

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ
ANABİLİM DALI

**GİNKGO BİLOBA EKSTRESİNİN LİPİT PROFİLİ VE LEPTİN
DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN DİYETLE
İNDÜKLENEN OBEZ SIÇANLARDA ARAŞTIRILMASI**

Zeynep Nil DOĞRUER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Uğur ATIK

MERSİN – 2005

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ
ANABİLİM DALI

**GİNGKO BİLOBA EKSTRESİNİN LİPİT PROFİLİ VE LEPTİN
DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN DİYETLE
İNDÜKLENEN OBEZ SIÇANLARDA ARAŞTIRILMASI**

Zeynep Nil DOĞRUER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Uğur ATİK

Bu tez, Mersin Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından
SBE-TEB (ZND)-2003-2YL no'lu proje olarak desteklenmiştir.


Tez No: 42..


MERSİN-2005

Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Temel Eczacılık Bilimleri Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi Programı çerçevesinde yürütülmüş olan “Ginkgo Biloba Ekstresinin Lipit Profili ve Leptin Düzeyleri Üzerine Etkilerinin Diyetle İndüklenen Obez Sıçanlarda Araştırılması” adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

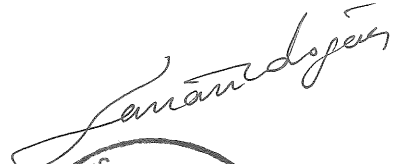

Tez Savunma Tarihi: 24 / 06 / 2005


Prof. Uğur ARIK
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı
Jüri Başkanı


Doç. Dr. Lülüfer TAMER
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı
Jüri Üyesi


Yar. Doç. Dr. Serap YALIN
Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı
Jüri Üyesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun 29.06.2005.....tarih ve 2005/1164 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.


Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Canan ERDOĞAN


TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tezimin planlanması sırasında beni yönlendiren, tez çalışmam sırasında da bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocam ve danışmanım, Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Uğur Atik'e saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tezimle ilgili sorunların çözümünde bana yardımcı olup yol gösteren Doç Dr. Lülüfer Tamer ve Doç Dr. Gürbüz Polat'a ilgi ve hoşgörülerini için teşekkür ederim.

Biyokimya eğitiminin sağladığı olanaklardan en iyi şekilde yararlanmam için beni destekleyen Doç. Dr. Gülçin Eskandari, Doç Dr. Ali Ünlü, Yrd. Doç. Dr. Burak Çimen ve Yrd. Doç. Dr. Serap Yalın'a, yardımları için teşekkür ederim.

Bu çalışmam sırasında fikirleri ve her türlü destekleri ile katkıda bulunan tüm çalışma arkadaşlarıma ve Biyokimya Anabilim Dalı çalışanlarına yardımları ve destekleri için teşekkür ederim.

Oluşturulacak obezite modelini seçmede yol gösteren İç Hastalıkları AD üyesi Doç. Dr. Esen Akbay'a, örneklerin değerlendirilmesinde emeği için Patoloji AD üyesi Dr. Tuba Karabacak'a teşekkür ederim.

Tezimin istatistikleri ve bulguların değerlendirilmesi konusundaki yardımlarından dolayı Biyoistatistik Anabilim Dalı araştırma görevlileri Seval Kul Ercan ve Sema Erden'e teşekkür ederim.

Maddi katkılarından dolayı Abdi İbrahim İlaç Sanayi ve Ticaret AŞ.'ne ve destekleri için ürün sorumlusu Pelin Şeker'e teşekkür ederim.

Bana olan inancı için Murat'a, sonsuz desteği için anneme, güven ve sabırları için tüm aileme, varlığı ve tarifsiz sevgisi için Eliz'e çok teşekkürler. İyi ki yeni bir başlangıçta bir şekilde hep yanımdaydınız.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Ginkgo Biloba.....	3
2.1.1. Ginkgo Biloba Bitkisinin Tarihçesi.....	3
2.1.2. Ginkgo Biloba Bitkisinin Yapısı.....	5
2.1.3. Ginkgo Biloba Ekstresi (EGb 761).....	6
2.1.4. Ginkgo Biloba Ekstresinin Kimyasal Bileşimi.....	6
2.1.5. Ginkgo Biloba Ekstresinin Farmakokinetik Etkileri.....	8
2.1.5.1. Flavonoidler.....	8
2.1.5.2. Ginkgolidler ve bilobalid	9
2.1.6. Ginkgo Biloba Ekstresinin Toksikolojik Etkileri.....	11
2.1.6.1. Hayvanlarda.....	11
2.1.6.2. İnsanlarda.....	12
2.1.7. Ginkgo Biloba Ekstresinin Farmakolojik Etkileri.....	12
2.1.7.1. İnsanda Kullanılan Dozların Sıçanlardaki Karşılığı ve Doz Seçimi.....	14
2.1.7.2. Deney Süresinin Belirlenmesi.....	15
2.2. Lipitler ve Lipoproteinler	17
2.3. Serbest Radikaller, Lipid Peroksidasyonu ve Malondialdehit (MDA).....	19
2.3.1. Radikal Kavramı.....	19
2.3.2. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri.....	19
2.3.3. Serbest Radikal Kaynakları.....	20
2.3.3.1 Biyolojik Kaynakları.....	20

2.3.3.2. İntrasellüler Kaynakları.....	20
2.3.4. Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri ve Hücre Hasarı.....	21
2.3.4.1. Serbest Radikallerin Membran Lipitlerine Etkileri.....	22
(Lipit peroksidasyonu)	
2.3.5. Antioksidan Savunma.....	24
2.4. Leptin.....	26
2.4.1. Leptinin Tarihçesi.....	26
2.4.2. Leptinin Yapısı ve Dağılımı.....	26
2.4.3. Leptinin İşlevi.....	27
2.4.4. Leptin Sekresyonu ve Serum Düzeyleri.....	28
2.4.5. Leptin Reseptörleri	29
2.4.6. Leptin ve Termogenez.....	32
2.4.7. Leptin Direnci.....	33
2.4.8. Açlık Yanıtının Düzenlenmesinde Leptin Sistemi.....	34
2.5. Obezite.....	34
2.5.1. Obezitenin Etyopatogenezi.....	35
2.5.2. Obezite Genleri.....	36
2.5.3. Anoreksijenik ve Oroksijenik Peptitler.....	37
2.5.4. Enerji dengesini Kontrol Eden Diğer Faktörler.....	37
2.5.4.1. İnsülin.....	37
2.5.4.2. Glukokortikoidler.....	38
2.5.5. Alınan Gıda Miktarını Etkileyen Kısa Süreli Etkiler.....	38
2.5.5.1. Glukostatik Teori.....	39
2.5.5.2. Gastrointestinal Peptitler.....	39
2.5.6. Obezite ve Leptin.....	40
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	42
3.1. Çalışma Grupları.....	42
3.2. Doz ve Süre Seçimi.....	44
3.3. Biyokimyasal Parametreler için Yöntemler.....	44
3.3.1. HPLC'de MDA Analizi.....	44
3.3.2. Serum Leptin Düzeylerinin Ölçümü.....	45
3.3.3. Serum Total Antioksidan Kapasitesinin Ölçümü.....	45

3.3.4. Serum Glukoz, TK, ALT, AST, TG ve HDL-K Ölçümleri.....	46
3.4. Karaciğerlerin Histopatolojik İncelemeleri.....	46
3.5. Lee Obezite İndeksi.....	46
3.6. Araç ve Gereçler.....	47
3.6.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler	47
3.6.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar.....	47
3.6.3. Çalışmada Kullanılan Diğer Malzemeler.....	48
3.6.4. Çalışmada Kullanılan Kitler	48
3.7. İstatistiksel Analizler.....	49
4. BULGULAR.....	50
4.1. Vücut ağırlığı ve Adipozite.....	50
4.2. Biyokimyasal Parametreler	55
5. TARTIŞMA.....	59
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	67
7. KAYNAKLAR.....	68
ÖZGEÇMİŞ.....	80

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil-2.1 Ginkgo Biloba bitkisinin yapısı.....	5
Şekil-2.2 Ginkgo biloba ekstresinin kimyasal bileşimi.....	6
Şekil-2.3 Serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarı.....	22
Şekil-2.4 Lipit peroksidasyonu.....	23
Şekil-2.5 Leptin sinyalini ileten JAK-STAT mekanizması.....	30
Şekil-2.6 Leptin reseptörlerinin beyindeki yerleşimi.....	31
Şekil-2.7 Besin alımı ve enerji harcanmasının düzenlenmesinde hipotalamus.....	36
Şekil-2.8 Leptin kaskadı.....	41
Şekil-3.1 Obez ratlardan birinin anestezi altındaki abdominal görüntüsü.....	43
Şekil-4.1 Kontrol ve obez gruplara ait birer sıçanın 7. hafta görüntüsü.....	50
Şekil-4.2 Obez ratlardan birinin abdominal yağları.....	54
Şekil-4.3 Kontrol grubu ratlardan birinin abdominal yağları.....	54

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge-2.1. EGb 761'in LD ₅₀ değerleri.....	11
Çizelge-4.1. 1, 7, 10. ve son hafta ağırlık, boy ve Lee indeks ile % ağırlık farkları.....	51
Çizelge-4.2. 1, 7, 10. ve son haftanın ağırlıklarının gruplar arası karşılaştırılmaları.....	51
Çizelge-4.3. Grupların abdominal yağ ve karaciğer ağırlıkları toplamı ortalamaları.....	52
Çizelge-4.4. Karaciğer ve abdominal yağ ağırlığı ortalamalarının gruplar arasında karşılaştırılması.....	52
Çizelge-4.5. Grupların karaciğer ağırlığının gösterimi.....	53
Çizelge-4.6 Grupların yağ ağırlığının gösterimi.....	53
Çizelge-4.7 Gruplar arası karaciğer yağlanmasının patolojik olarak Karşılaştırılması.....	55
Çizelge-4.8 Biyokimyasal parametrelerin ortalamaları.....	55
Çizelge-4.9 Biyokimyasal parametre ortalamalarının gruplar arası p değerleri.....	56
Çizelge-4.10 Grupların serum trigliserit düzeyleri.....	57
Çizelge-4.11 Grupların serum glukoz düzeyleri.....	57
Çizelge-4.12 Grupların serum leptin düzeyleri.....	58

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ACTH:	Adreno kortiko tropin hormon
ADP:	Adenozin di fosfat
AgRP:	Agouti related peptit
ALT:	Alanin amino transferaz
ARC:	Arkuat nukleus
AST:	Aspartat amino transferaz
ATP:	Adenozin tri fosfat
CART:	Kokain ve amfetamin tarafından regüle edilen transkript
CCK:	Kolesistokinin
cm:	Santimetre
COMT:	Katekol-o-metil transferaz
CRF:	Kortikotropin salgılatıcı faktör
dak:	Dakika
db:	Diabetes
DNA:	Deoksiribonükleik asit
EGb 761:	Ginkgo biloba ekstresi
ELISA:	Enzim linked immüno assay
fa:	Fat
FSH:	Folikül stimulan hormon
g:	Gram
GH:	Growth hormon
H₂O₂:	Hidrojen peroksit
HDL:	Yüksek dansiteli lipoprotein
HPLC:	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
IDL:	Orta dansiteli lipoprotein
JAK:	Janus kinaz
kg:	Kilogram
L[•]:	Lipit radikali
LCAT:	Lesitin kolesterol açil transferaz

LD₅₀:	Öldürücü doz
LDL:	Düşük dansiteli lipoprotein
LH:	Luteinleştirici hormon
LOO[•]:	Lipit peroksil radikali
LOOH:	Lipit hidroperoksitleri
Lp(a):	Lipoprotein a
LPL:	Lipoprotein lipaz
MC 4:	Melanokortin 4
MCH:	Melanokortin konsantre edici hormon
MCR:	Melanokortin reseptörleri
MDA:	Malondialdehit
mg:	Miligram
ml:	Mililitre
μM:	Mikromolar
mm:	Milimetre
mRNA:	“Messenger” (haberci) ribonükleik asit
α-MSH:	Melanokortin stimüle edici hormon
NAD:	Nikotinamid adenin dinükleotid
NADP:	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NADPH:	Redükte nikotinamid adenin dinükleotid
ng:	Nanogram
nm:	Nanometre
nmol:	Nanomol
NPY:	Nöropeptit Y
ob:	Obezite geni
ob-R:	Leptin reseptörü
O₂[•]:	Süperoksit radikali
OH[•]:	Hidroksil radikali
PAF:	Platelet aktive edici faktör
POMC:	Pro-opiomelanokortin
PPAR:	Peroksizom proliferatör aktive reseptör
PUFA:	Poliansatüre yağ asitleri

PVN:	Paraventriküler nukleus
STAT:	Signal transducer and activators of transcription
TBARs:	Tiobarbitürik asit radikalleri
TG:	Trigliserit
TNF-α:	Tümör nekroz faktör
VLDL:	Çok düşük dansiteli lipoprotein
VMN:	Ventromedial nukleus

ÖZET

Ginkgo Biloba Ekstresinin Lipit Profili ve Leptin Düzeyleri Üzerine Etkilerinin Diyetle İndüklenen Obez Sıçanlarda Araştırılması

Obezite aşırı vücut yağı birikmesinin, beraberinde birçok ciddi hastalığı da tetiklediği, tedavi gerektiren bir durumdur.

Ob geninin ürünü olan leptin iştahı azaltıp, enerji harcanmasını artırarak obezite üzerinde önemli rol oynar.

Enerji regülasyonunu insanda açıklamak neredeyse imkansız denecek kadar karmaşıktır. Leptin ekspresyonunu da vücut yağ dokusunun haricinde düzenleyen daha birçok mekanizma bulunmaktadır.

Bitkisel ilaçlar daha az yan etkiye neden oldukları ve daha güvenli oldukları düşüncesiyle tercih edilmektedirler. Yüzyıllardır tedavide yer bulan Ginkgo biloba da bunların başında gelmektedir. Bu çalışmada biz de, ekstrenin lipit profili ve leptin düzeyleri üzerine olan etkilerini obez dişi Wistar sıçanlarda incelemeyi amaçladık.

Normal sıçan yemiyle beslenen grup kontrol grubunu oluşturdu. Diğerleri, diyet ve ilaç dozlarına bağlı olarak üç gruba ayrıldılar.

Yedi haftalık yüksek yağ içerikli diyetle beslenmenin sonunda, her üç grup da, kontrol grubuna oranla %20 daha ağır oldular. Gruplardan biri obez kontrol grubunu oluşturdu, diğerlerine de sırayla 20 mg/kg ve 100 mg/kg oral ginkgo biloba ekstresi uygulanmaya başlandı.

23 günlük tedavinin ardından serum glukoz, trigliserit ve leptin seviyeleri obez gruplarda farklı bulundu ve tedaviyi takiben sadece trigliserit seviyelerinde düşüş gözlemlendi.

Ginkgo biloba ekstresi bilinen diğer faydalı etkilerinin yanı sıra, hipertrigliseridemik hastalar için de faydalanabilecekleri bitkisel bir ilaç gibi görünmektedir.

Anahtar Kelimeler: Diyetle indüklenen obezite, leptin, ginkgo biloba (EGb 761)

ABSTRACT

Effects of Ginkgo Biloba Extract on Lipid Profile and Leptin Levels in Diet Induced Obese Rats

Obesity is defined as accumulation of excess body fat, to such an extent that health might be impaired.

Leptin, the product of the *ob* gene, is considered to play an important role with dual action; it decreases appetite, increases energy consumption, causing more fat to be burned.

The regulation of energy balance is complex and, in man, imprecise. Many factors in addition to the amount of body fat appear to regulate leptin action.

Herbal dietary supplements are often considered safe and free from side effects because of their plant origin and ginkgo biloba is one of the leading of these which have been used therapeutically for centuries and we aimed to investigate it's possible effects on lipid profile and leptin levels in obese female albino Wistar rats.

One group that was fed Chow diet served as reference kontrols. The others were divided into three groups according to diet and drug therapy.

After seven weeks high-fat diet consumption, three groups became 20% heavier relative to controls. Than two of these groups treated with oral ginkgo biloba extract in doses 20 mg/kg and 100 mg/kg and the other called obese control group.

At the end of the 23 days threatment, serum glucose, triglyceride, and leptin levels were significantly increased in all obese groups and we found a reduction only in triglyseride levels after drug administration.

Because of the other reported beneficial properties of ginkgo biloba extract, it appears that hypertriglyceridemic subjects might benefit from ingesting it, as a herbal supplement.

Key words: Diet induced obesity, leptin, ginkgo biloba (EGb 761)

1. GİRİŞ

Obezite, yağ dokusunda sağlığı bozacak boyutta aşırı düzeyde veya anormal yağ birikimi olarak tanımlanabilir. Obezite, sadece fazla kilolu olmakla eş anlamlı değildir. Ağırlığı fazla olmasa da, kas ve kemik kitlesi az, fakat yağ dokusu artmış olan kişilere de obez denir (1).

Obezite ile birlikte bazı hastalıkların görülme olasılığı, yada başka bir deyişle riskler artmaktadır. Psikososyal disfonksiyon, obstrüktif uyku apnesi ve osteoartrit artmış yağ miktarının doğrudan sonuçlarıdır. Obezitenin neden olduğu diğer hastalıklar arasında diyabet, safra kesesi taşları, hipertansiyon, karaciğer hastalıkları, koroner arter hastalıkları, serebrovasküler hastalıklar, kanser türleri ve infertilite sayılabilir. Obezite, bu hastalıklara bağlı olarak, mortalite ve morbiditeyi de artırmaktadır (2).

Obezite poligenik, multifaktöriyel ve genetik-çevre ilişkisi içinde ortaya çıkan bir hastalıktır. Bunun yanında tek gene bağlı, bir genetik faktörün tek başına belirleyici olduğu obezite tipleri de vardır (3).

Obezite sıklığı gittikçe artmaktadır. Bunun en önemli nedenleri arasında aşırı yağlı, karbonhidratlardan ve rafine şekerden zengin fakat bitkisel liflerden fakir beslenme ve daha sedanter bir yaşam sayılmaktadır (4,5).

Obezite geninin bir ürünü olan leptin başlangıçta adipozit kaynaklı bir sinyal molekülü olarak düşünülmüştür. Leptin, iştahı baskılamak enerji harcanmasını da artırmaktadır (6).

Son birkaç yıl içinde leptin ve leptin metabolizmasının oldukça karmaşık olduğu gösterilmeye çalışılmıştır. Başlangıçta kronik obeziteyi hafifletici bir anahtar gibi düşünülen leptinin, günümüzde çeşitli hormonal süreçlerde daha genel bir rol oynadığı bilinmektedir (7).

Hemodinamik, reolojik ve metabolik özellikleri nedeniyle oldukça geniş farmakolojik etkilere sahip olan ginkgo biloba ekstresi serebral, retinal ve kokleovestibüler iskemiden, kardiyak ve periferik iskemiye kadar fizyopatolojik bozukluklarda etkilidir (8,9) ve en çok reçete edilen ve satılan ilaçların arasında yer

almaktadır. Günümüzde reçetesiz de satılabilen zayıflama ile ilgili preparatların içeriğinde de sıklıkla ginkgo bilobaya rastlamaktayız (10,11).

Bu çalışmada ginkgo biloba ekstresinin, günümüzün en önemli sağlık problemlerinin başında gelen ve geniş epidemiyeye sahip olan obezitenin en önemli parametrelerinden biri olan leptin düzeyleri ile lipit profili üzerine olan etkilerini diyetle oluşturulmuş obez sıçanlarda araştırmayı planladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ginkgo Biloba

2.1.1. Ginkgo Biloba Bitkisinin Tarihçesi

'Bazı ağaçlar, tıpkı bazı insanlar gibi, kendilerini benzerlerinden ayıran bir kadere sahiptirler. Diğerleri bilinmezlik içinde yaşıyorlar ve yaşayacakken, bunlar kendilerini belli eder ve yazılara konu olurlar. 'Bitkisel hükümdarlıkta, Ginkgo bilobanın yeri en üst düzeydedir'. C. Blanc-Louvel, P.F. Michel-Kermeur'ün 'Ginkgo biloba: zamanı yenen ağaç' adlı eserini bu sözlerle tanıtıyor (12).

Niçin bu isim? Yaklaşık 300 milyon yıl önce ortaya çıkan bu gerçek 'yaşayan fosil'in yok olan bir floranın son hayatta kalan üyesi olmasından dolayı mı? Yoksa, 150 milyon yıldır çoğalıp gelişen bu türün, iklim değişiklikleri, bakteriler, mantarlar ve sıklıkla bitki türlerinin yok olma nedeni olan parazitlerin hepsine direnerek günümüze bozulmamış olarak ulaşmış olmalarından dolayı mı? Ginkgo biloba Hiroshima'daki patlamaya bile dayandı, zira atom bombasının patladığı bölgenin yakınında bulunan efsanevi Ginkgo'nun hemen dibinde, 1946 ilkbaharında genç bir fidan belirdi (12).

İlk insanlara ait reçeteler çok sayıda bitkisel veya mineral kaynaklı doğal madde içeriyordu. Bitkiler uzun bir süre, tamamıyla denemezse de büyük ölçüde atalarımızın terapötik savunma araçlarının temelini oluşturdular. Bugün hala, sanayileşmiş ülkelerin ilaçlarının %25'inden fazlası bitkisel kökenli maddeler ve ekstrelerden oluşmaktadır. Yetmişli yılların sonunda bitkisel temelli ilaçlar geçmişe ait olarak kabul edilip, tedavinin geleceği sentez kimyasına dayandırılmışsa da, 1980'li yılların sonunda görüntüleme tekniklerindeki gelişmeler ve yeni yapıların keşfi ile doğal kaynaklı yeni maddelerin araştırılması önem kazanmıştır (12).

Pierre Delaveau, Ginkgo biloba üzerine yazdığı bir makalesinde şöyle diyordu: 'Şifalı bitkilerle ilgili araştırmalar klasik terapötik kimyası ve farmakoloji ile rekabet etmiyor. Tersine, bu konudaki gelişmelere sıkı sıkıya bağlı olarak ilerliyor.' Şu bir gerçek ki, yeni kimyasal yapıların keşfinde bitkiler bazen

insanlardan daha hayalperest olabiliyorlar ki bu da, yeni araştırma yollarının çeşitliliğini artırmayı sağlıyor. Terapötik varlığı 47 asır öncesine dayanan ginkgo biloba vakası da bu duruma iyi bir örnektir (12).

Aslında, M.Ö. 2700 yılında kutsal çiftçi olarak anılan imparator Chen Nong'nun yazdığı ve türünün en eski örneği olarak kabul edilen terapötik kitabı Chen Nong Pents'ao'da, aralarında kaynatılmış veya dövülmüş ginkgo biloba yapraklarının da bulunduğu 240'ı bitki 365 madde tanımlanmış ve birçok değişik endikasyonda terapötik amaçla kullanıldığı bildirilmiştir: 'Pulmoner enerjiyi ve sirkülasyonu artırır, öksürük ve astıma iyi gelir, spermatogenezi stabilize eder ve lokorede etkilidir'. Bu kitapta yapraklarından bahsediliyorsa da, uzun zamandır belirli bir yere sahip meyvelerin aksine ginkgo biloba, geleneksel Çin tıbbında yer almıyordu (12).

18. yüzyılın sonunda, ginkgo biloba Avrupa'ya doktor ve botanikçi Alman Engelbert Kaempfer'le geri döndü. 1712 yılında yayımlanan eseri 'Amoenitatum exoticarum'da bitkinin detaylı bir tasvirini yaptı (8). 1730'da Utrecht, Leiden ve Heidelberg'deki botanik bahçelerine ilk kez bitki dikildi (13).

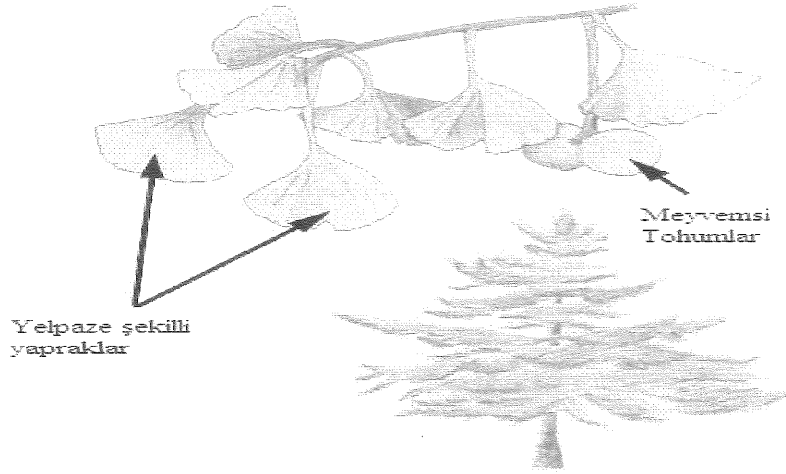
1771'de Linnaeus ilk kez Ginkgo Biloba adını verdi (Ginkgo= gümüş kuştüyü, biloba =iki loblu). Bitki 1784'de Amerika'da Philadelphia yakınlarındaki William Hamilton bahçesine ekildi (14).

Ginkgo biloba yapraklarındaki ginkgolidleri ilk olarak Japon Furukawa ve Nakanushi tanımladıysa da, Ginkgo'nun çağdaş hikayesi Almanya'da 60'lı yılların başında Herman Jaggy tarafından kromatografik olarak ayrıştırılması ve ekstrenin tarif edilmesiyle başladı. 1965'de Willmar Schwabe tarafından Ginkgo biloba ekstresinden hazırlanmış ilk özel ilaç piyasaya sürüldü. 1966'da H. Peter, Ginkgo biloba farmakolojisi üzerine ilk yazıları yayınlarken, 1971'de Klaus-Peter Schwabe etki mekanizmasına ait yaklaşımları katekol-o-metil transferazın (COMT) in vitro inhibitör etkilerini ortaya koydu (12).

1970 ve 1980'li yıllarda, Ginkgo biloba yapraklarının toplam ekstresine ait farmakolojik profilin oluşturulması amacıyla çok sayıda çalışma başlatıldı. Bu arada bitkiye özel bir kod isim verildi, EGb 761. 1990'lı yıllarda Nobel Kimya Ödülü ginkgolid B'nin sentezini yapan Elias J. Corey'e verildi (12).

2.1.2. Ginkgo Biloba Bitkisinin Yapısı

Ginkgo biloba Ginkgoaceae ailesine ait bir türdür. Adı Ginkgo biloba olmasına rağmen Salisburia adiantifolia veya Salsiburia biloba isimlerinin kullanıldığını da görebiliriz. Ginkgonun silueti son derece tipiktir. Genç üyelerde, genel biçim biraz kozalaklıları hatırlatır fakat daha az serttir. Yaprakları çok tipiktir: oldukça kalın, önce açık yeşil daha sonra yeşil-gri devam eder, dokusu hem dayanıklı hem de esnektir. Erişkin üyeler yelpaze şeklinde olup, genç ağaçlarda iki loba ayrılmışlardır ki türün ismi de buradan gelir (13). Ginkgo biloba bitkisinin yapısı Şekil 2.1’de verilmiştir.



Şekil 2.1: Ginkgo Biloba bitkisinin yapısı

Ginkgo biloba seksüel olgunlaşması geç gerçekleşen dioik (ikiyevcikli) bir türdür. Etilemin üreten erkek bireyler, yumurta hazırlayan dişi bireyler bulunur. Bu organların gelişmesi için 30 ila 40 yıla ihtiyaç vardır (13).

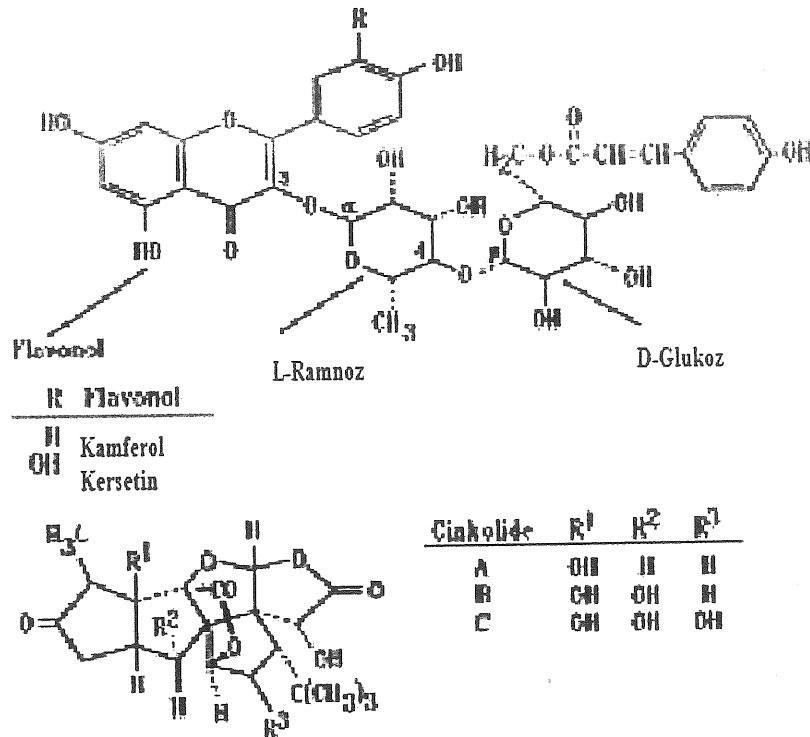
Dayanıklı bir ağaçtır. -20°C'lik sıcaklıklara dayanabilir ve yarı tropikal alanlarda gelişimini sürdürebilir. Sıcak ve kuru yazlarla, soğuk kışlar gibi birbirinin tam karşıtı mevsimleri sever. Silisli ve silisli-killi toprakları tercih eder (13).

2.1.3. Ginkgo Biloba Ekstresi (EGb 761):

Ginkgo biloba ekstresi, EGb 761 Ginkgo biloba yapraklarından hazırlanan, %24 oranında ginkgo-flavon glikozitleri ve %6 oranında terpen laktonları (ginkgolid A, B, C, J ve bilobalid maddesi) içeren standardize edilmiş bir ekstre dir (15).

Geleneksel Çin farmakopesinde yer alan ginkgo yüzyıllardır kullanılmaktadır. Çinliler bitkiden yaptıkları çayı astım ve bronşit tedavisinde kullanırlarken batılı ülkelerde ise tablet, damla ve intravenöz formları kullanılmıştır. Amerika, Almanya ve Fransa'da en çok reçete edilen ekstrelerden biridir (16).

2.1.4. Ginkgo Biloba Ekstresinin Kimyasal Bileşimi:



Şekil 2.2: Ginkgo biloba ekstresinin kimyasal yapısı ve bileşimi

Şekil 2.2'de kimyasal bileşimi gösterilen ginkgo biloba ekstresinin bileşenleri arasında bulunan aktif maddeler şöyledir:

a) Flavon glikozitleri (%24): Özellikle diglikozitler çoğunlukta olmak üzere mono, di ve tri-glikozitler mevcuttur. Glukoz veya ramnozla birlikte kuersetin, kamferol veya izoramnetin glikozitleri en önemli flavonoidleridir. Kütle spektrografisi ve nükleer manyetik rezonans ile yapılan analizlerle kuersetin-glukoramnozid ve kamferol-glukoramnozid kumarinik esterleri de tanımlanmıştır.

b) 20 karbonlu diterpen lakton deriveleri (%3,1): İki, üç veya dört hidroksil grubu, spirononan halka, üç lakton grubu ve bitkilerde tek ter-butil grubu içeren hem karmaşık ve hem de özgün bir kafes şekline sahip A, B, C ve çok az miktarlarda J ginkgolidleri içerir. Ginkgolidler sadece bu bitkide bulunur ve birbirlerinden farklılıkları hidroksil grubunun sayısı ve pozisyonudur.

c) 15 karbonlu seskiterpen deriveleri (%2,9): Üç lakton ve bir ter-butil grubu içeren bilobalid taşıır.

d) Proantosiyanidinler: İyonize flavonlar, delfinidin (prodelfinidin) veya siyanidinler (proantosiyanidinler) ile yoğunlaştırılmış polifenolik bileşenler içerir.

e) Daha az özgünlükteki diğer maddeler: Bir kısım organik asitler (6-hidroksi kinürenik asit, protokateşik asit, şikimik asit, vanilik asit, parahidroksibenzoik asit) de ekstrenin bileşenleri arasında yer alır. Bu organik asitlerin miktarı farmakolojik bir etki göstermek için çok azdır fakat EGb 761'e hafif asit bir özellik kazandırır (pH=4,5). Böylece ekstrenin suda çözünürlüğünde ve özellikle de terpenlerin biyoyararlılığında rol oynarlar.

f) Biyolojik etkiden yoksun bileşenler: Flavonoidik olmayan glikozidler, organik tuzlar, mineraller ve su (%3) bu grupta yer alır.

EGb 761, normalde yapraklarda sıkça rastlanan ginkgolik asitleri ve biflavonoid (amentoflavon, bilobetin) ile steroid (sitosterin, kampesterin) içermez (8,15,17-19).

2.1.5. Ginkgo Biloba Ekstresinin Farmakokinetik Etkileri:

Bir ilacın organizmadaki emilim, dağılım, metabolizma ve atılımını ilgilendiren farmakokinetik çalışmalar, bu ilaç tek bir etken madde içerdiği sürece, genel olarak hiçbir sorun ortaya koymaz. Fakat bu durum EGb 761 için geçerli değildir çünkü madde birçok farmakokinetik ve farmakolojik etkileşimlere sahip aktif etken gruplar içerdiğinden EGb 761 için klasik bir farmakokinetik çalışma tasarlamak mümkün değildir (16). Bu nedenle EGb 761'in flavonoid, ginkgolid ve bilobalid kısımlarına ait çalışmalar yapılmıştır.

2.1.5.1. Flavonoidler

Flavonoidlerin emilim, metabolizma ve atılım çalışmalarının sonuçları glikozidin ve aglikanın çeşidine veya besinsel flavonoidlerin zenginliğine bağlı olarak değişebildiği için sıklıkla çelişkilidir. Bu şekilde bir aglikanın oral yoldan emilimi % 4-58 arasında değişebilir (8).

Bakteriyel flora kanda ve idrarda bulunan flavonoidlerin fenolik asitlere intestinal yıkılımdan sorumludur. EGb 761 için, flavonoid glikozidlerin katabolizması, sıçanlarda hipürik asit, benzoik asit, 3-(4-hidroksifenil)-propionik asit, 3,4- dihidroksifenilasetik asit, 3-(3-hidroksifenil)-propionik asit ve homovanilik asit oluşumu ile sonuçlanır. İnsanlarda da, serbest ve konjuge olarak bulunabilen benzoik asit daha ağırlıklı olmak üzere benzer asitler oluşur (12). Merfort, kuersetinin metabolitlerinden biri olan 3,4-dihidroksifenil asetik asitin insan kaynaklı polinükleer nötrofillerden oluşan serbest radikallerin oluşumunu %85 oranında (1µg/ml) inhibe ettiğini göstermiştir. Aynı konsantrasyonda kuersetinin yarattığı inhibisyonun oranı %73 olarak bulunmuştur (20).

Sıçanlara çok yüksek dozda (4g/kg) uygulama sonrasında EGb 761 flavonoidlerine ait farmakokinetik parametrelerin incelendiği çalışmada kanda, feçeste ve idrarda bozulmamış glikozid veya aglikana rastlanmamıştır. Uygulanan dozun sadece %40'ı idrarda metabolit halinde ve %4'ü ise feçeste bulunduğundan, buradan emilimin tam olduğu sonucu çıkarılabilir (12).

EGb 761 ratlarda % 60 oranında emilmektedir (13).

Sağlıklı gönüllüler ve daha önce flavonoidlerden yoksun bir diyetle beslenmiş yaşlı hastalarla yapılan çalışmalarda %24 oranında flavonoidik glikozitler içeren ekstrenin 50, 100 ve 300 mg dozlarda uygulanmasının ardından aglikan, kuersetin, kamferol ve izoramnetin plazma oranlarına bakılmıştır. Sonuçlar flavonoidik glikozidlerin ince barsaktan yaklaşık %60'lık bir biyoyararlılıkla emildiğini, 25-30 ng/ml'lik maksimal orana (50 mg'lık doz için) 2-3 saatte varıldığını ve tam eliminasyon 24 saat olmak üzere eliminasyon yarı ömürlerinin 2-4 saat olduğunu göstermektedir (12,21).

2.1.5.2. Ginkgolidler ve bilobalid

Bilobalid ile ginkgolid A ve B'nin plazma oranları, bir defada, beş gün süresince oral yolla 100 mg/kg/gün oranında EGb 761 uygulanmış sıçanlarda, kromatografi ve kütle spektrofotometresinin birleştirildiği klasik yöntemlerle saptanmıştır. En düşük dozda, hızla maksimal konsantrasyonlara ulaşılmış (30 dakika ile 1 saat); ginkgolid A için 1,7 saatlik bir yarı ömürle 68 ng/ml, ginkgolid B için 2 saatlik yarı ömürle 40 ng/ml ve bilobalid için 2,2 saatlik yarı ömürle 159 ng/ml bulunmuştur. Klirensler 24 ile 38 ml/dak/kg arasında, dağılım hacimleri 4,3 ile 6,6 l/kg arasında değişmektedir. Tekrarlanan uygulamalardan sonra, bilobalid için hiçbir biyoyararlılık kaybı gözlenmezken, ginkgolidlerde tek uygulamaya kıyasla %20 oranında azalma olduğu saptanmıştır (8,12).

Genç hastalarda (20-32 yaşlarında, 6 kadın, 6 erkek 12 sağlıklı gönüllü) EGb 761'in 3 uygulama şeklinin (50 mg'lık intravenöz perfüzyon, 80 mg'lık damla şeklinde tek oral uygulama ve 40 mg'lık iki tablet halinde 80 mg tek oral uygulama) kıyaslandığı çalışmanın sonuçları şu şekildedir:

-Hem damla hem de tabletin sindirimsel biyoyararlanımı ginkgolid A ve B için iyi, ginkgolid C için düşüktür.

-Maksimal plazma yüzdelerine çok çabuk ulaşılmıştır (ginkgolid A için 1,06 saat, ginkgolid B ve bilobalid için 1,7 saat). Bu düzeyler ginkgolid A için 33,3 ng/ml, ginkgolid B için 16,5 ng/ml ve bilobalid için 18,8 ng/ml'dir.

-Eliminasyon yarı ömürleri sırasıyla 4,5, 10,6 ve 3,2 saattir. Atılım ginkgolid hariç tümünde büyük ölçüde üriner yolla olmaktadır (Ginkgolid sindirim yollarında düşük oranda emilir). Ginkgolid A'nın %70'i, ginkgolid B'nin %50'si ve bilobalidin %30'u değişmeden idrarla atılır (15).

Üç kere 40 mg ve iki kere 60 mg (her iki durumda da toplam 120 mg) EGb 761 uygulamasının, ginkgolid A'nın farmakokinetik parametrelerine etkisinin kıyaslandığı çalışmada maksimal plazma yüzdesi 3x40 mg uygulamasında hafifçe daha yüksektir (1,8 ng/ml yerine 2,3 ng/ml) ve 2,7 saat yerine 2 saatte bu düzeye ulaşılmıştır (12).

120 mg EGb 761'in oral yolla uygulandığı çalışmada ginkgolid A'nın 0,56 µM ve bilobalidin 1,61 µM'lık plazma düzeylerinde olduğu görülmüştür (29).

120 mg EGb 761 alan yaşlı hastalarla gerçekleştirilen çalışmalarda, ginkgolid A, B ve bilobalidin farmakokinetik parametrelerinde genç hastalara oranla önemli değişimler saptanmamıştır (15).

İnsan çalışmaları sonrası EGb 761 ginkgolid A için %98-100, ginkgolid B için %79-93 ve bilobalid için en az %70 oranında biyoyararlanım göstermiştir (13).

EGb 761'in karmaşık yapısından dolayı farmakokinetisyenlerin yaşadığı probleme rağmen, gerçekleştirilen çalışmalardan şu sonuçlar çıkarılabilir:

-EGb 761 damarlar, retina, hipokampus gibi başlıca hücrel ve moleküler hedeflerinin bulunduğu dokulara eğilim göstermektedir.

-Flavonoidik glikozidler ince barsak düzeyinde aglikanlara hidroliz olurlar ve aglikanlar da fenilalkil asit türünde 7 metabolite yıkılır. Bu metabolitlerden 3,4-dihidroksifenilasetik asit gibi bazıları, kuersetin gibi en güçlü radikal tutucularından biridir.

-Ginkgolid A ve B'nin biyoyararlığı neredeyse tamdır ve büyük kısmı idrarda değişmemiş olarak bulunmaktadır. Bilobalidin biyoyararlığı mükemmeldir fakat idrarda sadece %30'luk kısmı değişmemiş olarak bulunur (19).

2.1.6. Ginkgo Biloba Ekstresinin Toksikolojik Etkileri

2.1.6.1. Hayvanlarda

Tek uygulama sonrası yapılan toksisite çalışmaları EGb 761'in çok zayıf bir toksik etkisi olduğunu göstermiştir. Çizelge 2.1.'de görülen LD₅₀ değerleri intravenöz (i.v.) yolla sıçan ve farede 1.10 g/kg; intraperitoneal (i.p.) yolla farede 1,90 g/kg, sıçanda 2,10 g/kg ve oral yolla farede 7,725 g/kg ve sıçanda 10 g/kg'in üstündedir (13).

Çizelge 2.1: EGb 761'in LD₅₀ değerleri

Uygulama Şekli	Fare	Sıçan
İ.V.	1,1 g/kg	1,1 g/kg
İ.P.	1,9 g/kg	2,0 g/kg
Oral	7,725 g/kg	> 10 g/kg

Kronik toksisite çalışmalarının 4 dozda gerçekleştirildiği sıçanlar (20, 100 ve 300 ila 500 mg/kg) ve köpeklerle (20, 100 ve 300 ila 400 mg/kg) yapılan araştırma altı ay sürdürülmüştür. Tüm klinik, biyolojik ve hematolojik parametreler normal sınırlarda seyrederken klinik öneme sahip tek etki köpeklerde, en yüksek olan iki dozda gözlenmiştir. O seviyedeki mikrosirkülasyon artışının bir işareti olarak bazı köpeklerin yüz bölgesinde kızarmalar olmuştur (12).

Fertilite, embriyotoksisite riskleri, peri ve post-nataliteyi kapsayan tüm prosedür çalışmalarda hiçbir anomali bildirilmemiştir. Aynı sonuç mutajenite testleri serisi için de geçerlidir (12,13).

Son olarak 4, 20 ve 100 mg/kg/gün'lük dozların uygulandığı sıçanda 104 haftalık bir karsinojenite çalışmasında hiçbir makroskobik veya mikroskobik anomali bildirilmemiştir (12,13).

2.1.6.2. İnsanlarda

Çok sayıda klinik çalışmayı toplayan global analizler olsun, farmakovijilans hizmetleri tarafından gerçekleştirilen klasik koruma çalışmaları olsun, sonuçlar EGb 761'in çok iyi tolere edilen ve çok düşük oranda istenmeyen etki gösteren bir madde olduğunu göstermektedir (16,22).

120 mg/gün'lük dozlarda EGb 761'in altı ay boyunca uygulandığı, yaş ortalaması 69 olan 8505 hastanın dahil olduğu çok merkezli bir çalışmada, uygulamanın durdurulmasını gerektiren (dört hasta) %0,05'lik istenmeyen etki insidansı ve % 0,39'luk çalışmaya geri dönülebilecek zararsız yan etki insidansı bildirilmiştir. Bunlar arasında hafif gastrointestinal bozukluğu olan 21 hasta, başağrısı olan 7 hasta, baş dönmesi olan 6 hasta, uyuşukluk hali olan 2 hasta, uyku bozukluğu olan 2 hasta ve deride alerjik reaksiyonu olan 2 hasta gözlenmiştir. 3044 ve 9772 hasta üzerinde gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise EGb 761'e ait istenmeyen etki insidansının %1'i geçmediği bildirilmiştir (12).

Fransa'da on senelik (1975-1985) EGb 761 tedavisi gören 3 milyon hastadan sadece 113'ünde (%0,003) istenmeyen etki gözlenmiştir. Bunlar arasında gastroduodenal bozukluğu olan 24 olgu, nörosensoryel bozukluğu olan 29 olgu, deri alerjisi olan 14 olgu, hematolojik bozuklukları olan 31 olgu, kardiyovasküler bozuklukları olan 2 olgu ve daha farklı şikayetleri olan 13 olgu bildirilmiştir. Tüm bunlar EGb 761'in çok iyi tolere edilebilen ürünler sınıfına girdiği sonucunu çıkarmamıza izin vermektedir (16).

EGb 761 başka ilaçlar da almakta olan hastalarda kullanılmakla birlikte ilaç interaksiyonları bilinmemektedir (13,16).

2.1.7. Ginkgo Biloba Ekstresinin Farmakolojik Etkileri:

Geniş farmakolojik etki alanı sayesinde (hemodinamik, reolojik, metabolik) serebral, retinal ve kokleovestibüler iskemiden, kardiyak ve periferik iskemiye kadar fizyopatolojik bozukluklarda etkili olduğu bilinmektedir (8,9).

Merkezi sinir sisteminin farklı seviyelerindeki yapısal ve işlevsel kompensasyona destek olan farklı plastisite olaylarını stimüle ederek, nöronal nekroz ve apoptoz süreçlerine doğrudan etki etmektedir (23,24).

Hücrel ve moleküler mekanizmalar, özellikle hücre membranlarının antilipoperoksidan etkisi gibi antioksidan bir etki ile ilişkilidirler. Bunlar; mitokondriyal solunumun, oksidatif fosforilasyonun, etkili ATP sentezinin devamlılığının ve endotel kaynaklı vazomotor faktörlerin salınımını bozan vazoregülatör etkenlerin sabitliğinin sağlanmasıdır (25-28).

Çernobil kazazedelerinden seçilen otuz kadar ışın almış hastayla yapılan pilot klinik çalışmada 2 ay süreyle 120 mg/gün oral EGb tedavisinin plazmadaki klastojenik aktiviteyi normale döndürdüğü gösterilmiştir (29).

Membranla ilişkili iyonik dengenin ve hücre içi haber dolaşımının düzenleyicisi olduğu düşünülmektedir. Bileşenlerinden biri olan ginkgolid B'nin trombosit aktive edici faktöre (PAF) antagonist özellikte etkileri vardır (8,30).

Avrupa ve ABD'de gerçekleştirilen birçok klinik çalışma, EGb 761'in psiko-organik kardiyovasküler hasarlarda ve yaşa bağlı kognitif gerileme ve hafızada gerileme şikayetlerinde yararlı olduğu belirtilmiştir. Sonuçlar, bilginin öğrenilme ve saklanma kapasitesinde belirgin artış, zihinsel berraklık ve kognitif performansta gelişim gibi etkilerden başka, EGb 761'in bazı yaşlı hastalarda günlük hayat karşısında oluşabilen stres faktörüne bağlı kaygılarını da azalttığını ortaya koymaktadır. Bu durum, stres mekanizmaları düzeyinde iki etki ile açıklanabilir; bunlar yoğun stres koşullarında strese adaptasyonun kolaylaştırılması fakat aynı zamanda hormonal cevapların inhibisyonu (özellikle glukokortikoid salınımı) ve ayrıca stresin hipokampüste etki ettiği proapoptotik ve nörotoksik etkileri inhibisyonu olabilir (31-36).

İskemi veya ışığa bağlı irritasyon sonucu oluşan retinal lezyon modelleri üzerinde sürdürülen çalışmalarda ve yaşa bağlı makula dejenerasyonu ile diyabetik veya proliferatif retinopati modelleri üzerinde gerçekleştirilen çalışmalar ile EGb 761'in görme alanı hasarları ve görme keskinliğindeki azalma tedavisindeki önemini ortaya koymaktadır (37-39).

Koklear (hipoakuzi, işitme geriliği, tinnitus) ve vestibüler kökenli hasarlarda (vertigo ve denge kaybı) da etkinlik göstermekle birlikte (40-42) ekstrenin tinnitusta etkili olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (43).

Ayrıca Avrupa Birliği Resmi Dergisi'nde (Journal Officiel des Communautés Européennes) yer alan, alt ekstremitelerin tıkaçıcı arteryopatisi tedavisi konusunda sürdürülen klinik çalışmaların metodolojik kurallarına cevap verebilecek dört ilaç grubundan biri EGb 761 dir. Klinik çalışmalar ekstrenin Alzheimer hastalığına yakalanmış hastaların ailevi ve sosyal davranışlarını ve kognitif performansını geliştirdiği göstermiştir (35,44).

Bu çalışmalarda kullanılan ilacın dozu ve süresi ile ilgili kaynaklar tarandığında aşağıdaki bilgilere ulaşılmıştır.

2.1.7.1. İnsanda Kullanılan Dozların Sıçanlardaki Karşılığı ve Doz Seçimi

DeneySEL farmakolojide kullanılan dozlarla, tedavide yazılı olarak bildirilen düzeyler arasında farklılık vardır ve sıçandaki 1 mg/kg ile insandaki 1 mg/kg eşdeğer değildir. EGb 761'in terapötik dozu 120 mg/gün olmak üzere 60 kg'lık bir insanda 2 mg/kg/gün'e denktir. İn vivo farmakolojik testlerin büyük çoğunluğu oral 50 mg/kg en sık rastlanan doz olmak üzere, 10 ve 100 mg/kg arasında gerçekleştirilmiştir. İnsandaki bu dozun sıçan veya kobaydaki terapötik doza genelleştirilebilir olup olmadığı sorusunu cevaplamak için yöntemler denenmiştir (12).

Bunlardan ilki farmakokinetiktir. EGb 761'in sadece terpenik bileşenlerinin kıyas alındığı farmakokinetik değerlendirme uygulanır. Sıçan ve insandaki eliminasyon yarı ömürleri çok farklı olmakla birlikte (sıçanda ginkgolid A, ginkgolid B ve bilobalid için sırasıyla 1,8; 2 ve 3 saat, insanda 4,5; 10,5 ve 3,2 saat) eğri altında kalan alanların kıyaslaması yapılarak bir bağlantı sağlanması tercih edilir. Buna göre insandaki 120 mg'lık doz (2 mg/kg) sıçanda, 1'e 10'luk bir oranla yaklaşık 20 mg/kg'a denktir (12).

İkinci yöntem, hayvanın boyu ve farklı organların işlevinin vücut ağırlığına göre değerlendirilmesini içeren allometrik yaklaşımın her organın akım debisi, dokusal hacim, toplam plazma-kan oranı, aktif maddelerin kan-doku konsantrasyonları ve

bunların plazma proteinlerine bağlanma oranlarını içeren fizyolojik yaklaşımla birleştirilmesini içeriyor. Bu yöntemin savunucuları mg/kg yerine mg/m² birimini tercih ediyorlar ve türe göre insan/hayvan eşleştirme sabitleri öneriyorlar (insan/domuz:1, insan/kedi,köpek:3, insan/sıçan:7,5, insan/kobay,fare:10). İnsandaki 2 mg/kg'lık dozun sıçanda 15 mg/kg'a, fare ve kobayda 20 mg/kg'a denk geldiği görülüyor (12).

Umegaki ve arkadaşları ratlarla yaptıkları bir çalışmada 10 mg/kg'lık değer in insandaki 600 mg in üzerindeki bir değere karşılık geldiğini öne sürmektedirler (45). Pietri ve arkadaşlarına göre ise EGb 761'in ratdaki 60 mg/kg oral dozu insanda yaklaşık 240 mg/kg terapötik doza karşılık gelmektedir (46).

2.1.7.2. Deney Süresinin Belirlenmesi

Ginkgo biloba ekstresi kullanılarak yapılan çalışmalarda uygulama süreleri literatür araştırmalarında farklılık göstermektedir.

Ekstrenin ratlarda sitokrom P-450 izoenzimleri ve glutatyon transferaz üzerine olan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada iki ayrı grup rata 100 mg/kg ve 200 mg/kg dozlarındaki ekstre mısır yağı içinde çözülerek 10 gün süreyle oral yoldan verilmiştir (47). Hepatik ilaçları metabolize eden enzimlerle ilgili yapılan bir çalışmada Ginkgo biloba ekstresi suda çözülerek 1, 10, 100 ve 1000 mg/kg dozlarında 5 gün boyunca intragastrik gavajla Wistar cinsi ratlara uygulanmıştır (45). Karsinojenik maddeleri metabolize eden enzimlerin aktiviteleri ile ilgili çalışmada Ginkgo biloba ekstresi 4 gün süreyle 100mg/kg ve 1000 mg/kg dozlarında oral verilirken (48), doksorubisinin kardiyotoksik etkilerini önleyici etkileri açısından incelendiği çalışmada ise 150 mg/kg Ginkgo biloba ekstresi oral yolla 2 hafta boyunca verilmiştir (49).

Ginkgo biloba ekstresinin hafıza üzerine olan etkilerini araştıran bir çalışmada 12 mg ginkgo biloba 200 ml suda çözülerek kullanılmıştır (50). Ekstrenin yine hafıza kayıpları ve kolin asetil transferaz aktivitesine etkilerinin incelendiği başka bir çalışmada ise 50 mg'ı 1 ml suda süspande edilerek 100 mg/kg dozunda ağızdan 14 gün süreyle verilmiştir (31).

30 mg/kg ve 60 mg/kg Ginkgo biloba ekstresinin oral yolla verildiği 10'ar ratdan oluşan gruplarda ekstrenin kapiller perfüzyona etkileri 5 gün süreyle incelenmiştir (51).

Antiplatelet ve antitrombotik etkilerinin incelendiği çalışmada Ginkgo biloba ekstresi % 5lik arabic gum'da süspande edilerek 5 gün süreyle oral yoldan verilmiştir (52). Kardiyoprotektif ve antioksidan etkilerinin incelendiği çalışmada ise oral yolla 60 mg/kg dozunda 15 gün süreyle verilmiştir (46). Kardiyoprotektif aktivite ve plazma antioksidan kapasitesini artırmaya yönelik etkilerinin incelendiği bir başka çalışmada ise ağızdan 5 gün süreyle 300 mg/kg dozunda verilmiştir (53).

Mobil telefonların beyindeki oksidatif stresi artırıp artırmadığıyla ilgili çalışmada toz Ginkgo biloba ekstresi % 0,9 luk NaCl çözeltisinde hazırlanarak 100 mg/kg dozunda mide tüpüyle 7 gün süreyle uygulanmıştır (54).

Bleomisin'in neden olduğu akut akciğer hasarına Ginkgo biloba ekstresinin etkileri 5 gün oral 100 mg/kg dozunda verilerek incelenmiştir (55). Ginkgo biloba ekstresinin beta-adrenerjik reseptörlere etkileri oral 90 mg/kg dozunda 7 gün süreyle verilerek araştırılmıştır (56).

Global beyin iskemisi ve glutamatla indüklenen eksitotoksisitedeki nöronal ölüme karşı koruyucu etkileriyle ilgili bir çalışmada ratlara Ginkgo biloba ekstresi 25, 50 ve 100 mg/kg dozlarında oral yolla 7 gün süreyle verilerek incelenmiştir (32).

Ratlarda hipotalamik pitüiter adrenal aks aktivasyonu modelinde selüler immün cevabın araştırıldığı çalışmada Ginkgo biloba ekstresi 100 mg/kg dozunda oral olarak 7 gün süreyle uygulanmıştır (57). Ginkgo biloba ekstresinin hipotalamik pitüiter adrenal aksa etkilerinin araştırıldığı bir diğer çalışmada ise 50 ve 100 mg/kg dozlarda 14 gün süreyle kronik olarak verilmiştir (58).

Ginkgo biloba ekstresinin ratlardaki serebral glukoz kullanımına etkilerinin araştırıldığı çalışmada ekstre 50 ve 150 mg/kg dozlarında 15 gün süreyle verilmiştir (59).

Gentamisinle indüklenen nefrotoksisitede Ginkgo biloba ekstresinin etkilerinin incelendiği çalışmada 300 mg/kg dozunda ve 10 gün süreyle oral yolla verilmiştir (60).

2.2. Lipitler ve Lipoproteinler

Lipit terimi organik çözücülerde çözünüp, suda çözünemez olan bileşikler için kullanılmaktadır (61).

Organizmanın en önemli enerji kaynaklarını oluşturan lipitler enerjinin başlıca depolanma şeklidir. Hücre membranının önemli yapısal bileşenleri arasında yer alan lipitler, hücre içi ve hücre dışı uyarıların iletilmesinde görev yapmaktadırlar. Bazı organların etrafında ve deri altı dokularında bulunan lipitlerin ısı yalıtımı fonksiyonları bulunmaktadır. Safra asitleri, hormon ve hormon öncülleri olmalarının yanı sıra, bazı lipit sınıfı bileşiklerin enzim kofaktörleri, elektron taşıyıcıları, ışık emici pigmentler, hidrofobik bağlayıcılar, emülsifiye edici bileşikler gibi rolleri ve yaşamın her yönünde önemli işlevleri bulunmaktadır (62).

Diyetle alınan ve emilen lipitler (eksojen) ile karaciğer ve adipoz dokuda sentezlenen lipitlerin (endojen) metabolik fonksiyonlarını yapabilmeleri için farklı dokulara taşınmaları gerekmektedir. Lipitler, sulu ortamlarda çözünememeleri nedeniyle, plazmada lipoprotein olarak adlandırılan makromoleküler kompleksler halinde taşınırlar (61).

Lipoproteinler merkezlerinde polar olmayan lipitleri (trigliseritler ve kolesterol esterleri) ve yüzeye yakın kısımlarına yerleşmiş daha polar lipitleri (fosfolipit ve serbest kolesterol) içeren küresel partiküllerdir. Yüzeylerinde apoprotein olarak adlandırılan özgün proteinlerden bir yada daha fazlasını taşırlar. Merkezdeki lipitler hidrojen bağları ve van der Waals bağları gibi kovalent olmayan bağlarla fosfolipitler ve protein kılıfa bağlanırlar. Böylece plazma lipoproteinleri ile hücre zarı arasında lipitlerin serbestçe değiş tokuşu olabilir. Bağlar buna izin verebilecek durumda olmalarına rağmen lipoproteinlerin farklı analitik tekniklerle alt sınıflarına ayrılabilmelerine olanak verecek kadar da kuvvetlidirler (61,63).

Lipoprotein kompleksleri farklı oranlardaki lipit ve protein içerikleri nedeniyle ultrasantrifüjle şilomikronlar, çok düşük yoğunluklu lipoproteinler (VLDL), ara yoğunluklu lipoproteinler (IDL), düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL) ve yüksek yoğunluklu lipoproteinler (HDL) olarak ayrılabilirler. HDL'nin metabolik rolleri ve klinik anlam bakımından farklılık gösteren HDL₂ ve HDL₃ alt fraksiyonları vardır. Lipoprotein(a) (Lp(a)) LDL'ye yapısal benzerlik gösterirken, lipoprotein X ise

obstrüktif karaciğer hastalıkları ile LCAT eksikliği olan hastalarda oluşan anormal bir lipoproteindir (63).

Diyetle çoğunlukla triaçilgliserol şeklinde alınan yağlar ince barsaklarda sindirildikten sonra şilomikronlar halinde lenfatik sisteme geçerek ekstrahepatik dokulara (adipoz doku, kas dokusu) taşınırlar. Ekstrahepatik dokularda bulunan lipoprotein lipazın, lipoproteinlerdeki trigliseritleri (TG) parçalaması ile ortaya çıkan serbest yağ asitleri, bu dokularda tekrar esterleştirilerek TG şeklinde depolanır veya plazmada albumine bağlanarak karaciğere gönderilir. Karaciğerde TG'lerin yapısına katılan yağ asitleri ya dokunun enerji gereksiniminin karşılanmasında kullanılırlar ya da keton cisimlerine dönüştürülürler. Karaciğerde endojen lipitlerden sentezlenen VLDL dolaşıma verilerek ilgili dokulara taşınır (62).

Açlıkta plazma TG'lerinin büyük bir kısmı VLDL içinde bulunmaktadır. Toklukta ise şilomikronlar geçici olarak artarak total plazma TG'ine önemli katkı yapmaktadır. Total plazma kolesterolünün %70'ini LDL taşırken, HDL ise % 20-30'unu taşır. LDL'nin taşıdığı TG miktarı düşüktür (61).

Lipoproteinler; agaroz, selüloz asetat, kağıt ve poliakrilamid jel elektroforezi gibi elektroforetik yöntemlerle de birbirlerinden ayrılabilir. pH 8,6'da serumun uygulandığı bölgeye yakın olan bant, protein elektroforezinde β -globulin bölgesine karşılık gelir ve LDL'ye aittir. VLDL ve Lp(a), α ile β - globulin bölgeleri arasındaki pre- β -globulin bölgesinde göç ederler. IDL, β ve pre- β -globulin bölgeleri arasında geniş- β olarak adlandırılan geniş bir bant yapar. HDL ise α -globulin bölgesinde yer almaktadır. Şilomikronlar uygulama noktasında kalırlar. Lipoproteinler, elektroforetik pozisyonlarına göre: pre- β lipoprotein, VLDL; β -lipoprotein, LDL; α -lipoprotein, HDL olarak adlandırılır (61,62).

2.3. Serbest Radikaller, Lipid Peroksidasyonu ve Malondialdehit (MDA):

2.3.1. Radikal Kavramı

Atom yapısı, bir çekirdekle çevresinde bulunan değişik sayıda elektronlardan oluşmaktadır. Enerji düzeylerine göre belirli bir düzende yerleşen elektronlar, orbital adı verilen yörüngelerde hareket etmektedirler. Her orbitalde yerleşik iki elektron, birbirine zıt yönde kendi ekseni etrafında dönmektedir. Her bir orbitale önce birer tane aynı yönde dönen elektron yerleşmekte ve atom numarasına göre sayıları artan elektronlar tekrar aynı sıra ile ters yönde dönecek şekilde orbitale yerleşmektedir (62).

Orbitallerden birine veya ikisine ters dönüşlü bir veya ters dönüşlü iki elektron yerleştirilmesi ile radikal elde edilmektedir. Serbest radikal, oksidan molekül ya da en doğru adlandırma ile reaktif oksijen türleri, atomik veya moleküler yapılarında bir veya daha fazla sayıda eşlenmemiş tek elektron içeren ve bu nedenle reaktif özellik taşıyan moleküllerdir (64).

2.3.2. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri:

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijen kökenli olanlardır. Serbest oksijen radikali biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler oksijenin kendisi, süperoksit (O_2^{\bullet}), hidrojen peroksit (H_2O_2), geçiş metal iyonları ve hidroksil radikalidir (OH^{\bullet}). İlk dördünün çeşitli reaksiyonlarıyla sonuncu meydana gelir (64).

Oksijenin elektronlarından ikisi eşleşmemiştir. Bu yüzden oksijen bir diradikal olarak da değerlendirilir. Oksijen bu özelliği nedeniyle diğer serbest radikallerle kolaylıkla reaksiyona girebilirken, radikal olmayan maddelerle daha yavaş reaksiyona girer ve en son suya indirgenir. Bu arada kısmi redüksiyonla çok sayıda yüksek derecede reaktif ürünler de oluşabilir (62).

2.3.3. Serbest Radikal Kaynakları

2.3.3.1. Biyolojik Kaynakları

- 1) Aktive olmuş fagositler: Bakterisidal rollerinin sonucu olarak $O_2^{\cdot-}$ üretirler.
(Respiratory Burst)
- 2) Antineoplastik ajanlar: Bleomisin, doksorubisin, adriamisin vb.
- 3) Radyasyon
- 4) Alışkanlık yapan maddeler: Alkol, uyuşturucular
- 5) Çevresel ajanlar: Sigara ve diğer yollarla toksik tütün alımı, toksik kimyasallar (kloroform, bromobenzen, halotan, difenoller, kinonlar, vb), hava kirliliği (azot dioksit, ozon, sülfür dioksit, vb), pestisitler, sitostatikler, metaller (titanyum, kurşun, molibden, nikel, krom, civa, arsenik vb.), antibiyotikler (tetrasiklinler, kinon antibiyotikleri, aminoglikozitler vb.)
- 6) Stres: Katekolaminlerin düzeyi artar. Okside katekolaminler de serbest radikal kaynağıdır (62,64-67,69-73).

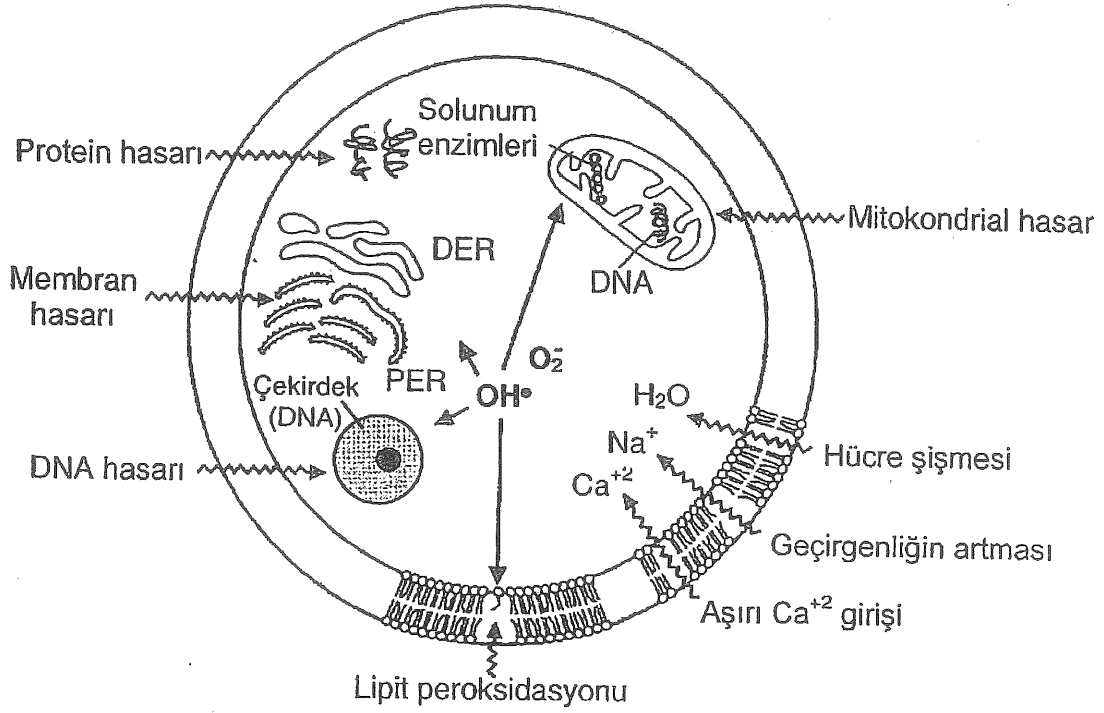
2.3.3.2. İntrasellüler Kaynakları:

- 1) Mitokondriyal elektron transportu: Hücrelerdeki en büyük serbest radikal kaynağı elektron transport zincirinden elektron sızıntısıdır. Normal koşullarda mitokondri, sitokrom oksidaz sistemi ile oksijeni suya indirgeyerek detoksifiye etmektedir. Mitokondri iç zarında yerleşmiş oksidatif fosforilasyon zinciri bileşenleri (NAD, FAD, KoenzimQ vb.) büyük oranda indirgendiği zaman mitokondriyal $O_2^{\cdot-}$ radikal üretimi artar. Normal koşullarda bu sızıntı hücrenin savunma sistemleri ile yok edilebilmektedir. Ancak oksidan stres durumunda savunma sistemleri yetersiz kalmakta ve mitokondride hasar oluşmaktadır. Bu hasar sonucunda hücrenin enerji sisteminin etkilenmesiyle ATP kullanımındaki artışa ve ATP sentezindeki azalmaya bağlı olarak hücrede ATP düzeyi hızla düşmektedir (62,68,70).

- 2) Enzimler ve proteinler: Ksantin oksidaz, triptofan dioksijenaz, hemoglobin, vb.
- 3) Küçük moleküllerin otooksidasyonu: Tiyoller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler, tetrahidropterinler, antibiyotikler, vb.
- 4) Plazma membranı: Lipooksijenaz, prostaglandin sentetaz, fagositlerde NADPH oksidaz, lipit peroksidasyonu vb. (Araşidonik asitten endoperoksit 9,11 – endoproksi – 15 - hidroperoksiprostaglandin (PGG₂) oluşumu sırasında bir miktar serbest radikal oluşabilir. Bunlar da lipit peroksidasyon yolu ile MDA oluşturabilirler. Lipit peroksitleri ortamda aşırı miktarda biriktiğinde siklooksijenaz yolunu inhibe edebilirler).
- 5) Oksidatif stres yapıcı durumlar: İskemi, travma, intoksikasyon, vb.
- 6) Peroksizomlar: Oksidazlar, flavoproteinler. (Peroksizomlar çok önemli hücre içi H₂O₂ kaynağıdır. Ancak peroksizomlarda katalaz aktivitesi de çok yüksek olduğu için sitozole geçen H₂O₂ miktarı belli değildir) (62,65-71,74,75).

2.3.4. Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri Ve Hücre Hasarı

Organizmada tüm anabolik ve katabolik reaksiyonlar esnasında ve sonrasında sürekli bir oluşum halindeki serbest radikal reaksiyonları bir yandan da endojen antioksidanlar adı verilen moleküller tarafından etkisizleştirme süreci içindedirler. Serbest radikaller, belirli düzeylerde kaldıkları sürece, organizmanın yabancı maddelere ve enfeksiyöz ajanlara karşı savunmasında önemli moleküllerdir. Ancak belirli düzeyin üzerinde oluşur ve antioksidanlar yetersiz kalırsa serbest radikaller hücresel yapıları etkileyerek hücre hasarına yol açarlar (62,76,77). Serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarı Şekil 2.3'de gösterilmiştir.



Şekil 2.3: Serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarı

2.3.4.1. Serbest Radikallerin Membran Lipitlerine Etkileri (Lipit peroksidasyonu):

Memeli hücre membranları peroksidatif hasara karşı çok duyarlı olan büyük miktarda poliansatüre yağ asitleri (PUFA) içermektedir. PUFAnın oksidatif yıkımı, lipit peroksidasyonu olarak bilinir ve hücre hasarının en önemli nedenlerinden biridir. Kendi kendini devam ettiren zincir tepkimeler şeklinde ilerler ve oluşan membran hasarı geri dönüşümsüzdür (62,78).

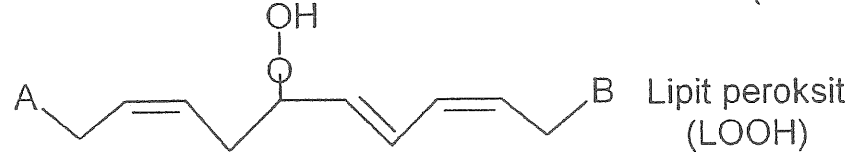
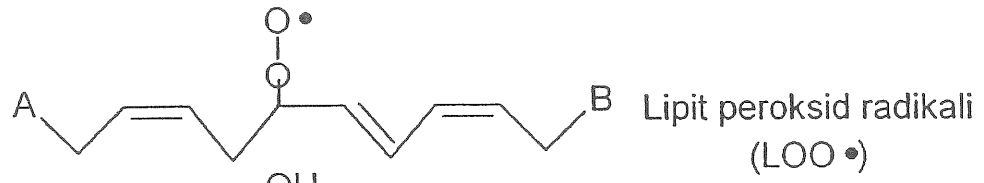
Lipit peroksidasyonu, organizmada oluşan bir serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan PUFA zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlar. Bunun sonucu yağ asidi zinciri bir lipit radikali (L^\bullet) niteliği kazanır. Oluşan lipit radikali dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesiyle konjuge dienler ve daha sonra L^\bullet moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipit peroksil radikali (LOO^\bullet) oluşur. LOO^\bullet leri, membran yapısındaki diğer PUFA'ları etkileyerek yeni L^\bullet lerinin oluşumuna yol

açarken, kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksitlerine (LOOH) dönüşürler. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam eder (75,79).

Başlama



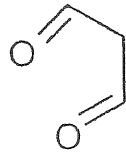
Zincir tepkimesinin ilerlemesi



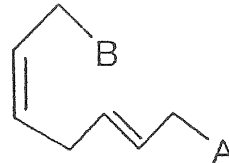
Zincir dallanması



Parçalanma

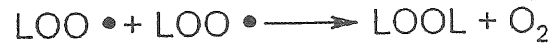


Malondialdehid



Parçalanmış lipid peroksit

Zincir tepkimelerinin sonlanması



Şekil 2.4: Lipit peroksidasyonu

Şekil 2.4'de gösterilen lipit peroksidasyonu ya toplayıcı reaksiyonlarla sonlandırılır ya da otokatalitik yayılma reaksiyonlarıyla devam eder (62).

Plazma membranı ve organel lipit peroksidasyonu, serbest radikal kaynaklarının hepsiyle uyarılabilir ve metallerin varlığında artar. Bu metaller redoks katalisti olarak görev yaparak süperoksit ve hidrojen peroksitin daha güçlü oksidanlara dönüşümünü katalizlerler (80,81).

Lipitlerden, araşidonik asit metabolizması sonucu serbest radikal üretimine 'enzimatik lipit peroksidasyonu', diğer radikallerin sebep olduğu lipit peroksidasyonuna ise 'non-enzimatik lipit peroksidasyonu' adı verilir (82).

Lipit peroksidasyonu sonucu oluşan LOOH'nin yıkımı, geçiş metalleri iyon katalizini gerektirir. LOOH yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehytler oluşurlar. Bu bileşikler, ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından difüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malondialdehit (MDA) oluşur. MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif indikatörü değildir fakat lipit peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir (75,83).

Lipit peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyondur. Direk olarak membran yapısına ve indirek olarak reaktif aldehytler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece birçok hastalığa ve doku hasarına neden olur. Lipit radikallerinin hidrofobik yapıda olması yüzünden reaksiyonların çoğu membrana bağlı moleküllerle oluşur. Membran geçirgenliği ve viskozitesi ciddi şekilde etkilenir. Peroksidasyonla oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi, ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Bu etkiler, MDA'nın niçin mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklar (83,84).

2.3.5. Antioksidan Savunma:

Hücrelerde oksidatif hasarı önleyen, yok eden veya kısmen azaltan bazı mekanizmalar bulunmaktadır. Direkt etki ile oksidanları inaktif hale getiren

maddelere antioksidanlar adı verilmektedir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Etkilerini başlıca dört farklı şekilde gerçekleştirmektedirler:

- 1) Toplatıcı etki: Enzimler oksidanları tutarak daha zayıf bir moleküle dönüştürmektedirler.
- 2) Bastırıcı etki: Vitaminler ve flavonoidler gibi bileşikler, oksidanlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltabilmekte veya etkisiz hale getirebilmektedirler.
- 3) Onarıcı etki: Oksidanların oluşturduğu hasarı onaran antioksidanlar bulunmaktadır .
- 4) Zincir kırıcı etki: Ağır metaller, hemoglobin, seruloplazmin, E vitamini oksidanları kendilerine bağlayarak fonksiyonlarını engellemektedirler

Antioksidan moleküller doğal (endojen) antioksidanlar ve ilaçlar (eksojen) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar:

1)Doğal antioksidanlar:

- a) Enzimatik antioksidan savunma sistemleri
- b) Enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri:
 - 1) Metal iyonlarının etkisizleştirilmesini sağlayan antioksidanlar
 - 2) İn vivo sentezlenebilen düşük moleküler ağırlıklı antioksidanlar
 - 3) Diyetle alınan düşük moleküler ağırlıklı antioksidanlar
 - 4) Karotenoidler ve fenolik yapılar

2)İlaçlar

3)Gıda antioksidanları (62,69,74,75,85-87).

2.4. Leptin

2.4.1. Leptinin Tarihçesi:

1950 yılında Jackson laboratuvarı, ob/ob (obese) olarak adlandırılan otozomal resesif bir mutasyonu keşfetti. Bu mutasyon, erken yaşlarda ciddi obezite, hiperfaji, diyabet ve enerji tüketiminde azalmaya neden oluyordu. Kennedy ve arkadaşları 1953 yılında, vücut yağ dokusu depolarının durumunu beyne bildirerek enerji alımını ayarlayan, yağ dokusunda üretilen ve dolaşıma verilen bir faktörün varlığını ileri sürdüler. Hervey, 1958 yılında kobayların dolaşımında doyumluk veren bir faktörün varlığını gösterdi (88).

Daha sonra 1990 yıllarına kadar genetik şişman sıçanlarda, özellikle otozomal resesif kalıtımla geçen ob (obese) ve db (diabetes) genlerindeki mutasyonlar üzerinde çalışmalar yapıldı. Bu çalışmaların yapıldığı ob/ob ve db/db sıçan modelleri tek gen kaynaklıdır. Söz konusu mutasyonlar birbirinden farklıdır. Bu iki hayvan soyunun fenotipleri birbirine çok benzer. Erken yaşta major obezite görülür ve polifaji vardır. Enerji tüketimi azalmıştır. Hiperglisemi ve hiperinsülinemi dikkat çekicidir. Fizyolojik deneylerden alınan sonuçlar, ob/ob sıçanlarının doyma sağlayan faktörlerden yoksun olduklarını, db/db sıçanlarında ise doyma sağlayan faktör bol miktarda olduğu halde bu faktörün etkisine direnci olduğu gösterilmiştir (88,89).

Uzun yıllar boyunca farelerle yapılan obezite ile ilgili araştırmalar sonucunda ilk kez Aralık 1994'de Rockefeller Üniversitesinden Jeffrey Friedman ve ekibi ob genini ve ürünü olan leptini kodlayan geni klonladılar. Klonlanan gene 1995 yılında leptin adı verildi (89).

2.4.2. Leptinin Yapısı ve Dağılımı:

İlk kez obeziteye eğilimli ob/ob geninden klonlanan leptin, ob geninden sentezlenen 167 aminoasitlik bir proteindir. 16 kDa molekül ağırlığındadır. Leptin sözcüğü ince, zayıf anlamına gelen Yunanca kökenli leptos kelimesinden

türetilmiştir. Mikrozoamlara translokasyonu sırasında amino-terminal ucundan 21 aminoasitlik kesilime uğradığı için dolaşımdaki molekülün uzunluğu 146 aminoasitlidir. Sitokinlere benzer dörtlü helikslerden oluşan tersiyer bir yapıya sahiptir. İnsanlarda leptini kodlayan ob geni, 7. kromozomun uzun kolunun 31. bölgesinde (7q31.3) yerleşiktir. Bu genin DNA'sı 15000 baz çifti içerir ve protein sentezini yöneten ana kodlama bölgelerini kapsayan üç ekzon ve iki introna sahiptir (6,90,91).

Esas olarak beyaz yağ dokusunda üretilmekle birlikte çok daha az miktarlarda mide fundusu, iskelet kası, karaciğer ve plasentada da bulunmaktadır. Kahverengi yağ dokusunda bulunan düşük düzeyleri, muhtemelen beyaz yağ dokusu ile olan kontaminasyonuna bağlıdır (92,93).

İnsan ile sıçan leptinleri %84 oranında homoloji göstermektedir. Plazmada serbest halde ya da leptin bağlayıcı proteine bağlı olarak dolaşır (88).

Leptin üretimi ve yağ dokudan sekresyonu insülin, glukokortikoidler, interlökin-1 ve TNF α 'yı da içeren sitokinler tarafından uyarılırken, katekolaminler, testesteron ve PPAR-agonistleri tarafından inhibe edilmektedir (90,92).

Santral sinir sistemi ve kısmen hipotalamus üzerine olan etkileriyle iştahı baskılayıp, enerji harcamasını artırarak vücut ağırlığının dengelenmesinde anahtar bir role sahiptir (93).

2.4.3. Leptinin İşlevi

Bugüne kadar leptinin fizyolojik rolü tamamen netleştirilememiştir. Çalışmaların büyük bir çoğunluğu leptinin arkuat nukleus üzerinden beslenme davranışlarına etkileri üzerinde yoğunlaşmıştır. Başlangıçta, bu hormonun bir negatif geri bildirim döngüsünde yağ doku kütlesini düzenleyen bir afferent sinyal olabileceği ileri sürülmüş, daha sonraları gıda alınımı, enerji homeostazı ve nöroendokrin kontrol en iyi bilinen etkileri olarak ortaya konmuştur. Rekombinant leptin ile yapılan çalışmalarda leptinin periferik veya merkezi uygulamasının leptinden yoksun ob/ob farelerinde, zayıf ve şişman farelerde gıda alınımını, vücut ağırlığını ve kan glukoz düzeyini azaltmada etkili olduğu ortaya konmuştur. Ancak

bu etki leptin reseptör geninde mutasyona uğramış diabetik db/db farelerde izlenmemiştir. Şişmanlık, anorexia nervosa, Cushing sendromu ve yaşlanmanın da leptin homeostazını bozduğu gözlenmiştir (92,94).

Leptin glukoz homeostazının sağlanmasında da önemli rol oynamaktadır. Leptin eksikliği olan ob/ob farelerde, leptin uygulanması hiperglisemi ve hiperinsülinemiye azaltmakta, karaciğerde glukoneogenezi inhibe etmekte ve ayrıca beta hücrelerine direkt etki ile insülin biyosentezini ve sekresyonunu inhibe etmektedir (95).

Son yıllardaki çalışmalarda leptinin hipotalamus ile olan bu fonksiyonları dışında çok sayıda değişik görevler yüklenmiş olduğunu ileri sürmektedir. Leptinin hem beyin hem de periferik dokularda yerleşik reseptörlere sahip olduğu ve bu reseptörler aracılığıyla beslenme, termogenez, immun sistem, üreme, kemik dansitesi, beyin gelişimi, hemodinamik, solunum, sempatik sinir aktivitesi, kan-beyin bariyerinde ürokortin taşınması, ve karaciğerde insülin ilişkili fonksiyonların düzenlenmesinde rol aldığı belirtilmiştir. Bu fonksiyonlardan bir kısmı, leptinin direkt olarak etkilediği karaciğer ve periferik damarlar gibi periferik dokulardaki etkilerdir. Leptinin kemik ve solunum üzerine olanlar dahil etkilerinin büyük bir çoğunluğu ise merkezi sinir sistemi aracılığıyla gerçekleştirilir (14,90,94).

Leptinin merkezi sinir sistemindeki etkileri çok daha yaygındır. Leptin eksikliğinde, beyin ağırlığında azalma, nöronlarda da yapısal bozuklukların ortaya çıktığı belirlenmiştir. ob/ob farelerde leptin yoksunluğunda gözlenen lokomotor aktivitedeki yavaşlığın leptin verilmesiyle düzeltilebildiği gösterilmiştir. Leptinin bu etkilerinin gerçekleşmesi için önce beyne taşınması gerekir (94,96).

2.4.4. Leptin Sekresyonu ve Serum Düzeyleri

Leptin insanlarda pulsatil ve sirkadiyen ritimle salgılanır. Kadınlardaki düzeyi erkeklere oranla yüksektir. Bunun nedeni, olasılıkla kadınlarda yağ dokusunun fazla olması ve testosteron düzeyleri ile leptin düzeyleri arasında ters bir korelasyon bulunmasıdır (95). Maksimal sekresyon gece yarısından sabah saat 7'ye kadar geçen

sürede olur. Sıklığı 24 saatte 32 pulse şeklindedir ve her biri ortalama 33 dakika sürer. Yarı ömrü yaklaşık 25 dakikadır (90,92).

İnsanlarda leptin yemek yemekle ve bu yemeği izleyen plazma glukoz ve insülin düzeylerindeki oynamalarla akut bir değişim göstermez. Leptin bir tokluk sinyali değildir. İnsülin uygulanması ve glukokortikoidler, leptin gen ekspresyonunu artırırken, açlık ve kontrolsüz diyabet ise azaltır (95).

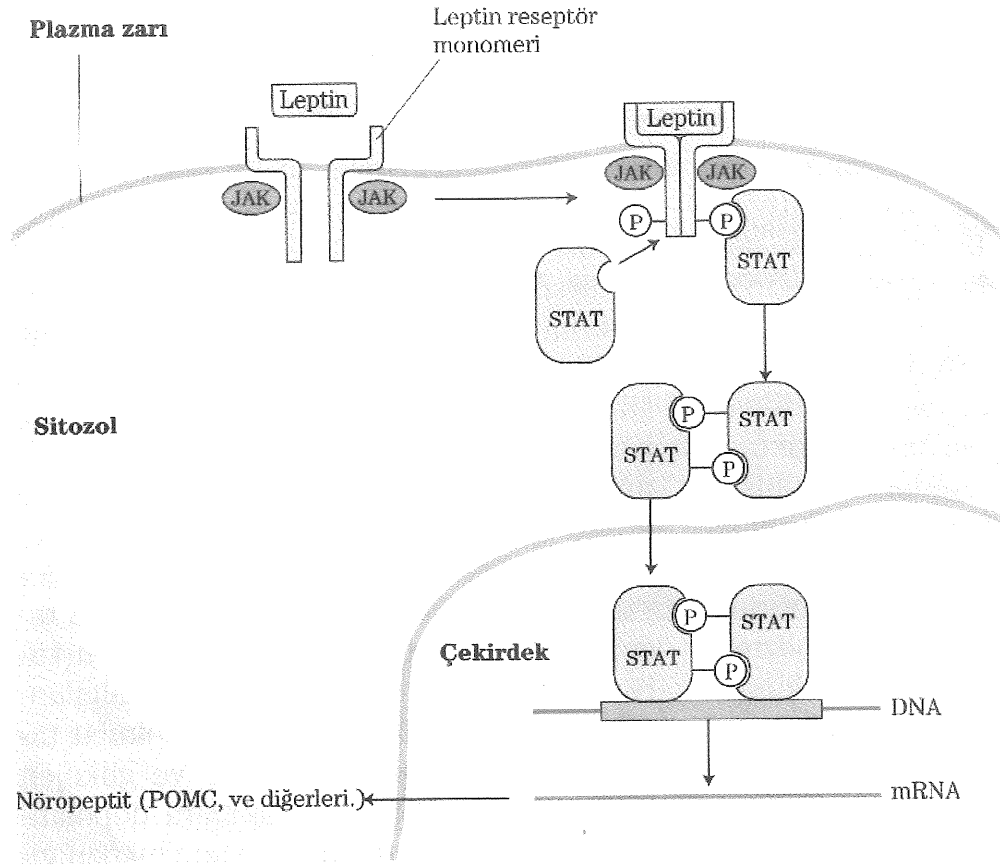
Leptin sekresyonunun sirkadiyen ritmini kontrol eden faktörler; uyku ve uykunun neden olduğu glukoz, insülin ve büyüme hormon konsantrasyonlarının artışıdır. Yağ depolarının artışı ise serum leptin konsantrasyonlarının gece ve gündüz farkını azaltır. Leptinin kan düzeyleri obez hayvanlarda normal vücut ağırlığına sahip olan hayvanlardan (leptin üretemeyen ob/ob hayvanlar hariç) çok daha yüksektir (97). Normal ağırlıklı insanlarda serum leptin düzeyleri ortalama $7,5 \pm 9,3$ ng/ml iken, şişman insanlarda ise ortalama $31,3 \pm 24,1$ ng/ml' olduğu gösterilmiştir (88). Leptin geni hatalı olarak bulunmuş insanlarda çok nadir olarak görülen aşırı obezite, bu kişilere leptin enjeksiyonu yapılarak belirgin kilo kaybıyla sonuçlanmıştır (97).

2.4.5. Leptin Reseptörleri

Leptin araştırmasında önemli bir aşama leptin geninin (ob) klonlanmasından yaklaşık bir yıl sonra, 1995'te leptin reseptörünün tanımlanmasıdır (Ob-R). Leptin metabolik etkilerinin çoğunu merkezi sinir sisteminde ve periferik dokularda (akciğer, böbrek, karaciğer, pankreas, adrenal bezler, overler, hematopoietik hücreler) bulunan spesifik reseptörlerle etkileşerek gösterir. Leptin reseptörü tüm vücutta yaygın olarak bulunur ve sınıf I sitokin reseptör ailesine aittir (14).

Reseptör leptin sinyalini janus protein tirozin kinaz 2 (JAK proteinleri) ile sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörlerine (Signal transducer and activators of transcription -STAT'S 3,5,6-) iletir. Bu STAT alt grubuna yağ STAT'ları denir. Bu reseptör karmaşık bir gen tarafından kodlanır ve diyabete yakın (db/db) sıçanında, Zucker şişman (fa/fa) sıçanında ve obez hale gelen Koletsky sıçanında mutasyona uğrarken, ob/ob sıçanlarda mutasyon yoktur (6).

Leptinin reseptörüne bağlanması hem reseptörde ve hem de reseptörle ilgili JAK'larda farklılaşmayı indükler. Bu olay reseptörün sitoplazmik kısımlarındaki tirozin bölgelerinin fosforilasyonunu sağlar ve STAT proteinleri için fosfotirozin bağlanma yerleri oluşturulur. Bu şekilde STAT proteinleri hem reseptöre, hem de dimer oluşturmak üzere başka bir STAT proteinine bağlanır. Fosforilasyondan sonra STAT proteinlerindeki tirozin bölgeleri reseptörden ve dimerlerden ayrılır ve böylece transkripsiyonel düzenleyicileri aktive olur. Şekil 2.5.'de görüldüğü gibi nukleusa taşındıktan sonra STAT'a yanıt veren moleküllere ve DNA'ya bağlanarak yanıtlayıcı hedef genlerin transkripsiyonunu uyarırlar (22,98).



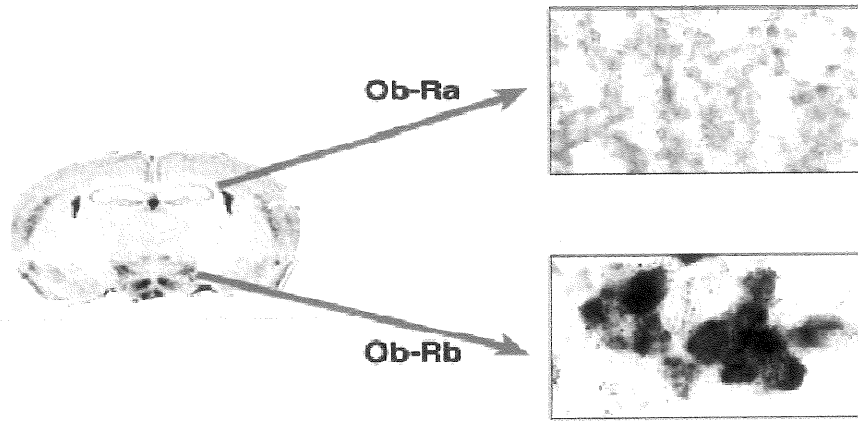
Şekil 2.5: Leptin sinyalini ileten JAK-STAT mekanizması

Leptin, spesifik reseptör izformalarını aktive ederek etkisini gösterir. Birkaç farklı leptin reseptörü tanımlanmıştır (Ob-Ra, Ob-Rb, Ob-Rc, Ob-Rd, Ob-Re, Ob-Rf).

Bilinen leptin reseptörlerinin tümü aynı tek genin kırılma varyantlarıdır. Kısa izoformlar olarak adlandırılan Ob-Ra ve Ob-Rc intraselüler sinyal için gerekli olan bölümün çeşitli segmentlerini veya tümünü taşımazlar, bu yüzden de sinyal mekanizmasında çok az iş görürler. Koroid pleksus ve beyin kapillerlerinde bulunurlar ve bu yüzden de kan-beyin bariyeri transportunda görevli oldukları düşünülmektedir. Kısa izoformların leptinin beyne taşınmasında rol aldığı ancak leptin taşınmasında bu genetik faktörler yanında diyet gibi çevresel faktörlerin de rol aldığı ileri sürülmektedir (94,99,100).

Ob-Re, transmembran leptin reseptörünün çözünebilir formudur ve hidrofobik transmembran kısmı bulunmaz. Ekspresyonu beyin koroid pleksus ve leptomeninks gibi alanlarında çok fazladır. Burada leptinin kan-beyin veya kan-serebrospinal sıvı bariyerinden alınmasına yardımcı olurlar (93,99).

Ob-Rb ise, uzun form olarak adlandırılmaktadır. Bu formdaki reseptörlerin gıda alımını ve enerji metabolizmasını düzenleyen hipotalamusta (arkuat nükleus nöronlarında) yerleştiği ve bu reseptörün öncelikle leptin sinyalizasyonunda etkili olduğu düşünülmektedir. Uzun reseptör izoformu, büyük bir ekstraselüler kısım, kısa bir hidrofobik transmembran kısım ile oldukça kısa bir intraselüler kısım olmak üzere üç bölgeden oluşur (90,99,100).



Şekil 2.6: Leptin reseptörlerinin beyindeki yerleşimi

Şekil 2.6'da iki izoformu görülen leptin reseptör geni, db genine yakın bir yere yerleşmiştir ve db/db sıçanları, uzun reseptör formunun ekspresyonunu önleyen bir mutasyona sahiptir. Bu mutasyon, leptin reseptörünün intraselüler kısmının sentezlenmemesine neden olur. Böylece anormal yapısı olan reseptör sentezlenir. Bu anormal reseptör formu JAK-STAT şeklinde sinyal göndermeye elverişli değildir. Buradan da anlaşılacağı üzere uzun reseptör izoformu leptin sinyalizasyonu için mutlaka gereklidir (6,99).

Leptin reseptörlerinin hipotalamik nukleus gruplarında bulunmaları, leptini vücut ağırlığının kontrolü, beslenme ve aynı zamanda nöroendokrin fonksiyonların düzenlenmesinde görev yaptığını gösterir. Ancak leptinin ekstrapotalamik dağılımı talamus ve serebellumdaki yerleşimi spesifik duysal ve motor sistemler üzerinde de etkili olabileceğini ortaya koyar. Ayrıca leptin reseptörlerinin nonnöral lokalizasyonu (meninksler, koroid pleksus, damar çeperleri), bu reseptörlerin leptinin hem beyne taşınmasında, hem de serebrospinal sıvıdan kana reabsorbsiyonunda görev aldıklarını düşündürür (93,94).

2.4.6. Leptin ve Termogenez

Leptin tarafından tetiklenen artmış katabolizma ve termogenez kısmen adipozitlerdeki mitokondriyal kenetlenmeyi bozucu protein UCP-1'in sentezinin artması nedeniyle oluşur. UCP-1, protonların ATP sentaz kompleksinden geçmeksizin mitokondriyal matrikse tekrar girişini sağlayan bir kanal oluşturur. Bu, ATP sentezi olmaksızın enerjiyi ısı şeklinde açığa çıkaran diyetdeki kalorileri veya fazla miktardaki depo yağlarını tüketerek yakıtların (bir adipozitteki yağ asitlerinin) sürekli oksidasyonunu sağlar (97).

Leptin, arkuat nukleustaki nöronlardan gelen sinaptik iletiyi değiştirerek UCP-1'in sentezini uyarır, böylece belirli hipotalamik nöronlar hiperpolarize olur. Leptin hipotalamustan köken alan sempatik nöronları uyararak adipozitlerle sinaps yaptıkları bölgelerden norepinefrin salgılanmasının artışına neden olur. Norepinefrin β_3 -adrenerjik reseptörler aracılığıyla etki göstererek UCP geninin transkripsiyonunu

uyarır. Bunun sonucunda Şekil 2.7’de görüldüğü gibi elektron transferi oksidatif fosforillenmeyle kenetlenemez ve termogenez oluşur (97).

2.4.7. Leptin Direnci

İnsanlarda gözlenen obezite, yalnızca leptin yokluğundan kaynaklanmaz. Leptinin obezlerde etkili olamamasının diğer bir nedeni de kendisine karşı ortaya çıkan dirençtir. Direnç sendromunda önemli olan, efektör düzeyidir. Düşük etkinlik durumunda efektör ile etkenlik bir negatif-geri bildirim döngüsü oluşturur. Obezlerdeki yükselen serum leptin düzeyi direnç sendromu tanımına uyar. Leptine direnci yenmek için daha yüksek leptin düzeyi gerekir, bunun için yağ dokudan daha çok leptin salınır, daha çok leptin salınımı kendisini üreten yağ dokunun artışına yol açar (94).

Leptine direnç sendromunun klasik nedeni, leptin reseptörlerinde ve/veya post-reseptör fonksiyonundaki bir bozukluktur. Leptin etkili olabilmek için kan-beyin bariyerini geçmek zorundadır. Bu geçiş satüre olabilen taşıyıcılara bağlı olduğundan taşıyıcı fonksiyonlarındaki bir bozuklukta leptin direncine yol açar. Kan-beyin bariyerinden geçişteki bir bozukluk, dolaşımdaki veya periferik uygulanan leptine dirençte rol oynar, merkezi sinir sistemi içindeki leptinin etkisini ise değiştirmez (93).

Bugüne kadar elde edilen veriler leptine dirence, hem kan-beyin bariyerindeki taşıyıcılardaki, hem de merkezi sinir sistemindeki reseptörler düzeyindeki bozuklukların yol açtığını gösterir. Ancak obezitenin birincil nedeninin, kan-beyin bariyerindeki azalmış transport olduğunu, insan ve hayvan deneylerinden elde edilen bulgular ortaya koymuştur. Diyet ile şişmanlatılmış kemiriciler periferik leptin uygulamalarıyla zayıflatılamazlar fakat merkezi sinir sistemine direkt leptin verilmesiyle kilo kaybına uğrarlar (94,101,102).

Obezlerde, leptin taşıyıcılarının yüksek serum leptini tarafından saturasyonu kan-beyin bariyerinden leptin transportunu azaltan en önemli nedendir. Obez kemirici modellerinde kan-beyin bariyerinden leptin transportunun önemli ölçüde azaldığı veya hiç olmadığı gösterilmiştir. Ancak serum leptin düzeyi çok yüksek

db/db fareleri ve leptinden yoksun ob/ob farelerinde intravenöz verilen leptinin taşınmasının normal olduğu saptanmıştır. Bu bulgular leptin taşıyıcılarının serum leptin düzeyine bağlı olarak up veya down-regüle olabileceğini ortaya koyar. Böyle bir regülasyon yüksek serum leptin düzeylerinde taşıyıcıların saturasyonunu ve leptine direnç oluşumunu önler. Regülasyonun başarısız olduğu durumlarda taşıyıcılar satüre olur ve leptine direnç oluşur (94).

2.4.8. Açlık Yanıtının Düzenlenmesinde Leptin Sistemi

Leptin ile ilgili çalışmaların pek çoğu obezitenin önlenmesindeki olası rolüyle ilişkili olmasına karşılık, leptin sistemi olasılıkla açlık ve uzamış açlık periyotlarında hayvanların aktivitelerinin ve metabolizmalarının ayarlanmasıyla ilgili olabilir. Besinsel noksanlıkla başlatılan leptin düzeyindeki azalma, tiroit hormonların üretiminin azalmasını (bazal metabolizmayı yavaşlatarak), cinsiyet hormonlarının üretiminin azalmasını (üremeyi önleyerek) ve glukokortikoidlerin sentezinin artmasını (vücudun yakıt üreten kaynaklarını mobilize ederek) tetikler. Bu leptin aracılı yanıtlar, endojen enerji kaynaklarının kullanımı artırılarak ve enerji harcanması azaltılarak bir hayvanın ağır yiyecek kıtlığı süreçlerinde hayatta kalmasını sağlayabilir (97).

2.5. Obezite

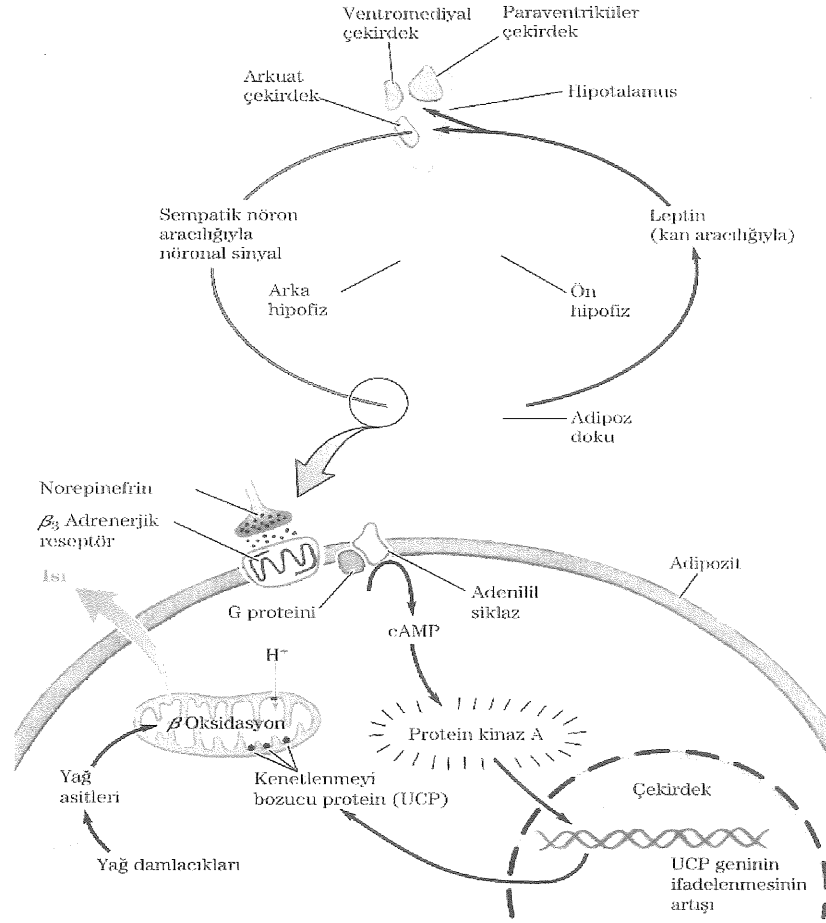
Obezite, olması gerekenden fazla miktarda yağ dokusunun vücutta biriktiği durumdur. Yağ dokusunun normalden fazla olması, bir hastalık halini belirler (1). Obezite prevalansı ve beraberindeki hastalıklar tüm dünyada artmaktadır. Abdominal veya viseral obezite, hipertansiyon, glukoz intoleransı, hipertrigliseridemi, hiperinsülinemiyle ve hepsinin sonucu olan ve kardiyovasküler riski artıran metabolik sendromla yakından ilgilidir. Obez hastalardaki kilo kaybı kardiyovasküler risk faktörlerini azaltmakta, insülin sensitivitesini artırmakta ve artmış kan basıncını azaltmaktadır (103).

2.5.1. Obezitenin Etyopatogenezi:

Obezitenin etyopatogenezi oldukça karmaşıktır. Çünkü insan organizmasında enerji alımını ve harcanmasını veya bunların her ikisini birden etkileyen çok sayıda mekanizma bulunmaktadır. Enerji alımı yalnızca besinlerle olurken, enerji harcanması fiziksel aktivite, besinlere, soğuğa ve strese, termojenik yanıt ve bazal metabolik olaylarla belirlenir. Bazal metabolik olaylar enerji harcanmasının %70 gibi çok büyük bir kısmından sorumludur ve vücut ısısının sağlanması, hücresel aktiviteler, kalp ve solunum kasları hareketleri, gastrointestinal motilite ve sekresyon gibi yaşamsal fonksiyonları kapsar (104).

Organizmada yağ dokusu ve beyin arasında etkili bir haberleşme sistemi vardır. Yağ dokusu arttığında, beyin iştahı etkileyen mekanizmalarla gıda miktarını azaltır ve termogenezi artırarak yağ dokusu miktarını normale getirmeye çalışır. Yağ dokusu miktarı azaldığıdaysa bunun tersini yapar. Obezitenin altında yatan patogenetik mekanizma, yağ dokusu ile beyin arasındaki ulaklar, bunların beyindeki reseptörleri veya bunların beyinde etkilediği efektör mekanizmalardır. Yağ dokusu miktarını beyne bildiren uzun süreli sinyaller dışında, yeme miktarını etkileyen yiyeceklerle ilgili kısa süreli sinyaller de vardır. Ancak bunların obezite gelişiminde uzun süreli sinyaller kadar etkili olması olası değildir. Bu sinyaller, beyindeki anabolik veya katabolik yolları harekete geçirerek, enerji homeostazını ve yağ dokusu miktarını belirler (95).

Beslenme davranışı ve obezite ilişkisinin santral sinir sistemi üzerinde yoğunlaşan araştırmaların sonuçları, ventromedial nukleusun (VMN) doyma merkezi, beslenme merkezinin lateral hipotalamus (LH) olduğunu, beslenmede önemli olan diğer konumların arkuat, para ventriküler, dorsomediyal ve suprakiazmatik nukleus olduğunu ortaya koymuştur. Şekil 2.7'de görülen bu bölgeler ile LH ve VMN arasında kompleks bir ağ oluşmakta, nöropeptitlerden zengin bu alanlar enerji alımı ve harcanması denetiminde rol oynamaktadır (105,106).



Şekil 2.7: Besin alımı ve enerji harcanmasının düzenlenmesinde hipotalamus

2.5.2. Obezite Genleri:

Obez kişilerde fare genetik çalışmaları temel alınarak seçilen aday genlerdeki mutasyon çalışmaları oldukça başarılı olmuştur. Bu homolog genlerdeki mutasyon bulguları, enerji dengelenmesindeki yolağın rolünün önemini ortaya koymuştur. Bu konuda yapılan çalışmalarda, pek çok obezite geni bulunmuştur. Farede bulunan ilk gen agouti genidir. Farelerde obezite fenotipi yaratan bu mutasyon, dominant olup sarı tüy ve doğrusal büyüme artışına neden olmaktadır. Diğer fare mutasyonları resesiftir ve obezitenin yanında endokrin ve metabolik disfonksiyonlarla beraber kompleks fenotiplere neden olur (3,107).

İnsanlarda da, fare obezite genleri ile homolog genlerde ya da aynı metabolik yolakta etkili genlerde mutasyon tanımlanmıştır. Bunlar, leptin ve leptin reseptörü, öncül polipeptit pro-opiomelanokortin (POMC), POMC'dan üretilen melanosit stimüle edici hormon (α -MSH) ve prokonvertaz 1 (PC1) enzimini kodlayan genlerdir. Bu beş gen tarafından kodlanan bütün proteinler, aynı besin alım regülasyon yolağındadır (105,107).

2.5.3. Anoreksijenik ve Oroksijenik Peptitler

Nöropeptitler; gıda alımını azaltan, enerji sarfiyatını arttıran, yağ depolarının kaybına yol açan anoreksijenik peptitler ve gıda alımını arttıran, enerji sarfiyatını azaltan, yağ depolanmasını kolaylaştıran oroksijenik peptitler olarak ikiye ayrılırlar. Kokain ve amfetamin tarafından regüle edilen transkript (CART), glukagon benzeri peptit-1 (GLP-1), melanosit stimüle edici hormon (α -MSH), vasopressin, kolesistokinin (CCK), kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH), nörotensin, anoreksijenik peptitlerdir. Nöropeptit Y (NPY), ghrelin, melanosit konsantre edici hormon (MCH), oreksinler ve galanin ise oroksijenik peptitlerdir (108-113).

2.5.4. Enerji dengesini Kontrol Eden Diğer Faktörler

2.5.4.1. İnsülin

İnsülin konsantrasyonu da vücuttaki yağ dokusu miktarı ile korelasyon gösterir. İnsülinin hayvan deneylerinde intravenriküler olarak uygulanması, iştah ve vücut ağırlığı azalmasına yol açmaktadır. Bu bulgu insülinin de leptin gibi yağ dokusu miktarını beyne ileten bir ulak gibi davranıp, enerji dengesini ayarladığını düşündürmektedir. Hipotalamusta arkuat nukleusta bol miktarda insülin reseptörü bulunmaktadır. İnsülin buradaki etkisini insülin reseptör substrat 1 (IRS 1) gibi mediyatörler aracılığıyla göstermektedir (114,115).

Dolaşımdaki insülin, kan beyin bariyerini beyin mikrodamarları iç yüzündeki insülin reseptörlerine bağlanarak geçer. Bu mekanizma belli insülin konsantrasyonlarında doyum noktasına ulaşabilmektedir. İnsülinin beyindeki etkisi katabolik özellikte ve periferik dokulardaki potent anabolik etkisinin tam tersi yöndedir. Bu, özellikle kontrol altına alınamamış tip 1 diyabetik hastalarda belirgindir. Bu hastalarda insülin tedavisinin başlamasıyla gıda alımı azalmasına rağmen kilo artışı olur. İnsülin de leptin gibi hipotalamusta NPY düzeylerini azaltır ve periferik doyum mesajı olan kolesistokine hipotalamusun duyarlılığını artırır. Bununla birlikte, insülinin enerji dengesinin sağlanmasındaki etkisi leptin kadar güçlü ve önemli değildir (95).

2.5.4.2. Glukokortikoidler

Glukokortikoidler de insülin gibi enerji dengesinin ayarlanmasında iki yönlü etki gösterir. Periferik dokulardaki katabolik etkilerinin tersine, merkezi sinir sisteminde gıda alımını artırıcı etki gösterirler. Bununla birlikte glukokortikoidlerin merkezi sinir sisteminde gösterdikleri leptin ve insülinin tersi yönündeki etki pek güçlü değildir ve bu yüzden glukokortikoidleri enerji dengesini ayarlayan faktörler arasında göstermek pek doğru değildir (116).

2.5.5. Alınan Gıda Miktarını Etkileyen Kısa Süreli Etkiler

Ayrıca vücutta depolanmış olan yağ dokusu miktarından etkilenmeden, alınan gıda miktarını belirleyerek etki eden mekanizmalar da vardır. Bu etkiler geçicidir ve obezite etiopatogenezinde önemli bir rol oynadıkları düşünülmemektedir. Kısa süreli etkiler iki grupta toplanır.

2.5.5.1. Glukostatik Teori

Bunların ilki glukostatik teoridir (glukoz kullanımı). Bu teoriye göre, beyinde yer alan glukoz reseptörlerinin uyarılması, alınan gıda miktarını etkilemektedir. Bu reseptörlerden tarafından glukoz kullanımını artıran bir yemek doygunluk yaratmakta, açlık ise ters yönde etkilemektedir. Glukozun bu etkileri lateral hipotalamusta bulunan açlık merkezi ile ventromediyal nukleusta bulunan doygunluk merkezinde olmaktadır. Bu glukozu duyarlı nöronların uzun süreli enerji dengesini etkilemesi ve bunlardaki bir bozukluğun obezite etiopatogenezinde rol oynaması pek olası görülmemektedir. Bu mekanizma, organizmayı ağır akut hipoglisemilerden korumaya yöneliktir. Hayvan deneylerinde spontan yemeklerden önce plazma glukozu hafifçe düşmekte ve bu da yemeği başlatmaktadır (95).

2.5.5.2. Gastrointestinal Peptitler

Kısa süreli etkilerin ikincisi ise doygunluk faktörü olarak etki eden gastrointestinal peptitlerdir. Gıda alınması ile kan dolaşımına pek çok gastroenteropankreatik hormon salgılanır. Bu hormonlar sindirin fonksiyonunu düzenlerler. Bunların bir bölümü doygunluğu kontrol ederek yeme davranışı ve miktarı üzerine etkili olabilir. Pek çok gastroenteropankreatik hormonun yemek miktarını azalttığı gösterilmiştir. Bunların ilki ve en önemlisi kolesistokinindir (CCK). CCK'in intraperitoneal uygulanması intravenöz verilmesinden daha etkilidir. Çünkü CCK gıda alımını azaltıcı etkisini beyin ve gastrointestinal sistem arasında haberleşme işlevi gören vagus sinirini uyararak yapmaktadır. Aynı şekilde CCK dışında mide gerilmesi ile vagus uyarılması da gıda alımını akut olarak azaltmaktadır. CCK ayrıca mide boşalmasını geciktirerek indirekt olarak da vagusu uyarmaktadır. Serbest beslenen farelere yemekten önce intraperitoneal CCK verilmesi yemek yeme kapasitesini %50 oranında azaltmıştır. Ancak bu hayvanların yeme sıklığı yaklaşık iki kat artmış ve hayvanlar kilo kaybetmemişlerdir. CCK'in doygunluk yaratıcı hissi için mutlaka sağlam bir vagus sinirine gereksinim vardır. Ancak vagus siniri kesilen hayvanların vücut yağ dokusu miktarlarında önemli bir

değişiklik olmadığı gösterilmiştir. Bu da CCK ve diğer gastroenteropankreatik hormonların ve vagus sinirinin, enerji dengesinde uzun süreli ve önemli bir etkilerinin olmadığını göstermektedir (95,110).

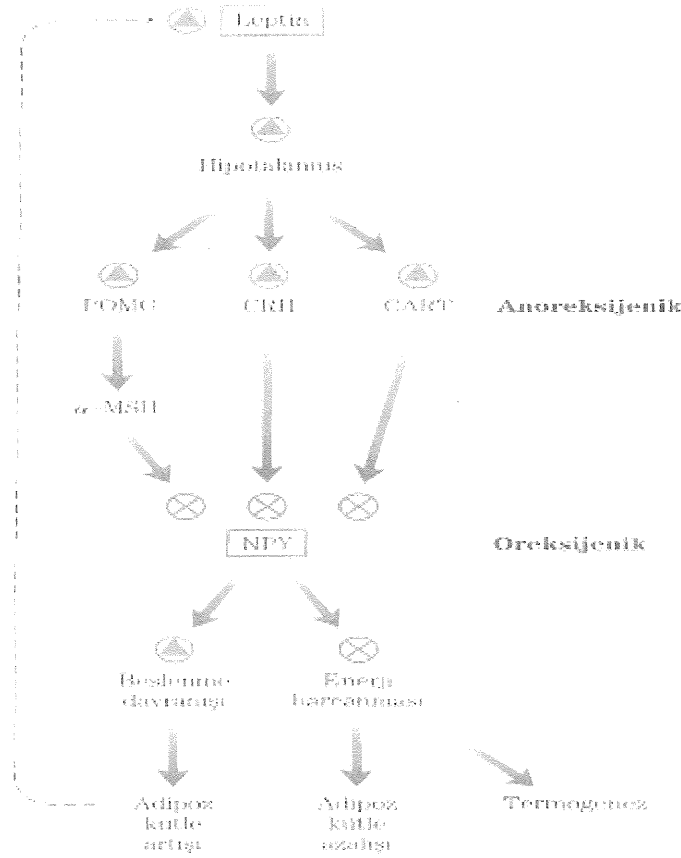
2.5.6. Obezite ve Leptin

Beslenme ve insülin tarafından indüklenen leptin, adipoz kitle ile orantılı olarak sirküle olur ve temel hedefi beyindir. Leptin beyinde, anoraksijenik peptitler lehine, oroksijenik peptitler aleyhine çalışır. Şekil 2.8.'de görüldüğü gibi hipotalamusta POMC gen ekspresyonunu ve α -MSH'ı arttıran leptin, periferel enerji depolarına ait bilgileri SSS'ne ileterek enerji alımı ve harcanması ile ilgili hipotalamik merkezleri aktifler. Leptin reseptörleri beyinde enerji dengesi le ilgili alanlarda bulunurlar. Leptin arkuat nukleusta 2 tip nöronda etkindir. NPY ve Agouti related peptit (AgRP) eksprese edilen nöronlarda NPY ve AgRP'yi azaltır, POMC ve CART eksprese edilen nöronlarda ise POMC'u artırır. Leptin gıda alımını, vücut ağırlığını azaltır, yağ oksidasyonunu artırır, hücre trigliserit içeriğini indirger, yağ ve yağsız kitle arasında enerji dağılımını düzenleyici etkiler gösterir. Hipotalamusta, leptine yanıt olarak oluşan α -MSH'ın, arkuat nukleusta MC 4 ile etkileşiminin sonucunda santral iştah baskılanır. α -MSH, perifere diffüze olunca adipozitlerde lipit katabolizması artar. Leptin-POMC yolağı iştah ve yağ metabolizmasını denetlemektedir (91,110,117). Sonuç olarak leptin zayıflık lehine çalışan bir peptit hormondur.

Hiperfaji tablosunda kilo alma, adipoz doku artışı ve bunlara paralel olarak leptin artışı olur. Leptin kan beyin bariyerinden geçerek hipotalamustaki leptin reseptörleri ile etkileşir. Bu etkileşimin sonucu, α -MSH ve MC 4 interaksiyonu sonucu ortaya çıkan gıda alımını azalması, enerji sarfiyatının ve sempatik aktivitenin artışı gibi biyolojik yanıtlardır (95,109,110).

Düşük kaloriye bağlı kilo kaybında ise, adipoz doku kitlesinin azalması ile dolaşım leptin düzeyi düşer. Kan beyin bariyerinden geçen leptin miktarı azalır. Bu durumda hipotalamusta NPY ve AgRP devreye girer. Nöropeptid Y1 ve Y5 etkileşimi gerçekleşir. MC 4 agonisti olan α -MSH azalır, antagonisti AgRP artar.

Ortaya çıkan biyolojik yanıtlar gıda alımının ve enerji sarfiyatının artışı, ısının düşmesi, parasempatik aktivitenin artmasıdır. Sonuçta kaybedilen kilo geri kazanılır (95,110).



Şekil 2.8: Leptin kaskadı

Bu arada leptinden bağımsız çalışan serotonin, katabolik, noradrenalin ve β -endorfin de anabolik etki gösterir (118). Leptin, ayrıca FSH, LH, ACTH, kortizol ve GH sekresyonlarını da etkilemektedir (90).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grupları

Çalışma için 45 adet dişi albino Wistar sıçan 10 haftalık iken, 18.08.2004 tarihinde Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarına getirildi ve çalışma burada sürdürülerek 17.12.2004 tarihinde tamamlandı. Hayvanlara uygulanan tüm girişimler için Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul'undan onay alındı.

Sıçanlar 4 gruba ayrıldı ve her grup ayrı kafeslere rastgele seçilerek konuldu. İlk ağırlık tartımları ve nazo-anal boy ölçümleri yapılarak kaydedildi.

Sıçanlar, bir hafta süreyle 12 saatlik karanlık ve aydınlık periyoduna maruz bırakıldılar. Bu bir haftalık çevreye uyum sürecinde tüm gruplar aynı normal sıçan yemiyle beslendiler. Çalışma boyunca sıçanların su içmeleri ve diyetleri kısıtlanmadı.

İlk kafesteki 10 sıçan kontrol grubunu oluşturdu. Tüm çalışma boyunca normal diyetle beslendiler ve herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadı.

Diğer 3 grup, 2. haftadan itibaren yüksek yağ içerikli yemle beslenmeye başlandı. Yüksek yağ içerikli yem yağ kaynağı olarak %87 domuz yağı, %13 soya yağı içermektedir. Yemin yağ asidi kompozisyonu karışık olup yüksek yağ içerikli yemler çoğunlukla diyetin neden olduğu obezite, diyabet ve dislipidemi çalışmalarında kullanılmaktadır.

İkinci kafesteki 11 sıçan obez kontrol grubunu oluşturdu. Yüksek yağ içerikli yemle beslendiler. Bu gruba herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadı.

Geçen süreçte tüm hayvanlar haftada bir kez 4 saatlik açlık sürecini takiben saat 15:00'de tartıldılar ve boyları ölçüldü.

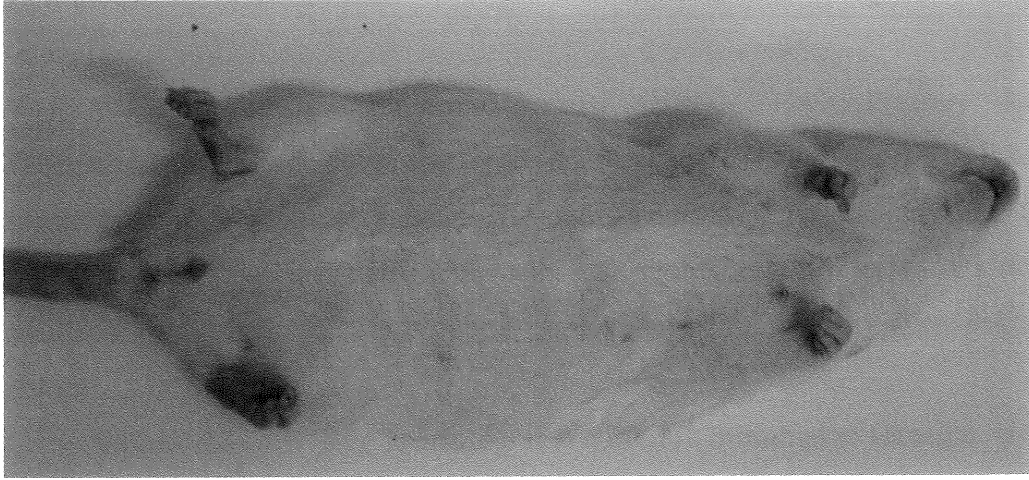
Üçüncü ve dördüncü kafesteki 12'şer sıçan ilaç uygulaması yapılan ve sırasıyla grup 1 ve grup 2 adı verilen grupları oluşturdu. 3 hafta daha ağırlıkların

stabilizasyonunu sağlamak için tüm gruplar aynı biçimde beslenmeye devam edildi.

11. haftadan itibaren kontrol grubu hariç diğer tüm guruplara oral yolla, pipet aracılığıyla su ve ilaçları verilmeye başlandı.

Obez kontrol grubuna pipetle sadece su verildi. Grup 1'deki sıçanlara 20mg/kg, grup 2'deki sıçanlara ise 100mg/kg olacak şekilde yine pipetle 23 gün süreyle hergün saat 15:00'de standardize edilmiş 40 mg/ml ginkgo biloba yaprakları kuru ekstresi içeren (EGb 761) Tebokan damla verildi. Haftalık ağırlık tartımları yapıp, kaydedilmeye devam edildi. Deneyin sonuna kadar ölen sıçan olmadı.

24. gün sıçanların tümü son kez tartıldı, 40 mg/kg dozunda Ketamin HCl anestezisi verilerek çalışma sonuçlandırıldı. Şekil 3.1'de anestezisi altındaki obez ratlardan biri görülmektedir.



Şekil 3.1: Obez ratlardan birinin anestezisi altındaki abdominal görüntüsü

Intrakardiyak kanlar alınarak biyokimyasal parametreler için santrifüj edildi, serumlar, çalışma anına dek -20°C'de saklandı. Karaciğerler çıkarılıp, serum fizyolojik ile yıkanarak, önce tartıldı, daha sonra patoloji için formollü tüplere alındı. Abdominal yağlar çıkarılıp, tartıldı.

3.2. Doz ve Süre Seçimi

Ginkgo biloba ekstresinin, obezitenin önemli parametrelerinden biri olan leptin düzeyleri üzerine olan etkilerini araştırmak üzere planladığımız bu çalışmada literatürde yaygın olarak kullanılan 20 mg/kg rat dozunu, aynı zamanda insan için önerilen en ideal doz olan 120 mg/kg'a doza karşılık geldiği için seçtik (12,46). 100 mg/kg rat dozu ise literatürlerde sık kullanılan dozlardan birisidir (28,31,45,47,48,54,57,58). Deney süresini yine önceki kullanımlara uygun olması için 23 gün olarak belirledik (31,46,49,58,59).

3.3. Biyokimyasal Parametreler için Yöntemler

3.3.1. HPLC'de MDA Analizi

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC: High Pressure Liquid Chromatography), içinde dolgu materyali bulunan çelik bir kolondan, yüksek basınç altında örneğin geçirilerek moleküllerin ayrıştırılması prensibine dayanır. Çelik kolonun içindeki dolgu materyali, ayrıştırılacak molekülün fiziksel yada kimyasal özelliğine (moleküler yük, hidrofobite, moleküler büyüklük vs.) göre değişiklik gösterir.

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi sistemi, otosampler (örneğin sisteme enjeksiyonu için), pompa (yüksek basınç oluşturmak için), kolon (ayrıştırıcı ortam olarak) ve dedektörden (ayrıştırılan molekülün miktarını tespit etmek için) oluşmaktadır.

Yöntem, MDA ölçümü için referans yöntemdir. MDA'nın floresan dedektörlü isokratik HPLC sisteminde ölçülmesi esasına dayanır. Örnek hazırlanması proteinlerin çöktürülmesini takiben türevlendirmeye yapılır. Sonuçta oluşan florofor spesifik ve çok düşük düzeylerde bile ölçülebilir. HPLC'de MDA analizi için çalışma koşulları aşağıdaki gibidir:

İnjesiyon hacmi: 20µl

Pompa: İsookratik pompa

Akış hızı: 1 ml/dak.

Kolon sıcaklığı: 20-25 °C

Kolon: 125 x 4,6 mm

Dedektör: Floresans dedektör (Eksitasyon 515nm, Emisyon 553 nm)

Çalışma süresi: 4 dak.

Ayırım (Elüsyon): Ters faz iyon değişimi (reverse phase ion exchange)

Hesaplama metodu: Eksternal standart

3.3.2. Serum Leptin Düzeylerinin Ölçümü

Diagnostic System Laboratories'e ait Active Murine Leptin ELISA kiti kullanılarak yapılan test enzimatik olarak uygulanan sandviç tip immünoassay bir yöntemdir. Standartlar, kontroller ve örnekler, horseradish peroksidaz (HRP)'la işaretlenmiş anti-murin leptin antikorlarıyla inkübe edilir. İnkübasyon başka bir anti-murin leptin antikoruna kaplanmış olan mikrotitrasyon kuyucuklarında gerçekleştirilir. İnkübasyondan sonra yıkama yapılır ve bu kez tetrametilbenzidin (TMB) ile inkübasyon yapılır. Daha sonra stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durdurulur ve enzimatik reaksiyonun derecesi 450 ve 620 nm dalga boylarında ölçülür. Ölçülen absorbans leptin miktarıyla orantılıdır. Standart eğri için murin leptin standartları kullanılır.

3.3.3. Serum Total Antioksidan Kapasitesinin Ölçümü

Randox Laboratories Total Antioxidant Status Manual kiti kullanılarak yapılan testte önce ABTS (2,2'-Azino-di-[3-etilbenziazolin sülfonat]), peroksidaz (metmiyoglobin) ve hidrojen peroksit ile, ABTS radikal katyonu oluşturmak üzere inkübe edilir. Oluşan mavi-yeşil renk 600 nm'de ölçülür. Örnekteki antioksidanlar, konsantrasyonları ile orantılı olarak renk oluşumunu önlerler.

3.3.4. Serum Glukoz, TK, ALT, AST, TG ve HDL-K Ölçümleri

Serum total kolesterol (TK), alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), Trigliserit (TG), HDL-kolesterol (HDL-K) analizleri laboratuvarımızda mevcut Cobas Integra 800 otoanalizörü (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) ile gerçekleştirilmiş ve VLDL oransal olarak Friedewald eşitliğine göre hesaplanmıştır (61). Sistemin internal ve eksternal kalite kontrolü analizler sırasında takip edilmiştir.

3.4. Karaciğerlerin Histopatolojik İncelemeleri

Karaciğerlerin histopatolojik incelemelerinde değerlendirme yağlanmanın derecelendirilmesiyle yapıldı ve 0, 1, 2, 3 skorları kullanıldı. Skor 0 yağlanma olmadığını gösterirken, % 33'lük yağlanma derecesi skor1, % 33-66 arası yağlanma derecesi skor 2, % 66'dan fazla yağlanma derecesi ise skor 3 ile ifade edildi (119).

3.5. Lee Obezite İndeksi

Sıçanlarda obezite oluşumu Lee obezite indeksi kullanılarak değerlendirildi. Lee indeks sıçanın gram cinsinden ağırlığının küpkökünün, mm cinsinden nazo-anal boyuna oranıdır. 295 ile 315 arası değerler Lee indekse göre normal olarak değerlendirilir (120,121).

3.6. Araç ve Gereçler

3.6.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

Normal sıçan yemi (%30 protein, %65 karbonhidrat, %5 yağ)

Yüksek yağ içerikli (%20 protein, %35 karbonhidrat, %45 yağ) sıçan yemi (D-12451 Research Diets Ins., New Brunswick NJ, USA)

Ginkgo biloba ekstresi (40 mg standardize Ginkgo biloba ekstresi içeren Tebokan oral damla, Abdi İbrahim, Türkiye)

Ketalar flakon (Ketamin HCl 50 mg/ml, Eczacıbaşı İlaç Sanayi, Türkiye)

Formol

Serum fizyolojik

3.6.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

Hassas terazi (Shimadzu AX120)

Santrifüj (Nüve NF 800, Ultra santrifüj)

Vorteks (Velp Scientifical, Italy)

Soğutucu (Bosch, Germany)

Derin dondurucu (Uğur Derin Dondurucu, Türkiye)

Benmari (Memmert, Germany)

ELISA reader (Organon Teknika Microwell Systems, Austria)

Cobas Integra 800 otoanalizör (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)

HPLC (Agilent 1100 series)

Floresans dedektör (G1321A, Agilent 1100 series)

İsokratik pompa (G1310A, Agilent 1100 series)

Degasser (G1379A, Agilent 1100 series)

Programlanabilir otosampler (CLC 200, Chromsystems GmbH, München, Germany)

3.6.3. Çalışmada Kullanılan Diğer Malzemeler

Enjektör (Tibset steril tıbbi aletler, İstanbul, Türkiye)

Eppendorf tüpü (Isolab 1,5 ml'lik)

Düz tüp (Venoject 10 ml'lik)

Otomatik pipet (Medisis)

Bistüri

Flaster

3.6.4. Çalışmada Kullanılan Kitler

MDA mobil faz: Cat. no. 67001, Chromsystems GmbH, München, Germany

Leptin (Active Murine Leptin Elisa): Cat. no. DSL-10-24100i, Diagnostic System Laboratories, Inc.

Total antioksidan kapasitesi (Total Antioxidant Status Manual): Cat. no. NX 2332, Randox Laboratories Ltd., Antrim, United Kingdom

Glukoz likit: Cat. no. 2055651, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany

Aspartat aminotransferaz likit (ASTL): Cat. no.2056097, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany

Alanin aminotransferaz likit (ALTL): Cat. no.2056119, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany

Total kolesterol likit (CHOLL): Cat. no. 2055643, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany

HDL kolesterol likit (HDLL): Cat. no. 2055937, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany

Trigliserit (TRIG) : Cat. no. 2144620, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany

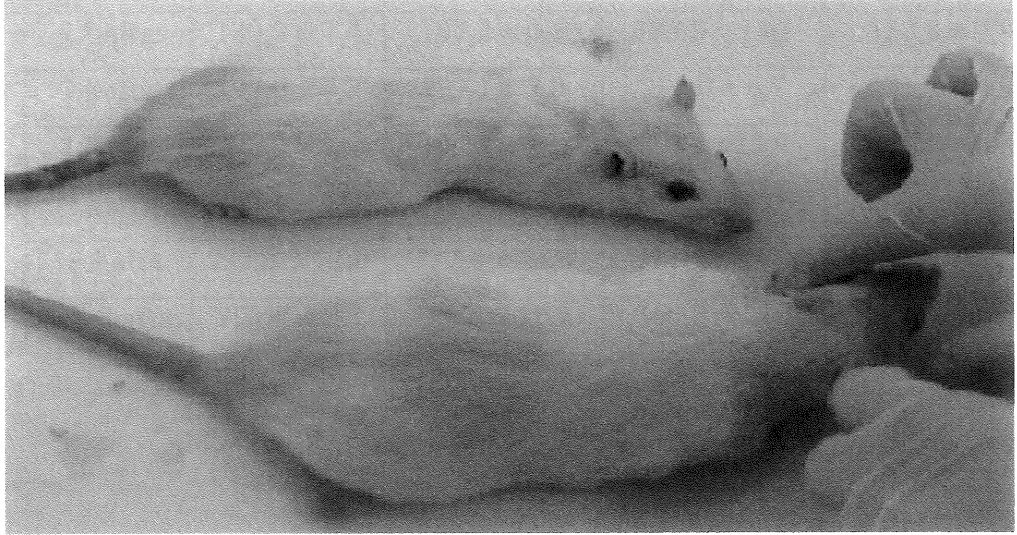
3.7. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences, version 12) paket programı kullanılarak yapıldı. Kontrol, obez kontrol, grup 1 ve grup 2'de var olan farklılıkları karşılaştırılması için varyans analizi modeli kullanıldı. Farklı gruplar ise Tukey çoklu karşılaştırma testi yardımıyla belirlendi. Ayrıca karaciğer yağlanması gruplara göre değişimini ortaya koymak için ki-kare testi kullanıldı ve tüm değişkenler için tanıtıcı istatistikler gruplar halinde sunuldu.

4. BULGULAR

4.1. Vücut ağırlığı ve Adipozite

Başlangıçta sıçanların bazal ağırlıklarının ortalamaları Çizelge 4.2'de verilmiştir. Ağırlıklar arasında istatistiksel fark bulunmamıştır. Şekil 4.1'de kontrol ve obez gruplara ait birer sıçanın 7. haftadaki görüntüleri görülmektedir.



Şekil 4.1: Kontrol ve obez gruplara ait birer sıçanın 7. hafta görüntüsü

7. haftanın sonunda özel diyet ile beslenen obez kontrol, grup 1 ve grup 2 nin ağırlıkları arasında Lee index açısından farklılık bulunmadı ($p=0,230$) Normal beslenen kontrol grubunun vücut ağırlıkları ile obez gruplar arasında belirgin farklılık tespit edildi ($p=0,000$). Gruplar kendi aralarında homojen dağılmışlardı. Çizelge 4.1'de gösterildiği gibi 7. haftanın sonunda, ilk haftaya oranla normal yemle beslenen ilk kafesteki kontrol grubuna ait sıçanlardaki ağırlık farkı % 0,5 civarındayken, yüksek yağ içerikli diyetle beslenen hayvanların ağırlık artışı ilk kez % 20 civarlarına ulaştı.

Çizelge 4.1: 1., 7., 10. ve son hafta ağırlık, boy ve Lee indeks ile % ağırlık farkları.

Parametre		Kontrol (n=10)	Obez Kontrol (n=11)	Grup 1 (n=12)	Grup 2 (n=12)
Ağırlık (gram)	1.tartım	157 ± 7,6	171 ± 10,9	162 ± 17,1	156 ± 15,4
	7. tartım	157,5 ± 7,5	214,0 ± 10,8	211,5 ± 22,6	204,4 ± 12,8
	10. tartım	138,1 ± 6,9	225,1 ± 12,8	228,8 ± 23,8	216,5 ± 11,1
	Son tartım	176,4 ± 8,1	230,1 ± 14,7	225,6 ± 27,4	216,8 ± 13,3
% artış (1.-7. hafta)		0,5 ± 3,7	20,3 ± 3,1	23,3 ± 2,8	23,8 ± 4,6
% artış (10.-Son hafta)		21,6 ± 3,8	2,1 ± 3,4	-1,6 ± 3,9	0,1 ± 1,8
Boy (cm)	1.hafta	189,0 ± 7,4	187,2 ± 6,5	185,8 ± 13,1	180,8 ± 7,9
	7.hafta	197,0 ± 4,8	199,1 ± 7,0	205,0 ± 6,7	203,3 ± 4,9
Lee Index (x 10 ⁻³)	1.hafta	276,9 ± 8,1	304,3 ± 15,	209,5 ± 13,9	287,2 ± 20,9
	7.hafta	267,1 ± 7,6	359,4 ± 20,2	343,2 ± 25,6	334,9 ± 15,7
	10.hafta	233,7 ± 11,0	377,4 ± 24,8	371,4 ± 27,3	355,0 ± 14,2
	Son hafta	298,4 ± 9,3	385,6 ± 26,1	366,0 ± 32,3	355,3 ± 16,9

Çizelge 4.2: 1., 7., 10. ve son haftanın ağırlıklarının gruplar arası karşılaştırmaları

Parametre	Gruplar arası p değerleri					
	Kontrol Obezkontrol	Kontrol Grup 1	Kontrol Grup 2	Obezkontrol Grup 1	Obezkontrol Grup 2	Grup1 Grup2
1. tartım	0,100	0,809	0,998	0,410	0,053	0,682
7. tartım	0,000*	0,000*	0,000*	0,964	0,382	0,652
10. tartım	0,000*	0,000*	0,000*	0,941	0,545	0,224
Son tartım	0,000*	0,000*	0,000*	0,929	0,290	0,621

*Anlamlı farklılık 0,05 derecesindedir.

10. hafta ölçümlerinde kontrol grubundaki sıçanların ağırlıklarında düşüş görülürken, obezite oluşturulan gruplarda kilo artışı devam etti.

10. haftadan sonra kontrol grubundaki sıçanlarda 10.haftaya oranla % 21,6'lık kilo artışına rağmen, ilaç uygulanmasını takiben geçen sürede düşük doz ekstre uygulanan gruptaki kilo artışı % 0,1 düzeyinde kalırken, yüksek doz ekstre kullanan grupta ise % 1,6'lık bir düşüş kaydedildi. Lee index açısından baktığımızda, ekstre kullanımını takiben grup 1'de düşüş görülürken grup 2'de de çok küçük bir artış gözlemlendi.

Sıçanların nazo-anal boy ölçümleri 7. haftadan sonra değişiklik göstermedi.

Çalışmanın sonucunda, grupların abdominal yağ ağırlıkları ortalamaları, karaciğer ağırlıkları ortalamaları Çizelge 4.3.'de verilmiştir.

Çizelge 4.3: Grupların abdominal yağ ve karaciğer ağırlıkları toplamı ortalamaları

Parametre	Kontrol (n=10)	Obez kontrol (n=11)	Grup 1 (n=12)	Grup 2 (n=12)
Karaciğer ağırlığı (g)	5,27 ± 0,56	6,77 ± 0,75	7,09 ± 1,19	6,90 ± 1,11
Abdominal yağ ağırlığı (g)	3,28 ± 0,82	18,95 ± 5,13	18,74 ± 4,65	16,60 ± 4,65

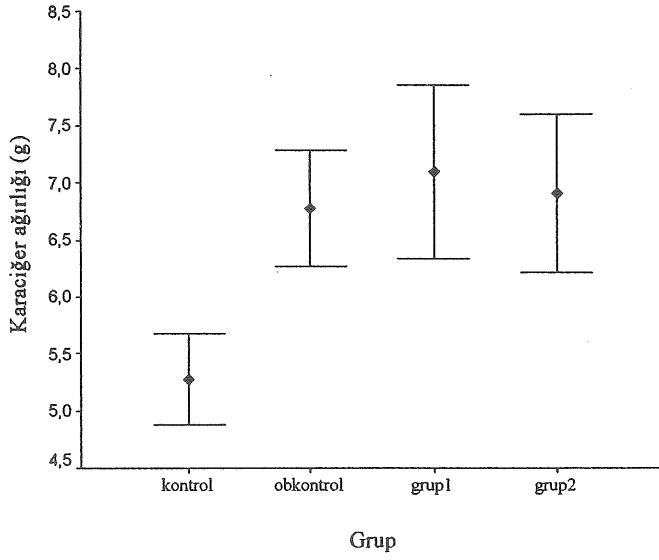
Sıçanların abdominal yağ ağırlıkları ortalamaları ve karaciğer ağırlığı ortalamaları karşılaştırıldığında Çizelge 4.4.'de görüldüğü gibi her iki parametre açısından kontrol grubu ile obez gruplar arasında farklılık görülmektedir.

Çizelge 4.4. Karaciğer ve abdominal yağ ağırlığı ortalamalarının gruplar arasında karşılaştırılması

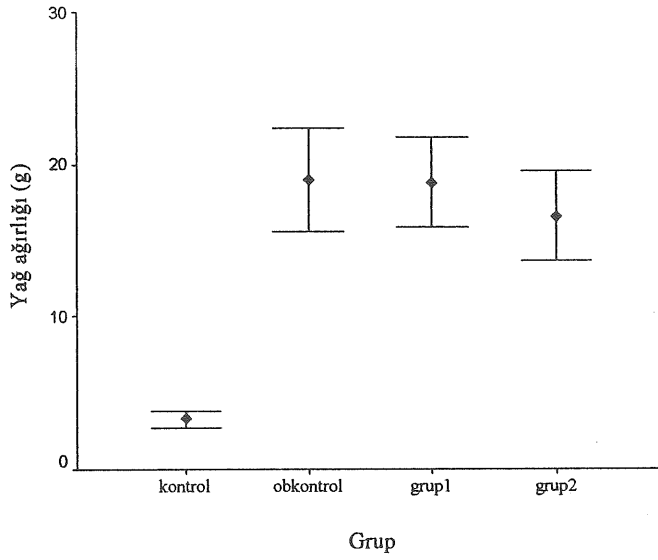
Parametre	Gruplar arası p değerleri					
	Kontrol Obezkontrol	Kontrol Grup 1	Kontrol Grup 2	Obezkontrol Grup 1	Obezkontrol Grup 2	Grup1 Grup2
Karaciğer ağırlığı	0,005*	0,000*	0,001*	0,856	0,986	0,966
Abdominal yağ ağırlığı [†]	0,000*	0,000*	0,000*	0,999	0,554	0,612

*Anlamli farklılık 0,05 derecesindedir.

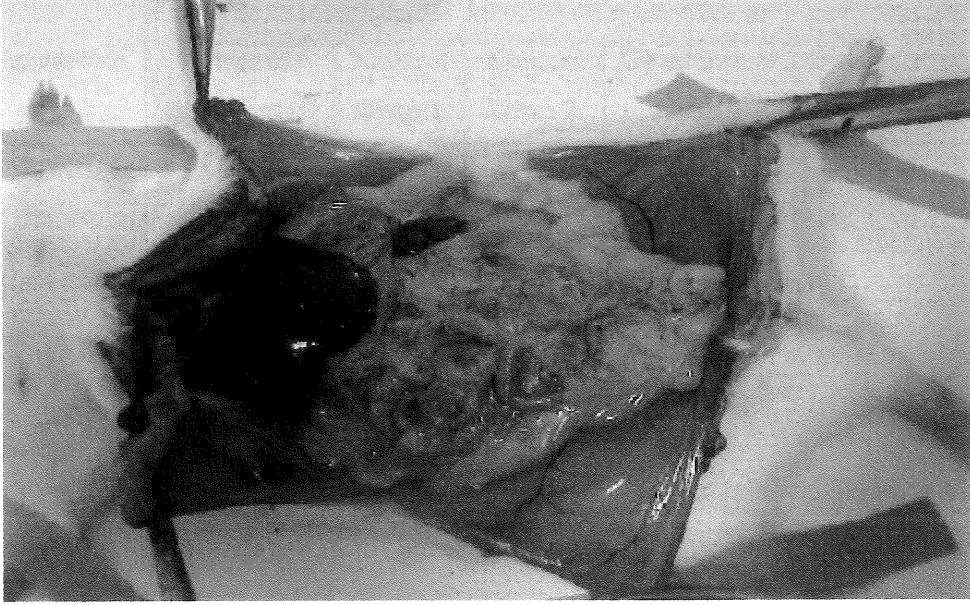
Çizelge 4.5: Grupların karaciğer ağırlığının gösterimi



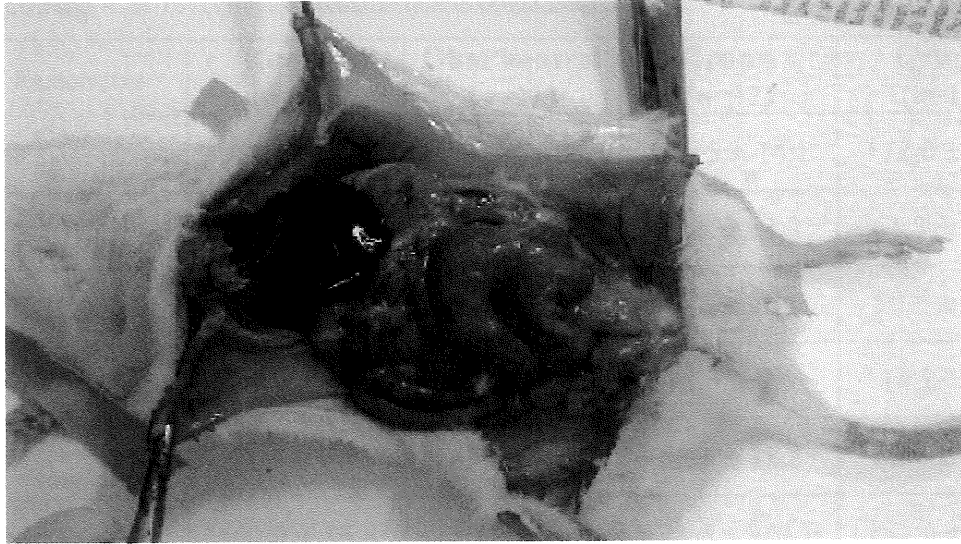
Çizelge 4.6: Grupların yağ ağırlığının gösterimi



Anestezi sonrası kalp kanlarının alınmasını takiben kontrol grubu ile, obez kontrol grubundan birer sıçanın abdominal yağlanmaları Şekil 4.2 ve 4.3'de görülmektedir.



Şekil 4.2: Obez ratlardan birinin abdominal yağları



Şekil 4.3: Kontrol grubu ratlardan birinin abdominal yağları

Karaciğerlerin histopatolojik incelemelerinde yağlanmanın derecelendirilmesiyle değerlendirilen ve 0, 1, 2, 3 skorları kullanılan bulguların istatistiksel önemi Çizelge 4.7.'de verilmiştir.

Çizelge 4.7: Gruplar arası karaciğer yağlanmalarının patolojik olarak karşılaştırılması

Parametre	Gruplar arası p değerleri					
	Kontrol Obezkontrol	Kontrol Grup 1	Kontrol Grup 2	Obezkontrol Grup 1	Obezkontrol Grup 2	Grup1 Grup2
Karaciğer hasarı	0,220	0,083	0,594	0,382	0,421	0,049*

4.2. Biyokimyasal Parametreler

Çalışmanın sonunda grupların 4 saatlik açlığı takiben alınan intrakardiyak kan örneklerinden çalışılan ortalama serum glukoz, trigliserit, total kolesterol, HDL, VLDL, AST, ALT, leptin ve total antioksidan kapasitesi (TAK) sonuçları Çizelge 4.8'de görülmektedir.

Çizelge 4.8: Biyokimyasal parametrelerin ortalamaları

Parametre	Kontrol (n=10)	Obez kontrol (n=11)	Grup 1 (n=12)	Grup 2 (n=12)
Glukoz (mg/dl)	103,9 ± 17,2	171,9 ± 18,3	176,5 ± 14,1	172,0 ± 28,5
Kolesterol (mg/dl)	63,9 ± 6,2	54,9 ± 10,3	60,8 ± 11,3	61,3 ± 13,9
HDL (mg/dl)	50,3 ± 6,3	43,8 ± 8,5	49,8 ± 10,5	50,6 ± 12,3
VLDL (mg/dl)	10,9 ± 2,1	19,0 ± 9,9	14,3 ± 7,5	14,2 ± 6,8
Trigliserit (mg/dl)	52,5 ± 9,07	109,5 ± 46,8	62,3 ± 18,8	65,6 ± 28,8
AST (U/L)	142,9 ± 16,8	130,8 ± 29,4	175,5 ± 101,0	151,5 ± 42,2
ALT (U/L)	80,9 ± 10,1	50,8 ± 7,7	58,3 ± 16,1	52,6 ± 9,3
Leptin (ng/ml)	1,65 ± 1,42	4,13 ± 1,83	3,68 ± 1,41	3,74 ± 2,18
TAK (mmol/L)	0,82 ± 0,42	0,80 ± 0,22	0,63 ± 0,18	0,79 ± 0,33
MDA (mmol/L)	0,20 ± 0,07	0,20 ± 0,04	0,17 ± 0,11	0,32 ± 0,19

Biyokimya parametrelerinin gruplar arasında karşılaştırılması Çizelge 4.9.'da gösterilmiştir. Total kolesterol, HDL ve VLDL değerleri açısından bakıldığında gruplar arasında farklılık gözlenmedi. Yağlı diyet ve ginkgo biloba ekstresinin sıçanların kolesterol değerlerini etkilemediği görüldü.

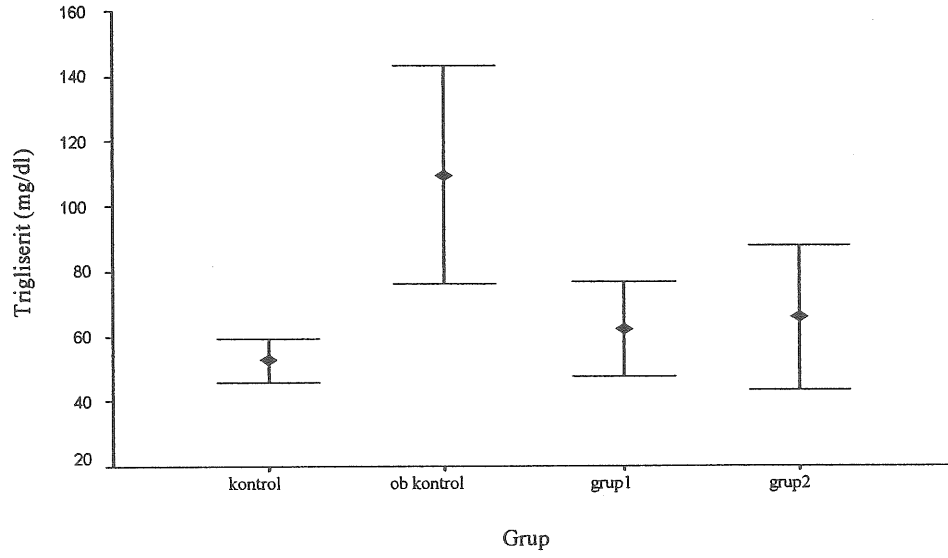
Trigliserit açısından baktığımızda ise kontrol grubu ile obez kontrol grubu arasında farklılık gözlenirken, kontrol grubu ile ilaç alan gruplar arasında farklılık görülmemektedir. Bulgular çizelge 4.10 grafik halinde gösterilmiştir.

Çizelge 4.9.: Biyokimyasal parametre ortalamalarının gruplar arası p değerleri

Parametre	Gruplar arası p değerleri					
	Kontrol Obezkontrol	Kontrol Grup 1	Kontrol Grup 2	Obezkontrol Grup 1	Obezkontrol Grup 2	Grup1 Grup2
Glukoz (mg/dl)	0,000*	0,000*	0,000*	0,952	1,000	0,952
Kolesterol (mg/dl)	0,259	0,919	0,948	0,595	0,509	0,999
HDL (mg/dl)	0,442	1,000	1,000	0,486	0,359	0,997
VLDL (mg/dl)	0,068	0,702	0,711	0,448	0,407	1,000
Trigliserit (mg/dl)	0,001*	0,901	0,793	0,009*	0,161	0,995
AST (U/L)	0,963	0,571	0,985	0,279	0,825	0,751
ALT (U/L)	0,000*	0,000*	0,000*	0,408	0,602	0,432
Leptin (ng/ml)	0,013*	0,048*	0,040*	0,929	0,952	1,000
TAK (mmol/L)	0,999	0,468	0,998	0,528	1,000	0,531
MDA (mmol/L)	1,000	0,970	0,123	0,965	0,112	0,038*

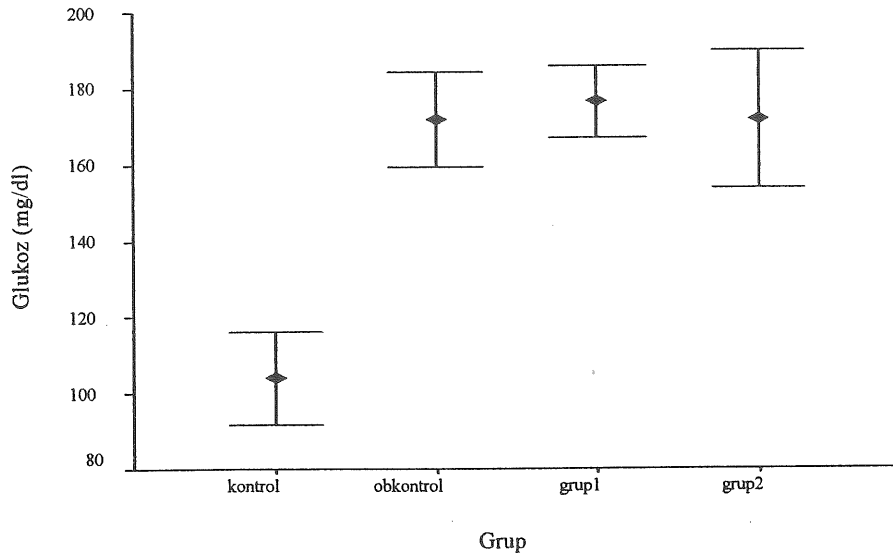
*Anlamli farklılık 0,05 derecesindedir.

Çizelge 4.10: Grupların serum trigliserit düzeyleri



Çizelge 4.11 de görüldüğü gibi yağlı diyet alan sıçanlarda, kontrol grubuna göre glukoz düzeyleri arasında farklılık gözlenirken, yağlı diyet alıp, ginkgo biloba ekstresi kullanan grupların kendi aralarında glukoz açısından bir farklılık bulunmadı.

Çizelge 4.11: Grupların serum glukoz düzeyleri



Yine ilaç kullanımını takiben obez kontrol grubu ile yüksek doz alan grup arasında TG açısından istatistiksel olarak farklılık bulundu ($p=0,009$). Kontrol grubunda 52 mg/dl civarında olan TG düzeyleri obez grupta diyetin etkisiyle 109 mg/dl düzeyine çıkmıştır. Her iki dozdaki ilaç kullanımını takiben ise 60 mg/dl düzeylerine gerileme söz konusudur. Ekstrenin, TG düzeyleri üzerine olan düşürücü etkisi yüksek dozda daha belirgin olmak üzere her iki doz için de gözlemlendi. Grupların TG düzeylerinin dağılımı Çizelge 4.11’de görülmektedir.

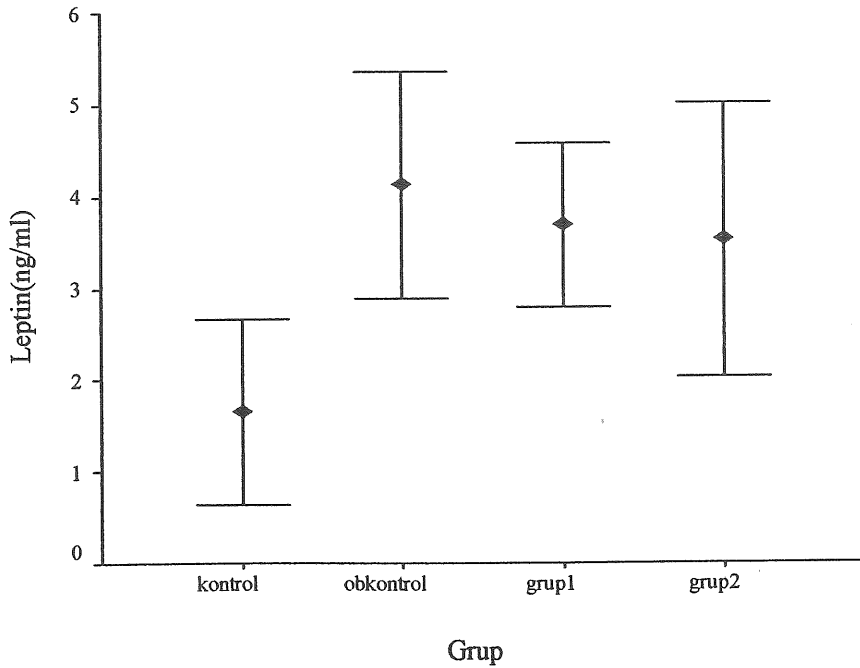
AST açısından yine tüm gruplar arasında farklılık gözlenmezken, ALT’de ise kontrol grubu ile obez gruplar arasında farklılık söz konusudur. Farklılıklar Çizelge 4.9’da görülmektedir.

Total antioksidan kapasitesine baktığımızda yine gruplar arasında farklılık bulunamadı.

MDA, grup 1 ve grup 2 arasında farklılık gösterdi ($p= 0,038$).

Leptin’de ise kontrol grubu ile diğer gruplar arasında farklılık gözlemlendi. Grupların leptin düzeylerinin dağılımı Çizelge 4.12’de görülmektedir.

Çizelge 4.12: Grupların serum leptin düzeyleri



5. TARTIŞMA

Obezite, tüm dünyada sıklığı epidemik şekilde artan ve tedavisi zor olan poligenik ve multifaktöriyel bir hastalıktır. Vücudun enerji dengesini sağlayan adaptasyon mekanizmaları ile çevresel ortam arasında süregelen bir etkileşim sonucu ortaya çıkmaktadır. Şişmanlama eğilimi yaratan genleri taşıyan insanlardan oluşan günümüz toplumu, bol miktarda kalori ve yağ içeriği fazla yiyecek ve hareketsiz bir yaşamla birlikte obezite, tip 2 diyabet, dislipidemi, hipertansiyon ve bunların getirdiği ateroskleroz ve hatta bazı kanser türleri gibi morbidite ve mortalitesi yüksek sağlık sorunlarıyla karşı karşıya kalmıştır. Bu sorunlar çok önemli fiziksel sıkıntılara yol açtığı gibi ruhsal problemlerin de kaynağı olabilmektedir (4,5). Neden olduğu hastalıklarla birlikte aşırı kilolu ya da obez olmanın beklenen yaşam süresini 3 ile 13 yıl arasında kısalttığı da yine belirtilmiştir (122,123).

Günümüzde obezite gelişmiş ülkelerin hem sağlık hem de ekonomik problemlerinin başında gelmektedir (106). Peeters ve arkadaşları Amerika Birleşik Devletlerinde her yıl 280.000 ölümün nedeninin obezite olduğunu bildirmiştir (122). Amerikan halkının % 64'ünün aşırı kilolu ve % 30'unun da obez olduğu rapor edilmiştir (124). Yine aynı ülkede sağlık harcamalarının % 9,4'ünün obezite ile ilgili olarak yapılmakta olduğu ve yıllık miktarının da 98 milyon dolar civarı olduğu açıklanmıştır (123). Avrupa'da son 20 yıl içinde obezite sıklığının % 12'den % 20'lere çıktığı bildirilmiştir (106).

Ülkemizde de durum pek farklı değildir ve yapılan TEKHARF 2000 yılı kohortunda aşırı kilolu ve obez olanların sıklığı, erişkin erkeklerde % 21, erişkin kadınlarda ise % 43 olarak tespit edilmiştir (103).

Halen dünyada 250 milyon obez yetişkin ve en az 500 milyon da aşırı kilolu insan bulunduğu tahmin edilmektedir (107).

Alternatif tıp adı altındaki gelişmelerin de etkileriyle, başta kanser hastaları olmak üzere insanların çoğu, orijinlerinden dolayı, daha güvenli ve daha az yan etkiye neden oldukları düşüncesiyle bitkisel kaynaklı ilaçlara yönelmişlerdir. Ginkgo biloba ekstresi de bunların önde gidenlerinden biridir ve kilo vermeye yönelik preparatların içinde de yer almaktadır (125,126).

Ginkgo biloba oldukça geniş farmakolojik etkileriyle en çok reçete edilen, bunun yanı sıra OTC (tezgah üstü) grubu ilaçlar arasında da oldukça yüksek satış rakamlarına sahip bir ekstredir (10,11,125). Demans, periferik vasküler hastalıklar, erektil disfonksiyon, premenstrual sendrom, astım, senil makular dejenerasyon, tinnitus, ve vertigoda etkili olduğu bildirilmiştir (127). Ekstre antioksidan etkilerini OH^\bullet , $\text{O}_2^{\bullet-}$, ve LOO^\bullet ne karşı göstermektedir. Kanseri, yaşlanma, iskemik hastalıklar, serebral infarkt ve kronik inflamasyonda da pozitif etkileri bu yolla olmaktadır (128,129).

Bitkisel ekstrelerin gerçekten sanıldığı kadar zararsız mı olduklarıyla ilgili çalışmalar da mevcuttur. Bu çalışmalarda Ginkgo bilobanın yan etkilerinin çok az olduğu gösterilmiş, fakat olası ilaç-ilaç etkileşimleri için dikkatli olmak gerektiği de bildirilmiştir (10,11,130,131). Ginkgo biloba ekstresinin içerdiği ginkgolidler, PAF'ın potent inhibitörü oldukları için özellikle varfarin ve asetil salisilik asit benzeri antikoagülan kullananlarda kanama riskini artırabileceği yönünde uyarılar yapılmıştır (30,132).

Ekstrenin obezite ve obeziteyle bağlantılı olarak gelişen diğer hastalıklar üzerine olan olası etkilerini araştırabilmemiz için deneysel bir obezite modeline ihtiyaç vardı. Obesite modelini oluşturmak için seçilen yol çoğunlukla verilen diyetdeki yağ içeriğinin artırılmasıyla ortalama 4-8 haftada olmaktadır (133-136). Bizim çalışmamızda da yüksek yağ içerikli diyet kullanımıyla 7. haftanın sonunda, kontrol grubuna oranla obez grubu oluşturan sıçanlar arasında %20 oranında bir ağırlık artışı olduğu görüldü.

Bununla birlikte Bray ve Popkin ise, obezite oluşumunun ve tedavisinin sadece yüksek yağ içeriği ile beslenmeyle bağdaştırılmaması gerektiğini bildirmişlerdir (137).

Diyetin verilmesinin ardından obezitenin oluşup oluşmadığına karar verebilmek için sıçanlarda oluşmuş obeziteyi ölçme kriterleri % ağırlık farkları, Lee obezite indeksi ve abdominal yağ ağırlığı ölçümleri gibi yöntemlerle yapılmaktadır (120,121,138-141). Çalışmamızda biz de, hem sıçanların teker teker % ağırlık artışlarını, hem de Lee obezite indeksini kullandık. Her iki parametre de çalışmamızda yer alan sıçanlarda 7. hafta sonunda obezite oluşturduğumuzu

gösteriyordu. Ayrıca deney sonunda abdominal yağ ağırlığı toplamları açısından kontrol grubuna oranla obez grupların 5 kat kadar daha fazla yağlandığını gördük.

Ginkgo biloba ekstresi ile çeşitli hayvan modellerinde farklı farklı dozlar kullanılarak yapılmış çalışmaların incelenmesi sonucunda 100 mg/kg'lık dozun en çok kullanılan doz olduğunu gördük (28,31,45,47,48,54,57,58). İnsandaki 600 mg/kg'a denk gelmektedir. Hem en çok kullanılan doz olduğu, hem de insan için önerilen günlük dozun oldukça üzerinde olduğu için olası yan etkilerini de gözleyebilmek için seçtik. 20 mg/kg rat dozunu da, aynı zamanda insan için önerilen en ideal doz olan 120 mg/kg'a denk geldiği için seçtik (12,46).

Çalışmanın tamamlanmasının ardından bulduğumuz sonuçları tek tek inceleyecek olursak; glukoz parametresi açısından, kontrol grubu ile diğer gruplar arasında, diyetle indüklenen obeziteye bağlı olarak farklılık bulundu. Diyetle beslenen obez gruplarda obeziteye bağlı hiperglisemi geliştiği görüldü. Fakat ekstrenin obez gruplarda glukoz düzeyleri üzerine çalışma süresince pozitif yada negatif herhangi bir etkisi yoktu.

Duverger ve arkadaşları da 15 gün süreyle 50 ve 150 mg/kg dozlarında oral yolla verdikleri ekstreyle yaptıkları çalışma sonucunda kan glukoz düzeylerinde bir farklılık bulamamışlar fakat frontoparyetal somatosensor korteks ve serebellar kortekste sadece 50 mg/kg dozda bile glukostatik teoriyi doğrulamışlardır (59). Rai ve arkadaşları ise akut ve kronik strese karşılaştırmalı olarak yaptıkları çalışmada yine ekstrenin glukoz seviyelerine bir etkisi olmadığını belirlemişlerdir (142).

Kolesterol, HDL ve LDL'ye baktığımızda gruplar arasında hiçbir farklılık bulamadığımız için ne diyetin, ne de ekstrenin kolesterol değerlerine bir etkisi olmadığını söyleyebiliriz.

Ghibaudi ve arkadaşları ile Harris ve arkadaşları yüksek yağ içerikli diyetin sıçanlarda glukoz, kolesterol, trigliserit ve leptin düzeylerini yükselttiğini bildirmişlerdir (143,144). Ancak, Akbay ve arkadaşları da çalışmalarında bizim kullandığımız yüksek yağ içerikli diyetin aynısını kullanmışlar ve onlar da glukoz ve trigliserit düzeylerinde yükseklik bulurken, kolesterol değerlerinin diyete bağlı olarak yükselmediğini belirtmişlerdir (145).

Ayrıca, Drieu ve arkadaşları da 50 mg/kg dozunda verdikleri ekstrenin, sıçanların total kolesterol değerlerine bir etkisi olmadığını göstermişlerdir (28).

Çalışmamızda, trigliserit düzeyleri, kontrol grubu ile obez kontrol grubu arasında farklıydı. Obez kontrol grubunda trigliserit düzeyleri yüksek bulundu ancak ilaç alan gruplardaki trigliserit düzeyleri kontrol grubu ile farklılık göstermedi. Yağ içeriği yüksek bir yemle beslendikleri için obez grupların trigliserit açısından, kontrol grubuna göre daha yüksek bulunması beklenen bir sonuçtur. Ancak ginkgo biloba ekstresinin kullanımını takiben iki grupta birden görülen düşme ekstrenin trigliserit düzeyleri üzerine olan azaltıcı etkisini göstermektedir.

Drieu ve arkadaşları ile Rai ve arkadaşları ise verdikleri ekstrenin, sıçanların trigliserit değerlerine bir etkisi olmadığını bildirmişlerdir (28,142). Ancak her iki grubunda bu verileri, oluşturulmuş obez sıçan modelleri üzerinde değil normal kilodaki sıçanlarla, daha düşük dozlarla ve daha kısa süreli çalışmalarda elde edilmiş sonuçlardır.

Huang ve arkadaşları 200 mg/kg oral ginkgo biloba ekstresinin AST ve ALT değerlerine bir etkisi olmadığını bildirmişlerdir (146). Biz de AST açısından gruplar arasında bir farklılık bulamadık, fakat ALT kontrol grubu ile, obez grupların tamamı arasında farklılık gösteriyordu. Sıçanların AST ve ALT referans aralıklarının insana göre farklı ve yüksek olması bulunan yüksek değerlerin bir anlamı olmadığını açıklamaları olabilir (147,148).

MDA düzeyleri ise sadece yüksek ve düşük ilaç dozları arasında farklılık gösteriyordu, fakat kontrol grupları ile ilaç alan gruplar arasında farklılık bulunmadı.

Kudolo ve arkadaşları ile Huang ve arkadaşları ise ekstrenin MDA düzeylerini düşürdüğünü bildirmişlerdir (146,149). Ancak bizim çalışma süremiz bu iki gruba göre daha kısaydı ve biz çalışmamızda, MDA düzeylerinin belirlenmesinde referans yöntem olan HPLC yöntemini kullandık, diğer çalışmalar ise TBARS yöntemine göre yapılmıştır ve sonuçlar arasındaki değişikliğin yöntem farklılığından kaynaklanabileceğini söyleyebiliriz.

Ginkgo biloba ekstresinin bilinen en iyi etkisinin antioksidan etkisi olduğu bildirilmiştir (9,26,28,53,54,128,129,142,150). Bizse yaptığımız çalışmada gruplar arası TAK açısından farklılık bulamadık. Bu sonuç aslında MDA sonuçlarımızla da aynı doğrultudadır.

Ancak Ginkgo biloba ekstresinin antioksidan etkilerinin gösterildiği çalışmalar bu genellikle iskemi-reperfüzyon modeller üzerine olan antioksidan etkilerdir.

Obezitede de oksidatif stres gösterilmiştir fakat mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir (151,152).

Bir diğer neden de Rai ve arkadaşlarının da belirttiği gibi Ginkgo biloba ekstresinin kronik stresten daha çok akut stres durumunda daha etkili olmasından (142), ya da üretim aşamasındaki farklı proseslerin antioksidan aktivite üzerine olan dikkat çekici varyasyonlarından kaynaklanabilir (127,153).

Leptin ob geninin sitokin benzeri bir ürünü olup gıda alımı, enerji harcanması ve vücut ağırlığı regülasyonunun uzun dönem kontrol mekanizmaları arasında yer alır. Plazma leptin konsantrasyonlarının, vücut yağ miktarı ile korelasyon gösterdiği; obezitede artıp, anoreksiya nervozada azaldığı gösterilmiştir (93).

Nöropeptitlerin kompleks yollarda bütünleştiği, periferden bilginin leptin ve insülin sinyalleri ile merkeze ulaştığı çeşitli genetik hayvan modelleri ile yapılan çalışmalarla anlaşılmıştır (106). Yine de, insanlarda leptin veya leptin reseptörlerindeki mutasyonlarda, genetik olarak obez farelerdeki benzer mutasyonlarda görülen hipotermi, düşük enerji tüketimi ve hipotalamik-hipofiz-adrenal, tiroid, büyüme hormonu ekseninde derin fonksiyon kaybı görülmez. Bu mutant insanlarda sadece hipotalamik-hipofiz-gonadal eksenin kontrolü ve beslenmenin düzenlenmesinde belirgin bozulma olur. Himms-Hagen de yayınında insanlar ve fareler arasındaki bu önemli farklılıkların obez insanlardaki leptin sistemi ile ilgili yapılacak çalışmalarda göz önünde bulundurulması gerektiğini bildirmiştir (154).

Obezite ve leptin arasındaki ilişki yoğun olarak araştırılmaktadır. Obez kemiricilerde ve obez insanlarda serum leptini yüksek bulunmuştur. Leptin artışı ile vücut kitlesi arasında da bir ilişki kaydedilmektedir. Genç, zayıf farelerde leptin verilmesi ile gıda alımı azalmaktadır. Buna karşın aynı hayvanlarda yağdan zengin diyet ile obezite oluştuktan sonra leptine direnç gelişmektedir. Burada ilginç olan nokta, leptin direnci gelişmiş obez hayvanlarda leptinin intracerebroventriküler uygulanması ile leptine duyarlılığın artmasıdır. Obezite ile indüklenen leptin direncinde, leptin ile aktive olan santral sinir sistemi yollarının etkilenmediği görülmektedir (1,155,156).

Bu çalışmalarla paralellik gösterir şekilde, biz de leptin açısından, kontrol grubuna oranla diyetle indüklenen obezite oluşturduğumuz sıçanlarda plazma leptin düzeylerini yüksek bulduk.

Leptin enerji dengesini, merkezi sinir sisteminde karmaşık nöron yollarını ve mediyatörleri kullanarak regüle ettiği bilinmektedir. Yaygın insan obezitesinde leptin geni veya leptin reseptör geninde bozukluk olmadığı gösterilmişse de, bu sekonder yollardaki bilinen veya bilinmeyen mediyatörlerde defekt olabilme ihtimali söz konusudur. Bizim çalışmamızda ginkgo biloba ekstresinin diyetle indüklenen obez sıçanlar üzerine leptin açısından bir etkisi yokmuş gibi görünmekle birlikte oldukça kompleks olan diğer oroksijenik ve anoroksijenik sinyaller üzerinden etki gösteriyor olabilir diye düşünmekteyiz.

Kilo kaybeden insanlarda plazma leptin düzeyleri ve yağ hücresindeki leptin mRNA'sı azalır ve kilo alınması ile tekrar yükselir (155). Kilo kaybetme döneminde azalan leptin düzeyleri, kilonun sabit olarak korunduğu dönemde de kilo artışı olmamasına rağmen bir ölçüde artar (1). Bu bulgu leptin düzeylerinin yalnızca yağ dokusu miktarının göstergesi değil, aynı zaman da enerji dengesindeki değişimleri de algılayan bir sensör olduğunu göstermektedir (106).

Bu bilgiler ışığında, çalışmamızda yer alan sıçanlarda birbirinden oldukça farklı iki doz ilaç kullanılmasına rağmen, ilaç gruplarını oluşturan sıçanlar arasında leptin açısından hiç farklılık bulunmaması, sıçanların kilolarını sabit olarak korudukları bir dönemde olmalarıyla bağlantılı olabilir. Ölçülebilir sonuçlar değilse de ekstreyi kullanan sıçanlarda, kontrol ve obez kontrol grubundakilere oranla belirgin bir fizik aktivite ve hareketlilik de söz konusuydu.

Ayrıca her ne kadar leptin düzeylerinde bir farklılık oluşmadıysa da ekstrenin uygulanmasından sonra yüksek doz ilaç alan grupta yüksek yağ içerikli diyet kullanmalarına rağmen hafif de olsa (%1,6) bir kilo kaybı söz konusuydu. Yine düşük doz ilaç alan gruptaki kilo artışı % 0,1 düzeyindeyken, obez kontrol grubunda bu artış % 2,1 düzeyindedir. Oysa ki aynı süre zarfında sadece normal diyetle beslenen kontrol grubunda ise bu oran % 21,6'dır.

Kilo kaybı düşük kalorili diyet, fizik egzersiz, ilaçlar, cerrahi veya bunların bir kombinasyonu ile başarılabilir. Fizik egzersiz, yiyecek alışkanlığındaki değişiklikler ile beraber ilaç tedavilerinin efektif sonuçlar verdiği gözlenmiştir (103).

Biz çalışmamızda ekstreinin verildiği süreçte diyet değişikliğine gitmedik. Normal diyete dönülse, leptin düzeylerinde daha farklı sonuçlar elde edilebilirdi diye düşünüyoruz.

İnsanlarda monogenik obezite formları nadirdir, ancak bu formların ve db/db, ob/ob fareler ve Zucker fa/fa sıçanlar gibi çeşitli genetik hayvan modellerinin obezite etiyojisinin aydınlanmasına anlamlı katkıları vardır. Bunların ayrıntılı incelenmesi obezite olgularına yönelik tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde de yararlı olabilir. İnsanlara ait monogenik obezite formları ve kemiricilerde geliştirilmiş genetik modeller sayesinde nöropeptit ekspresyon ve işlevleri ilgili pek çok bilgi elde edilmiş, POMC ve NPY sistemlerinin işlevleri aydınlatılmış, farklı nöropeptit profillerine bağlı obezite formları olduğu kanıtlanmıştır (105,106).

Obezite % 30-70 oranında genetik bir hastalık olmakla birlikte, çevresel faktörlerin önemini de gözardı etmemek gerekir. Obezite gelişimini etkileyen sosyal, kültürel, kognitif ve biyolojik çevresel faktörler ile stres vardır (157). Bu bilgi Thibault ile benzerdir ve her iki görüş de oluşturulmuş obez hayvan deneylerinin insanlar ile birebir örtüşmeyeceği yönündedir (157,158).

Yaptığımız literatür çalışmalarında ginkgo biloba ekstreinin, oluşturulmuş obezite modellerindeki etkileriyle yine leptin düzeyleri üzerine olan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlayamadık. Bundan sonra bizim seçtiğimiz süreden daha uzun sürelerde ve daha farklı ilaç dozlarıyla yapılacak çalışmalarda daha farklı sonuçlar alınabilir.

Obezitede yeme alışkanlıkları ve enerji sarfiyatı regülasyonunun oldukça kompleks bir santral mekanizma ile olduğu bilinmektedir. Obezitenin altında yatan bozukluk, ya bu aşamadaki yollardan bir veya birden fazlasında ya da birbirleriyle etkileşimlerindedir.

Doğa, beslenme gibi yaşamsal önem taşıyan bir fonksiyonun düzenlenmesinde, deyim yerindeyse, işini şansa bırakmamış, bu mekanizmayı birçok yol üzerinden garantiye almıştır.

İnsanoğlunun obezite ile savaş için çözüm üretmede katedilecek daha çok yolu var gibi görünmektedir. İlaçlarla obeziteyi engellemeye çalışmak da bir yöntemdir fakat kesin çözüm, beslenme ile ilgili doğru eğitimi alıp, uygulamak ve

yaşam biçiminde değişiklikler yapmaya (daha çok fiziksel aktivite, daha az fizyolojik stres) gitmekte yatmaktadır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Obezite modern dünyanın bir getirisi olarak günümüzün sağlık problemlerinin başında gelmektedir. Aşırı yağlı ve karbonhidrattan zengin beslenme, fiziksel inaktivite ve genetik yapı enerji dengesini bozmakta ve obezite oluşumuna neden olmaktadır.

Obezite geninin ürünü olan leptin başlıca adipoz dokuda üretilir. Birçok fizyolojik işlevinin yanı sıra iştah kontrolünde, yağ metabolizmasında ve vücut ağırlığının düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Santral sinir sisteminde, özellikle hipotalamusta etkinleşmektedir.

Yaptığımız çalışmada, yüzyıllardır tedavide yer alan Ginkgo biloba ekstresinin, diyetle indüklenen obez, dişi Wistar sıçanlarda leptin ve lipit profili üzerine olan etkileri araştırılmıştır.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre, ekstrenin serum glukoz ve leptin düzeyleri üzerine bir etkisi olmadığı görülmüş, yine obeziteye bağlı oksidatif strese de bir etkisi bulunamamıştır. Ancak trigliserit düzeyleri ekstre kullanımından sonra düşüş göstermiştir.

Sonuç olarak:

1. Daha farklı süreli ve farklı dozlarla, diyet eşliğinde ve fiziksel aktivitenin de eklendiği çalışmalarla Ginkgo biloba ekstresinin leptin düzeyleri üzerine olan etkileri araştırılabilir.
2. Obezite oldukça karmaşık bir mekanizmadır. Ekstrenin leptin dışındaki parametrelerinin de incelenerek obezite üzerine olası etkileri incelenebilir.
3. Yüksek kalorili beslenme ve sedanter yaşama karşı, zayıflığı koruyan mucize bir ilaç yoktur. Ne olursa olsun antiobezite ilaçlar, diyet ve ekzersiz ile birlikte kullanılmalıdır.
4. Tedavide temel hedef yalnız kilo kaybı değil, metabolik ve kardiovasküler işlevlerin düzenlenmesi, morbidite ve mortalitenin azaltılması olmalıdır.
5. Ekstrenin yan etkilerinin yok denecek kadar az olduğu da göz önünde bulundurularak sadece hayvan değil insan obezitesindeki etkileri de gözlenmelidir.

7. KAYNAKLAR

1. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal weight and obese humans. *N Engl J Med*, 1996; 334: 292-295.
2. Bellanger TM, Bray GA. Obesity related morbidity and mortality. *J La State Med Soc*, 2005; 157 (1) :42-49.
3. Clement K, Boutin P, Froguel P. Genetics of obesity. *Am J Pharmacogenomics*, 2002; 2(3): 177-187.
4. Lindstrom J, Peltonen M, Tuomilehto J. Lifestyle strategies for weight control: experience from the Finnish Diabetes Prevention Study. *Proc Nutr Soc*, 2005; 64(1): 81-88.
5. Costain L, Croker H. Helping individuals to help themselves. *Proc Nutr Soc*, 2005; 64(1): 89-96.
6. Auwerx J, Staels B. Leptin. *Lancet*, 1998; 351:737-742. 71.
7. Doğruel N. Leptin ve iskelet. *Genel Tıp Dergisi*, 2003; 13(2): 5-10. 90.
8. Stromgaard K, Nakanishi K. Chemistry and biology of terpene trilactones from Ginkgo Biloba. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2004; 43(13): 1640-1658.
9. Rapin JR, Lamproglou I, Drieu K, Defeudis FV. Demonstration of the 'anti-stress' activity of an extract of Ginkgo Biloba (EGb 761) using a discrimination learning task. *Gen Pharmacol*, 1994; 25(5): 1009-1016.
10. Tesch BJ. Herbs commonly used by women: an evidence-based review. *Clin J Women's Health*, 2001; 1:89-102.
11. Sparreboom A, Cox MC, Acharya MR, Figg WD. Herbal remedies in the United States: potential adverse interactions with anticancer agents. *J Clin Oncol*, 2004; 22(12): 2489-2503.
12. Clostre F. Ginkgo biloba extract (EGb 761). State of knowledge in the dawn of the year 2000. *Ann Pharm Fr*. 1999; 57(Suppl 1):1S8-88.
13. Schulz V, Hansel R, Tyler VE. Rational Phytotherapy. 3th. Ed., Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1998.

14. Tsiotra PC, Pappa V, Raphis SA, Tsigos C. Expression of the long and short leptin receptor isoforms in peripheral blood mononuclear cells: implications for leptin actions. *Metabolism*, 2000; 49(12): 1537-1541.
15. Jaraze S, Malik S, Nakanishi K. Isolation of ginkgolides A, B, C, J and bilobalide from *G. biloba* extracts. *Phytochemistry*, 2004; 65(21):2897-2902.
16. Kleijnen J, Knipschild P. Ginkgo biloba. *Lancet*, 1992; 340:1136-1139.
17. Robbers JE, Tyler VE. Tyler's Herbs of Choice, The Therapeutic Use of Phytomedicinals. 1st Ed., New York: The Haworth Herbal Press An Imprint of The Haworth Pres, Ins., 1999.
18. Del Tredici P. Ginkgos and multituberculates: evolutionary interactions in the tertiary. *Biosystems*, 1989; 22 (4):327-339.
19. Stromgaard K, Suehiro M, Nakanishi K. Preparation of a tritiated ginkgolide. *Bioorg Med Chem Lett*. 2004;14(22): 5673-5675.
20. Merfort I, Heilmann J, Weiss M, Pietta P, Gardana C. Radical scavenger activity of three flavonoid metabolites studied by inhibition of chemiluminescence in human PMNs. *Planta Med*, 1996; 62(4): 289-292.
21. Fourtillan JB, Brisson AM, Girault J, Ingrand I, Decourt J, Drieu K, Jouenne P, Biber A. Pharmacokinetics of Bilobalide, Ginkgolide A and Ginkgolide B in healthy volunteers following oral and intravenous administrations of Ginkgo biloba extract (EGb 761). *Therapie*, 1995; 50: 137-144.
22. Ghilardi N, Skoda RC. The leptin receptor activates janus kinase 2 and signals for proliferation in a factor-dependent cell line. *Mol Endocrinol*, 1997; 11(4): 393-399.
23. Kim KS, Rhee KH, Yoon JH, Lee JG, Lee JH, Yoo JB. Ginkgo biloba extract (EGb 761) induces apoptosis by the activation of caspase-3 in oral cavity cancer cells. *Oral Oncol*, 2005; 41(4):383-389.
24. Xu AH, Chen HS, Sun BC, Xiang XR, Chu YS, Zhai F, Jia LC. Therapeutic mechanism of ginkgo biloba exocarp polysaccharides on gastric cancer. *World J Gastroenterol*, 2003; 9(11): 2424-2427.
25. Janssens D, Delavie E, Remacle J, Michiels C. Protection by bilobalide of the ischaemia-induced alterations of the mitochondrial respiratory activity. *Fundam Clin Pharmacol*, 2000;14(3): 193-201.
26. Eckert A, Keil U, Kressman S, Schindowski K, Leutner S, Leutz S, Muller WE. Effects of EGb761 Ginkgo biloba extract on mitochondrial function and oxidative stress. *Pharmacopsychiatry*, 2003; 36 Suppl 1: S15-23.

27. Sastre J, Borrás C, García-Sala D, Lioret A, Pallardo FV, Vina J. Mitochondrial damage in aging and apoptosis. *Ann NY Acad Sci*, 2002; 959: 448-451.
28. Drieu K, Vranckx R, Benassayad C, Haourigi M, Hassid J, Yoa RG, Rapin JR, Nunez EA. Effect of the extract Ginkgo biloba (EGb 761) on the circulating and cellular profiles of polyunsaturated fatty acids: correlation with the anti-oxidant properties of the extract. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2000; 63(5):293-300.
29. Emeritt I, Oganessian N, Sarkisian T, Arutyunyan R, Pogosian A, Asrian K, Levy A, Cernjavski L. Clastogenic factors in the plasma of Chernobyl accident recovery workers: anticlastogenic effect of ginkgo biloba extract. *Radiat Res*, 1995; 144(2): 198-205.
30. Koch E. Inhibition of platelet activating factor (PAF)-induced aggregation of human thrombocytes by ginkgolides: considerations on possible bleeding complications after oral intake of Ginkgo biloba extracts. *Phytomedicine*, 2005; 12(1-2): 10-16.
31. Tang F, Nag S, Shiu SYW, Pang SF. The effects of melatonin and Ginkgo biloba extract on memory loss and choline acetyltransferase activities in the brain of rats infused intracerebroventricularly with amyloid 1-40. *Life Sciences*, 2002; 71: 2625-2631.
32. Chandrasekaran K, Mehrabian Z, Spinnewyn B, Chinopoulos C, Drieu K, Fiskum G. Bilobalide, a component of the Ginkgo biloba extract (EGb 761), protects against neuronal death in global brain ischemia and in glutamate-induced excitotoxicity. *Cell Mol Biol*, 2002; 48(6): 663-669.
33. Winter JC. The effects of an extract of Ginkgo biloba, EGb761, on cognitive behavior and longevity in the rat. *Physiol Behav*, 1998; 63(3):425-433.
34. Itil T, Martorano D. Natural substances in psychiatry (Ginkgo biloba in dementia). *Psychopharmacol Bull*, 1995; 31(1): 63-73.
35. Maurer K, Ihl R, Dierks T, Frolich L. Clinical efficacy of Ginkgo biloba special extract EGb 761 in dementia of the Alzheimer type. *J Psychiatr Res*, 1997; 31(6): 645-655.
36. Chandrasekaran K, Mehrabian Z, Spinnewyn B, Drieu K, Fiskum G. Neuroprotective effects of bilobalide, a component of the Ginkgo Biloba extract (EGb 761), in gerbil global brain ischemia. *Brain Res*, 2001; 922(2): 282-292.
37. Huang SY, Jeng C, Kao SC, Yu JJ, Liu DZ. Improved haemorrhological properties by Ginkgo biloba extract (EGb 761) in type 2 diabetes mellitus complicated with retinopathy. *Clin Nutr*, 2004; 23(4): 615-621.
38. Hirooka K, Tokuda M, Miyamoto O, Itano T, Baba T, Shiraga F. The Ginkgo biloba extract (EGb 761) provides a neuroprotective effect on retinal ganglion cells in a rat model of chronic glaucoma. *Curr Eye Res*, 2004; 28(3): 153-157.

39. Szabo ME, Droy-Lefaix MT, Doly M. EGb 761 and the recovery of ion imbalance in ischemic reperfused diabetic rat retina. *Ophthalmic Res*, 1995; 27(2): 102-109.
40. 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(1):42-53.
41. Burschka MA, Hassan HA, Reineke T, van Bebbler L, Caird DM, Mosges R. Effect of treatment with Ginkgo biloba extract EGb 761 (oral) on unilateral idiopathic sudden hearing loss in a prospective randomized double-blind study of 106 outpatients. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2001; 258(5): 213-129.
42. Issing W, Klein P, Weiser M. The homeopathic preparation Vertigoheel versus Ginkgo biloba in the treatment of vertigo in an elderly population: a double-blinded, randomized, controlled clinical trial. *J Altern Complement Med*, 2005; 11(1): 155-160.
43. Hilton M, Stuart E. Ginkgo biloba for tinnitus. *Cochrane Database Syst Rev*, 2004; (2): CD003852.
44. Colciaghi F, Borroni B, Zimmermann M, Bellone C, Longhi A, Padovani A, Cattabeni F, Christen Y, Di Luca M. Amyloid precursor protein metabolism is regulated toward alpha-secretase pathway by ginkgo biloba extracts. *Neurobiol Dis*, 2004; 16(2):454-460.
45. Umegaki K, Saito K, Kubota Y, Sanada H, Kazuhiko Y, Shinozuka K. Ginkgo biloba Extract markedly induces pentoxifyresorufin o-dealkylase activity in rats. *Jpn J Pharmacol*, 2002; 90: 345-351.
46. Pietri S, Maurelli E, Drieu K, Culcasi M. Cardioprotective and anti-oxidant effects of the terpenoid constituents of Ginkgo biloba extract (EGb 761). *J Mol Cell Cardiol*; 1997; 29: 733-742.
47. Yang XF, Wang NP, Lu WH, Zeng FD. Effects of Ginkgo biloba extract and tanshionine on cytochrome P-450 isozymes and glutathione transferase in rats. *Acta Pharmacol Sin*, 2003; 24(10): 1033-1038.
48. Sasaki K, Hatta S, Wada K, Ueda N, Yoshimura T, Endo T, Sakata M, Tanaka T, Haga M. Effects of extract of Ginkgo biloba leaves and its constituents on carcinogen- metabolizing enzyme activities and glutathione levels in Mouse liver. *Life Sci*, 2002; 70(14): 1657-1667.
49. Agha AM, El-Fattah AA, Al-Zuhair HH, Al-Rikabi AC. Chemopreventive effect of Ginkgo biloba extract against benzo(a)pyrene-induced forestomach carcinogenesis in mice: amelioration of doxorubicin cardiotoxicity. *J Exp Clin Cancer Res*, 2001; 20(1): 39-50.
50. Gajewski A, Hensch SA. Ginkgo biloba and memory for maze. *Psychological Reports*, 1999; 84: 481-484.
51. Stücker O, Pons C, Duverger JP, D'Arbigny P, Drieu K. Effect of Ginkgo biloba extract (EGb 761) on the vasospastic response of mouse cutaneous arterioles to platelet activation. *Int J Microcirc Clin Exp*, 1997; 17(2):61-66.

52. Kim YS, Pyo MK, Park KM, Park PH, Hahn BS, Wu SJ, Yun-Choi HS. Antiplatelet and antithrombotic effects of a combination of ticlodipine and Ginkgo biloba ext (EGb 761). *Thrombosis Research*, 1998; 91: 33-38.
53. Carini M, Aldini G, Rossoni G, Morazzoni P, Facino RM. Complexation of Ginkgo biloba extract with phosphatidylcholine improves cardioprotective activity and increase the plasma antioxidant capacity in the rat. *Planta Med*, 2001; 67(4): 326-330.
54. İlhan A, Gürel B, Armutçu F, Kamışlı S, Iraz M, Akyol Ö, Özen S. Ginkgo biloba prevents mobile phone-induced oxidative stress in rat brain. *Clinica Chimica Acta*, 2004; 340: 153-162.
55. El-Khatib AS, Moustafa AM, Abdel-Aziz AA, Al-Shabanah OA, El-Kashef HA. Ginkgo biloba extract (EGb 761) modulates bleomycin-induced acute lung injury in rats. *Tumori*, 2001; 87(6): 417-422.
56. Hadjiivanova ChI, Petkov VV. Effect of Ginkgo biloba extract on beta-adrenergic receptors in different rat brain regions. *Phytother Res*, 2002; 16(5): 488-490.
57. Puebla-Perez AM, Lozoya X, Villasenor-Garcia MM. Effect of Ginkgo biloba extract EGb 761, on the cellular immune response in a hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation model in the rat. *Int Immunopharmacol*. 2003; 3(1):75-80.
58. Marcilhac A, Dakine N, Bourhim N, Guillaume V, Grino M, Drieu K, Oliver C. Effect of chronic administration of Ginkgo biloba extract or Ginkgolide on the hypothalamic-pituitary adrenal axis in the rat. *Life Sci*, 1998; 62(25): 2329-2340.
59. Duverger D, Defeudis FV, Drieu K. Effects of repeated treatments with an extract of Ginkgo biloba (EGb 761) on cerebral glucose utilization in the rat: an autoradiographic study. *Gen Pharmacol*. 1995; 26(6):1375-1383.
60. Naidu MU, Shifow AA, Kumar KV, Ratnakar KS. Ginkgo biloba extract ameliorates gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Phytomedicine*, 2000; 7(3):191-197.
61. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Text Book of Clinical Chemistry. 3th Ed, USA. WB Saunders Company, 1999.
62. Onat T, Emerk K, Sözmen EY. İnsan biyokimyası. 1. Baskı, Ankara: Palme Yayıncılık, 2002.
63. Bhagavan NV. Lipids III: Plasma Lipoproteins. In: Bhagavan NV Eds. *Medical Biochemistry*, 4th Ed, Canada: Harcourt Academic Press, 2002: 429-451.
64. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull*, 1993; 49(3): 481-493.

65. Halliwell B, Gutteridge JMC. Role of free radicals and catalytic metal ions in human diseases. *An Overview Methods Enzymol*, 1990; 186: 63-68.
66. Gracy RW, Talent JM, Kang Y, Conrad CC. Reactive oxygen species: the unavoidable environmental insult? *Mutat Res*, 1999; 16:428 (1-2): 17-22.
67. Halliwell B, Cross CE. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environ Health Perspect*, 1994; 102 Suppl 10:5-12.
68. Aruoma OI, Kaur H, Halliwell B. Oxygen free radicals and human disease. *J R Soc Health*, 1991; 111(5): 172-177.
69. Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 2002;18: 872-879.
70. Guyton KZ, Kensler TW. Oxidative mechanisms in carcinogenesis. *Br Med Bull*, 1993; 49(3): 523-544.
71. Flitter WD. Free radicals and myocardial reperfusion injury. *Br Med Bull*, 1993; 49(3): 545-555.
72. Winrow VR, Winyard PG, Morris CJ, Blake DR. Free radicals in inflammation: second messengers and mediators of tissue destruction. *Br Med Bull*, 1993; 49(3): 523-544.
73. Puddey IB, Croft KD. Alcoholic beverages and lipid peroxidation: relevance to cardiovascular disease. *Addict Biol*, 1997; 2: 269-276.
74. Mates JM, Perez-Gomez C, de Castro IN. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, 1999; 32(8): 595-603.
75. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1. Baskı, Konya. Mimoza Basım, Yayım ve Dağıtım AŞ, 1995.
76. Khan Au, Wilson T. Reactive oxygen species as cellular messenger. *Chem Biol*, 1995; 2(7): 437-445.
77. Hogg N. Free radicals in disease. *Semin Reprod Endocrinol*, 1998; 16(4): 241-248.
78. Esterbauer H, Wag G, Pulil H. Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis. *Br Med Bull*, 1993; 49(3): 566-576.
79. Sevanian A, Hochstein P. Mechanism and consequences of lipid peroxidation in biological systems. *Ann Rev Nutr*, 1985; 5: 365-390.

80. Marnett LJ. Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology*, 2002; 181-182: 219-222.
81. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*, 2003; 189: 41-54.
82. Esterbauer H, Jurgens G, Quehenberger Q, Koller E. Autooxidation of human low density lipoprotein: Loss of unsaturated fatty acids and vitamin E and generation of aldehydes. *J Lipid Res*, 1987; 28: 495-509.
83. Holvoet P, Perez G, Zhao Z, Brouwers E, Berner H, Collen D. Malondialdehyde-modified low density lipoproteins in patients with atherosclerotic disease. *J Clin Invest*, 1995; 95: 2611-2619.
84. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol*, 1990; 186: 421-431.
85. Fattman CL, Schaefer LM, Oury TD. Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. *Free Radical Biology and Medicine*, 2003; 35(3): 236-256.
86. Rodriguez C, Mayo JC, Sainz RM, Antolin I, Herrera F, Martin V, Reiter RJ. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J Pineal Res*, 2004; 36: 1-9.
87. Yang EK, Radomska A, Winder BS, Dannenberg AJ. Dietary lipids coinduce xenobiotic metabolizing enzymes in rat liver. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1993; 1168: 52-58.
88. Teker Z, Özer G, Topaloğlu K, Mungan NÖ, Yüksel B. Leptin yapı ve fizyolojisi. *Arşiv*, 2002; 11:30-40.
89. Friedman JM. Leptin, leptin receptors, and the control of body weight. *Nutr Rev*, 1998; 56: 38-46.
90. Barata M. Leptin- from a signal to a hormonal mediator in peripheral tissues. *Med Sci Monit*, 2002; 8(12):282-292.
91. Guillicksen PS, Della-Fera MA, Baile CA. Leptin induced adipose apoptosis: Implications for body weight regulation. *Apoptosis*, 2003; 8: 327-335.
92. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*, 1998; 395: 763-770.
93. Meier U, Gressner AM. Endocrine regulation of energy metabolism: Review of Pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin, and resistin. *Clinical Chemistry*, 2004; 50(9): 1511-1525.

94. Ziylan Z. Merkezi sinir sisteminde leptin transportu. *Genel Tıp Dergisi*, 2003; 13(2): 15-21.
95. Schwartz MW, Baskin DG, Kaiyala KJ, Woods SC. Model for the regulation of energy balance and adiposity by the central nervous system. *Am J Clin Nutr*, 1999; 69(4): 584-596.
96. Banks WA. Is obesity a disease of the blood-brain barrier? Physiological, pathological, and evolutionary considerations. *Curr Pharm Des*, 2003; 9(10): 801-809.
97. Nelson DL, Cox MM. Lehninger Biyokimyanın İlkeleri. Kılıç N (Çev. Ed.), 3. Baskıdan Çeviri, Ankara. Palme Yayıncılık, 2005.
98. Ghilardi N, Ziegler S, Wiestner A, Stoffel R, Heim MH, Skoda RC. Defective STAT signaling by the leptin receptor in diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996; 93(13): 6231-6235.
99. Funahashi H, Yada T, Suzuki R, Shioda S. Distribution, function and properties of leptin receptors in the brain. *Int Rev Cytol*, 2003; 224:1-27.
100. Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng W, et. al. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell*, 1995; 83(7):1263-1271.
101. El-Haschimi K, Pierroz DD, Hileman SM, Bjorback C, Flier JS. Two defects contribute to hypothalamic leptin resistance in mice with diet-induced obesity. *J Clin Invest*, 2000; 105: 1827-1832.
102. Kastin AJ, Pan W. Dynamic regulation of leptin entry into blood-brain barrier. *Regul Pept*, 2000; 92 (1-3): 37-43.
103. Çiçek D, Akbay E, Çamsarı A, Yurtdaş M, Akçay B, Döven O, Cin VG. Obez hastalarda sibutraminin kalp kapakları ve ekokardiyografik parametreler üzerine etkisi. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2003; 4(4): 367-372.
104. Spiegelman BM, Flier JS. Obesity and the regulation of energy balance. *Cell*, 2001; 104: 531-543.
105. Clement K, Fere P. Genetics and the pathophysiology of obesity. *Pediatr Res*, 2003; 53(5): 721-725.
106. Beck B. Neuropeptides and obesity. *Nutrition*, 2000; 16: 916-923.
107. Semerci CN. Obezite ve genetik. *Gülhane Tıp Dergisi*, 2004; 46(4): 353-359.
108. Woods SC, Seeley RJ, Porte D Jr, Schwartz MW. Signals that regulate food intake and energy homeostasis. *Science*, 1998; 280(5368): 1378-1383.

109. Tritos NA, Flier EM. Two important systems in energy homeostasis: melanocortins and melanin-concentrating hormone. *Neuropeptides*, 1999; 33(5): 339-349.
110. Kalra SP, Dube MG, Pu SY, Xu B, Horvath TL, Kalra PS. Interacting appetite- regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endoc Rev*, 1999; 20(1):68-100.
111. Cowley MA. Hypothalamic melanocortin neurons integrate signals of energy state. *European Journal of Pharmacology*, 2003; 480: 3-11.
112. Billington CJ, Briggs JE, Grace M, Levine AS. Effects of intracerebroventricular injection of neuropeptide Y on energy metabolism. *Am J Physiol*, 1999; 260: 321-327.
113. Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, et al. Orexins and orexin receptors : a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell*, 1998; 92 (4): 573-585.
114. Polonsky KS, Given BD, Van Cauter E. Twenty-four hour profiles and pulsatile patterns of insulin secretion in normal and obese subjects. *J Clin Invest*, 1988; 81 (2): 442-448.
115. Baskin DG, Schwartz MW, Sipols AJ, D'Alessio DA, Goldstein BJ, White MF. Insulin receptor substrate-1 (IRS-1) expression in rat brain. *Endocrinology*, 1994;134(4):1952-1955.
116. Grossman SP. The role of glucose, insulin and glucagon in the regulation of food intake and body weight. *Neurosci Biobehav Rev*, 1986; 10: 295-315.
117. Reidy SP, Weber JM. Leptin: an essential regulator of lipid metabolism. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 2000; 125: 285-297.
118. Rowland NE, Morien A, Li BH. The physiology of brain mechanisms of feeding. *Nutrition*, 1996; 12(9): 626-639.
119. Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis: Definition and pathology. *Semin Liv Dis*, 2001; 21(1): 3-16.
120. Webb GP, Rogers PD. A comparison of several methods for assessing body fat content in mice. *Proc Nutr Soc*, 1979; 38(2): 75A.
121. Rogers P, Webb GP. Estimation of body fat in normal and obese mice. *Br J Nutr*, 1980; 43(1):83-86.
122. Peeters A, Barendregt JJ, Willekens F, Mackenbach JP, Al Mamun A, Bonneux L. Obesity in adulthood and its consequences for life expectancy: a life-table analysis. *Ann Intern Med*, 2003; 138(1): 24-32.

123. Cowley MA. Hypothalamic melanocortin neurons integrate signals of energy state. *European Journal of Pharmacology*, 2003; 480: 3-11.
124. Maas R, Böger RH. Old and new cardiovascular risk factors: from unresolved issues to new opportunities. *Atheroscler Suppl*, 2003; 4(4): 5-17.
125. Ryu SD, Chung WG. Induction of the procarcinogen-activating CYP1A2 by a herbal dietary supplement in rats and humans. *Food and Chemical Toxicology*, 2003; 41: 861-866.
126. Mckenna DJ, Jones K, Hughes K. Efficacy, safety, and use of Ginkgo biloba in clinical and preclinical applications. *Altern Ther Health Med*, 2001; 7(5): 70-86, 88-90.
127. Pirmohamed M. Herbal medicines. *Postgrad Med J*, 2003; 79(935):489.
128. Yoshikawa T, Naito Y, Kondo M. Ginkgo biloba leaf extract: review of biological actions and clinical applications. *Antioxid Redox Signal*, 1999; 1(4): 469-480.
129. Di Mambro VM, Fonseca MJV. Assays of physical stability and antioxidant activity of a topical formulation added with different plant extracts. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical analysis*, 2005; 37: 287-295.
130. Sierpina VS, Wollschlaeger B, Blumenthal M. Ginkgo biloba. *Am Fam Physician*, 2003; 68(5):923-926.
131. Bressler R. Herb drug interactions. *Geriatrics*, 2005; 60(4): 30-33.
132. Ernst E, Conter PH, Coon JT. Does Ginkgo biloba increase the risk of bleeding? A systematic review of case reports. *Perfusion*, 2005; 18: 52-56.
133. Boozer CN, Schoenbach G, Atkinson RL. Dietary fat and adiposity: a dose-response relationship in adult male rats fed isocalorically. *Am J Physiol*, 1995; 268: 546-550.
134. Rodriguez VM, Pico C, Portillo MP, Teresa Macarulla M, Palou A. Dietary fat source regulates ob gene expression in white adipose tissue of rats under hyperphagic feeding. *Br J Nutr*, 2002; 87(5): 427-434.
135. Mantha L, Palacios, Deshaies Y. Modulation of tryglyceride metabolism by glucocorticoids in diet-induced obesity. *Am J Physiol*, 1999; 277: 455-464.
136. Akiyama T, Tachibana I, Shirohara H, Watanabe N, Otsuki M. High-fat hypercaloric diet induces obesity, glucose intolerance and hyperlipidemia in normal adult male Wistar rat. *Diabetes Res Clin Pract*, 1996; 31(1-3): 27-35.
137. Bray GA, Popkin BM. Dietary fat intake does affect obesity! *Am J Clin Nutr*, 1998; 68: 1157-1173.

138. Nagakawa T, Ukai K, Ohyama T, Gomita Y, Okamura H. Effects of chronic administration of sibutramine on body weight, food intake and motor activity in neonatally monosodium glutamate-treated obese female rats: Relationship of antiobesity effect with monoamines. *Exp Anim*, 2000; 49(4): 239-249.
139. Ishizuka T, Ernsberger P, Liu S, Bedol D, Lehman TM, Koletsky RJ, Friedman JE. Phenotypic consequences of a nonsense mutation in the leptin receptor gene (fa^k) in obese spontaneously hypertensive Koletsky rats (SHROB). *J Nutr*, 1998; 128(12): 2299-2306.
140. Cattaneo L, De Gennaro Colonna V, Zoli M, Müller EE, Cocchi D. Characterization of the hypothalamo-pituitary-IGF-I axis in rats made obese by overfeeding. *J Endocrinol*, 1996; 48(2): 347-353.
141. Fan JG, Zhong L, Xu ZJ, Tia LY, Ding XD, Li MS, Wong GL. Effects of low-calorie diet on steatohepatitis in rats with obesity and hyperlipidemia. *J Gastroenterol*, 2003; 9(9): 2045-2049.
142. Rai D, Bhatia G, Sen T, Palit G. Anti-stress effects of Ginkgo biloba and Panax ginseng: a comparative study. *J Pharmacol Sci*, 2003; 93: 458-464.
143. Ghibaudi L, Cook J, Farley C, van Heek M, Hwa JJ. Fat intake affects adiposity, comorbidity factors, and energy metabolism of Sprague-Dawley rats. *Obes Res*, 2002; 10: 956-963.
144. Harris RBS, Mitchell TF, Hebert S. Leptin-induced changes in body composition in high fat-fed mice. *Exp Biol Med*, 2003; 228: 24-32.
145. Akbay E, Ulusu NN, Törüner F, Ayvaz G, Taneri F, Aktürk M, Arslan M, Karasu Ç. Effects of Rosiglatone treatment on the pentose phosphate pathway and glutathione-dependent enzymes in liver and kidney of rats fed a high-fat diet. *Current Therapeutic Research*, 2004; 65(1): 79-89.
146. Huang SZ, Luo YJ, Wang L, Cai KY. Effect of Ginkgo biloba extract on livers in aged rats. *World J Gastroenterol*, 2005; 11(1): 132-135.
147. <http://www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html>
148. <http://www.unmc.edu/Education/Animal/guide/appenD4.html>
149. Kudolo GB, Delaney D, Blodgett J. Short-term oral ingestion of Ginkgo biloba extract (EGb 761) reduces malondialdehyde levels in washed platelets of type 2 diabetic subjects. *Diabetes Res Clin Pract*, 2005; 68: 29-38.
150. Maitra I, Marcocci L, Droy-Lefaix MT, Packer L. Peroxyl radical scavenging activity of Ginkgo biloba extract EGb 761. *Biochem Pharmacol*, 1995; 49(11): 1649-1655.

151. Vincent HK, Powers SK, Dirks AJ, Scarpace PJ. Mechanism for obesity-induced increase in myocardial lipid peroxidation. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 2001; 25(3): 278-388.
152. Beltowski J, Wojcicka G, Gorry D, Marciniak A. The effect of dietary-induced obesity on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and total plasma antioxidant status. *J Physiol Pharmacol*, 2000; 51(4): 883-896.
153. Mantle D, Wilkins RM, Gok MA. Comparison of antioxidant activity in commercial Ginkgo biloba preparations. *J Altern Complement Med*, 2003; 9(5): 625-629.
154. Himms-Hagen J. Physiological roles of the leptin endocrine system: differences between mice and humans. *Crit Rev Clin Lab Sci.*, 1999; 36(6): 575-655.
155. Maffei M, Halaas J, Ravussin E, 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: 1155-1166.
156. VanHeek M, Compton DS, France CF, et al. Diet-induced obese mice develop peripheral, but not central, resistance to leptin. *J Clin Invest*, 1997; 99(3):385-390.
157. Booth KM, Pinkston MM, Poston WS. Obesity and the built environment. *J Am Diet Assoc*. 2005; 105(5 Pt 2): 110-117.
158. Thibault L, Woods SC, Westerterp-Plantenga MS. The utility of animal models of human energy homeostasis. *Br J Nutr*, 2004; 92 (suppl1)(1): 41-45.

ÖZGEÇMİŞ

1969 yılında Antalya'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Antalya Kolejinde tamamladı. 1992 yılında İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesinden mezun oldu. Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi ve Metropolitan Florance Nightingale Hastanesi eczanelerinde çalıştı ve iki sene serbest eczacılık yaptı.

Eylül 2002'de Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Temel Eczacılık Bilimleri Biyokimya bölümünde yüksek lisans eğitimine başladı.

Halen aynı bölümde araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır.