232: 161-5.

189. Princen HMG, Post SM, Twisk J. Regulation of bile acid biosynthesis. Current Pharmaceutical Design. 1997; 3: 59-84.

190. Qureshi AA, Abuirmeileh N, Din ZZ, Amhad Y, Burger WC, Elson CE. Suppression of cholesterogenesis and reduction of LDL cholesterol by dietary ginseng and its fractions in chicken liver. Atherosclerosis. 1983; 48: 81-94.

191. Reihner E, Rudling M, Stahlberg D, et al. Influence of pravastatin, a specific inhibitor of HMG-CoA reductase, on hepatic metabolism of cholesterol. N Engl J Med. l990; 323: 224-8.

192. Repa JJ, Berge KE, Pomajzl C, Richardson JA, Hobbs H, Mangelsdorf DJ. Regulation of ATP-binding cassette sterol transporters ABCG5 andABCG8 by the liver X receptors α and β. Journal of Biological Chemistry. 2002; 277: 18793-800.

193. Ridker PM, Silvertown JD. Inflammation, C-reactive protein, and atherothrombosis. J Periodontol. 2008; 79: 1544-51.

194. Ro JY, Ahn YS, Kim KH. Inhibitory effect of ginsenoside on the mediator release in the guinea pig lung mast cells activated by specific antigen-antibody reactions. Int J Immunopharmacol. 1998; 20: 625-41.

195. Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. N. Eng.J. Med. 1999; 340: 115-26.

196. Sahu A. Resistance to the satiety action of leptin following chronic central leptin infusion is associated with the development of leptin resistance in neuropeptide Y neurones. J Neuroendocrinol. 2002; 14: 796-804.

197. Scaglione F, Ferrara F, Dugnani S, Falchi M, Santoro G, Fraschini F. Immunomodulatory effects of two extracts of Panax ginseng C.A. Meyer. Drugs Exper Clin Res. 1990; 16(10): 537-42.

198. Schaefer EJ, Levy RI, Ernst ND, Van Sant FD, Brewer HB. The effects of low cholesterol, high polyunsaturated fat, and low fat diets on plasma lipid and lipoprotein cholesterol levels in normal and hypercholesterolemic subjects. Am. J. Clin. Nutr. 1981; 34: 1758-63.

199. Schling P, Rudolph C, Heimerl S, Fruth S and Schmitz G. Expression of tumor necrosis factor alpha and its receptors during cellular differentiation. Cytokine. 2006; 33: 239-45.

200. Schröder H, Fito M and Covas MI. Association of fast food consumption with energy intake, diet quality, body mass index and the risk of obesity in a representative Mediterranean population. British Journal of Nutrition. 2007; 98: 1274-80.

201. Schwartz MW, Baskin DG, Bukowski TR, Kuijper JL, Foster D, Lasser G, et al. Specificity of leptin action on elevated blood glucose levels and hypothalamic neuropeptide Y gene expression in ob/ob mice. Diabetes. 1996; 45: 531-5.

202. Scott GI, Colligan PB, Ren BH, Ren J. Ginsenosides Rb1 and Re decrease cardiac contraction in adult rat ventricular myocytes: role of nitric oxide. Br J Pharmacol. 2001; 134: 1159-65.

203. See DM, Broumand N, Sahl L, Tilles JG. In vitro effects of echinacea and ginseng on natural killer and antibody-dependent cell cytotoxicity in healthy subjects and chronic fatigue syndrome or acquired immunodeficiency syndrome patients. Immunopharmacology. 1997; 35: 229-35.

204. Seo YJ, Kwon MS, Choi HW, Jang JE, Lee JK, Sun Y, et al. Intracerebroventricular Gisenosides are Antinociceptive in Proinflammatory Cytokine-Induced Pain Behaviors of Mice. Arch Pharm Res. 2008; 31: 364-9.

205. Shin JY, Song ZJ, Yun YS, Yang HO, Rhee DK and Pio S. Immunostimulating effects of acid polysaccharides extract of Panax ginseng on macrophages function. Immunopharmacol Immunotoxicol. 2002; 24: 469-82.

206. Silha JV, Weiler HA, Murphy LJ. Plasma adipokines and body composition in response to modest dietary manipulations in the mouse. Obesity (Silver Spring). 2006; 14: 1320-9.

207. Smith CA, Davis T, Anderson D, Solam L, Beckmann MP, Jerzy R, et al. A receptor for tumor necrosis factor defines an unusual family of cellular and viral proteins. Science. 1990; 248: 1019-23.

208. Smithies O, Maeda N. Gene targeting approaches to complex genetic disease: atherosclerosis and essential hypertension. Proc. Natl. Acad. Sci. 1995; 92: 5266-72.

209. Song YB, An YR, Kim SJ, Park HW, Jung JW, Kyung JS, et al. Lipid metabolic effect of Korean red ginseng extract in mice fed on a high-fat diet. J Sci Food Agric. 2012; 92: 388-96.

210. Staels B, Vu-Dac N, Kosykh VA, Saladin R, Fruchart JC, Dallongeville J. et al. Fibrates down-regulate apolipoprotein C-III expression independent of induction of peroxisomalacyl co-enzyme A oxidase. Journal of Clinical Investigation. 1995; 65: 705-12.

211. Stanley S, Wynne K, Mcgowan B, and Bloom S. Hormonal Regulation of Food Intake. Physiol Rev. 2005; 85: 1131-58.

212. Steinberg D, Witztum JL. Lipoproteins, Lipoprotein, Oxidation, and Atherogenesis. KR Chien edition. Philadelphia: W.B. Saunders Co. 1999.

213. Stephens TW, Basinski M, Bristow PK, Bue-Valleskey JM, Burgett SG, Craft L, et al. The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. Nature. 1995; 377: 530-2.

214. Strobel A, Issad T, Camoin L, Ozata M, and Strosberg AD. A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. Nat Genet. 1998; 18: 213-5.

215. Suffys P, Beyaert R, De Valck D, Vanhaesebroeck B, Van Roy F, Fiers W. Tumour-necrosis-factor-mediated cytotoxicity is correlated with phospholipase-A2 activity, but not with arachidonic acid release per se. Eur. J. Biochem. 1991; 195: 465-75.

216. Sung J, Han KH, Zo JH, Park HJ, Kim CH, Oh BH. Effects of red ginseng upon vascular endothelial function in patients with essential hypertension. Am J Chin Med. 2000; 28: 205-16.

217. Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, et al. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. Cell. 1995; 83: 1263-71.

218. Tartaglia LA. The leptin receptor. J Biol Chem. 1997; 272: 6093-6.

219. Taskinen MR, Nikkila EA. High density lipoprotein subfractions in relation to lipoprotein lipase activity of tissues in man: evidence for reciprocal regulation of HDL2 and HDL3 levels by lipoprotein lipase. Clin Chim Ada. 1981; 112: 325-32.

220. Taubes G. Cardiovascular disease. Does inflammation cut to the heart of the matter? Science. 2002; 296: 242-5.

221. Tracey KJ, Cerami A. Cachectin/tumor necrosis factor and other cytokines in infectious disease. Curr. Opin. lmmunol. 1989; 1(3): 454-61.

222. Vaisse C, Halaas JL, Horvath CM, Darnell JE Jr, Stoffel M, and Friedman JM. Leptin activation of Stat3 in the hypothalamus of wild-type and ob/ob mice but not db/db mice. Nat Genet. 1996; 14: 95-7.

223. Van Heek M, Compton DS, France CF, Tedesco RP, Fawzi AB, Graziano MP, et al. Diet-induced obese mice develop peripheral, but not central, resistance to leptin. J Clin Invest. 1997; 99: 385-90.

224. Vuksan V, Sievenpiper JL, Koo VY, Francis T, Beljan-Zdravkovic U, Xu Z, Vidgen E. American ginseng (Panax quinquefolius L) reduces postprandial glycemia in nondiabetic subjects and subjects with type 2 diabetes mellitus. Arch Intern Med. 2000; 160(7): 1009-13.

225. Vuksan V, Stavro MP, Sievenpiper JL, Zdravkovic UB, Leiter LA, Josse RG and Xu Z. Similar postprandial glycemic reductions with escalation of dose and administration time of American ginseng in type 2 diabetes. Diabetes Care. 2000a; 23: 1221-6.

226. Waage A, Halstensen A, Espevik T. Association between tumour necrosis factor in serum and fatal outcome in patients with meningococcal disease. Lancet. 1987; 1(8529): 355-7.

227. Wan JB, Lee SMY, Wang JD, Wang N, He CW, Wang YT, Kang JX. Panax notoginseng reduces atherosclerotic lesions in ApoE-deficient mice and inhibits TNF-α-induced endothelial adhesion molecule expression and monocyte adhesion. J. Agric. Food Chem. 2009; 57(15): 6692-7.

228. Wang H, Lisa A. Reaves LA and Edens NK. Ginseng Extract Inhibits Lipolysis in Rat Adipocytes In Vitro by Activating Phosphodiesterase 4. J. Nutr. 2006; 136 (2): 337-42.

229. Watanabe M, Houten SM, Wang L, Moschetta, Antonio, Mangelsdorf, DJ. et al. Bile acids lower triglyceride levels via a pathway involving FXR, SHP, and SREBP-1c. Journal of Clinical Investigation. 2004; 113: 1408-18.

230. Watson TDG, Barrie J. Lipoprotein metabolism and hyperlipidaernia in the dog and cat: A review. Journal of Small Animal Practice. 1993; 34: 479-87.

231. Wen TC, Yoshimura H, Matsuda S, Lim JH, Sakanaka M. Ginseng root prevents learning disability and neuronal loss in gerbils with 5-minute forebrain ischaemia. Acta Neuropathol. 1996; 91: 15-22.

232. Wilkie A, Cordess C. Ginseng-a root just like a carrot? J R Soc Med. 1994; 87(10): 594-5.

233. Wu D, Meydani M, Leka LS, Nightingale Z, Handelman GJ, Blumberg JB, et al. Effect of dietary supplementation with black currant seed oil on the immune response of healthy elderly subjects. Am J Clin Nutr. 1999; 70(4): 536-43.

234. Xiong Y, Shen L, Liu KJ, Tso P, Xiong Y, Wang G, Woods SC and Liu M. Antiobesity and Antihyperglycemic Effects of Ginsenoside Rb1 in Rats. Diabetes. 2010; 59 (10): 2505-12.

235. Yang L, Froio RM, Sciuto TE, Dvorak AM, Alon R, Luscinskas FW. ICAM-1 regulates neutrophil adhesion and transcellular migration of TNF-{alpha} activated vascular endothelium under flow. Blood. 2005; 5106: 584-9.

236. Yi J, Xiaohui L, Ya L, Haigang Z. Atherosclerosis lesion is accelerated by persistent systemic inflammation but attenuated by saponins from Panax Notoginseng in rabbits. J. Med. Col. PLA. 2008; 23: 38-44.

237. Yin HQ, Kim M, Kim JH, Kong G, Kang KS, Kim HL, et al. Differential gene expression and lipid metabolism in fatty liver induced by acute ethanol treatment in mice. Toxicol Appl Pharmacol. 2007; 223: 225-33.

238. Ysebaert M, Van Emmelo J, Fiers W. Total nucleotide sequence of a nearly full-size DNA copy of satellite tobacco necrosis virus RNA. J. Mol. Biol. 1980; 143(3): 273-87.

239. Yu SC and Li XY. Effect of ginsenoside on IL-1 beta and IL-6 mRNA expression in hippocampal neurons in chronic inflammation model of aged rats. Acta Pharmacol Sin. 2000; 21: 915-8.

240. Yuan HD, Kim SJ, Quan HY, Huang B, Chung SH. Ginseng Leaf Extract Prevents High Fat Diet-Induced Hyperglycemia and Hyperlipidemia through AMPK Activation. J. Ginseng Res. 2010; 34(4): 369-75.

241. Yudkin JS, Stehouwer CD, Emeis JJ, Coppack SW. Creactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1999; 19: 972-8.

242. Yun SN, Moon SJ, Ko SK, Im BO, Chung SH. Wild Ginseng Prevents the Onset of High-Fat Diet Induced Hyperglycemia and Obesity in ICR Mice. Arch Pharm Res. 2004; 27(7): 790-6.

243. Yun SN, Ko SK, Lee KH, Chung SH. Vinegar-Processed Ginseng Radix Improves Metabolic Syndrome Induced by a High Fat Diet in ICR Mice. Arch Pharm Res. 2007; 30(5): 587-95.

244. Yun TK. Brief introduction of Panax ginseng C.A. Meyer. J Korean Med Sci. 2001; 16: 53-5.

245. Zanni EE, Zannis VI, Blum CB, Herbert PN, Breslow JL. Effect of egg cholesterol and dietary fats on plasma lipids, lipoproteins, and apoproteins of normal women consuming natural diets. J. Lipid Res. 1987; 28: 518-27.

246. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, and Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature. 1994; 372: 425-32.

247. Zhang Z, Li DS, Blanchard DE, Lear SR, Erickson SK, Spencer TA. Key regulatory oxysterols in liver: analysis as _4-3-ketone derivatives by HPLC and response to physiological perturbations. Journal of Lipid Research. 2001; 42: 649-58.

248. Zhou W, Chai H, Lin PH, Lumsden AB, Yao Q and Chen CJ. Molecular mechanisms and clinical applications of ginseng root for cardiovascular disease. Medical Science Monitor. 2004; 10: 187-92.

9. EKLER

EK-A: Etik Kurul Kararı

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
VETERİNER FAKÜLTESİ
ETİK KURUL (SÜVFEK) KARARLARI

Toplantı Tarihi	11.01.2012	Toplantı Sayısı	2012/01	Karar Sayısı	2012/001

Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji ABD Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ercan KESKİN tarafından sunulan "**Yüksek Kolesterollü Diyetle Beslenen Ratlarda Ginsengin TNF-α, Leptin ve Bazı Serum Lipid Parametreleri Üzerine Etkileri**" isimli tez projesi değerlendirilmiştir.

Projede, S.Ü. Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesinden temin edilen 48 adet erkek ratın 40 gün süreyle kullanılacağı, hayvanlardan bir kez kan örnekleri alındıktan sonra ötenazi uygulanacağı, araştırmanın 18 ay sürdürüleceği bildirilmektedir.

Başvuruda, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurul Yönergesi ilkelerine uyulduğuna, projenin hayvan kullanım etiği açısından **"Uygun olduğuna"** oy birliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet MADEN Başkan	Doç. Dr. Uğur USLU Başkan Yardımcısı
Prof. Dr. Sadettin TIPIRDAMAZ Üye	Prof. Dr. Mustafa ACAROĞLU Konya Doğayı ve Hayvanları Koruma Derneği Üyesi

Prof. Dr. Fatma İNAL Raportör Üye	Doç. Dr. Yasemin ÖZNURLU Üye	Hüseyin AYDIN Sivil Üye

10. ÖZGEÇMİŞ

1971 yılında Konya'da doğdu. İlk, orta ve lise tahsilini Konya'da tamamladı. 1990 yılında Selçuk Üniversitesi, Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulunu kazandı ve 1994 yılında mezun oldu. 1995 yılında Selçuk Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokuluna Araştırma görevlisi olarak atandı. 1998 Yılında Sağlık Bilimleri Enstitüsünde Yüksek Lisansını tamamladı. 2009 yılında Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalında Doktora eğitimine başladı. Halen, Selçuk Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulunda görevini sürdürmektedir.