

T.C  
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOKİMYA (TIP) ANABİLİM DALI



**YÜKSEK KOLESTEROL DİYETLE BESLENEN RATLARDA  
SİLYBİN'İN HİPERLİPİDEMİ ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Didem DUMAN

**Danışman**

Prof. Dr. Abdullah ARPACI

**HATAY - 2019**

T.C  
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOKİMYA (TIP) ANABİLİM DALI

**YÜKSEK KOLESTEROL DİYETLE BESLENEN RATLARDA  
SİLYBİN'İN HİPERLİPİDEMI ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Didem DUMAN

**Danışman**

Prof.Dr.Abdullah ARPACI

Bu tez, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 18.YL.023 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

**HATAY – 2019**

T.C  
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOKİMYA (TIP) ANABİLİM DALI

**YÜKSEK KOLESTEROL DİYETLE BESLENEN RATLARDA  
SİLYBİN'İN HİPERLİPİDEMİ ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Didem DUMAN

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 28.01.2019 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oyçokluğu/oybirliği ile kabul edilmiştir.

**Tez Jürisi:** Jüri başkanı: Prof. Dr. Abdullah ARPACI

Üye: Prof. Dr. Lülüfer TAMER

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Serdar DOĞAN

Bu tez, Enstitümüz Tıp Biyokimya Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Prof. Dr. İbrahim Halil ÇERÇİ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmada, eğitim süresince değerli bilgi ve deneyimleriyle sosyal hayatta ve bilimsel çalışmalarda nasıl ilerlemem gerektiğini bir dost edasıyla gösteren, benden her türlü desteğini ve hoşgörüsünü esirgemeyen sorunların çözümünde yardımlarıyla yol gösteren, kıymetli zaman ve emeklerini bana ayırıp harcayan Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı aynı zamanda çok değerli tez hocam Prof. Dr. Abdullah ARPACI'ya en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Anabilim Dalı'na girişimden itibaren bana yol gösterip, emeğini, bilgisini ve tecrübesini benden esirgemeyen, her zaman yakın ilgi ve bilimsel desteğini gördüğüm değerli hocam Doç. Dr. Oğuzhan ÖZCAN'a, hayvan deneylerinde bana verdiği destekten dolayı Öğr. Üyesi. Suphi BAYRAKTAR'a teşekkür ederim.

Kalıcı dostluklar kurduğum ve birlikte güzel günler geçirdiğim tüm Biyokimya Anabilim Dalı çalışma arkadaşlarıma yardımları için teşekkür ederim.

Çalışmayı destekleyen Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'ne teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca her türlü fedakârlığı yapan ve her zaman desteklerini yanımda hissettiren annem Ayşe Duman'a ve babam Mustafa Duman'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER

|   |      |
|---|------|
| Kabul ve Onay.....                                      | II   |
| TEŞEKKÜR.....   | III  |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                                    | IV   |
| ÇİZELGELER DİZİNİ.....                                  | V    |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....                     | VI   |
| ÖZET.....   | VII  |
| ABSTRACT.....   | VIII |
| 1.GİRİŞ.....  | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER.....                                  | 3    |
| 2.1. Lipidler.....                                      | 3    |
| 2.1.1. Lipidlerin Tanımı ve Sınıflaması.....            | 3    |
| 2.2. Triaçilgliseroller.....                            | 3    |
| 2.3. Kolesterol.....                                    | 4    |
| 2.3.1. Kolesterol Metabolizması.....                    | 5    |
| 2.4. Lipoproteinler.....                                | 6    |
| 2.4.1.Lipoproteinlerin Yapısı ve Sınıflandırılması..... | 6    |
| 2.4.1.1. Şilomikronlar.....                             | 8    |
| 2.4.1.2. Çok Düşük Yoğunluklu Lipoproteinler.....       | 8    |
| 2.4.1.3.Orta Yoğunluklu Lipoprotein.....                | 9    |
| 2.4.1.4.Düşük Yoğunluklu Lipoprotein.....               | 9    |
| 2.4.1.5.Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein.....              | 9    |
| 2.4.1.6. Lipoprotein (a).....                           | 9    |
| 2.4.2. Lipoprotein Reseptörleri ve Lipid Taşınması..... | 9    |
| 2.4.2.1. LDL Reseptörü.....                             | 9    |

|   |    |
|---|----|
| 2.4.2.2. Çöpçü (Scavenger) Reseptör .....                                     | 10 |
| 2.4.3. Lipoprotein Metabolizması İçinde Enzimler ve Transfer Proteinleri..... | 10 |
| 2.4.3.1. Lipoprotein Lipaz.....   | 10 |
| 2.4.3.2. Hepatik Lipaz.....   | 10 |
| 2.4.3.3. Lesitin Kolesterol Açıltransferaz.....                               | 11 |
| 2.4.4. Lipoprotein Metabolizması.....   | 11 |
| 2.4.4.1. Eksojen Lipoprotein Yolu.....  | 12 |
| 2.4.4.2. Endojen Lipoprotein Yolu.....  | 12 |
| 2.5. Oxide LDL.....   | 13 |
| 2.6. Hiperlipidemi.....   | 15 |
| 2.6.1. Hiperlipidemi ve Ateroskleroz.....                                     | 17 |
| 2.6.2. Aterosklerozun Oksidatif Stress ile İlişkisi.....                      | 19 |
| 2.6.3. Hiperlipidemide Tedavi.....  | 20 |
| 2.7. Flavonoidler.....  | 21 |
| 2.7.1. Flavonoidlerin Tanımı.....   | 22 |
| 2.7.2. Absorbsiyon ve Emilimi.....  | 22 |
| 2.7.3. Flavonoidlerin Genel Özellikleri.....                                  | 22 |
| 2.7.4. Flavonidlerin Kimyasal Özellikleri.....                                | 22 |
| 2.8. Silibin.....   | 24 |
| 2.8.1. Silibin' nin Tanımı.....   | 24 |
| 2.8.2. Silibin'nin Özellikleri.....   | 25 |
| 2.8.3. Silibin'nin Kimyasal Yapısı.....                                       | 26 |
| 2.8.4. Silibin'nin Genel Özellikleri.....                                     | 27 |
| 2.8.5. Silibin'in Antioksidan Etkisi.....                                     | 27 |
| 2.8.6. Silibin'in Antiinflamatuvar Etkisi.....                                | 28 |

|  |    |
|--|----|
| 2.8.7. Silibin'in Lipit Metabolizması Üzerine Etkisi.....                  | 28 |
| 2.8.8. Silibin'in Karaciğer Lipidleri Üzerine Etkisi.....                  | 28 |
| 2.8.9. Silibinin Plazma Lipidleri ve Lipoproteinler Üzerindeki Etkisi..... | 29 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM.....  | 31 |
| 3.1. Gereçler.....   | 31 |
| 3.2. Deney Hayvanları.....   | 31 |
| 3.3. Deneysel Çalışma Yöntemi.....   | 32 |
| 3.4. Örneklerin Alınması ve Saklanması .....                               | 32 |
| 3.5. Biyokimyasal Analizler.....   | 33 |
| 3.5.1. OxLDL Analizi.....  | 33 |
| 3.5.2. Trigliserit, Kolesterol, LDL ve HDL Kolesterol Analizleri .....     | 34 |
| 3.5.2.1. LDL-Kolesterol.....   | 34 |
| 3.5.2.2. Trigliserit.....  | 33 |
| 3.5.2.3. HDL- Kolesterol.....  | 34 |
| 3.5.2.4. Total Kolesterol .....  | 34 |
| 3.5.3. TAS/TOS Analizi.....  | 34 |
| 3.5.4. Biyokimyasal Analiz Sonuçlarının İstatistiksel Analizi.....         | 35 |
| 4. BULGULAR.....   | 37 |
| 4.1. Ağırlık Ölçümleri.....  | 38 |
| 4.2. LDL, TG, HDL, Kolesterol, VLDL, OxLDL, TAS, TOS Değerleri.....        | 9  |
| 5. TARTIŞMA.....   | 46 |
| 6. SONUÇ.....  | 51 |
| 7. KAYNAKLAR.....  | 52 |
| ÖZGEÇMİŞ.....  | 58 |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|   |    |
|---|----|
| Şekil 2.1: Lipidlerin Sınıflaması .....   | 14 |
| Şekil 2.2: Triaçilgliserolün Yapısı.....  | 15 |
| Şekil 2.3. Kolesterolün Yapısı .....  | 16 |
| Şekil 2.4. Kolesterol Metabolizması.....  | 17 |
| Şekil 2.5.Lipoproteinlerin Yapısı.....  | 18 |
| Şekil 2.6. Lipoproteinlerin Sınıfları .....   | 18 |
| Şekil 2.7. Şilomikronların Yapısı .....   | 19 |
| Şekil 2.8. Lipoprotein Lipaz Enzimi .....   | 22 |
| Şekil 2.9. Aterosklerozda Ox-LDL' nin Rolü.....   | 26 |
| Şekil 2.10 Çoklu Risk Faktörü Müdahale Denemesinde Plazma Kolesterol Düzeyleri İle<br>Koroner Kalp Hastalığı (KKH) Mortalite Oranı Arasındaki İlişki..... | 28 |
| Şekil 2.11. Aterosklerozun Olşumu .....   | 29 |
| Şekil 2.12. Flavonoidlerin Yapısı .....   | 33 |
| Şekil 2.13. Flavonoidlerin Sınıflandırılması .....  | 34 |
| Şekil 2.14. Silybum Marianum .....  | 35 |
| Şekil 2.15. Silibin'in Kimyasal Yapısı .....  | 36 |
| Şekil 2.16. Silimarinin Bileşikleri .....   | 37 |
| Şekil 2.17. Silibin'in Kimyasal Yapısı .....  | 38 |
| Şekil 4.1. Grupların Başlangıç Ve Son Kilo Değerlerini Karşılaştırmada Kullanılan<br>Wilcoxon Signed Rank Test Sonuçları.....                             | 40 |
| Şekil 4.2. LDL Parametresinde İkili Kıyas İçin Bonferroni Düzeltmeli Çubuk Grafiği...   | 49 |
| Şekil 4.3.Kolesterol Parametresinde İkili Kıyas İçin Bonferroni Düzeltmeli Çubuk<br>Grafiği.....  | 52 |
| Şekil 4.4. TG Parametresinde İkili Kıyas İçin Bonferroni Düzeltmeli Çubuk Grafiği.....  | 51 |
| Şekil 4.5. HDL Parametresinde İkili Kıyas İçin Bonferroni Düzeltmeli Çubuk Grafiği....  | 52 |
| Şekil 4.6. VLDL Parametresinde İkili Kıyas İçin Bonferroni Düzeltmeli Çubuk Grafiği...  | 53 |
| Şekil 4.7. OxLDL Parametresinde İkili Kıyas İçin Bonferroni Düzeltmeli Çubuk Grafiği.   | 54 |
| Şekil 4.8. TAS Parametresinde İkili Kıyas İçin Bonferroni Düzeltmeli Çubuk Grafiği....  | 55 |
| Şekil 4.9 TOS Parametresinde İkili Kıyas İçin Bonferroni Düzeltmeli Çubuk Grafiği..   | 55 |



## ÇİZELGELER DİZİNİ

|  |    |
|--|----|
| Çizelge 3.1. Çalışmada Kullanılan Ratların Dağılımı.....   | 47 |
| Çizelge 4.1. Grupların Başlangıç Ve Son Kilom Değerlerini Karşılaştırmada Kullanılan<br>Wilcoxon Signed Rank Test Sonuçları..... | 47 |
| Çizelge 4.2.Dört Bağımsız Grup İçin Kruskal Wallis Analizine Göre Bulunan Sonuçlar....   | 48 |
| Çizelge 4.3. LDL Parametresinde İkili Kıyas İçin Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney<br>U Testi.....                              | 49 |
| Çizelge 4.4. Kolesterol Parametresinde İkili Kıyas İçin Bonferroni Düzeltmeli Mann<br>Whitney U Testi.....                       | 50 |
| Çizelge 4.5.TG Parametresinde İkili Kıyas İçin Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U<br>Testi.....                                | 52 |
| Çizelge 4.6. VLDL Parametresinde İkili Kıyas İçin Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney<br>U Testi.....                             | 53 |
| Çizelge 4.7.OxLDL Parametresinde İkili Kıyas İçin Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney<br>U Testi.....                             | 55 |
| Çizelge 4.8. TAS Parametresinde İkili Kıyas İçin Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U<br>Testi.....                              | 56 |

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ApoB-100 :Apolipoprotein B-100

apo C-II :Apolipoprotein CII

Apo C-III :Apolipoprotein CIII

Apo E :Apolipoprotein E

CRP :C-Reaktif Protein

CH3 :Metil

COOH :Karboksil

HDL :Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein

HMGCoA :Hidroksi Metil-Glutaril Koenzim A

IDL :Orta Yoğunluklu Lipoprotein

KKH :Koroner Kalp Hastalığı

LCAT :Lesitin Kolesterol Açıltransferaz

LDL :Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

LPL :Lipoprotein Lipaz

Lp (a) :Lipoprotein (a)

MDA :Malondialdehit

Mg :Magnezyum

MPO :Miyeloperoksidaz

NCEP :Ulusal Kolesterol Eğitim Programı

NCEP ATP III :Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Uzman Paneli'nin Üçüncü Raporu

|       |                                   |
|-------|-----------------------------------|
| NF-κB | :Nükleer Faktör Kappa B           |
| OxLDL | :Oxide LDL                        |
| RNS   | :Reaktif Azot Türleri             |
| ROS   | : Reaktif Oksijen Türleri         |
| TAS   | :Total Antioksidan                |
| TG    | :Trigliserit                      |
| TOS   | :Total Oksidan                    |
| VLDL  | :Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein |
| YA    | :Yağ Asitleri                     |
| WHO   | :Dünya Sağlık Teşkilatı           |

## ÖZET

### **Yüksek Kolesterol Diyetle Beslenen Ratlarda Silibin'in Hiperlipidemi Üzerine Etkisi**

Hiperlipidemi aterosklerozun ana nedenidir ve ateroskleroz ile ilişkili durumlar, (Koroner Kalp Hastalığı, iskemik serebrovasküler hastalık ve periferik vasküler hastalık gibi) halen dünyada en çok ölüm nedeni olan hastalıklardır. Hipolipidemik ilaçlar mevcut olmasına rağmen, daha etkin bir hipolipidemik ajan arayışı devam etmektedir. Silymarin, yenilebilir bir bitki; süt dikenininin (Silybum marinum) elde edilen bir grup flavonoid karışımı olup, 2000 yıldan uzun bir süredir karaciğer ile ilgili bozuklukların tedavisinde bitkisel bir ilaç olarak kullanılmıştır. Silybin'in hiperlipidemiye etkisi birçok çalışma tarafından desteklenmekte ve Silymarin izomerlerinden en aktif olan Silybin olup hala Silybin ile ilgili çalışmalar devam etmektedir. Silybin kolay erişilebilirlik ve düşük maliyet avantajlarına sahip olmasının yanı sıra anti hiperlipidemik etkisi bir çok çalışmayla desteklenmiştir. Dolayısıyla, antilipidemik olarak Silybin hiperlipidemi tedavisinde kullanılabileceği düşünülebilir. Biz çalışmamızda obez haline getirdiğimiz ratlarda Silybin'in hiperkolesterolemi üzerine etkisini incelenmesi amaçlandı.

Biz bu çalışmada deneysel obez sıçan modellerinde Silybinin, serum LDL, Total Kolesterol, VLDL, HDL, TG, OxLDL düzeylerine etkisini incelendi. Ayrıca silibinin antioksidan etkisini gözlemlemek için TAS, TOS parametrelerini çalışıldı. Elde edilen sonuçlarda sıçanları obez haline getirildi. Sıçanların ilk kilo ve son kiloları arasında anlamlı bir fark bulundu ( $p=0.01$ ). Çalışmamızda standart diyet (SD) uygulanan grup, yüksek kolesterollü diyet (YKD) uygulanan grup, yüksek yağlı diyete ek olarak son 7 gün yumurta verilen grup ve Yüksek Kolesterol Diyeti + Silybin 50mg / kg ve Yüksek Kolesterol Diyeti + Silybin 100mg / kg deneyin başlamasından 60 gün önce ve deney sırasında (7 gün) yumurta sarısı ile beslendi. Daha sonra iki gruba 50 mg ve 100mg Silybin 7 gün boyunca uygulandı.

Çalışmamızda yüksek kolesterollü diyet ile beslenen gruplar ile kontrol grubu arasında TK, LDL ve TG, VLDL seviyelerini anlamlı bir şekilde yükseltirken, HDL seviyesinde kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma olduğu görüldü ( $p=0.001$ ). Yüksek kolesterol ile beslenen grupların kontrol grubu ile arasında antioksidan parametrelerine baktığımızda ise; OxLDL ve TAS seviyelerinde yine anlamlı bir fark olduğu saptandı ( $p=0,037$   $p=0,1$ ). Anlamlı farkın hangi iki grup arasında olduğuna baktığımızda ise farklı dozlarda Silybin'e maruz bırakılan gruplarla diğer gruplar arasında TK, LDL ve TG, VLDL, TOS gruplarında anlamlı bir fark saptanmadı; OxLDL ve antioksidan parametre olan TAS seviyesinde anlamlı bir fark olduğu saptandı ( $p=0.004$ ). TAS (Total Antioksidan) parametresinde kontrol grubu ile hiperkolesterolemik grup ve Silybin verilen grup arasında hatta Silybin ile 50 mg Silybin arasında anlamlı fark olduğunu bulundu ( $p< 0,008$ ).

**Anahtar Kelimeler:** Silybin, Hiperlipidemi, Ateroskleroz, LDL, HDL

## ABSTRACT

### **The Effect Of Silybin On Hyperlipidemia In Rats Fed High Cholesterol Diet**

Hyperlipidemia is the main cause of atherosclerosis and the conditions associated with atherosclerosis, such as coronary heart disease, ischemic cerebrovascular disease and peripheral vascular disease, these diseases are still the most common diseases in the world. Although hypolipidemic drugs are available, the search for a more effective hypolipidemic agent continues.

Silymarin, an edible plant; milk spines; (*Silybum maritimum*); It is a mixture of flavonolignans and has been used as a herbal remedy for the treatment of liver-related disorders for more than 2000 years. Silybin effect on hyperlipidemia is supported by many studies and studies are still in progress about silibin. Silybin has the advantages of easy accessibility and low cost. Therefore, it may be considered that in the treatment of silibin hyperlipidemia as antilipidemic.

We studied the effect of Silybinin, serum LDL, Total Cholesterol, VLDL, HDL, TG, OxLDL on obese rats (fed with egg yolk for 60 days before and during the experiment) for 60 days before the start of the experiment. We also studied TAS, TOS parameters to observe the antioxidant effect of Silybin. The results obtained were able to render the rats obese. We found a significant difference between the first weight and the final weight of rats ( $p = 0.01$ ) In our study, standard diet (SD), personal group, high cholesterol diet (PDD), group group, high fat diet group in addition to the last 7 years group and High Cholesterol Diet + Silybin 50mg / kg and High Cholesterol Diet + Silybin 100mg / kg 60 days ago, and the experiences (7 days) were fed with egg yolk. Then 50 mg and 100 mg Silybin were administered to two groups for 7 days.

In our study, TC, LDL and TG, VLDL levels were significantly increased among the groups fed with high fat diet and control group ( $p = 0.001$ ). When we look at the antioxidant parameters between the control group and the groups fed with high cholesterol; OxLDL and TAS levels were found to be significant again. There was no significant difference between the groups exposed to different doses of Silybin and the other groups in the TC, LDL and TG, VLDL, OxLDL, TOS groups, and there was a significant difference in the level of TAS, which is the only antioxidant parameter. In the TAS (Total Antioxidant) parameter, we found that there was a significant difference between the control group and hypercholesterolemic and silibin and even silibin with 50 mg silibin. ( $p < 0.008$ ).

**Key words:** Silibin, Hyperlipidemia, Atherosclerosis, LDL, HDL

# 1.GİRİŞ

Lipidler organizmanın enerji deposu ve yapısal elemanıdır. Hücre zarı, steroid hormon ve safra asitlerinin yapısında ve beyin dokusunda fazla miktarda bulunur. Trigliseridler, adipoz hücrelerde enerji saklama deposu olarak görev yapar ve aynı zamanda ısı yalıtımı sağlar. Steroid hormonları gibi bazı lipidler, hücreler, dokular ve organlar arasındaki kimyasal haberciler olarak hizmet ederler ve hücre içinde biyokimyasal sistemler içinde iletişimi sağlarlar (Thomas 2018).

Gelişmiş ülkelerde ateroskleroz ölümlerin en başta gelen sebebidir. Bu nedenle, aterosklerozun epidemiyolojisi, patogenezi ve mümkün olduğunca erken teşhis ve tedavisi üzerinde yıllardır yoğun bir şekilde çalışılmaktadır. Günümüzde artık ateroskleroz gelişiminden tek başına kolesterolün sorumlu olduğu fikri yetersiz kalmış bunun yerine kolesterolün dağılımı ve taşınmasının daha önemli olduğu düşüncesi önem kazanmıştır. Lipoprotein metabolizmasında özellikle düşük dansiteli lipoprotein (LDL) modifiye olursa organizma için zararlı hale gelir ve LDL, okside-LDL (OxLDL)'ye dönüştüğü zaman aterojenik özellik kazanır (Virella ve ark 2002).

Hiperlipidemi aterosklerozun ana nedenidir. Ateroskleroz ile ilişkili durumlar, Koroner Kalp Hastalığı (KKH), iskemik serebrovasküler hastalık ve periferik vasküler hastalık gibi durumlarla ilişkilidir. Artan aterojenik riskin başlıca nedenleri hiperkolesterolemi ve düşük HDL (yüksek yoğunluklu lipoprotein) düzeyleridir (Thomas ve ark 2011). Çoklu Risk Faktörü Müdahale Denemesi'nde (Stamler ve ark 1986), serum kolesterol seviyesi ile takip eden KKH arasındaki ilişki yüksek dereceli ve güçlü bulunmuştur. IDL (ara dansiteli lipoprotein) ve LDL'nin (düşük dansiteli lipoprotein) aterojenik potansiyeline karşıt olarak, HDL (yüksek dansiteli lipoprotein) partikülleri aterosklerotik plak oluşumuna karşı koruyucudur. Yüksek HDL seviyeleri düşük KKH insidansı ile ilişkilidir. HDL, periferik dokulardan karaciğere kolesterolün geri taşınımında ve yerel olarak anti-inflamatuar ve anti-oksidatif aracı olarak rol oynamaktadır. (Park K 2011).

Yaşam tarzı modifikasyonuna ek olarak, ikincil önlemedeki tüm hastalar ve risk faktörleri olan (Diyabet, Hipertansiyon, Düşük HDL, LDL, Aile öyküsü) hastalar, lipid düşürücü ilaç tedavisine ihtiyaç duyar. Dislipidemi ilaç tedavisi KKH riskini ve total

mortaliteyi azaltmak için güvenli ve etkili bir yöntemdir. Dislipidemilerin lipid düşürücü ilaçlarla tedavisi ile KKH 'nin göreceli riski % 25-30 oranında azaltılabilir (Stamler ve Wentworth 1986). Statinler, safra asidi kesiciler, nikotinic asit, fibratların gibi hipolipidemik ilaçların, miyopati gibi yan etkileri vardır. Hiperlipidemik ilaçların yan etkilerinden dolayı daha güvenli ilaçlar aranmaya devam etmektedir (Smith ve ark 2006).

Silymarin, yenilebilir bir bitki; süt dikeninden (Silybum maritimum) elde edilen bir grup flavonoid karışımı olup, 2000 yıldan uzun bir süredir karaciğer ile ilgili bozuklukların tedavisinde bitkisel bir ilaç olarak kullanılmıştır. Silymarin, dört tane flavonoid izomeri, yani silybin, izosilybin, silibinin ve silikristinden oluşur. Bütün bu bileşikler polifenolik maddelerdir. Bunların arasında, Silybin (silibinin) en aktif maddedir ve silymarinin iddia edilen faydasından büyük ölçüde sorumludur. Hepatositte alıcı bölgeye bağlanarak hepatotoksin inhibisyonuna, glutatyon oksidasyonunda azalmaya, antioksidan aktiviteye, ribozomal RNA polimeraz uyarımı ve daha sonra protein sentezine ve hepatosit artışına neden olur. Silymarin'in başlıca hücre membranının geçirgenliğinin taşıyıcı aracılı regülasyonu, 5-lipoksigenaz yolağının inhibisyonu, R-OH türünün reaktif oksijen türlerinin (ROS) temizlenmesi, gen ekspresyonu üzerine NF-κB (nükleer faktör kappa B) regülasyonu gibi metabolik ve hücre düzenleyici etkileri vardır. (Senthil ve ark 2016).

Hipolipidemik ilaçlar mevcut olmasına rağmen, daha etkin bir hipolipidemik ajan arayışı devam etmekte olduğu için; bizler bu çalışmada yüksek kolesterol diyeti ile beslenen sıçanlarda Silybin'in hiperlipidemiye olan etkisinin araştırılması amaçlandı.

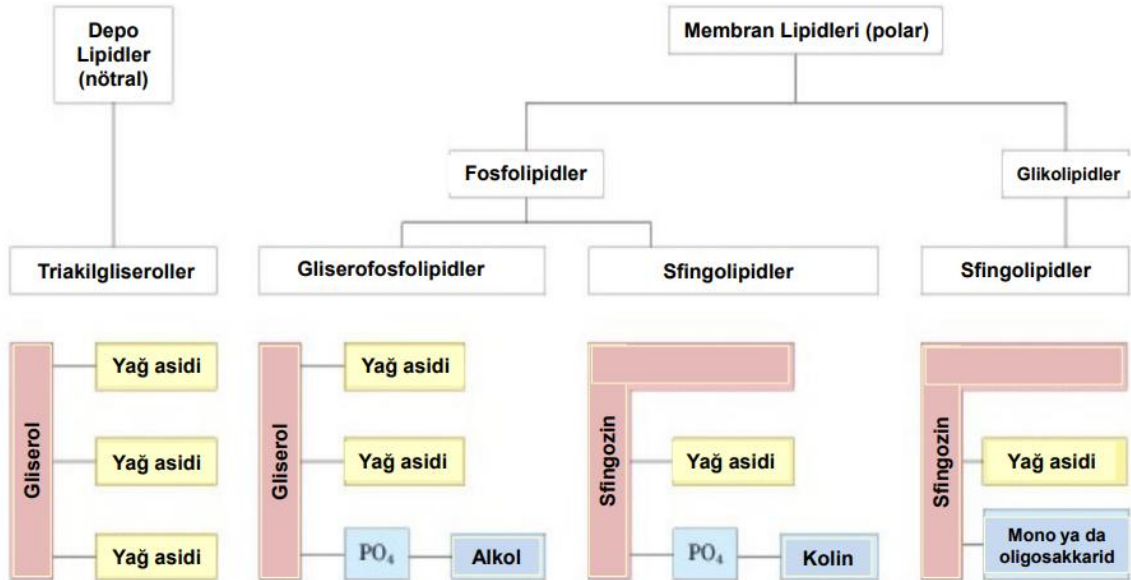
## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1.Lipidler

#### 2.1.1 Lipidlerin Tanımı ve Sınıflaması

Sulu çözelti içinde çözünmeyen ve organik çözücüler içinde çözünebilen biyolojik moleküller, lipitler olarak sınıflandırılır(Şekil 2.1). Lipidlerin, insan organizmasında, depo ve yapısal fonksiyonu önemlidir. Trigliseridler, enerji yedeğini oluşturmak üzere depolanırlar ve depo lipidler olarak bilinirler. Membranların ve steroid hormonların, vitamin D gibi bazı önemli maddelerin yapısını oluşturan fosfolipidler, glikolipidler ve kolesterol, yapısal lipidler olarak bilinirler (Cannon ve ark. 2004).

Basit lipidler; yağ asitlerinin çeşitli alkollerle oluşturdukları esterlerdir. Bileşik lipidler; yağ asitleri ve alkole ek olarak başka gruplar içeren lipidlerdir. Fosfolipitler vücutta iki önemli rol üstlenir: Birincisi oldukça karmaşık yapıdaki membran lipidlerinin bileşeni olarak ve ikincisi triaçilgliserol şeklinde depolanan yağların en önemli bileşenlerinden biri olarak görev alırlar ( Grundy ve ark 2004).

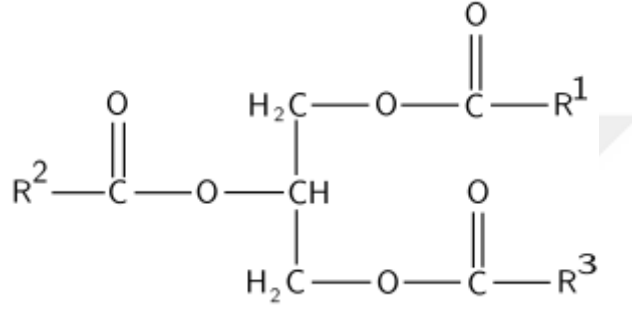


Şekil 2. 2. Lipidlerin sınıflaması (Eoin Fahy ve ark 2014).



## 2.2. Triaçilgliseroller

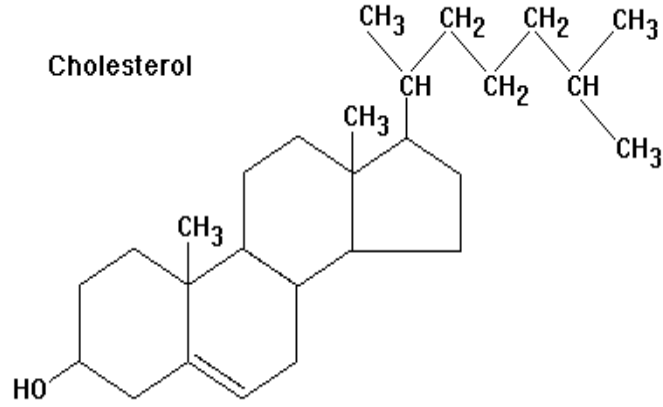
Vücutta protein ve karbonhidrat metabolizması sırasında oluşan enerjinin fazlası, yağ asitlerinin sentezinde ve bunların triaçilgliserol (nötral yağ) şeklinde yağ dokusu hücrelerinin sitozolünde depolanmasında kullanılmaktadır (Şekil 2. 2). Gliserol molekülünde bulunan üç hidroksil (-OH) grubunun her biri, triaçilgliserol mlekülünü oluşturmak üzere bir yağ asidi molekülünün karboksil (-COOH) grubu ile reaksiyona sokularak bir ester bağı oluşturur (Dennis EA ve ark 2010).



Şekil 2. 2. Triaçilgliserolün yapısı (Dennis EA ve ark 2010)

## 2.3. Kolesterol

Kolesterol, membran yapısında yer alır ve steroid hormonları ile safra asitlerinin öncüsüdür. Kolesterolün *de novo* sentezinin gerçekleştiği majör doku karaciğerdir ( Şekil 2. 3). Bunun yanında kolesterol barsak, adrenal korteks, deri ve diğer dokularda da sentezlenir. Sentezden hücrenin sitozol ve endoplazmik retikulum fraksiyonları sorumludur. Diyetle alınan ve vücutta *de novo* sentezlenen kolesterol plazmada lipoprotein partikülleri içinde taşınırlar ( Malloy MJ ve ark 2004). Özellikle koroner arterlerde olmak üzere kolesterol ve kolesterolden zengin lipoproteinler arter duvarlarında birikerek ateroskleroza neden olur. Normal bir yetişkinde günde diyetle alınan kolesterol ortalama 200- 3000 mg, sentezlenen miktarlar ise 1 g kadardır. Kolesterolün 50 mg/gün kadarı ise steroid hormon ve D vitaminine dönüşmektedir. Kolesterolün yapısında bulunan tüm karbonlar asetattan sağlanır (Smith AD 2000).

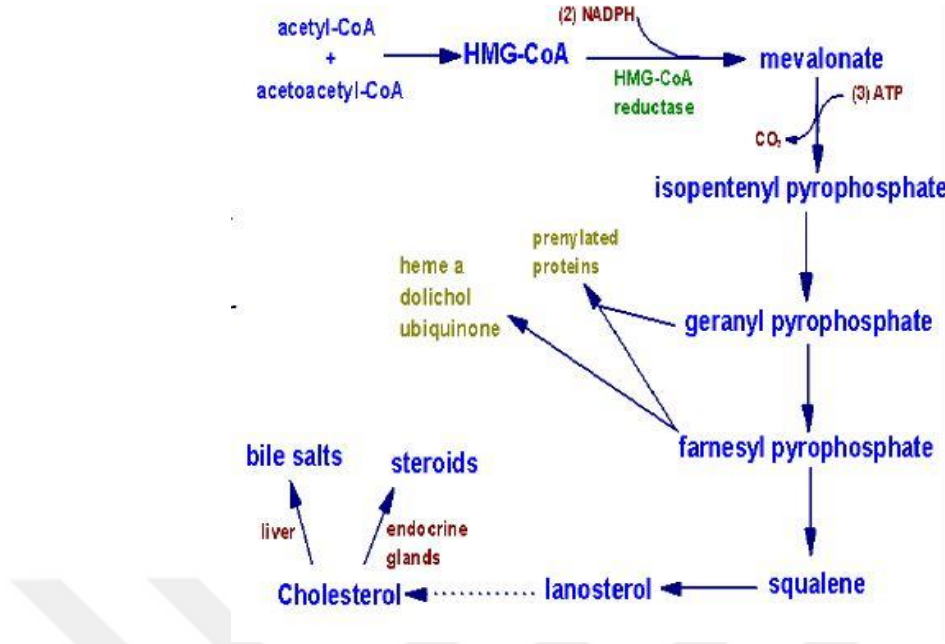


Şekil 2. 3. Kolesterolün Yapısı (Rustan ve ark. 2015)

Kolesterol, lipid sınıfının büyük bir alt grubunu oluşturan steroidlerin bir üyesidir; molekül yapısı, steroid yapıda ortak özellik olan bir steran halkası içerir. Kolesterolün steran halkasının 3 nolu karbonunda bir hidroksil (-OH) grubu bulunur; 5. ve 6. karbonlar arasında bir çift bağ vardır; 10. ve 13. karbonlarda birer metil (-CH<sub>3</sub>) grubu ve 17 no'lu karbondaki 8 karbonlu bir yan zincir bulunur. 3 no'lu karbondaki hidroksil grubu ile 10 no'lu karbondaki metil grubu uzayda düzlemin aynı tarafında ve halka yüzeyinin üstünde bulunurlar ki molekülün bu biçimine cis- veya β-konfigürasyon denir( Fahy ve ark 2007).

### 2.3.1 Kolesterol Metabolizması

Asetil KoA'nın 3-hidroksi-3-metil-glutaril Koenzim A (HMG KoA)'ya çevrildikten sonra 6 C'lu bir bileşik olan mevalonat HMG KoA'dan sentezlenir. Mevalonattan CO<sub>2</sub> kaybedilmesi ile izoprenoid birimleri oluşur (Mg, ATP kullanılır) ve altı tane izoprenoid birimin bir ara ürün olan skualen yapmak üzere kondansasyona uğradıktan sonra skualen, ata steroid olan lanosterole çevrilir. Lanosterolün kolesterole dönüşümü düz endoplazmik retikulum membranında birçok enzimatik reaksiyon sayesinde gerçekleşir. Sitozolde bulunan özgün bir sterol taşıyıcı proteinin varlığı reaksiyonların gerçekleşmesi için gereklidir (Malloy ve ark 2004).



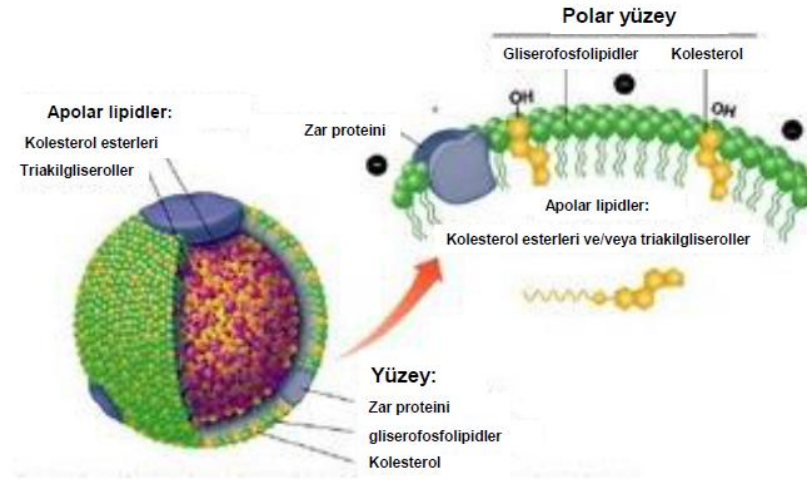
Şekil 2. 4. Kolesterol Metabolizması (Malloy ve ark 2004)

## 2.4. Lipoproteinler

Lipoproteinler, fosfolipidler, kolesterol, kolesterol esterleri ve trigliseridlerin çeşitli kombinasyonları ile apolipoproteinler denen spesifik taşıyıcı proteinlerin moleküler agregatlarıdır (Thaxton ve ark 2016).

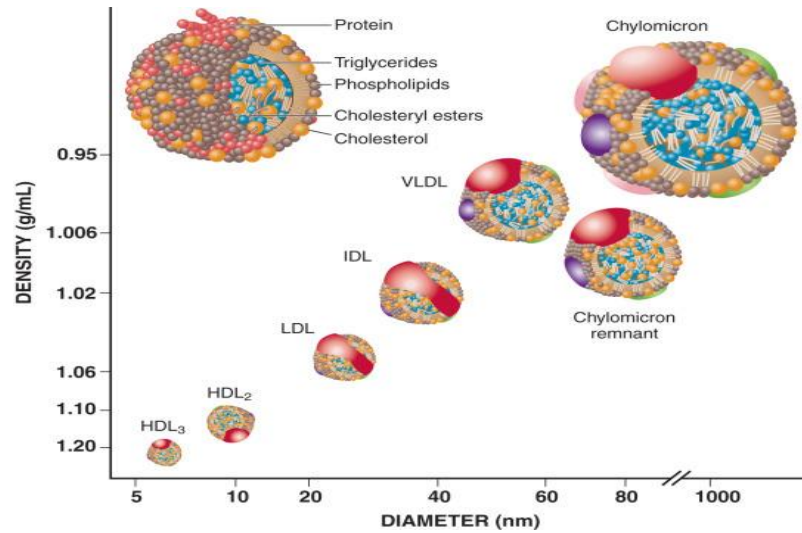
### 2.4.1. Lipoproteinlerin Yapısı ve Sınıflandırılması

Lipoproteinler, esas olarak kolesterol esterleri ve trigliseritler olmak üzere polar olmayan lipitler ile merkezi bir hidrofobik çekirdekten oluşan karmaşık parçacıklardır. Bu hidrofobik çekirdek, fosfolipitler, serbest kolesterol ve apolipoproteinlerden oluşan bir hidrofobik çekirdek, fosfolipitler, serbest kolesterol ve apolipoproteinlerden oluşan bir hidrofobik çekirdek ile çevrilidir. Plazma lipoproteinleri, büyüklük, lipit bileşimi ve apolipoproteinlere göre yedi sınıfa ayrılır (Hartler J ve ark 2011).



Şekil 2.5. Lipoproteinlerin yapısı (Kenneth ve ark 2018)

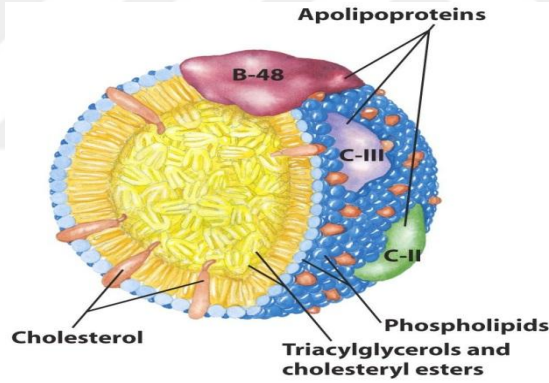
Ultrasantrifüj; lipoproteinleri yoğunluğuna göre ayırır. Bir lipoprotein parçacığının yoğunluğu çoğunlukla protein ve trigliserit içeriği ile belirlenir. (Garg ve Simha 2007). Yoğunluklarına göre yukarıdan aşağıya doğru şilomikronlar, VLDL (çok düşük yoğunluklu lipoprotein), IDL (orta yoğunluklu lipoprotein), LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein), ve HDL (yüksek yoğunluklu lipoprotein), HDL<sub>1</sub> (yüksek yoğunluklu lipoprotein 1), ve HDL<sub>2</sub> (yüksek yoğunluklu lipoprotein 2) olarak yedi gruba ayrılır (Song ve ark 2009).



Şekil 2.6 Lipoproteinlerin Sınıfları (Advances Protein Chemistry 45: 1994)

### 2.4.1.1.Şilomikronlar

Şilomikronlar, bağırsak tarafından üretilen trigliseritlerin ve kolesterolün periferik dokulara ve karaciğere taşınmasında rol oynayan trigliseritten zengin büyük partiküllerdir (Feingold ve Grunfeld 2012). Her bir lipoprotein partikülü apoB-48 veya apo B-100 (VLDL, IDL, LDL)' den birini tanır. Apo B-48 barsakta sentezlenirken, apoB-100 karaciğerde sentezlenir. Barsak lümeninden emilerek epitel hücrelerinde kolesterol esterleri ve TG' lere dönüştürülen diyetteki yağlar, apo B -48, apo A-I ve apo A-IV ile birleşerek şilomikron partiküllerini oluşturur. Emilen şilomikronlar lenfatikler aracılığıyla dolaşım sistemine ulaşır. apoB- 48 taşıyan büyük lipoprotein patikülleri monosit, makrofaj ve endotel hücresi yüzeyinde yeni tanımlanmış olan apoB- 48 reseptörüne bağlanarak bu hücrelerin köpük hücre şekline değişmesine sebep olabilir (Feingold ve Grunfeld 2012).



Şekil 2. 7.Şilomikronların yapısı(<https://www.recepalanli.com/kolesterolyuksekligi/>) Erişim tarihi (05.06.2018)

### 2.4.1.2.Çok Düşük Yoğunluklu Lipoproteinler (VLDL)

Şilomikronlardan daha küçüktürler. Endojen trigliserid bakımından oldukça zengindir. Diyet, enerji gereksiniminden fazla yağ asidi içerirse, yağ asitleri karaciğerde trigliserid haline dönüşürler, oluşan endojen trigliseridler VLDL'lerin yapısına katılırlar. VLDL, karaciğerde sentezlenen trigliserid ve kolesterolü ekstrahepatik dokulara taşır (Wang F 2015).

### **2.4.1.3.Orta Yoğunluklu Lipoprotein (IDL; VLDL kalıntıları)**

VLDL'den kas ve yağ dokusu ile trigliseritlerin uzaklaştırılması, kolesterol ile zenginleştirilmiş IDL partiküllerinin oluşmasıyla sonuçlanır. Bu parçacıklar, apo B-100 ve E'yi içerir. Bu IDL parçacıkları, pro-aterojeniktir (Huang ve ark 2015).

### **2.4.1.4.Düşük Yoğunluklu Lipoproteinler (LDL)**

Düşük Dansiteli Lipoprotein (LDL), VLDL artığı olarak damar içinde sentezlenir. Trigliserid içerikleri çok az, kolesterol ve kolesterol esterlerinden zengin lipoproteinlerdir. Temel apolipoproteinleri ApoB-100'dür. LDL'ler, kolesterolü karaciğerden başka dokulara taşırlar. Ekstrahepatik dokular, ApoB-100'ü tanıyan spesifik yüzey reseptörlerine sahiptirler. ApoB-100'ü tanıyan reseptörler, kolesterol ve kolesterol esterlerinin dokular tarafından alınmasına aracılık ederler (Hubacek 2016).

### **2.4.1.5.Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (HDL)**

HDL'ler, karaciğerde ve ince bağırsak duvarında sentezlenirler. Karaciğerde ve ince bağırsak duvarında sentezlenen HDL, diskoidal şekillidir; ApoA-I, ApoA-II, lesitin ve serbest kolesterol içerir. Yeni sentezlenen ve kan dolaşımına salıverilen HDL, dolaşımdaki diğer lipoproteinlerden kolesterol esterlerini toplar ve küre şekilli olgun HDL şekline dönüşür. LDL'nin aksine dokulardan karaciğere ters kolesterol taşınımından sorumludur (Wolska 2017).

### **2.4.1.6.Lipoprotein (a) (Lp (a))**

Lp (a), disülfür bağı yoluyla Apo B-100'e bağlanmış apolipoprotein (a) 'ya sahip bir LDL parçacığdır. Bu parçacık pro-aterojeniktir. Bu lipoproteinin fizyolojik işlevi bilinmemektedir (Huang ve ark 2015).

## **2.4.2. Lipoprotein Reseptörleri**

Lipoprotein metabolizmasında önemli bir rol oynayan birkaç alıcı ve taşıyıcı vardır.

### **2.4.2.1.LDL reseptörü**

LDL reseptörü karaciğerde ve diğer birçok dokularda bulunur. Apo B-100 ve Apo E'yi tanıır ve bu nedenle endositoz yoluyla LDL, şilomikron kalıntıları ve IDL'nin tutulumuna aracılık

eder. Daha sonra lipoprotein parçacığı lizozomlarda parçalanır ve kolesterol serbest bırakılır. Kolesterolün hücreye verilmesi kolesterolün biyosentezinde anahtar bir enzim olan HMGCoA redüktaz aktivitesini ve LDL reseptörlerinin ekspresyonunu azaltır (Goldstein ve Brown 2009). Karaciğerdeki LDL reseptörleri, plazma LDL seviyelerini belirlemede önemli bir rol oynamaktadır (düşük sayıda reseptör, yüksek plazma LDL seviyeleri ile ilişkili iken, yüksek sayıda hepatik LDL reseptörü düşük plazma LDL seviyeleri ile ilişkilidir). LDL reseptörlerinin sayısı, hücrenin içeriğiği kolesterol tarafından düzenlenir (Goldstein ve Bose-Boyd 2006).

#### **2.4.2.2.Çöpçü (Scavenger) Reseptör**

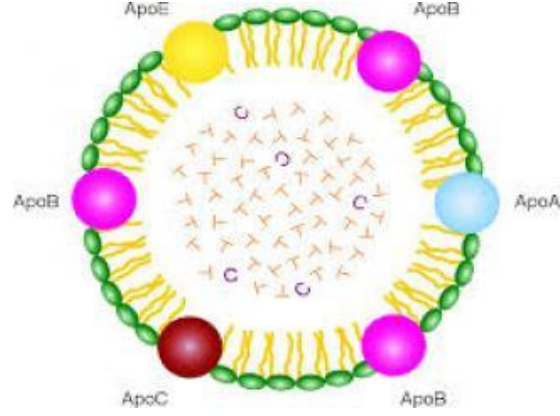
Bu reseptör ailesinde SR sınıf A, B, C, D ve E reseptörleri bulunur. Çöpçü reseptörlerin tipik özelliği, negatif yüklü ligandları ve okside LDL gibi modifiye proteinleri alıp plazmadan temizlemesidir (Sud ve ark 2007).

#### **2.4.3 Lipoprotein Metabolizması İçinde Enzimler Ve Transfer Proteinleri**

Lipoprotein metabolizmasında kilit rol oynayan birkaç enzim ve transfer proteinleri vardır.

##### **2.4.3.1.Lipoprotein lipaz (LPL)**

LPL kas, kalp ve yağ dokusunda sentezlenir, daha sonra salgılanır ve komşu kan kılcal damarlarının endoteline eklenir. Bu enzim, hücreler tarafından alınan yağ asitlerini, şilomikronları ve VLDL'de taşınan trigliseritleri hidroliz eder. Lipoproteinlerdeki trigliseridleri hidrolize ederek fosfolipidlerin serbestleşmesini sağlar. Bu reaksiyonda apoC-II bir kofaktör olarak rol alır. Apo C-III ise, bu reaksiyonda inhibitör bir etki göstererek dengeleyici bir görev üstlenir. Yağ dokusunda bulunan trigliseridlerin hidrolizini “hormon duyarlı lipaz enzimi” sağlar. Bu enzim, özellikle açlıkta enerji sağlanmasında etkilidir (Olivecrona 2016).



Şekil 2.8 Lipoprotein Lipaz Enzimi (Feingold ve Grunfeld 2012)

### 2.4.3.2.Hepatik lipaz

Karaciğer hücrelerinin sinüzoidal yüzeyine lokalize olan hepatik lipaz, IDL ve LDL içerisindeki trigliseritlerin ve fosfolipitlerin hidrolizine, daha küçük partiküllerin oluşmasına yol açar (IDL, LDL'ye dönüştürülür; LDL, büyük LDL'den küçük LDL'ye dönüştürülür). Aynı zamanda, HDL içindeki trigliseritlerin ve fosfolipitlerin hidrolizine aracılık eder ve daha küçük HDL parçacıklarına neden olur (Plasma Lipid and Lipoprotein Metabolism, Feingold KR, 2015).

### 2.4.3.3.Lesitin kolesterol açıltransferaz (LCAT)

LCAT sentezi karaciğere yapılır ve aktivasyonu için apo A-I'e ihtiyaç duyulur. Asıl görevi HDL kolesterolünü lesitinden aldığı bir yağ asidi ile kolesterol esteri haline dönüştürmektir ve kolesterolden zengin HDL'nin oluşmasını sağlamaktır (Ossoli A ve ark 2015).

### 2.4.4 Lipoprotein Metabolizması

Lipoprotein metabolizması iki yol ile meydana gelmektedir. Bunlar oluşan lipidin kaynağına göre, eksojen ve endojen yollardır. Karaciğer, bu iki yolda da bir koordinatör olarak rol alır. Apolipoproteinler, enzimler ve reseptörler de bu yolun regülasyonunda görev alırlar(Pan ve Segrest 2016).



#### **2.4.4.1. Eksojen Lipoprotein Yolu**

Lipoproteinlerin büyük kısmı diyetteki yağın taşınmasında kullanılır. Yağlı bir yemekten sonra, diyetteki kolesterol ve trigliserid ince barsak epitel hücrelerinde şilomikron denilen büyük lipoprotein partiküllerini oluşturur. Şilomikronlar mezenterik lenf kanallarından duktus torasikus yolu ile genel dolaşıma geçer. Bu sekresyon sırasında şilomikronlar apo A-I, apo A-II ve apo A-IV' ü taşır, sekresyondan sonra ise apo C ve HDL'den transfer edilen apo E'yi kazanır. (Fahy ve ark 2007). Yağ asitleri, endotelial hücreler arasından geçerek yağ ve kas hücrelerine girer. Orada ya yeniden trigliseridlere esterleşir, ya da oksitlenir. Şilomikronların çekirdeklerindeki TG'ler serbest bırakıldıktan sonra, geri kalan kısmı kapiller endotelinden ayrılarak tekrar dolaşıma katılır. Böylece TG'den fakir ve kolesterol esterlerinden zengin bir partikül oluşur. Oluşan partikül aynı zamanda apo B, apo C-III ve apo E'den zengindir (Soydan 2002).

Özetle, şilomikron transport işleminin sonucu, diyetteki TG'in yağ dokusuna, kolesterolün ise karaciğere taşınmasıdır. Karaciğere ulaşan kolesterolün bir kısmı safra asitlerine çevrilir. Kolesterolün safra asitlerinin meydana gelmesi 7- $\alpha$  hidroksilaz enziminin aktivitesine dayanmaktadır. Böylece diyetteki yağın absorpsiyonu kolaylaşır. Ayrıca bir kısım kolesterol de metabolize olmadan safra yoluna atılır. Kolesterolün geri kalan kısmı ise, karaciğer tarafından diğer organlara dağıtılır (Ginsberg ve ark 2010).

#### **2.4.4.2. Endojen Lipoprotein Yolu**

Diyetle aşırı miktarda karbonhidrat alındığı zaman, karaciğerde TG sentezi artar. Karaciğer diyet ile alınan karbonhidratı yağ asitlerine (YA) çevirir. YA, gliserol ile esterleştirilir ve oluşan TG'ler VLDL halinde kana verilir. Bu işlem hepatositlerin endoplazmik retikulumunda meydana gelir. Bu partiküller, TG'den zengin ve aynı zamanda kolesterol esterleri de içeren bir çekirdek ile karakterizedir. VLDL kolesterol partikülleri doku kapillerlerine taşınır ve orada LPL enzimi ile reaksiyona girer (Oğuz 2002). VLDL partikülü kolesterolün zengin LDL'ye dönüşür. LDL kolesterolü hemen hemen tamamen kolesterol esterlerinden ibarettir ve yüzeyinde sadece apo B bulunur (Malloy ve Kane 2004).

LDL kolesterol, karaciğer haricinde adrenal korteks hücreleri, lenfositler, kas hücreleri gibi çeşitli ekstrahepatik parankim hücrelerine kolesterol sağlamaktadır. Bu hücrelerde, hücre yüzeyine yerleşmiş LDL reseptörleri vardır. Bu reseptöre bağlanan LDL kolesterol, reseptörün sağladığı ortamda endositoza uğrar ve hücrelerdeki lizozomlar tarafından sindirilir. LDL kolesteroldeki kolesterol esterleri, lizozomal kolesterol esteraz tarafından hidrolize edilir ve serbest bırakılan kolesterol hem membran sentezi için, hem de steroid hormon prekürsörü olarak kullanılır. (Mahley ve ark 2003). VLDL'de bulunan trigliserid ve kolesterol hücrelere aktarıldıkça VLDL'in yapısı ve yoğunluğu değişir, önce IDL, sonra da LDL'ye dönüşür. Bu sürecin sonunda arta kalan kolesterolü içeren LDL karaciğer tarafından geri alınır. Kandaki LDL miktarının yüksek olması bu lipoproteinlerin arter damarlarının çeperlerinde birikmesine yol açar, bu da aterosklerozun ilk aşamasıdır. (Mahley ve ark 2003).

## **2.5 Oxide LDL**

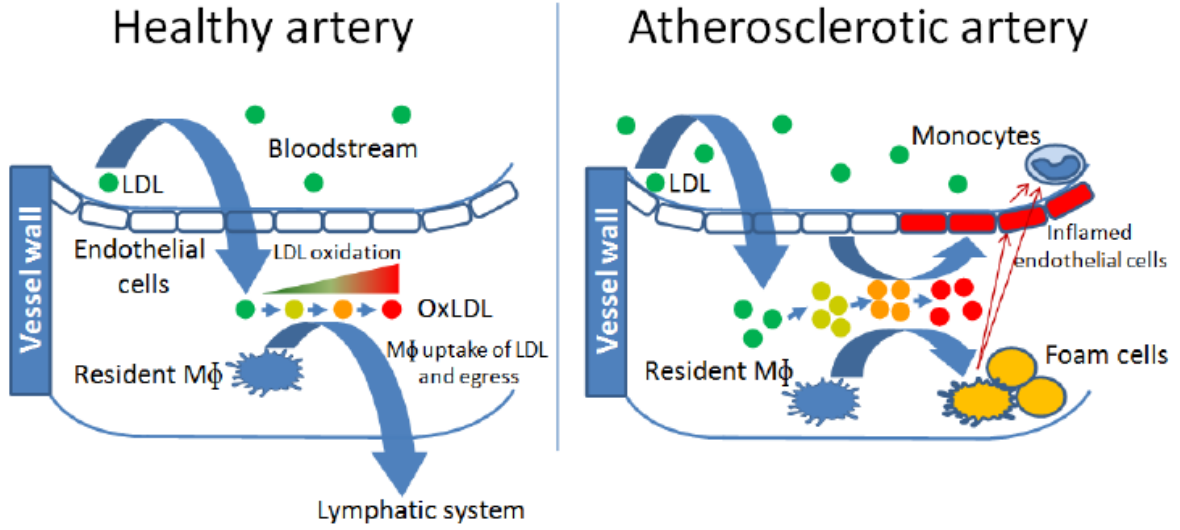
Lipoprotein metabolizmasında özellikle düşük dansiteli lipoprotein (LDL) modifiye olursa organizma için zararlı hale gelir ve LDL, okside-LDL (OxLDL)'ye dönüştüğü zaman aterojenik özellik kazanır (Virella ve ark 2002). LDL; oksidasyon, glikozilasyon, asetilasyon veya malondialdehit (MDA) 'ın bağlanması ile modifiye olur.

LDL oksidasyonu, LDL yapısındaki doymamış yağ asitlerinin lipid peroksidasyonu ile yıkılarak, birçok aldehitin ve diğer peroksidasyon ürünlerinin oluştuğu bir serbest radikal reaksiyonudur. LDL'nin özel reseptörleri ile tanınarak hücre içine alındığı, Ox-LDL'nin ise bu reseptörlerden farklı olan ve makrofajlarda bulunan 'scavenger reseptörleri' olarak adlandırılan reseptörler aracılığı ile kontrolsüz bir şekilde hızla içeri alındığı gösterilmiştir (Tsimikas ve ark 2003). LDL'nin kontrolsüz içeri alınımı makrofajları köpük hücrelerine (foam cells) dönüştürür. Vasküler endotel altında köpük hücrelerinin birikmesi aterosklerozun birinci basamağıdır. LDL oksidasyonu hücre içinde ve dışında yer alan kompleks bir prostestir. Kolesterol ve poliansatüre yağ asitlerinin her ikisi de serbest radikallerle peroksidasyona karşı oldukça hassastırlar. LDL oksidasyonu, LDL fosfolipidlerindeki çoklu doymamış yağ asit (PUFA) 'lerinin peroksidasyonu ile başlar. Oksidasyon, PUFA' ların konjuge edilen, hiperoksit ve diğer ara ürünlerin oluştuğu bir peroksidasyon dizisi sonucu alkan ve reaktif aldehitlere dönüşmesi olayıdır (Fagerberg ve ark 2000).

LDL, oksidasyona karşı çeşitli antioksidanlarla korunur. En önemli antioksidanlardan birisi yağda çözünen  $\alpha$ -tokoferol (E vitamini)'dir. Plazmanın yüksek antioksidan içeriğinden dolayı, LDL oksidasyonu esas olarak endotel hücreler ve aktif lökositler tarafından fazla miktarda reaktif oksijen ürünlerinin üretildiği arter duvarı subendoteliyal alanında meydana gelir. Endotel ve düz kas hücreleri ise, lipid peroksidasyonunun özellikle gözlemlendiği hücre tipleridir(Weinbrenner ve ark 2003). Aterosklerotik plaklardan izole edilen LDL'nin yapı ve biyolojik özellikleri açısından doğal LDL'den farklı olduğu, fakat modifiye olmuş Ox-LDL'ye benzediği ve aterosklerotik plaklarda Ox-LDL'nin biriktiği gösterilmiştir. Plazma LDL oksidasyon seviyelerinin, kardiyovasküler hastalığı olan hastalarda da arttığı gösterilmiştir. Reaktif oksijen türleri (ROS) ile indüklenen lipid peroksidasyonu ve hücrelerde eksprese edilen lipoksijenaz, Ox-LDL'nin ana kaynağı olabilir (Fornasieri ve ark 2002).

Hücrelerdeki serbest kolesterol seviyeleri, sadece LDL reseptörünün aşağı regülasyonu ile değil, aynı zamanda kolesterol metabolizmasında rol oynayan genlerin ekspresyonu ile de hassas bir şekilde düzenlenir. Asetattan kolesterol biyosentezi, LDL reseptörü ile kolesterol alımı, kolesterolün ester formunda geçici depolanması ve hücrelerden salgılanması hücre serbest kolesterol seviyesini korumak için birlikte çalışır. Hücrelerde kolesterol miktarı azaldığında LDL reseptörünün yüksek ekspresyonu, LDL'nin reseptör aracılı alımını arttırmakla kalmaz, aynı zamanda kolesterol biyosentezi de hidroksi metil glutaril koenzim-A (HMG-CoA) sentetaz induksiyonu ile düzenlenir (Monaca ve ark 2001). Bu transkripsiyonel düzenlemeler sterol sorumlu element bağlayıcı proteinler tarafından kontrol edilir. OxLDL'nin plazma seviyesinin KKH riski için bir belirteç olduğu kabul edilmektedir. Doymuş diyetle beslenen ratlarda, OxLDL'nin plazma seviyesi aterosklerozun başlangıcından önce geçici bir yükselme göstermiştir ( Kato ve ark 2009 ). Okside LDL genellikle disfonksiyonel olarak kabul edilir, çünkü doğal HDL ateroskleroza karşı koruyucudur. İnsan aterosklerotik lezyonlarından izole edilen HDL, nitrotirozin ve klorotirosin içeren apo A-I açısından zengindir ( Bergt ve ark 2004; Zheng ve ark 2004 ). Her ikisi de apoA-I'deki bu tirozin modifikasyonları, enflamatuvar durumlarda bulunan bir enzim miyeloperoksidaz (MPO) tarafından üretilir ( Mohiuddin ve ark 2006 ). Modifiye HDL, makrofajlardan azaltılmış ABCA1 aracılı kolesterol akış kapasitesini gösterir. Bir popülasyon çalışması, plazma glukozunu açmanın plazmadaki Ox-LDL düzeyi

ile anlamlı ve pozitif bir şekilde ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, okside lipoproteinlerin ölçümü, KKH'nin yararlı bir belirteci olabilir (Kotani ve ark 2012).

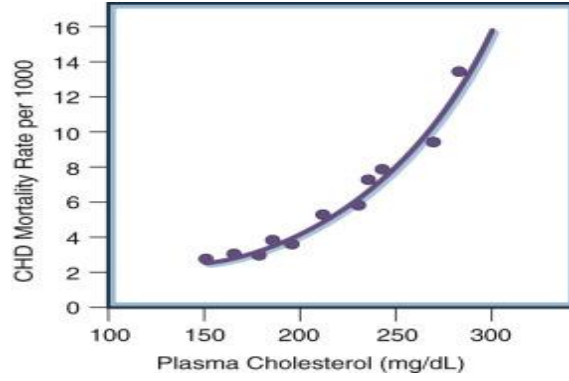


Şekil 2.9. Aterosklerozda Ox-LDL' nin rolü (Garelnabi ve ark 2012)

## 2.6. Hiperlipidemi

Son yıllarda ki teknolojik gelişmeler, fiziksel aktivitenin azalması ve hayvansal ürün tüketimi artışı insanlar için hiperlipidemi riskini arttırmaktadır. Hiperlipidemi, lipid metabolizması bozukluğuna bağlı gelişmekte olup, plazma lipoprotein ve TG düzeyinin yükselmesi olarak ifade edilmektedir. Yüksek seviyelerdeki LDL kolesterol, TG, apo B100, lipoprotein(a) ya da düşük seviyelerdeki HDL kolesterol ve apo A1 hiperlipidemi gelişimini arttıran faktörlerdir. Hiperlipidemi, damarların intima tabakası altında lipid birikimi sonucu, hücrel-humoral reaksiyonlara sebep olan ve ateroskleroz olarak adlandırılan vasküler bozukluğa yol açmaktadır. Ateroskleroz ise, KKH'a zemin hazırlayan faktörlerin başında gelmektedir. Kalp hastalıkları günümüzde ölüm nedenlerinin % 50'sini oluştururken, miyokard enfarktüsü geçirenlerin % 40'ının yaşamını yitirdiği de bilinmektedir (Kayaalp

2000). Lipidler organizmada önemli fonksiyonlarda görev aldıkları ve hücre membranlarının yapı taşı olduklarından, metabolizmalarının doğru işleyişi oldukça önem kazanmaktadır.



**Şekil 2.10.**Çoklu Risk Faktörü Müdahale Denemesinde plazma kolesterol düzeyleri ile koroner kalp hastalığı (KKH) mortalite oranı arasındaki ilişki (Adult Treatment Panel III 2001)

Ulusal Kolesterol Eğitim Programı (NCEP) kolesterol düzeyleri için bir standart oluşturmuş ve vasküler hastalık veya diğer kardiyak risk faktörlerinin varlığına dayanarak, popülasyonu kardiyak riske göre bölerek tedavide pratik bir yaklaşıma öncülük etmiştir. (National Cholesterol Education Program Expert Panel 2001).

**Çizelge 2.1:** NCEPATP III'e göre lipid düzeylerinin sınıflandırılması (National Cholesterol Education Program Expert Panel 2001)

| Lipoprotein      | Düzy (mg/dl) | Sınıflandırma |
|------------------|--------------|---------------|
| LDL kolesterol   | < 100        | Optimal       |
|                  | 100-129      | İstene        |
|                  | 130-159      | Sınırd yüksek |
|                  | 160-189      | Yüksek        |
|                  | ≥ 190        | Çok yüksek    |
| Total kolesterol | < 200        | İstene        |
|                  | 200-239      | Sınırd yüksek |
|                  | ≥ 240        | Yüksek        |
| Trigliserid      | < 150        | Normal        |
|                  | 150-199      | Sınırd yüksek |
|                  | 200-499      | Yüksek        |
|                  | ≥ 500        | Çok yüksek    |
| HDL kolesterol   | < 40         | Düşük         |
|                  | ≥ 60         | Yüksek        |

Hiperlipidemiye yüksek plazma lipoprotein konsantrasyonları neden olur. Klinik teşhis sadece dolaşımdaki lipidler temelinde yapılmasına rağmen, hastalıklar lipoproteinlerin anormallikleriyle sınıflandırılır ve sıklıkla hiperlipoproteinemi olarak adlandırılır. Daha önce belirtildiği gibi, lipoproteinler fizyolojik fonksiyonlarında, metabolik yollarında ve patolojik anlamında farklılık gösterir. NCEP ayrıca, insülin direncine bağlı, ancak birleştirici bir mekanik neden olmaksızın, metabolik sendromun varlığını tanıır (National Cholesterol Education Program Expert Panel 2001).

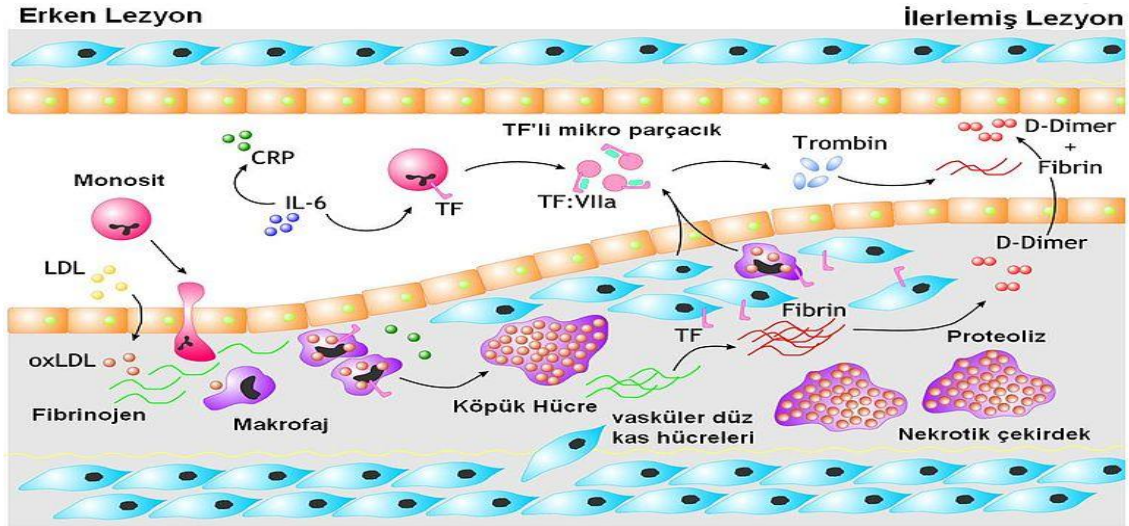
Hiperlipidemi daha önce mevcut olan lipoprotein anormalliği paternine göre, Fredrickson'un çalışmasına dayanarak Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sistemi kullanılarak sınıflandırmıştır. Hiperlipidemi lipid metabolizmasının primer bozukluğu şeklinde veya sekonder bozukluklara bağlı olarak görülebilmektedir. Primer bozukluklar tek başına hiperkolesterolemi ve hipertrigliseridemi veya hiperkolesterolemi+hipertrigliseridemi kombinasyonu ve HDL kolesterol düşüklüğü şeklinde seyredebilmektedir (Kaya Alp 2000). Sekonder bozukluklar ise; Diabetes mellitus, nefrotik sendrom, hipotroidizm, alkolizm, kronik karaciğer hastalığı (obstruktif), protein yapı bozuklukları ve bazı ilaçlarla uzun süren ilaç tedavileri (oral kontraseptifler, tiazid diüretikler ve glukokortikoidler) sonucu ortaya çıkmaktadır. Hiperlipideminin teşhisi için serum lipid düzeyinin, 20 yaş üstü bireylerde her beş yılda bir ölçümü gerekmektedir. Ölçümlerde dikkat edilmesi gereken husus lipid düzeyinin yemek zamanlarına göre günlük değişimler göstermesidir (Malloy ve Kane 1995; NCEP 2002).

### **2.6.1. Hiperlipidemi ve Ateroskleroz**

Aterosklerotik plakların oluşumu olan ateroskleroz, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde morbidite ve mortalitenin başlıca nedenidir (Townsend ve ark 2015). Dünya Sağlık Örgütü, aterosklerotik kardiyovasküler hastalığı tahmini 16,7 milyon ölüm bildirmiştir (Association 2007; Leopold ve Loscalzo2008). Aterosklerotik plak rüptürü, inme ve miyokard infarktüsü gibi kardiyovasküler hastalıkların genel bir nedenidir. Aterojenez, endotel disfonksiyonu, neovaskülarizasyon, vasküler proliferasyon, apoptoz, matriks degradasyon, oksidatif stres, inflamasyon ve tromboz gibi bazı mekanizmaları ilgilendiren karmaşık bir süreçtir(Hansson, 2005). Yüksek seviyedeki LDL konsantrasyonlarının aterosklerozun oluşumu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Yeni doğmuş bebeklerin arterlerinde intimal kalınlaşma gözlenmemesine rağmen, yıllar içinde

kan damarlarının erken aterosklerotik değişiklikleri gelişir. Ateroskleroz, akut miyokard enfarktüsünün ana nedenidir. Kalpte yer alan koroner arterler, aterosklerotik lezyon bölgelerinde trombüsle tıkanır. Kandaki çoğu kolesterol LDL partiküllerinde bulunduğu için, LDL lipid birikintilerinin baş kaynağıdır. LDL partikülleri, proteoglikanlar ve kollajen gibi bağ dokusu bileşenleri ile etkileşimlerin bir sonucu olarak arter duvarında tutulur (Grootaert ve ark 2015).

Arter duvarında, LDL partikülleri hücrelerle etkileşir ve lipoprotein partikülleri içindeki lipitlerin ve proteinlerin oksidasyonu sonucunda modifiye olur (Berliner ve Watson 2005). Oksitlenmiş LDL partikülleri, kontrolsüz bir şekilde makrofajlar ve düz kas hücreleri tarafından alınır ve hücrelerde biriken fazla lipit, aterosklerotik plağın karakteristik bir özelliği olan köpük hücrelerine dönüşür. Aterosklerotik lezyonlar, intimal endotelial tek tabakanın altında çok miktarda lipit ve hücre dışı matriks birikimi içerir. Lezyonlarda düz kas hücreleri, makrofajlar ve T lenfositleri bol miktarda bulunur. Lezyonlarda bir dizi apoptoik hücre gözlenir ve gelişmiş lezyonlarda hücre artıkları içeren nekrotik çekirdekler oluşur. Sitosolde kolesterol ester damlacıklarının biriktiren köpük hücrelerinin görünümü, aterosklerozun tipik özelliklerinden biridir. OxLDL' nin, damar duvarlarında monosit-makrofajların toplanması ve hücrelerdeki esterlenmiş kolesterol birikmesi yoluyla aterosklerozun erken gelişiminde önemli rol oynar (Morrow 2007).



Şekil 2.11. Aterosklerozun oluşumu (Leopold ve Loscalzo, 2009)

Aterosklerotik plak büyüdükçe, inflamatuvar hücrelerle çevrili ve lifli bir kapakla kaplanmış yumuşak bir lipid çekirdeği ile karakterizedir. Başlangıçta, plak arter duvarında büyür, fakat zaman geçtikçe, daraltılmış ve kan akışının kısıtlanmasıyla sonuçlanan lümen

üzerinde yavaş yavaş sızabilir. Büyük miktarlarda lipit ve enflamatuar hücreler içeren plaklar daha kararsızdır, yani lifli kapak, yumuşak lipid çekirdeğini dolaşan kanın ortaya çıkmasına neden olan, daha ince ve yırtılmaya daha yatkındır. Bu meydana gelirse, bir miyokard enfarktüsünü hızlandırarak bir trombus hızla gelişebilir ve arteriyel lümeni tamamen tıkalabilir (Mercanoğlu 2004).

Aterosklerotik lezyonları olan hastalarda lipit yönetimi, lipid çekirdeğinin boyutunu azaltabilir ve plaktaki inflamasyonu azaltabilir. Bu daha kararlı bir lezyona ve dolayısıyla kardiyovasküler komplikasyon riskinin azalmasına neden olacaktır. Okside LDL aynı zamanda inflamatuvar sürecin güçlü bir uyarıcısıdır ve inflamatuvar hücrelerin aterosklerotik plağa alınması ve tutulmasından büyük ölçüde sorumludur (Sattar ve ark 2003). Meydana geldikten sonra, inflamatuvar hücreler plak içindeki hücrelerin proliferasyonunu teşvik eden ve büyüyen plağı daha kararsız ve yırtılmaya eğilimli hale getiren bir dizi arabulucu üretir (Packard ve Libby 2008).

Yükseltilmiş C-reaktif protein (CRP) seviyeleri, inflamasyon için bir belirteç görevi görür ve koroner arter hastalığı olan hastalarda ortaya çıkar. Daha önce belirtilen süreçler esas olarak LDL partikülleri tarafından yönlendirilir, fakat aynı zamanda VLDL ve IDL gibi trigliserid bakımından zengin lipoproteinler tarafından da teşvik edilir. Aksine, HDL, arter duvarından fazla lipidin atılmasını, antioksidan ve anti-enflamatuar özelliklerinin bir sonucu olarak aterojeniz işlemini inhibe eder. Hayvanlarda ve insanlarda, vasküler hastalık, hiperkolesterolemili belirgin kişilerde bile evrensel değildir. Tüm ateroskleroz hastalarının yaklaşık % 50'sinin hiperlipidemi ve diğer bilinen kardiyak risk faktörlerine bağlı olduğu tahmin edilmektedir (Ansell ve ark 2007).

### **2.6.2. Aterosklerozun Oksidatif Stress İle İlişkisi**

Aterosklerozun patofizyolojik mekanizmaları henüz aydınlatılmamış olmakla birlikte, patogenezi ve ilerlemesi ile ilgili çoğu hipotez, oksidatif strese yol açan normal homeostatik mekanizmaların bozulmasıyla ilgilidir. Çalışmalar oksidatif stresin aterojenizinin önemli bir özelliği olduğunu göstermiştir (Ralf AH 2005). Antioksidan özelliği ile reaktif oksijen (ROS), azot (RNS) ve halojen türleri, radikal olmayanlar ve serbest radikal türler de dahil olmak üzere aktivite türleri arasında bir dengesizlik olduğunda ortaya çıkan redoks durumu olarak tanımlanmaktadır (Leopold ve Loscalzo, 2009 ).



Bu koşullar hücrel protein, lipit ve DNA'yı doğrudan oksitleyerek veya hücre ölüm sinyali yollarıyla hücre hasarına neden olur (Sinha ve ark 2013). Hücrede, belirli ROS'un ortam seviyeleri temel fonksiyonlarını sürdürmek için sinyal molekülleri olarak kullanılır. Buna karşılık, reaktif oksidantlar ve serbest radikaller fizyolojik uyaran yokluğunda üretilir ve daha sonra küçük molekülü antioksidanlar tükenir veya antioksidan sistemler zayıflar (Leopold ve Loscalzo, 2009 ). Oksidatif stres ve biyolojik olarak aktifleştirilmiş ROS'ta net bir artışı tetikler. Bu sadece kardiyovasküler hastalıkların patolojisinde önemli bir rol oynamaz, aynı zamanda kardiyomiyositleri ayarlayabilen fizyolojik fonksiyonlara sahiptir (Santos ve ark. 2011).

### **2.6.3.Hiperlipidemide Tedavi**

KKH riski olan tüm hastalar diyetlerinde ve yaşam tarzlarında uygun değişiklikler yapmaya teşvik edilmektedir. Diyet, ideal bir vücut ağırlığını elde etmek / korumak için tasarlanmalı ve enerjinin en fazla % 30'unun doymuş yağ olmasına dikkat edilmektedir. Hiperlipidemili tüm hastalar yaşam tarzı değişikliğine başlamalıdır. Lipitlerin alınımını sınırlamak için kullanılan diyet değişikliği, ana lipid kaynağı ekzojen diyet yağı olduğu düşünüldüğünde temel bir bileşendir (Serruys ve ark 2002). Doymuş yağ asitleri ve trans-doymamış yağ asitleri LDL-kolesterolü artırırken diyet lifleri LDL- kolesterolü düşürür (Garg ve Simha 2007). Karbonhidratlar LDL-kolesterolü etkilemez, ancak özellikle yüksek glisemik indeksleri varsa, trigliseritleri artırır ve HDL- kolesterolü azaltır. Sigara içimi, hipertansiyon ve diyabet, müdahaleye açık tüm önemli risk faktörleridir. Birincil korunmada lipid düşürücü ilaçların reçete edilmesi için kılavuzlar genellikle belirli risk seviyeleri etrafında düzenlenmektedir (Grundy ve ark 2008).

Hiperkolesteroleminin tedavisi için tercih edilen ilaçlar, statinler , HMG-CoA redüktaz inhibitörleri, kolesterol sentezinde hız sınırlayıcı adımdır. Bunlar hücre içi kolesterol konsantrasyonlarını azaltır ve böylece LDL reseptör ekspresyonunu artırır ve plazma LDL konsantrasyonunu azaltır. Statinler trigliseritleri hafifçe düşürür ve HDL'yi artırma eğilimindedir. Genel mortaliteyi azalttığı görülen tek lipit düşürücü ilaç sınıfı olan; ezetimib, kolesterol emilimini inhibe eder ve böylelikle enterohepatik dolaşımını keser ve diyet kolesterolünün karaciğere verilmesini azaltır, böylece LDL reseptör ekspresyonunu artırır. Bu nedenle eylemi, kombinasyon halinde kullanılacak statinlerle sinerjiktir. Daha az spesifik lipit ve safra asidi inhibitörleri, safra asidi sekestranları daha az etkilidir ve

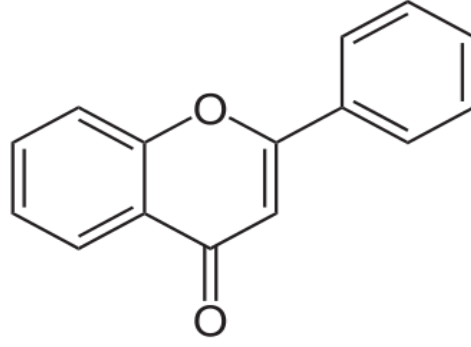
zayıf bir şekilde tolere edilirler. Fibratlar lipit metabolizması üzerinde çeşitli etkilere sahiptir, ancak öncelikle LPL'yi uyararak ve karaciğer trigliserit sentezini azaltarak çalışır (Efrati ve ark 2005).

Statinler, HMG-CoA reduktaz enzim inhibisyonuna neden olarak hem karaciğer hücresi içinde kolesterol yapımını engellerler, hem de hücre yüzeyinde apoB/E (LDL reseptörü) reseptörlerinin ekspresyonuna yol açarak apoB ihtiva eden lipoproteinlerin klirensini artırır ve böylece dolaşımdaki LDL-kolesterol düzeyini azaltırlar. En önemli yan etkileri miyopati ve karaciğer enzimlerinde yükselmedir, ancak nadir görülür. İlaç kesilince enzimler normale iner. Karaciğer enzimlerinde normalin 3 katı üzerinde artış olmadıkça ilacın kesilmesine gerek yoktur. Miyopatide bir adale enzimi olan kreatinin fosfokinazda (CPK) artış görülür, beraberinde adelelerde ağrı, güçsüzlük ve kramplar tarzında semptomlar olabilir (Grundy ve ark 2006). Fibrik asit türevleri; fibratlar antilipemik etkilerini lipoprotein metabolizmasında rol oynayan genlerin yazılımında değişikliğe neden olarak gösterirler. Başlıca etkileri trigliserid yapımını azaltmaları ve HDL-kolesterol yapımını artırmalarıdır. En önemli etkilerinden biri de LDL-kolesteroldeki küçük yoğun LDL partiküllerini büyük LDL partiküllerine çevirmeleridir. Antiinflamatuvar ve antitrombotik özellikleri vardır. Statinler gibi miyopati ve karaciğer enzimlerinde artışa neden olurlar. Kreatin kinaz yüksekliği ile birlikte gözlenen miyopati seyrek olarak ağır rabdomiyolize yol açabilir. Fibratlar karaciğer veya böbrek yetersizliği olanlarda, safra kesesi taşı olanlarda, diyabetik nöropatide, gebelerde, emzirme döneminde kullanılmaması gerektiği bildirilmektedir ( Smith ve ark 2006).

## **2.7. Flavonoidler**

### **2.7.1. Flavonoidlerin Tanımı**

Flavonoidler meyve, sebze, çeşitli yararlı biyokimyasallar ve antioksidan etkiye sahip bazı içeceklerde bulunan aromatik pigment bileşikleridir. Flavonoidler hücre içinde kimyasal haberci, fizyolojik düzenleyici veya hücre döngüsünün inhibitörleri olarak görev alırlar. Flavonoidler, önemli antioksidan ve şelatlama özelliklerine sahip bitki fenolikleri sınıfının üyesidir. Bugüne kadar bitkilerin yaprak, tohum, kabuk ve çiçeklerinde yaygın olarak dağıtılan 4000'den fazla flavonoid tespit edilmiştir. Bitkilerde, bu bileşikler ultraviyole radyasyona, patojenlere karşı koruma sağlarlar (Harborne ve Williams 2000).



Şekil 2.12. Flavonoidlerin yapısı (Akbaşlı 2013)

### 2.7.2. Absorbsiyon ve Emilimi

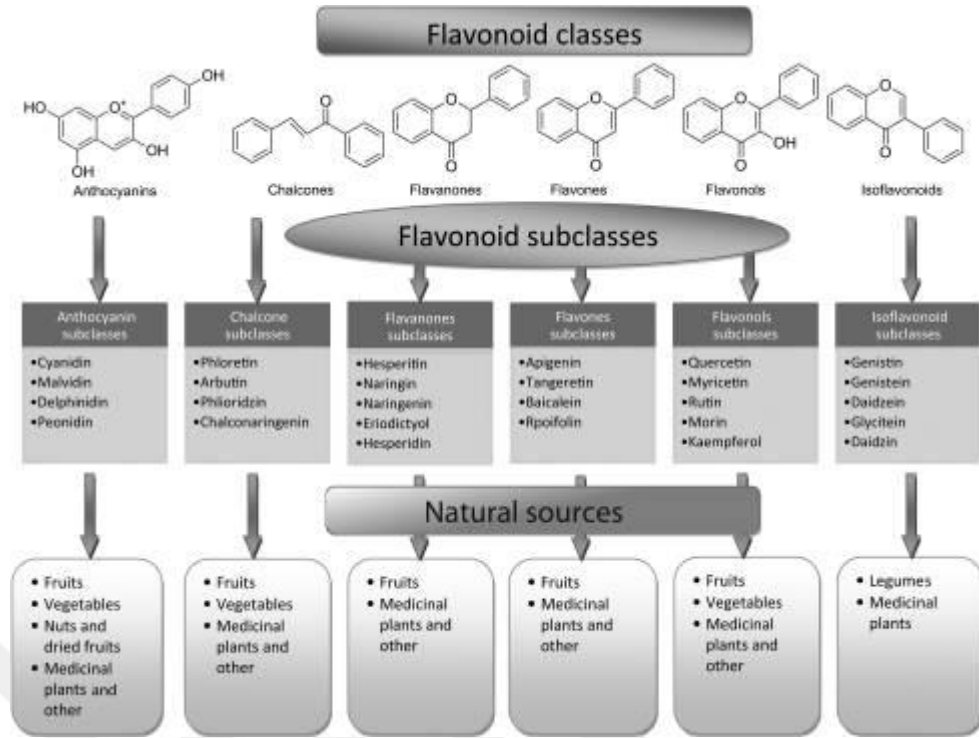
Çoğu diyet flavonoidleri gıdada O- glikozidler olarak ortaya çıkar. En yaygın glikozidik birim glikozdur, ancak diğer örnekler arasında glukozamnoz, galaktoz, arabinoz ve ramnoz vardır. Son araştırmalarda, bir glikoz parçası, ince bağırsakta kuersetin emilimini % 52'ye, aglikon için % 24'e ve rutin için % 17'ye çıkarmıştır. Metabolik ve farmakokinetik verilerin yetersiz olmasına rağmen var olan kanıtlar flavonoidlerin in vivo olarak yapısal olarak değiştirildiğini desteklemektedir. Fenolik asitler veya flavonoid izoformlarının baskın olup olmadığı belirsizdir (Akbaşlı 2013).

### 2.7.3. Flavonoidlerin Genel Özellikleri

Flavonoidlerin faydalı ve sağlıklı etkilerinin çoğu, antioksidan ve şelatlama yeteneklerine bağlanır. Antioksidanlar (AO); diyetin temel bir maddesi olan lipidlerin oksidatif bozulmasını önleme yoluyla gıda kalitesini korurlar (Cerezoa 2010).

### 2.7.4. Kimyasal Özellikleri

Flavonoidler en büyük polifenol grubunu oluşturan ve difenilpropanlar ile benzer bir yapıya sahip olan bileşiklerdir. Flavan çekirdeği ile karakterize edilen flavonoidler iki benzen halkasının (A ve B) oksijen içeren bir piren halkası (C) ile bağlanması ile oluşmaktadır. Flavonoidler bitkilerde genellikle glikozit formları halinde bulunmakta; aglikon formlarına (şeker kısmını içermeyen form) daha az rastlanmaktadır. Flavonoid aglikonunun farklı hidroksil gruplarına en az 8 ayrı monosakkarit veya bunların birleşmesi ile oluşan di-, tri-sakkaritlerin bağlanması sonucu glikozit form meydana gelmektedir (Mustafa ve Hamid 2010).



Şekil 2.13. Flavonoidlerin sınıflandırılması (Iwashina 2013)

Flavonoidlerin biyolojik sistemlerde koruyucu etkileri, serbest radikalleri, şelat metal katalizörlerini transfer etme, antioksidan enzimleri aktive etme, alfa-tokoferol radikallerini azaltma ve oksidazları inhibe etme kapasitelerine atfedilir. Bu çok boyutlu etkinin, çeşitli deneysel sistemlerde bu bileşiklerin tutarlı genel etkisinden sorumlu olmasına rağmen, yapı-aktivite ilişkilerini tanımlamada zorluklar yaratmaktadır. LDL oksidasyonunu önleme kapasiteleri sayesinde flavonoidler benzersiz kardiyoprotektif etkiler göstermiştir (Yoo ve Hwang 2009). Flavonoidler aglikon veya glikozitler şeklinde bulunmakta olup, flavonoid glikozitler bağırsağa girmeden önce şeker kısmından ayrılmakta iken, aglikonlar hücre membranlarından serbestçe geçebilmektedir.

Emilen flavonoidler karaciğere taşınmakta ve çok çeşitli metabolik reaksiyonlara maruz kalarak glukuronitler, sülfatlar ve metillenmiş türevleri gibi çeşitli konjugasyon formlarına dönüşmektedir. Bazı çalışmalarda, flavonoidlerin sağlık üzerindeki olumlu etkilerinden bu konjugatların sorumlu olduğu ortaya konmaktadır. Ayrıca, bazı çalışmalar polifenollerin sağlık üzerinde bir etki gösterebilmesi için bağırsak bariyerinden geçmesinin gerekli olmadığını ortaya koymuştur. Polifenollerin en yüksek konsantrasyonu bağırsak lümeninde bulunmuştur. Flavonoidler veya diğer polifenollerin doğrudan bağırsak mukozası

üzerinde bir etkisi olabileceği ve oksidatif stres, kalp-damar hastalıkları ya da kansere karşı koruma sağladığı düşünülmektedir ( Matsukawa ve Matsumoto 2009).

Flavonoidler üzerindeki araştırma ve geliştirme faaliyetlerinin güncel eğilimleri, flavonoidlerin izolasyonu, tanımlanması, karakterizasyonu ve işlevleri ile nihayetinde sağlık üzerine yararları ile ilgilidir. Bitkiler, büyük çoğunluğu doğrudan büyüme ve gelişmeye katılmıyor gibi görünen, geniş ve çeşitli organik bileşikler üretirler. Bu bitki türünden olan Silybin flavonoid kompleksidir (Panche 2016).

## 2.8. Silybin

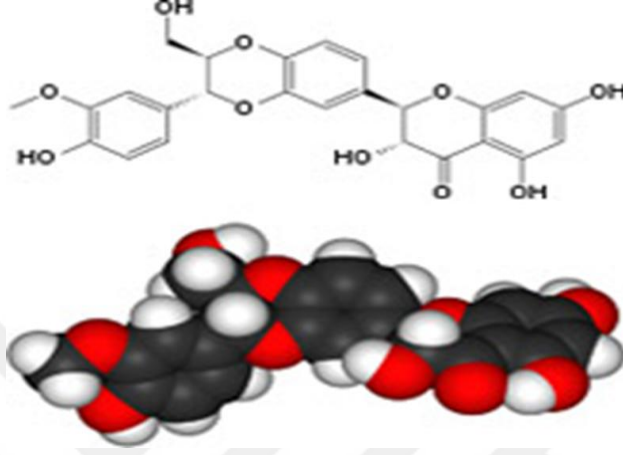
### 2.8.1. Silybin Tanımı

*Silybum marianum*, eski hekimlerin ve bitki uzmanlarının bir dizi karaciğer fonksiyon bozukluğu ve safra kesesi rahatsızlıklarını tedavi etmelerinden beri kullanılmaktadır. Antik Yunanistan'da *Silybum marianum* karaciğer fonksiyon bozukluğunu tedavi etmek için uygulanmıştır. Hint ve Çin ilaçlarının karaciğer ve safra kesesi problemleri için klinik uygulamada *Silybum marianum* kullandığı da keşfedilmiştir (Abenavoli ve ark 2010). Sağlığa yararlı özellikleri sayesinde, süt devedikeni meyvelerinin özü olan silimarin, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından 1970'lerde hepatoprotektif özelliklere sahip resmi bir ilaç olarak sınıflandırılmıştır.



Şekil 2.14. *Silybum marianum* (Bijak 2017)

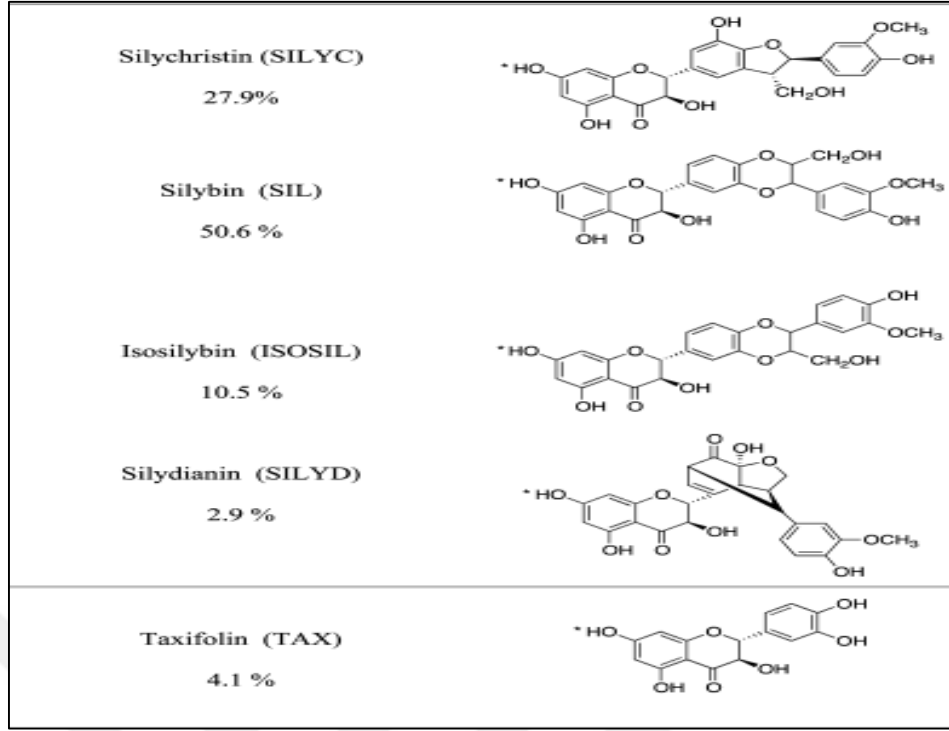
Süt dikenini, flavonoidler, silymarin ve Silybin isimlendirmesi genellikle birbirleri yerine kullanılan terimlerdir. Bununla birlikte bu bileşiklerin aslında kendilerine özgü toksik veya yararlı etkiler gibi değişik karakteristik özellikleri vardır (Wesolowska ve ark 2007).



Şekil 2.15. Silybin'in kimyasal yapısı (Ashgar 2008)

### 2.8.2.Silybinin Özellikleri

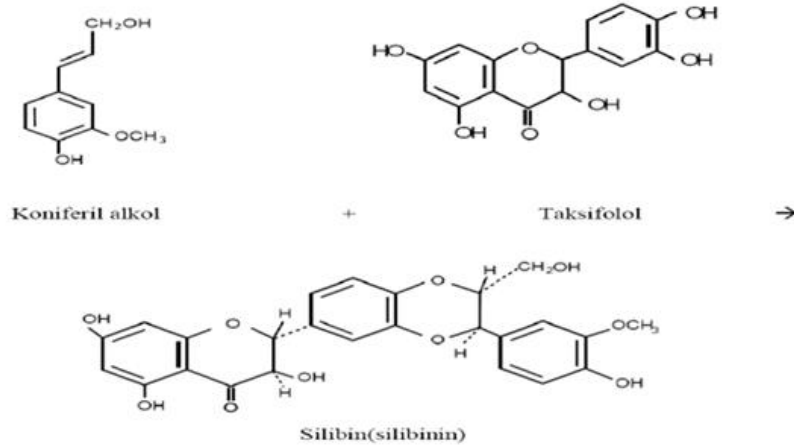
Silymarin, meyvenin kuru ağırlığının % 1.5-3'ünü ve özgün flavonoid komplekslerinin (flavonolignans) izomerik bir karışımını temsil eder. Silymarin'de bulunan bu grubun ana temsilcileri, silybin, izosilybin, silykistrin, izosilykistrin, silydianin ve silymonindir (Wesolowska ve ark 2007; Lee ve ark 2007). Bununla birlikte, ekstrenin yaklaşık % 50-70'ini içeren en yüksek konsantrasyon, çeşitli çalışmalarda teyit edilen ekstraktın başlıca biyoaktif bileşeni olan Silybin'dir. Silybin konsantrasyonları tipik olarak % 20-40 arasında silymarin içeren ortak farmasötik ürünlerde bulunur (Lee ve ark 2007).



Şekil 2.16. Silymarinin bileşikleri (Bijak 2017)

### 2.8.3 Silybinin Kimyasal Yapısı

Silymarin, süt dikenini özütünde bulunan ve en az 7 flavonolignan ve bir flavonoid olan taxifolin içeren bir komplekstir. İçerikteki bileşiklerin oranları ise ekstraktın elde edildiği bilimsel kaynak ve saflaştırma metodu gibi etkenlere bağlıdır. Flavobin, Silliver, Silybin, Silymarin I, Silybina ve Silybin olarak da adlandırılan Silybinin molekül formülü  $C_{25}H_{22}O_{10}$  ve molekül ağırlığı 482.441 g/mol' dür. Silybin yapısı iki ana birimden oluşur. Birincisi flavonoidlerde flavononol grubu olan bir taxifolin bulundurmaktadır. İkincisi, koniferil alkol olan bir fenilpropanoid birimidir. Bu iki birim birlikte bir okseran halkası ile bir yapıya bağlanır (Althagafy ve ark 2013).



Şekil 2.17. Silybin'in Kimyasal Yapısı (Abenavoli 2010)

#### 2.8.4. Silibin'nin Genel Özellikleri

Hem karaciğer hem de diğer hücre ve dokulardaki gözlemlenen etkileri aşağıdaki gibi özetlenebilir.

- 1- Antioksidan
- 2- İnflamasyon ve fibrogenesis üzerine direkt ve indirek düzenleyici etkiler.
- 3- İntrahepatik metabolik yollar üzerine direkt/indirek etkiler (Bijak 2017)

#### 2.8.5. Silybinin Antioksidan Etkisi

Silybin antioksidan özelliklere sahiptir. Radikal formasyonunu inhibe eder, önceden oluşmuş radikalleri temizler (scavenger), membranlardaki lipidlerin peroksidasyonunu önler ve dolayısıyla membran geçirgenliğini korur. Hücre içi scavenger miktarını artırır (Trouillas ve ark 2008). Silybin, oksidatif ve nitrozatif stres varlığında süperoksit anyon ve nitrik oksit formasyonunu inhibe eder, ADP yi fosforillereyerek ATP konsantrasyonunu artırır, MDA seviyesini azaltır. Ayrıca glutatyon miktarı ile süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz seviyelerindeki azalmayı önler. Bu özellikleri, doza bağımlı olup, ratlardan elde edilen Kupffer hücrelerinde, hepatositlerde ve rat karaciğerinde oluşturulmuş iskemi-reperfüzyon modellerinde gösterilmiştir. Deneysel olarak oluşturulmuş karaciğer hasarına da, konjuge Silybin uygulamasının lipid peroksidasyonu, mitokondriyal permeabilite ve respirasyon ile hücre ölümünü engellediği bilinmektedir (Fu ve ark 2008).



### **2.8.6. Silybinin Antiinflamatuvar Etkisi**

Genel olarak Silybin ve Silymarinin NF- $\kappa$ B ile kontrol edilen transdüksiyon kaskadı ile ilişkili olduğu bilinmektedir. NF- $\kappa$ B, indüklenebilir ve yaygın olarak ekspresse edilen DNA-binding proteindir. İnflamasyon, hücre sağkalımı, hücre farklılaşması ve hücre büyümesi ile ilişkili genler için bir transkripsiyon faktörü olarak rol oynar (Federico ve ark. 2007). Oksidatif stresin uyarılması ile birlikte NF- $\kappa$ B çekirdeğe transloke olur ve kinazların fosforilasyonu aracılığı ile inflamasyonu destekleyen genlerin aktivasyonunu sağlar. Silybin ise antioksidan özellikleri sayesinde NF- $\kappa$ B aktivasyonunu engeller (Momeny ve ark 2008; Gharagozloo ve ark 2010). Akut karaciğer hasarında, silibinin plazma seviyelerini düşürdüğü, ayrıca hem plazma hem de karaciğer sitokinlerinin seviyesini azalttığı ve sonuçta hepatik NF- $\kappa$ B aktivasyonunu engellediği gösterilmiştir (Malihi 2009).

### **2.8.7. Silybin'in Toksikite Etkisi**

Silybin ve Silymarinin metabolizmasında farklılıklar olduğu bilinmekle birlikte nedeni henüz aydınlatılamamıştır. Bu konsantrasyonlarda Silybinin karaciğerdeki markerlar olan CYP2E1, CYP2D6, CYP2C19, and CYP2A6 üzerine minimal bir inhibitör etki gösterdiği saptanmıştır (Brantley ve ark 2010). In vivo olarak ise Sridar ve ark. çalışmalarında, 25 - 250  $\mu$ mol/L arası dozda silibin etkilerini incelemiş ve P450 sistemi üzerine modülatör ve inhibitör etkisi olduğunu göstermiştir. Ancak silibinin inhibitör etkisinin sadece fizyolojik olarak dozlar yüksek miktarda kullanılan ortaya çıktığını göstermişlerdir (Kroll ve ark 2007). Bunun yanında hayvan çalışmalarında silibinin çeşitli ilaçların hepatobiliyer sistemden eliminasyonunu etkilediği gösterilmiştir (Brantley ve ark 2010).

### **2.8.8. Silibin'in Lipit Metabolizması Üzerine Etkisi**

Silimarin, tıbbi bir bitki olan silybum marianumdan elde edilen flavonolignan karışımı bir madde olup, membran stabilize edici ve antioksidan etkileri nedeniyle hepatoprotektif kabul edilir ve farklı etiyojilere bağlı oluşmuş karaciğer hastalıklarının tedavisinde kullanılır. Karaciğer, plazma proteinlerinin metabolizmasının düzenlenmesinde rol oynar. Dolayısıyla karaciğer hasarının bir yansıması olarak özellikle hiperkolesterolemi ile ilişkili olan sekonder dislipoproteinemi ortaya çıkar. Birçok çalışma silimarinin

kolesterol biyosentezini inhibe ederek karaciğer kolesterol metabolizması üzerine direkt etkili olduğunu ileri sürer (Negi ve ark 2008).

### **2.8.9. Silybin'in Karaciğer Lipidleri Üzerine Etkisi**

Silybin'in karaciğeri koruyucu etkisi başlıca üç mekanizmaya dayandırılır.

1. Serbest radikal süpürücü etki ve hücre içi indirgenmiş glutatyon düzeylerinde artışa yol açarak anti-lipopreksidatif (lipid peroksidasyonunu engelleyici etki) etki gösterir.
2. Ksenobiyotik hasarına karşı membran stabilitesini artırıcı ve membran permeabilitesini (geçirgenliğini) düzenleyici etkiye sahiptir.
3. Steroid benzeri etki göstererek nükleer ekspresyon üzerine düzenleyici etkilidir.
4. Silybin'in membran permeabilitesi üzerine düzenleyici etkisi, membran lipidleri ile kolesterol ve fosfolipidlerde kalitatif ve kantitatif değişiklikler yapması ile ilişkilidir. Bu nedenle silymarinin karaciğerde diğer lipid kompartmanlarını da etkileyerek lipoproteinlerin sekresyonunu ve alımını da etkilediği ileri sürülmüştür (Bjak 2017).

### **2.8.10. Silybin'in Plazma Lipidleri ve Lipoproteinler Üzerindeki Etkisi**

Serbest radikaller, ateroskleroz da dahil olmak üzere birçok patolojik sürecin mekanizmasında önemli bir rol oynadığı kabul edilmektedir. Lipid peroksidasyonu, çeşitli kaynaklardan serbest radikallerin, lipitlerin doymamış yağ asitleri ve ardından oksijenle reaksiyonu ile etkileşimi başlar. Lipit peroksidasyonunun sonuçları geniş bir spektrumda hasar içerir. Lipoprotein metabolizması ile ilgili olarak LDL'nin lipoperoksidasyonu, ateroenezde çok önemli olabilir (AbouZid ve ark 2012). Ayrıca, lipid peroksidlerin neden olduğu hücre zarlarının dejenerasyonu, hem karaciğer hem de periferik dokularda diğer lipoprotein metabolizması bozukluklarının gelişimine katkıda bulunabilir. Silybin, lipid peroksidasyonunu indükleyen serbest radikalleri temizleyerek zincir kırıcı bir antioksidan olarak kabul edilir. Silybin'in diğer önemli antioksidatif etkileri, glutatyon ve süperoksit dismutaz ile ilişkili enzim sistemi üzerindeki etkisine dayanmaktadır (Radjabian ve ark 2010).

LDL'nin lipid peroksidasyonu, E vitamini, beta-karoten ve bir hipolipidemik ilaç olan probucol gibi bazı lipid çözücü antioksidanlar tarafından inhibe edilir (Yu ve ark 2010). Lipit çözücü Silymarinin antioksidatif aktiviteleri, Silymarinin LDL'nin lipit peroksidasyonunu

inhibe edebileceğini düşündürmektedir.LDL oksidasyonunun inhibisyonu, olası bir flavonoid eylem mekanizması olarak önerilmiştir. Son zamanlarda, quercetin ve türevlerinin hiperkolesterolemik sıçanlarda plazma kolesterol düzeyini ve aterosjenik indeksi azalttığı bildirilmiştir. Şimdiye kadar, Silybinin, hücre zarlarını stabilize eden hepatoprotektif bir ajan olarak geniş çapta çalışılmıştır. Bu etki, lipid peroksidasyonunun inhibisyonuna ek olarak, membranların değiştirilmiş lipid kompozisyonu ile birlikte, karaciğer lipitleri ve plazma lipoproteinlerinin metabolizmasına ilişkin veriler, Silymarinin bir hipokolesterolemik ilaç olarak etki edip etmeyeceğine dair çalışmalar sürmektedir (Suzuki 2014).



### **3. GEREÇ ve YÖNTEM**

#### **3.1. Materyal Ve Gereçler**

##### **3.1.1 Cihazlar**

OxLDL'nin elisa ölçümü için, Thermo Scientific/MultiscanGo UV cihazı kullanıldı. Trigliserit ve Total Kolesterol ölçümü için Abbott Architect C8000 cihazı kullanıldı. LDL, HDL, TAS, TOS parametrelerinin ölçümü için ise Archem Diagnostics marka otoanalizör kullanıldı.

##### **3.1.2 Kullanılan Kitler**

Çalışmadan alınan kan örneklerinden Oxided LDL düzeyini ölçmek için Mouse OxLDL / Oxidized LDL ELISA Kit (Sandwich ELISA) – Cloud-Clone Corp. Advanced Cat No:LS-F22215 marka ticari kit ile elisa yöntemi kullanıldı.

Total Antioksidan Seviye için örneklerin total antioksidan status düzeyi (TAS), Erel tarafından geliştirilen Rel Assay marka ticari kitler (Rel Assay Kit Diagnostics, Türkiye) kullanılarak ölçüldü. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanıldı. Total Oksidan Seviye için ise örneklerin total oksidan status (TOS) düzeyi, Erel tarafından geliştirilen Rel Assay marka ticari kitler (Rel Assay Kit Diagnostics, Türkiye) kullanılarak ölçüldü.

#### **3.2. Çalışma Grubu**

Mustafa Kemal Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilen, 12-16 haftalık, ağırlıkları 300-350 gr arasında değişen, her grupta 8 adet rat olacak şekilde (4 grup) 32 adet Wistar albino cinsi erkek rat çalışmaya alınmıştır. Ratlar, tel kafeslerde; herbir kafeste 4 hayvan olacak şekilde 12 saatlik aydınlık-karanlık siklusların sağlandığı ortamda, ortam sıcaklığı 20-24 °C ve nem oranı %40-50 olacak şekilde tutulmuştur. Çalışma protokolü ve deneysel yöntem Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu tarafından onaylanmış olup çalışma süresince etik kurallara uyulmuştur (2017/7-1).

### 3.3. Yöntemler

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan ratların dağılımı

| Grup    | Gruplar  | Toplam (n) |
|---------|--|------------|
| 1. Grup | Kontrol (K)  | 8          |
| 2. Grup | Yüksek Kolesterol Diyeti   | 8          |
| 3. Grup | Yüksek Kolesterol Diyeti + Silybin<br>50 mg / kg i.p. olarak günde bir kez | 8          |
| 4. Grup | Yüksek Kolesterol Diyeti + Silybin<br>100mg / kg i.p. olarak günde bir kez | 8          |

Ratlar, eşit sayıda (n=8) ve rastgele olarak dört gruba ayrılmıştır. Grupların beslenme şekilleri, verilen diyetler ve uygulanan ilaç dozları aşağıdaki şekildedir.

**Grup 1;** Kontrol grubu, standart rat yemi ve distile su ile kısıtlama olmadan (ad libitum) çalışma süresince beslenmiştir, çalışma süresince herhangi bir işlem uygulanmamıştır. Çalışma sonunda anestezi altında kalpten kan alma yöntemiyle enjektör ile sakrifiye edilmiştir.

**Grup 2;** Yüksek kolesterol diyeti ratları deneyin başlamasından 60 gün önce ve deney sırasında (7 gün) yumurta sarısı ile beslendi (Metwally ve 2009).

**Grup 3;** Yüksek Kolesterol Diyeti + Silybin 50 mg / kg, deneyin başlamasından 60 gün önce ve deney sırasında (7 gün) yumurta sarısı ile beslendi ve deney sırasında 7 gün boyunca salin solüsyonu (% 0.9 NaCl) ile silibin 50 mg/kg dozda i.p. enjekte edildi ( Metwally ve 2009).

**Grup 4;** Yüksek Kolesterol Diyeti + Silybin 100 mg / kg, deneyin başlamasından 60 gün önce ve deney sırasında (7 gün) yumurta sarısı ile beslendi ve deney sırasında 7 gün boyunca salin solüsyonu (% 0.9 NaCl) ile silibin 100 mg/kg dozda i.p. enjekte edildi, ardından anestezi altında kalpten kan alma yöntemiyle ratlar sakrifiye edilmiştir ( Metwally ve 2009).

#### 3.3.1. Örneklerin Alınması ve Saklanması

Deney sonunda total kolesterol, HDL- LDL kolesterol ve trigliserit analizleri için numuneler jelli biyokimya tüplerine alındı ve 1500 x g'de 10 dk santrifüj edildi. Serumları alınarak ependorflara porsiyonlandı, biyokimyasal analizler yapılmak üzere -80 °C'de saklandı.

### 3.3.2. Biyokimyasal Analizler

#### 3.4. OxLDL Analizi

Çalışmadan alınan kan örneklerinden Oxidized LDL düzeyini ölçmek için Rat OxLDL / Oxidized LDL ELISA Kit (Sandwich ELISA) – Cloud-Clone Corp. Advanced Cat No:LS-F22215 marka ticari kit ile elisa yöntemi kullanıldı. Plakalardaki optik dansite (OD) 450 nm’de okuma yapılarak değerlendirildi. Konsantrasyonlar logaritmik kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplandı. Sonuç ng/ml olarak ifade edildi. Analiz aralığı 0,312-20 ng/ml dir.

#### 3.5.. Trigliserit, Kolesterol, LDL ve HDL Kolesterol Analizleri

Rutin parametrelerin ölçümü Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Merkez Biyokimya Laboratuvarında Abbot Architect C-8000 marka otoanalizörde yapılmıştır.

Ölçümler enzimatik kolorimetrik metodla çalışan biosystems marka ticari kitler kullanılarak spektrofotometrede 500 nm’de gerçekleştirildi. VLDL için  $\left(\frac{TG}{5}\right)$  formülü kullanıldı.

##### 3.5.1 LDL

Yöntem: LDL kolesterolü ölçmek için doğrudan yöntemler kullanıldı.

VLDL, LDL ve HDL üzerinde kolesterol öncelikle LDL kolesterol daha sonra ya Friedewald denklemi ya da P-kantifikasyonu kullanılarak dolaylı olarak ölçüldü. Şu anda kabul edilen metod, LDL kolesterol için Koroner kalp Sağlığı'nda kullanılan Referans Metodu, "geniş kesimli" LDL fraksiyonunda LDL ile IDL ve Lp (a) içerir.

IDL genellikle indirekt LDL kolesterol ölçümünde desilitre başına sadece birkaç miligramdır.

Örnekler LDL Abott otoanalizör Abbot Architect C-8000 marka otoanalizör ile ölçüldü. Bu test için LDL standart kalibratör kullanıldı. Kolorimetrik metod kullanıldı. Dalga boyu 572-600 nm arasında ölçüldü (Frantz 1992).

### 3.5.2 Trigliserit:

Yöntem: Gliserol fosfat oksidaz (GPO).

Trigliseritler enzimatik olarak lipaz tarafından yağ asitlerine ve gliserole hidrolize edildi. Gliserol, gliserol kinazlı (GK) adenzin trifosfat (ATP) tarafından gliserol-3-fosfat ve adenzin difosfat (ADP) oluşturmak için fosforile edildi. Gliserol-3-fosfat, gliserol fosfat oksidaz (GPO) ile dihidroksiaseton fosfata (DAP) oksidize edilir ve hidrojen peroksit üretti. Peroksidaz ile katalize edilen bir renkli reaksiyonda, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, kırmızı renkli kinonimin boya oluşturmak için 4-aminoantipirin (4-AAP) ve 4-klorofenol (4-CP) ile reaksiyona girdi. Bu boyanın absorbansı örnekteki trigliserit varlığının konsantrasyonu ile orantılıdır (Fossati ve Prencipe 1982, Mcgowan ve ark 1983).

Örneklerin serum TG seviyeleri Abbot Architect C-8000 marka otoanalizörde otoanalizör kullanıldı (Forrester 2001).

### 3.5.3 HDL-Kolesterol:

Yöntem: Enzimatik, kolorimetrik yöntem (CHOD/PAP).

Yöntem iki reaktifli bir formata sahiptir ve benzersiz bir deterjanın özelliklerine bağlıdır. Bu yöntem, kolesterol oksidazın (CO) non-HDL esterleştirilmemiş kolesterol ile reaksiyonunun hızlandırılması ve HDL kolesterolünün özgül bir deterjan yardımıyla seçici bir şekilde çözündürülmesine dayanır. İlk reaktifte, non-HDL esterleştirilmemiş kolesterol bir enzim reaksiyonuna maruz kaldı ve oluşan peroksit, renksiz bir ürün ortaya çıkararak tüketti. İkinci reaktif, bir deterjan (HDL, kolesterolünü çözündürme yeteneğine sahiptir), kolesterol esteraz (KE) ve HDL kolesterolünün kantitatif belirlenmesi için boya verecek kromojenik bağlayıcıdan oluştu (Badimon ve ark 1990).

Örnekler HDL Abott otoanalizör Archem Diagnostics Biyokimya otoanalizör ile ölçüldü. Bu test için HDL standart kalibratör kullanıldı. Kolorimetrik metod kullanıldı. Serum numunelerinden dalga boyu 578-600 nm arasında ölçüldü (Young 1995).

### 3.5.4 Total Kolesterol

Yöntem: Enzimatik, kolorimetrik yöntem (CHOD/PAP) [kolesterol oksidaz (CHOD)]

Kolesterol esterler enzimatik olarak kolesterol esteraz tarafından kolesterol ve serbest yağ asitlerine hidrolize edildi. Başlangıçta mevcut olan dahil olmak üzere, serbest kolesterol, kolesterol oksidaz tarafından kolest-4-ene-3-one ve hidrojen perosite oksitlenir. Hidrojen peroksit, 500 nm’de kantite edilen bir kromofor (kinonimin boyası) oluşturmak için hidroksibenzoik asit (HBA) ve 4-aminoantipirin ile birleşti (Roeschlau ve ark 1974).

Total kolestrol değerinin yüksekliği; ailesel hiperkolestrolemi, ailesel disbetalipoproteinemi (tip III), ailesel kombine hiperlipidemi, ailesel apo-B-100 defekti, polijenik (sporadik) hiperkolestrolemi, koroner kalp hastalığı, obstruktif karaciğer hastalığı sonrası hiperkolestrolemi, primer biliyer siroz, nefrotik sendrom, kronik böbrek yetmezliği, Cushing sendromu, tip 2 diyabet, hipotiroidizm, obezite, gebelik, bazı glikojen depolama hastalıkları gibi nedenlerdendir (Tietz Textbook Of Clinical Chemistry And Molecular Diagnostics. 6th ed. Elsevier, Inc, 2018).

Örneklerin serum TK seviyesi Abbot Architect C-8000 marka otoanalizör ile ölçüldü. Bu test için TK standart kalibratör kullanıldı. Enzimatik kolorimetrik metod kullanıldı. Dalga boyu 500-660 nm arasında ölçüldü (Burtis 2001)

### 3.5.5TAS/TOS Analizi

TAS/TOS parametrelerinin ölçümü Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Merkez Biyokimya Laboratuvarında Abbot Architect C-8000 marka otoanalizörde yapılmıştır.

Total Antioksidan Seviye: Örneklerin total antioksidan status düzeyi (TAS), Erel tarafından geliştirilen Rel Assay marka ticari kitler (Rel Assay Kit Diagnostics, Türkiye) kullanılarak ölçüldü. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanıldı. Sonuçlar mmol Trolox equiv./lt olarak ifade edildi (Erel O. 2004).

Total Oksidan Seviye: Örneklerin total oksidan status (TOS) düzeyi, Erel tarafından geliştirilen Rel Assay marka ticari kitler (Rel Assay Kit Diagnostics, Türkiye) kullanılarak ölçüldü. Kalibratör olarak hidrojen peroksit kullandı. Sonuçlar µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> equiv./lt olarak ifade edildi (Erel O. 2005).



### 3.5.6 Biyokimyasal Analiz Sonuçlarının İstatistiksel Analizi

Çalışmamızda veriler %95 güvenle, SPSS 21 (SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA) paket programı kullanılarak analiz edildi. Sürekli değişkenler için merkezi yayılım ölçülerinden ortalama  $\pm$  standart sapma kullanıldı. Değişkenlerin normallik analizi için Shapiro Wilk testi kullanıldı. Bu test sonucuna göre parametrik ve non-parametrik test yapılmasına karar verildi. Çalışmamızda kullandığımız testler; Kruskal Wallis, ikili kıyas için Bonferroni düzeltmeli (6 adet ikili kıyas yapılacağından  $p=0,05 / 6 = 0,008$ 'dir) Mann Whitney U testi ve Wilcoxon Signed Rank testi kullanıldı. Bütün testlerin anlamlılık sınırı  $p=0,05$  olarak belirlendi.

## 4.BULGULAR

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

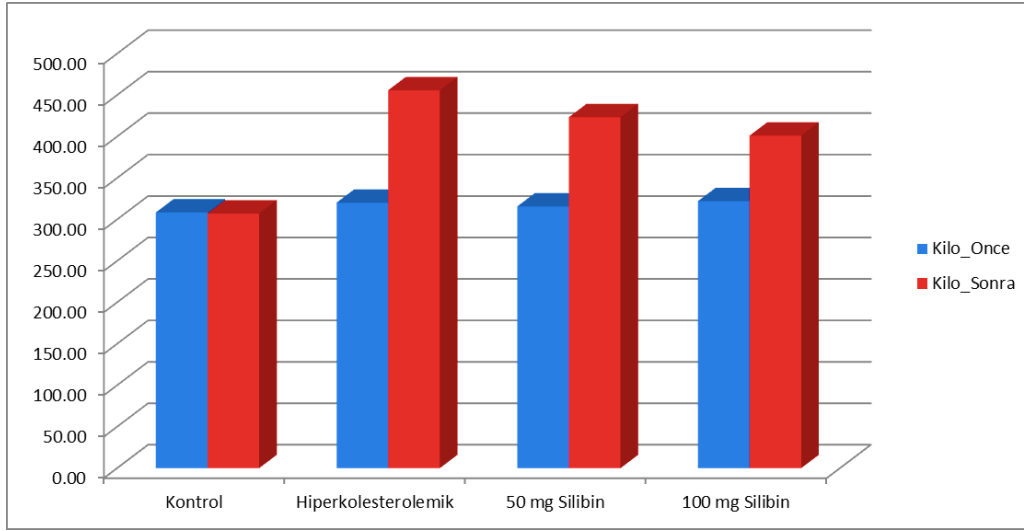
### 4. 1. Ağırlık Ölçümleri

Standart diyet (SD) uygulanan grup, yüksek kolesterolü diyet (YKD) uygulanan grup, yüksek yağlı diyet ek olarak son 7 gün yumurta verilen grup ve Yüksek Kolesterol Diyeti + Silybin 50mg / kg ve Yüksek Kolesterol Diyeti + Silybin 100mg / kg deneyin başlamasından 60 gün önce ve deney sırasında (7 gün) yumurta sarısı ile beslendi başlangıç ağırlıkları, son ağırlıkları, ağırlık artış çizelge 4.1'de, görülmektedir.

**Çizelge 4.1. :** Grupların başlangıç ve son kilo değerlerini karşılaştırmada kullanılan Wilcoxon Signed Rank test sonuçları

|                                |         | <b>Başlangıç<br/>Ağırlık (g)</b> | <b>Son Ağırlık<br/>(g)</b> | <b>p*</b> |
|--------------------------------|---------|----------------------------------|----------------------------|-----------|
| <b>Kontrol</b>                 | Mean+SD | 308.37±53.96                     | 307.12 ± 53.78             | 0.111     |
| <b>Hiperkolesterolemik</b>     | Mean+SD | 320.12±60.91                     | 455.75±57.66               | 0.012     |
| <b>50 mg Silybin+ YK</b>       | Mean+SD | 315.62±25.17                     | 423.25±52.46               | 0.012     |
| <b>100 mg Silybin +<br/>YK</b> | Mean+SD | 322.00±36.81                     | 401.00 ± 51.30             | 0.012     |

\*Wilcoxon Signed Rank Test kullanıldı



Şekil 4.1’de ise aynı sonuçlar çubuk grafiği şeklinde verilmiştir.(birim:g)

Çizelge 4.1’ e göre, Kontrol grubunda ilk ölçümü ve son ağırlık ölçümü arasında anlamlı bir fark bulunmazken ( $p=0.111$ ) diğer gruplarda (Hiperkolesterolemik, 50 mg Silybin + YK, 100 mg silibin + YK ) ilk ve son ağırlık arasında anlamlı ( $p=0.012$ ) bir fark saptandı.

#### 4.2 LDL, TG, HDL, Kolesterol, VLDL, OxLDL, TAS, TOS Değerleri

Dört bağımsız grup için Kruskal Wallis analizine göre bulunan sonuçlar tablodaki gibidir. Sadece TOS parametresi için gruplar arasında fark bulunmadı ( $p=0.164$ ). Diğer bütün parametreler için gruplar arasında anlamlı fark saptandı ( $p<0.05$  anlamlı kabul edildi).

Çizelge 4.2. Dört bağımsız grup için Kruskal Wallis analizine göre bulunan sonuçlar  
\*:Kruskal Wallis test kullanıldı. (Lipidler için birim mg/dL, TAS için mmol/L TOS için  $\mu\text{mol/L}$  .)

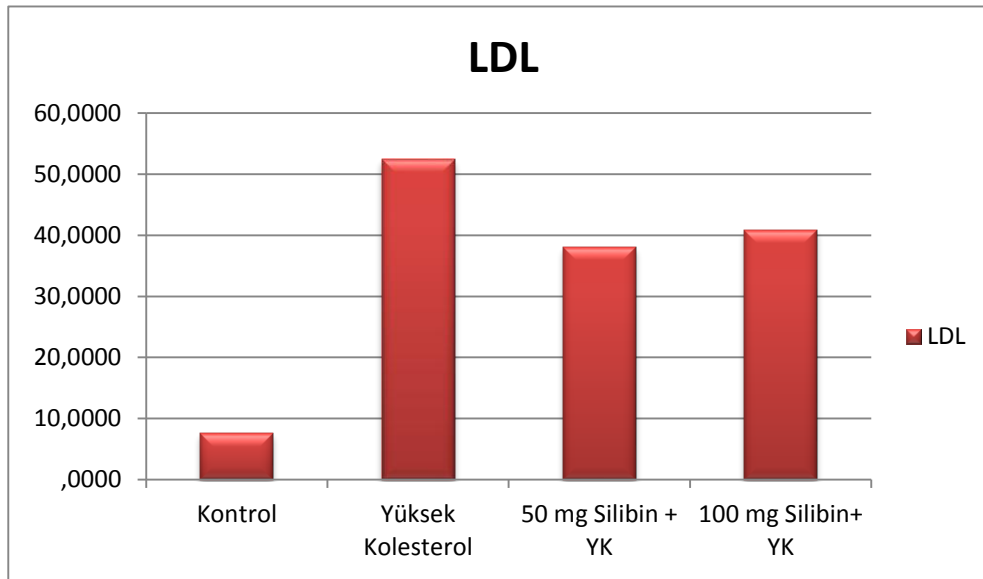
|                   | Kontrol           | Hiperkolesterolemik | 50 mg Silybin      | 100 mg Silybin     | P    |
|-------------------|-------------------|---------------------|--------------------|--------------------|------|
|                   | Mean $\pm$ SD     | Mean $\pm$ SD       | Mean $\pm$ SD      | Mean $\pm$ SD      |      |
| <b>LDL</b>        | 7,50 $\pm$ 1,97   | 52.42 $\pm$ 17.17   | 38.07 $\pm$ 23.22  | 40.80 $\pm$ 8.82   | .001 |
| <b>Kolesterol</b> | 33,67 $\pm$ 9,20  | 104.68 $\pm$ 22.42  | 85.07 $\pm$ 29.80  | 81.43 $\pm$ 9.82   | .001 |
| <b>HDL</b>        | 21,05 $\pm$ 8,27  | 27.11 $\pm$ 4.77    | 32.11 $\pm$ 6.77   | 25.82 $\pm$ 4.21   | .058 |
| <b>TG</b>         | 31,34 $\pm$ 9,06  | 241.86 $\pm$ 189.3  | 133.33 $\pm$ 53.24 | 102.20 $\pm$ 22.25 | .001 |
| <b>VLDL</b>       | 6.26 $\pm$ 1.81   | 48.37 $\pm$ 37.87   | 26.66 $\pm$ 10.64  | 20.44 $\pm$ 4.45   | .001 |
| <b>OxLDL</b>      | 20.09 $\pm$ 14.53 | 47.22 $\pm$ 24.45   | 30.19 $\pm$ 20.64  | 6,12 $\pm$ 3.45    | .004 |
| <b>TAS</b>        | 1.48 $\pm$ 0.27   | 0.77 $\pm$ 0.34     | 1.16 $\pm$ 0.11    | 1.06 $\pm$ 0.06    | .001 |
| <b>TOS</b>        | 51.21 $\pm$ 18.36 | 104.20 $\pm$ 79.91  | 81.14 $\pm$ 42.36  | 71.03 $\pm$ 20.09  | .164 |

Çizelge 4.2 gözlenen LDL, kolesterol, TG, VLDL, TAS değerlerinin gruplar arası (kontrol, hiper, 50 mg ve 100 mg) değerlendirmesinde en az bir grubun diğerlerinden farklı olduğu bulundu ( $p=0.001$ ).

Daha sonra istatistiksel anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığını görmek için yapılan ikili karşılaştırma için kullanılan istatistiksel yöntemde; İkili kıyas için Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi kullanıldı.

**Çizelge 4.3.** LDL parametresinde İkili kıyas için Bonferroni düzeltilmeli (6 adet ikili kıyas yapılacağından  $p=0,05 / 6 = 0,008$ 'dir) Mann Whitney U testi kullanıldı

| LDL                 | Gruplar             | p     |
|---------------------|---------------------|-------|
| Kontrol             | Hiperkolesterolemik | 0.001 |
| Kontrol             | 50 mg Silibin       | 0.002 |
| Kontrol             | 100 mg Silybin      | 0.001 |
| Hiperkolesterolemik | 50 mg Silybin       | 0.208 |
| Hiperkolesterolemik | 100 mg Silybin      | 0.248 |
| 50 mg Silybin       | 100 mg Silybin      | 0.916 |



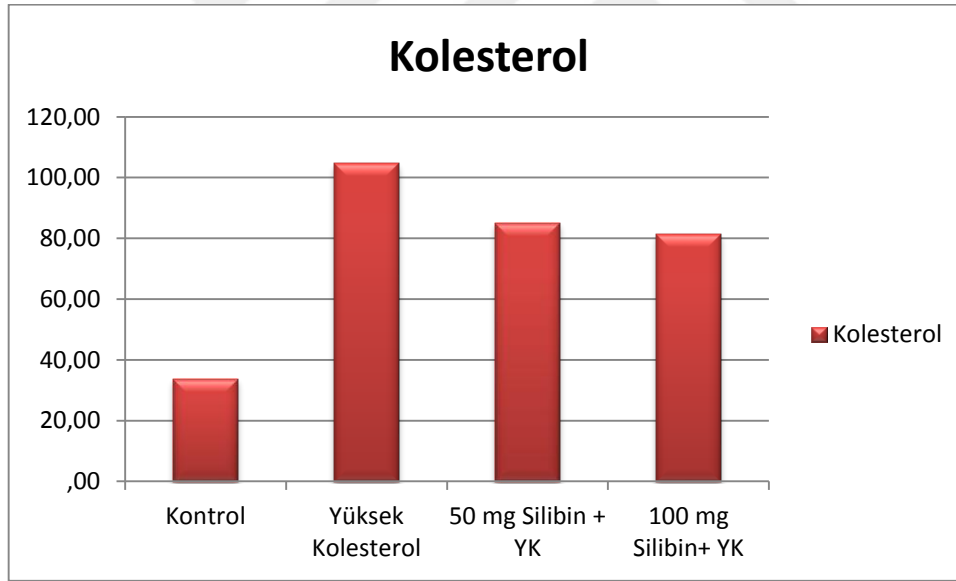
**Şekil 4.2.**' de LDL parametresinde İkili kıyas için Bonferroni düzeltilmeli (6 adet ikili kıyas yapılacağından  $p=0.05 / 6 = 0.008$ 'dir) Mann Whitney U testi kullanıldı.

Çizelge 4.3 ve şekil 4.2’de ait bulgular, Hiperkolesterolemik, 50 mg Silybin, 100 mg Silybin LDL değerlerinin kontrol grubu LDL değerlerinden farklı olduğu belirlendi (p=0.001). Ancak diğer gruplar arasında (hiperkolesterolemik, 50 mg Silybin verilen grup ve 100 mg Silybin verilen grup) herhangi bir anlamlılık saptanmadı.

**Çizelge 4.4.** Kolesterol parametresinde İkili kıyas için Bonferroni düzeltmeli (6 adet ikili kıyas yapılacağından  $p=0.05 / 6 = 0.008$ ’dir) Mann Whitney U testi kullanıldı

| Kolesterol          | Gruplar             | P     |
|---------------------|---------------------|-------|
| Kontrol             | Hiperkolesterolemik | 0.001 |
| Kontrol             | 50 mg Silybin       | 0.001 |
| Kontrol             | 100 mg Silybin      | 0.001 |
| Hiperkolesterolemik | 50 mg Silybin       | 0.208 |
| Hiperkolesterolemik | 100 mg Silybin      | 0.036 |
| 50 mg Silybin       | 100 mg Silybin      | 0.834 |

\* Mann Whitney U testi kullanıldı



**Şekil 4.3.** Kolesterol parametresinde İkili kıyas için Bonferroni düzeltmeli (6 adet ikili kıyas yapılacağından  $p=0.05 / 6 = 0.008$ ’dir) Mann Whitney U testi kullanıldı

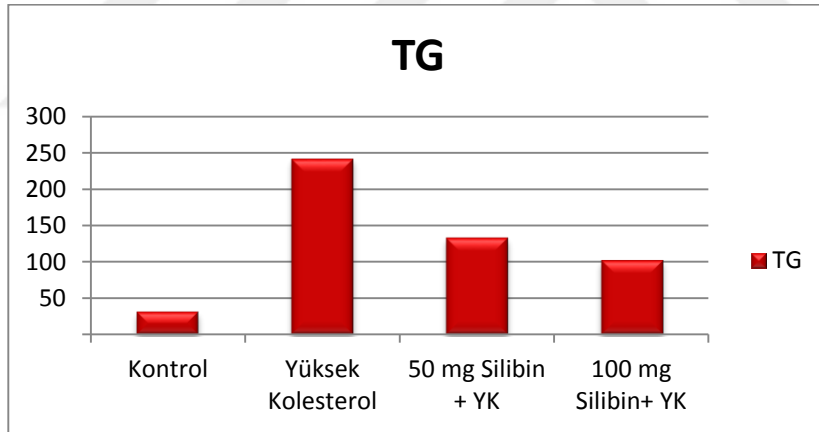
Çizelge 4.3 ve Şekil 4.4’te ait bulgular; Total Kolesterol düzeyi kontrol grubuna göre yüksek kolesterol diyet alan ratlarda azalmış olup Silybin verilen grupta azalma görülmedi ( $p<0.008$ ). Hiperkolesterolemik, 50 mg Silybin, 100 mg Silybin kolesterol değerlerinin kontrol grubu total kolesterol değerlerinden farklı olduğu görüldü ( $p= 0.001$ ).

Ancak diğer gruplar arasında (hiperkolesterolemik, 50 mg Silybin verilen grup ve 100 mg Silybin verilen grup) herhangi bir anlamlılığa saptanmadı.

**Çizelge 4.5** TG parametresinde İkili kıyas için Bonferroni düzeltmeli (6 adet ikili kıyas yapılacağından  $p=0.05 / 6 = 0.008$ 'dir) Mann Whitney U testi kullanıldı

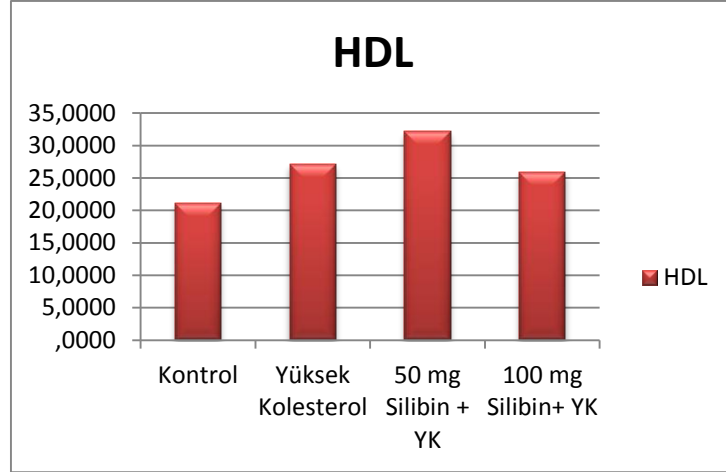
| TG                  | Gruplar             | p     |
|---------------------|---------------------|-------|
| Kontrol             | Hiperkolesterolemik | 0.001 |
| Kontrol             | 50 mg Silybin       | 0.001 |
| Kontrol             | 100 mg Silybin      | 0.001 |
| Hiperkolesterolemik | 50 mg Silybin       | 0.208 |
| Hiperkolesterolemik | 100 mg Silybin      | 0.046 |
| 50 mg Silybin       | 100 mg Silybin      | 0.093 |

\* Mann Whitney U testi kullanıldı



**Şekil 4.4.** TG parametresinde İkili kıyas için Bonferroni düzeltmeli (6 adet ikili kıyas yapılacağından  $p=0,05 / 6 = 0,008$ 'dir) Mann Whitney U testi kullanıldı

Çizelge 4.5 ve Şekil 4.4 te ait bulgular; TG düzeyi kontrol grubuna göre yağlı diyet alan ratlarda azalmış olup Silybin verilen grupta azalma görülmedi ( $p>0,008$ ). Hiperkolesterolemik, 50 mg Silybin, 100 mg Silybin TG değerlerinin kontrol grubu TG değerlerinden farklı olduğu görüldü( $p= 0.001$ ). Ancak diğer gruplar arasında (hiperkolesterolemik, 50 mg Silybin verilen grup ve 100 mg silibin verilen grup) herhangi bir anlamlılığa rastlanmadı ( $p=0.208$   $p=0.046$   $p=0.093$ ).



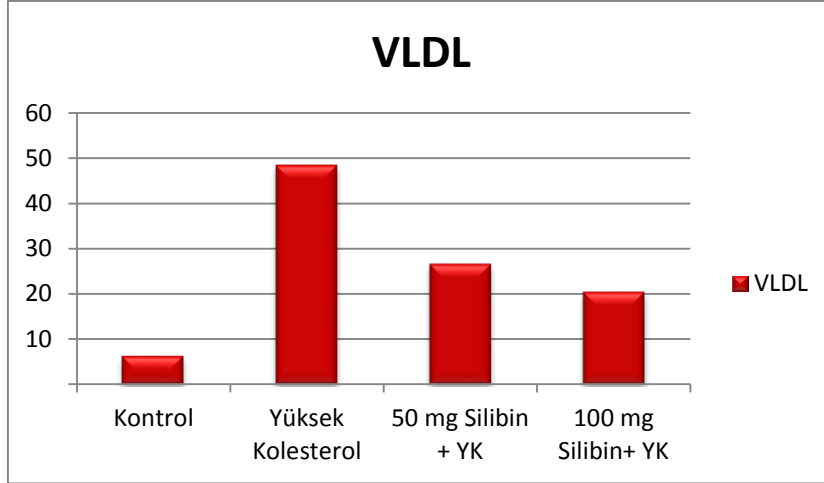
**Şekil 4.5.** HDL parametresinde İkili kıyas için Bonferroni düzeltmeli (6 adet ikili kıyas yapılacağından  $p=0,05 / 6 = 0,008$ 'dir) Mann Whitney U testi kullanıldı

Şekil 4.5 'te ait bulgular HDL düzeylerinde kontrol ve yağlı diyet ile beslenen ratlar ile 50-100 mg Silybin alan ratlar arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Hiperkolesterolemik, 50 mg Silybin, 100 mg Silybin LDL değerlerinin kontrol grubu HDL değerlerinden farklı olduğu belirlendi. ( $p= 0,001$ ,  $p=0,001$ ,  $p=0,001$ ). Ancak diğer gruplar arasında (hiperkolesterolemik, 50 mg Silybin verilen grup ve 100 mg Silybin verilen grup) herhangi bir anlamlılık saptanmadı.

**Çizelge 4.7** VLDL parametresinde İkili kıyas için Bonferroni düzeltmeli (6 adet ikili kıyas yapılacağından  $p=0,05 / 6 = 0,008$ 'dir) Mann Whitney U testi kullanıldı

| VLDI                | Gruplar             | p     |
|---------------------|---------------------|-------|
| Kontrol             | Hiperkolesterolemik | 0.001 |
| Kontrol             | 50 mg Silybin       | 0.001 |
| Kontrol             | 100 mg Silybin      | 0.001 |
| Hiperkolesterolemik | 50 mg Silybin       | 0.208 |
| Hiperkolesterolemik | 100 mg Silybin      | 0.046 |
| 50 mg Silybin       | 100 mg Silybin      | 0.093 |

\* Mann Whitney U testi kullanıldı (Birim mg/dL)



**Şekil 4.6.** VLDL parametresinde İkili kıyas için Bonferroni düzeltilmeli (6 adet ikili kıyas yapılacağından  $p=0,05 / 6 = 0,008$ 'dir) Mann Whitney U testi kullanıldı

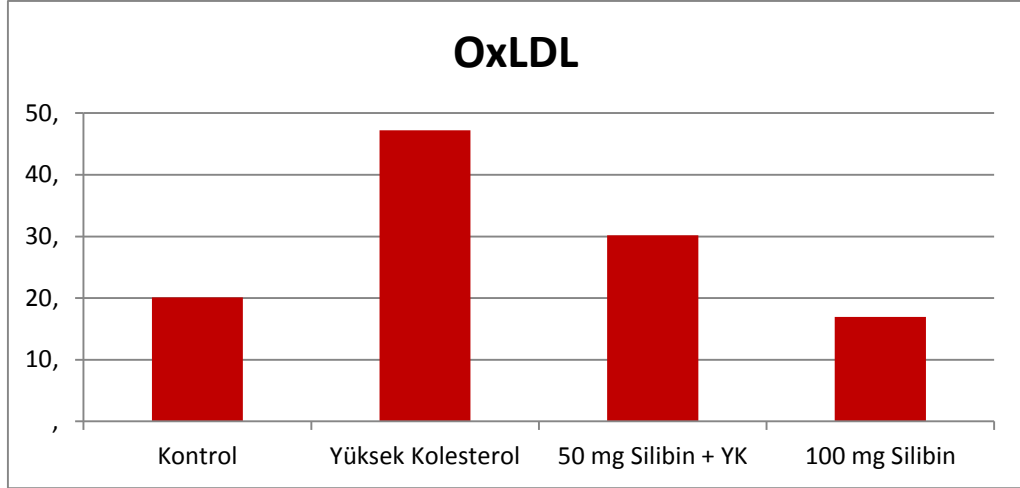
Çizelge 4.7 ve Şekil 4.6'da görüldüğü üzere VLDL düzeyi kontrol grubuna göre yağlı diyet alan ratlarda artma olup Silybin verilen grupta azalma saptanmadı ( $p>0.008$ ). Hiperkolesterolemik, 50 mg Silybin, 100 mg Silybin VLDL değerlerinin kontrol grubu VLDL değerlerinden farklı olduğu görüldü ( $p=0.001$ ). Ancak diğer gruplar arasında (hiperkolesterolemik, 50 mg silibin verilen grup ve 100 mg silibin verilen grup) herhangi bir anlamlılık rastlanmadı ( $p=0.208$   $p=0.046$   $p=0.93$ ).

**Çizelge 4.8** OxLDL parametresinde İkili kıyas için Bonferroni düzeltilmeli (6 adet ikili kıyas yapılacağından  $p=0,05 / 6 = 0,008$ 'dir) Mann Whitney U testi kullanıldı

| OxLD                | Gruplar             | p     |
|---------------------|---------------------|-------|
| Kontrol             | Hiperkolesterolemik | 0,035 |
| Kontrol             | 50 mg Silybin       | 0,298 |
| Kontrol             | 100 mg Silybin      | 0,063 |
| Hiperkolesterolemik | 50 mg Silybin       | 0,165 |
| Hiperkolesterolemik | 100 mg Silibin      | 0,003 |
| 50 mg Silybin       | 100 mg Silybin      | 0,01  |

\* Mann Whitney U testi kullanıldı (Birim mg /dL)





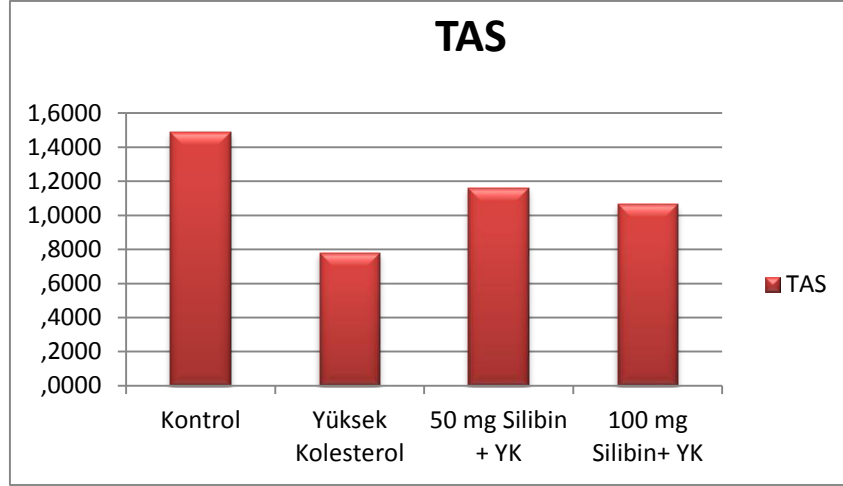
Şekil 4.7.'de OxLDL parametresinde İkili kıyas için Bonferroni düzeltilmeli (6 adet ikili kıyas yapılacağından  $p=0,05 / 6 = 0,008$ 'dir) Mann Whitney U testi kullanıldı

Çizelge 4.8 ve Şekil 4.7' de OxLDL düzeylerinde yağlı diyet ile beslenen ratlar ile 100 mg Silybin + YK alan ratlar arasında anlamlı bir fark saptandı ( $p=0.004$ ).

Çizelge 4.9. TAS parametresinde İkili kıyas için Bonferroni düzeltilmeli (6 adet ikili kıyas yapılacağından  $p=0.05 / 6 = 0.008$ 'dir) Mann Whitney U testi kullanıldı

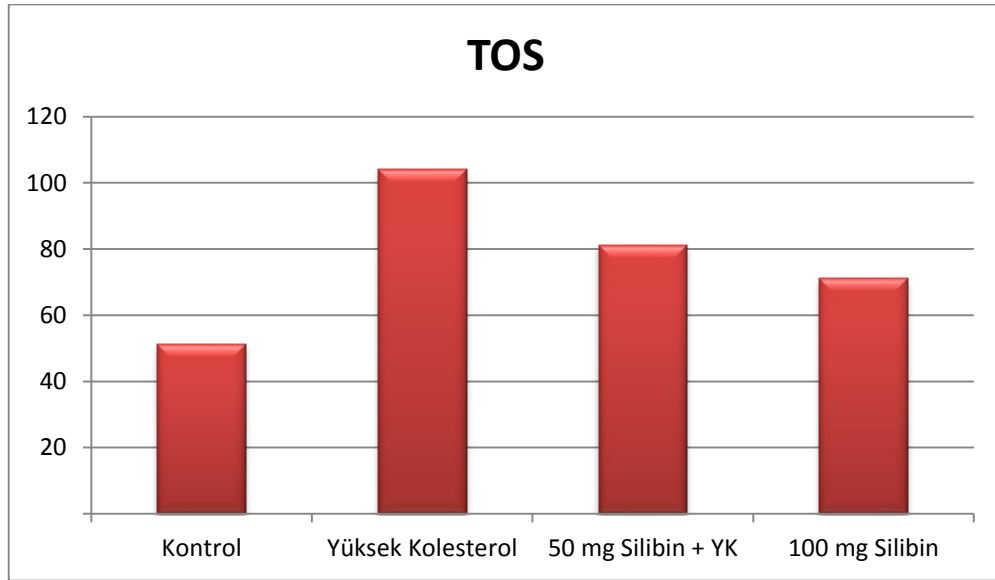
| TAS                 | Gruplar             | p     |
|---------------------|---------------------|-------|
| Kontrol             | Hiperkolesterolemik | 0.002 |
| Kontrol             | 50 mg Silybin       | 0.002 |
| Kontrol             | 100 mg Silybin      | 0.001 |
| Hiperkolesterolemik | 50 mg Silybin       | 0.008 |
| Hiperkolesterolemik | 100 mg Silybin      | 0.059 |
| 50 mg Silybin       | 100 mg Silybin      | 0.105 |

\* Mann Whitney U testi kullanıldı (mg/dL)



Şekil 4.8.'de TAS parametresinde ikili kıyas için Bonferroni düzeltmeli (6 adet ikili kıyas yapılacağından  $p=0,05 / 6 = 0,008$ 'dir) Mann Whitney U testi kullanıldı

Çizelge 4.9 ve Şekil 4.8'de görüldüğü gibi kontrol grubu ile hiperkolesterolemik ve 50 mg Silybin arasında anlamlı fark olduğu belirlendi. ( $p < 0,008$ ) Silybin'in antioksidan kapasiteyi arttırdığı söylenebilir.



Şekil 4.9.'de TOS grupları arasında herhangi bir anlamlı farklılık saptanmadı.

Şekil 4.9'da Oksidan kapasitede ise tüm gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Genel olarak gruplar arasında en az bir grubun diğerlerinden farklı çıkması sonucu p değeri 0,01 saptandı.

## 5.TARTIŞMA

Genetik faktörler ve sağlıksız diyet uygulamaları dünyada görülen dislipidemilere katkıda bulunmaktadır. İnsan ve hayvan epidemiyolojik çalışmaları, doymuş yağların, rafine edilmiş karbonhidratların ve düşük sebze ve meyve tüketiminin plazma kolesterol düzeylerini yükseltebileceğini gösteriyor. Yedi ülkede gerçekleştirilen geniş epidemiyolojik çalışmalar ve Framingham ve arkadaşlarının çalışması (Salle ver ark 2001), artmış serum kolesterolü ile ateroskleroz ve aterosklerotik KKH arasında güçlü bir ilişki olduğunu doğrulamaktadır. Hiperkolesterolemi KKH gelişiminde en önemli risk faktörlerinden birini oluşturduğundan, kolesterol metabolizması bozuklukları ile ateroenez arasındaki ilişkiyi daha iyi anlamak ve olası tedavileri değerlendirmek için çok sayıda hayvan deneyleri yapılmaktadır (Thomas 2011).

Bu çalışmada deneysel olarak oluşturulan obez rat modelinde lipit düşürücü etkiye sahip olduğu bilinen Silybin'in hiperlipidemi üzerine etkisi ayrıca antioksidan özelliği ve OxLDL düşürücü etkisi incelendi.

Senthil Gobalakrishnan ve arkadaşlarının (2016) yüksek kolesterol ile beslenen sıçanlarda serum TK, TG, LDL ve VLDL'de anlamlı bir artış saptamışlardır ( $p<0.005$ ). Yüksek kolesterol diyeti de HDL'yi azalttı. Senthil ve arkadaşları Yüksek yağlı diyet olarak kolesterolü kullanırken bizim çalışmamızda 60 gün boyunca yüksek kolesterol diyeti olarak yumurta sarısı verildi ve ratlar ilk ve son kilo artışlarına göre anlamlı bir fark belirlendi yine; bizim çalışmamızda benzer olarak Çizelge 4.2 de görüldüğü üzere, gruplar arasında serum total kolesterol, trigliserid, LDL ve VLDL'de anlamlı bir fark saptandı ( $p=0.001$ ).

Referans olarak obezite modelini aldığımız Metwally ve arkadaşlarının (2009) yaptığı çalışmada; yüksek kontrol diyeti ile beslenen sıçanlarda kontrol grubunu karşılaştırılmış ve serum total lipitleri, trigliseritler, kolesterol, LDL, HDL, VLDL önemli derecede artış belirlemişlerdir. Metwally ve arkadaşları 60 gün boyunca sıçanlara yumurta sarısı vererek sıçanlarda obez model yaratmayı başarmış ve sıçanlarda ilk ve son kilolarında önemli bir artış bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda da Metwally ve arkadaşlarının (2009) çalışmasına benzer olarak yaptığımız obezite modelinde hiperkolesterolemik grup, 50 mg silibin verilen grup ve 100 mg Silybin verilen gruplarda ilk ve son kilo artışlarında istatistiksel olarak

önemli bir fark saptandı sıçanları obez yapmada başarılı olduk ( $p=0.012$ ). Ayrıca Metwally ve arkadaşları Silymarin ile tedavi ettikleri grupta serum lipit seviyelerinde önemli bir azalma bulmuşlardır (Metwally ve ark 2009). Bizim yaptığımız çalışmada ratları obez hale getirmek için 60 gün boyunca yumurta sarısı kullanıldı ve sıçanlar 7 gün Silybine maruz kaldıktan sonra ilk ve son kiloları arasında önemli bir artış meydana geldi ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı belirlendi. Yine Metwally ve arkadaşlarının çalışmasına benzer olarak Çizelge 4.2 de görüldüğü üzere yüksek kolesterol grubu ile kontrol grubunu karşılaştırdığımızda serum Total Kolesterol, Trigliserid, LDL ve VLDL’de önemli bir fark belirlendi ( $p=0.001$ ).

Sayın ve arkadaşlarının (2016) yaptığı çalışmada 11 hafta boyunca sıçanlar yüksek yağlı diyetle beslendi ve daha sonra 1 hafta boyunca Silybin verildi. Yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda, standart sıçan diyetiyle beslenen sıçanlara kıyasla, ağırlıklarında ciddi bir artış bulmuşlardır (Sayın ve ark 2016). Yüksek yağlı diyet ile beslenen grup ile standart rat yemi ile beslenen grup arasında serum total kolesterol, trigliserit, LDL, VLDL seviyelerinde önemli bir artış gözlemlenmiştir. Bizim çalışmamızda da sıçanlar 60 gün boyunca yüksek kolesterolü diyetle beslendikten sonra Sayın ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya benzer olarak sıçanlar 1 hafta boyunca Silybin ile tedavi edildi yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda, Çizelge 4.1, Şekil 4.1.’ te ve Çizelge 4.7 ve Şekil 4.6’da görüldüğü üzere standart rat diyetiyle beslenen sıçanlara kıyasla serum total kolesterol, trigliserit, LDL, VLDL seviyelerinde anlamlı bir fark bulundu ( $p=0.001 - p<0.05$ ).

Haddah ve arkadaşları 12 hafta boyunca yüksek kolesterolü diyet ile nonalkolik steatohepatit oluşturmayı hedefledikleri ratlarda 200 mg/kg gün dozda Silybinin (SME’sinin etken maddesi olan Silymarinde en fazla miktarda bulunan bileşik)+fosfatidilkolin kompleksinin etkilerine bakmışlardır. Ratlarda silibinin verilen grubun son kilosu kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşmüştür, fakat aynı çalışmada yüksek yağlı diyet grubuna göre Silybinin grubunda son kiloda düşme olmakla birlikte anlamlı değildir. Aynı zamanda Silybinin ekstresinin ratlarda TK seviyesini düşürdüğü fakat anlamlı bir fark olmamasına rağmen LDL seviyesinde anlamlı bir düşmeye sebep olduğu görülmüştür (Haddah ve ark 2009). Bizim yaptığımız çalışmada ratlar obez haline geldikten sonra Silybin 50 mg ve 100 mg dozda verildi. Kontrol hariç diğer gruplarda ratların ilk ve son ağırlık artışı arasında anlamlı bir fark gözlemlendi. Bu bulguya paralel olarak laboratuvar parametrelerine bakıldığında ise kontrol grubunda total kolesterol seviyesi TK:  $33,67 \pm 9,20$  mg/dL, LDL

seviyesi:  $7,50 \pm 1,97$  iken, hiperkolesterolemik gruptaki total kolesterol seviyesi TK:  $104.68 \pm 22.42$  mg/dL ve LDL kolesterol seviyesi LDL:  $52.42 \pm 17.17$  olup anlamlı derecede artmış olarak bulundu ( $p < 0.001$ ). Ancak Çizelge 4.3, Çizelge 4.4 ve Şekil 4.2 ve Şekil 4.3 te de görüldüğü üzere 50 mg Silybin uygulanan grupta Total Kolesterol ve LDL seviyesi, sırasıyla TK:  $85.07 \pm 29.80$  mg/dL ve LDL= $38.07 \pm 23.22$  mg/dL, 100 mg Silybin uygulanan grupta ise TK:  $81.43 \pm 9.82$  mg/dL ve LDL= $40.80 \pm 8.82$  mg/dL olup hiperkolesterolemik gruba göre bir düşme yaşanmış fakat istatistiksel anlamlılık düzeyinin altında kaldı ( $p=0.208$ ).

Poruba ve arkadaşlarının (2015) yaptığı bir diğer çalışmada yüksek kolesterol diyeti uygulanan grup ile silmarin uygulanan grup arasında total kolesterol ve trigliserit seviyeleri arasında anlamlı bir fark bulundu (Poruba ve ark. 2015). Prakash ve arkadaşlarının (2014) yaptığı çalışmada sıçanları 11 hafta boyunca yüksek fruktozla indüklenmiş diyet ile beslemişlerdir. Daha sonra 3 hafta boyunca silmarin ile tedavi edilmiştir. Yüksek fruktoz diyeti ile beslenen sıçanlar ile Silymarin tedavisi gören sıçanlar arasında plazma TG seviyelerinde anlamlı bir azalma bulmuşlardır (Prakash ve ark. 2014). Bizim çalışmamızda yüksek kolesterol diyeti olarak yumurta sarısı 60 gün boyunca kullanıldı ve 7 gün boyunca farklı dozlarda Silybine maruz bırakıldı. Çalışmamızda Çizelge 4.4 ve Şekil 4.2, Çizelge 4.5 ve Şekil 4.3' te görüldüğü üzere TK ve TG seviyelerinde anlamlı bir fark bulunmadı. Ancak hiperkolesterolemik grupta TG düzeyleri TG:  $241.86 \pm 189.3$  iken 50 mg/dL Silybin uygulanan grupta TG: $133.33 \pm 53.24$  ve 100 mg Silybin uygulanan grupta ise TG: $102.20 \pm 22.25$  olup hiperkolesterolemik gruba göre düşük saptandı. Ancak bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0,208$ ).

Wallace S. ve arkadaşlarının (2008) yaptığı çalışmada ise silimarine maruz kalmış OxLDL jenerasyonunun inhibe edilmesinde ve OxLDL'ye daha sonra süpürücü reseptör (SR) aracılı monosit yapışmasının inhibe edilmesinde Silymarinin etkinliğini bildirmiştir. Silymarin içeren flavonoliganlar arasında silisristin, silidianin, silibinin ve izosilibinin bulunur. TBARS testi (tiyobarbitürik asit ile tepkimeye giren maddeler) ile yapılan ölçümlerde bu flavonoliganların (300 mikrom), OxLDL üretiminde % 60.0, 28.1, 60.0 ve % 30.1 oranında azalmaya yol açtığı gösterilmiştir. LDL'nin bakır sülfat ( $CuSO_4$ ) mevcudiyetinde Silybin ile muamelesi, monosit yapışmasının önemli doz bağımlı inhibisyonu ile sonuçlanmıştır. İnhibisyon, U937 monosit Fc gama reseptörleri (Fc $\gamma$ marR) tarafından tanınan anti-OxLDL antikörlerinin bağlanmasında bir azalma ile paralel

olmuştur. Bu sonuçlar, antioksidan ve serbest radikal süpürücü etki mekanizmaları yoluyla Silymarin ve Silybin'nin, monositler / makrofajlar üzerinde eksprese edilen SR ve FcγR tarafından tanınan oxLDL ve oksidasyona özgü neoepitopların oluşumunu inhibe ettiğini göstermiştir (Wallace ve ark 2008). Bu çalışmaya kıyasla bizim çalışmamız model ve uygulama olarak tamamen farklılık gösterse de bizim çalışmamızda sıçanlar 60 gün boyunca yumurta sarısı verilerek obez haline getirildi. Daha sonra 7 gün boyunca ip. olarak 50 mg ve 100 mg olarak farklı dozlarda silibine maruz kalan gruplar ile kontrol grubu arasında oxLDL parametresinde herhangi bir anlamlı bir fark saptanmadı ( $p=0,165$ ). Çizelge 4.8 Şekil 4.7' te görüldüğü gibi bizim çalışmamızda kontrol grupta OxLDL düzeyleri OxLDL:20.09 ± 14.53 iken Hiperkolesterolemik gruptaki OxLDL:47.22 ±24.45 mg/dL olup anlamlı derecede yüksek idi. Ancak 50 mg/dL Silybin uygulanan grupta OxLDL: 30.19 ±20.64 mg/dL ve 100 mg Silybin uygulanan grupta ise OxLDL: 16.95 ± 20.42 olup hiperkolesterolemik gruba göre düşük olarak gözlemlendi. Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen grup ile 100 mg Silybin verilen grup arasında anlamlı bir fark saptandı ( $p= 0.004$ ).

Haddad ve arkadaşlarının çalışmasında ise sıçanlar yüksek yağlı diyetle 12 hafta boyunca beslendi ve silibin ve fosfotidil kompleksi ile 5 hafta tedavi gördü. Tedavi sonucu serum TK' de bir azalma vardı fakat anlamlı bir azalma gözlemlenmemişlerdir. Bunun yanısıra LDL seviyesinde önemli bir azalma gözlemlenmişlerdir (Haddad ve ark 2011). Bizim çalışmamızda Çizelge 4.3 ve Şekil 4.2' de görüldüğü üzere serum total kolesterol ve LDL seviyelerinde bir azalma gözlemlenmekle birlikte bu azalma anlamlı bir fark saptanmadı.

Skottova ve arkadaşları (2003) kolesterolden zengin diyetle beslenen ratlarda diyetle %1 oranında eklenen Silymarin'in polifenolik fraksiyonunun kan lipitlerinin üzerine etkilerine bakmışlardır. Bu amaçla bir grup ratı domuz yağıyla (doymuş ve tekli doymamış yağ asitlerinden zengin) bir grubu Frenk üzümü yağı (çoklu doymamış yağ asitlerinden zengin) ile 3 hafta boyunca beslemişlerdir. Polimerize olmuş polifenoller iki grupta da VLDL'yi düşürmüş ve HDL/VLDL oranını yükseltmiş bu sırada LDL ve TK'de fark yaratmamışlardır (Skottova ve ark 2003). Bizim çalışmamızda da Skottova ve arkadaşlarının bulduğu gibi Çizelge 4.3, Şekil 4.2 ve Çizelge 4.5, Şekil 4.4.' te görüldüğü gibi LDL ve TK de bir düşüş gözlemlenmiş fakat istatistiksel olarak anlamlı bir azalma belirlenmedi.

Silybin'nin kalıtsal hiperglisemik ratlarda karaciğer ve kan antioksidan durumuna ve lipoprotein metabolizmasına etkisine bakılan bir çalışmada hiperglisemiye sahip ratların 2 hafta boyunca bir grubu standart diyetle bir grubu yüksek sükröz içeren diyetle (toplam enerjinin

%70'i sükrözdan) beslenmiştir. Diyete Silymarin eklenmesi kan lipit seviyesini anlamlı bir düzeyde etkilememiş fakat plazma VLDL seviyesini düşürmüştür (Skottova ve ark 2004). Bizim çalışmamızda da Çizelge 4.7 Şekil 4.6' te görüldüğü gibi plazma lipit seviyelerinde anlamlı bir fark saptanmadı. Serum VLDL düzeyi kontrol grubunda VLDL:  $6.26 \pm 1.81$  mg/dL, hiperkolesterolemik grupta ise VLDL:  $48.37 \pm 37.87$  mg/dL olup kontrol gruba göre anlamlı derecede yüksekti. Ancak Silybin verilen grupta  $26.66 \pm 10.64$  mg/dL ve 100 mg silibin verilen grupta ise  $20.44 \pm 4.45$  mg/dL olup VLDL seviyesinde bir azalma gözlemlenmekle birlikte anlamlı bir fark saptanmadı ( $p=0.208$   $p=0.046$ ).

Skottava aynı çalışmada yüksek sükröz verilen grupta serum TBARS ve konjuge diet miktarında kontrol gruba göre artış ve antioksidan olan glutayon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve indirgenmiş glutayon düzeylerinde azalma saptamışlardır. Daha sonra silimarin verildikten sonra hem TBARS hem de konjuge dienlerde azalma ancak süperoksit dismutaz ve indirgenmiş glutayon düzeylerinde anlamlı derecede artış olduğunu saptamışlardır. Bizim çalışmamızda da serumdaki Total Oksidatif Stres düzeyi kontrol grupta TOS:  $51.21 \pm 18.36$   $\mu\text{mol/L}$  iken hiperkolesterolemik grupta TOS:  $104.20 \pm 79.91$   $\mu\text{mol/L}$  olarak ölçülmüş olup istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi. Ancak Total Antioksidan Kapasite (TAS) kontrol grupta TAS:  $1.48 \pm 0.27$  mmol/L iken hiperkolesterolemik grupta  $0.77 \pm 0.34$  olup anlamlı derecede azalmış olarak bulundu ( $p=0.002$ ). Ayrıca 50 mg silibin verilen gruptaki TAS değerleri  $1.16 \pm 0.11$  mmol/L olup hiperkolesterolemik gruba göre anlamlı derecede artmış olarak bulundu ( $p=0.008$ ). 100 mg silibin verilen grupta ise TAS değerleri TAS:  $1.06 \pm 0.06$  mmol/L olup 50 mg silibin uygulanan gruba göre anlamlı değildi ( $p=0.105$ ).

## 6.SONUÇ

Çalışmamızda;

1-Yüksek yağlı diyet ile besleyerek obez hale getirdiğimiz gruplar ile kontrol grubu arasında TK, LDL ve TG, VLDL ( $p=0.001$ ) seviyelerini anlamlı bir şekilde yükseltirken ( $p<0,05$ ), HDL parametresinin seviyesinde kontrol grubuna göre anlamlı bir artma olduğu saptandı ( $p=0.58$ ).

2- Yine yüksek kolesterol ile beslenen grupların kontrol grubu ile arasında ki antioksidan parametrelerine baktığımızda ise; OxLDL, TAS ( $p=0.004$   $p=0.001$ ) seviyelerinde yine anlamlı bir fark olduğu saptandı ( $p<0.008$ ).

3- Anlamlı farkın hangi iki grup arasında olduğuna baktığımızda ( $p<0,008$ ) ise farklı dozlarda silibine maruz bırakılan gruplarla (50mg ve 100 mg) hiperkolesterolemik grup arasında serum TK, LDL ve TG, VLDL, TOS gruplarında anlamlı bir fark belirlenmedi.

4- Antioksidan parametre olan TAS seviyesinde 50 mg silibin uygulanan grupta TAS seviyesi hiperkolesterolemik gruba göre yüksek olup anlamlı bir fark saptanmıştır ( $p=0.008$ ), ve OxLDL seviyesinde de 100 mg silibin uygulanan grupta OxLDL seviyesi hiperkolesterolemik gruba göre yüksek olup anlamlı bir fark saptandı ( $p=0.004$ ).

Silybinin hiperlipidemik özelliklerine ilişkin bulgularımız, silibinin hiperlipidemiye tedavi etmeye tamamen etkisi olmadığı ve en azından kısmen olduğunu göstermiştir. Çalışmamızda bazı kısıtlılıklar mevcuttur. Bunlardan bir tanesi çalışmamızın süresi olup lipit metabolizmasında ki değişikliklerin ortaya çıkabilmesi için ilaç etkisinin 1 haftadan daha uzun süreli denendiği çalışmalara ihtiyaç vardır. İkinci olarak ise yüksek kolesterolü diyet olarak yumurta sarısı yerine daha standart kolesterol içeriğine sahip diyetle beslenmesi daha uygun olabilirdi.



## 7. KAYNAKLAR

1. **Carl Grunfeld, Kenneth R Feingold**, A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. **2018** February 2.
2. **Lopes-Virella, Eckel RH, Wassef M, Chait A, Sobel B** ve ark. Prevention Conference VI: Diabetes and Cardiovascular Disease: Writing Group II: pathogenesis of atherosclerosis in diabetes. **2002**; 105(18):e138-43.
3. **Wolska A, Dunbar RL, Freeman LA, Ueda M, Amar MJ, Sviridov DO**, ve ark. Apolipoprotein C-II: New findings related to genetics, biochemistry, and role in triglyceride metabolism. *Atherosclerosis*. **2017** Dec;267:49-60.,
4. **Dunbar RL, Freeman LA, Ueda M, Amar MJ, Sviridov DO**, ve ark. Apolipoprotein C-II: New findings related to genetics, biochemistry, and role in triglyceride metabolism. *Atherosclerosis*. **2017** Dec;267:49-60.
5. **Wang S, Smith JD**. ABCA1 and nascent HDL biogenesis. *BioFactors*. 2014 Nov-Dec;40(6):547-54
6. **Thomas P**. Bersot Drug Therapy for Hypercholesterolaemia and Dyslipidemia. In Goodman & Gilman's – The Pharmacological Basis of Therapeutics. Eds Laurence LB, Bruce AC, Bjorn CK, 12th edn. McGraw-Hill Book Co. Newyork, **2011**. 31:878-904
7. **Smith SC, Blair SN, Criqui MH, Fletcher GF, Fuster V, Gersh BJ**, ve ark. Preventing Heart Attack and Death in Patients with Coronary Disease. *Circulation*. **1995**;92(1):2–4
8. **Stamler J, Wentworth D, Neaton JD**. Is Relationship between Serum Cholesterol and Risk of Premature Death from Coronary Heart Disease Continuous and Grade Findings in 356,222 Primary Screenees of the Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT). *JAMA*. **1986**;256(20):2823–28
9. **Senthil Gobalakrishnan, Sylvia Santhakumari As irvatham, Venkatraman Janarthanam** Effect of Silybin on Lipid Profile in Hypercholesterolaemic Rats *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. **2016** Apr, Vol-10(4): FF01-FF05
10. **Feingold KR, Grunfeld C**. Lipids: a key player in the battle between the host and microorganisms. *Journal of lipid research*. **2012** Dec;53(12):2487-9.
11. **Thomas P**. Bersot Drug Therapy for Hypercholesterolaemia and Dyslipidemia. In Goodman & Gilman's – The Pharmacological Basis of Therapeutics. Eds Laurence LB, Bruce AC, Bjorn CK, 12th edn. McGraw-Hill Book Co. **2011** 31:878-904
12. **D'Aquila T, Hung YH, Carreiro A, Buhman KK**. Recent discoveries on absorption of dietary fat: Presence, synthesis, and metabolism of cytoplasmic lipid droplets within enterocytes. *Biochimica et biophysica acta*. **2016** (8 Pt A):730-47.
13. **Hussain MM**. Intestinal lipid absorption and lipoprotein formation. *Current opinion in lipidology*. **2014** Jun;25(3):200-6.

14. **Kindel T, Lee DM, Tso P.** The mechanism of the formation and secretion of chylomicrons. *Atherosclerosis Supplements*. **2010** Jun;11(1):11-6.
15. **Dallinga-Thie GM, Franssen R, Mooij HL, Visser ME, Hassing HC, Peelman F,** ve ark. The metabolism of triglyceride-rich lipoproteins revisited: new players, new insight. *Atherosclerosis*. **2010** Jul;211(1):1-8.
16. **Dijk W, Kersten S.** Regulation of lipid metabolism by angiopoietin-like proteins. *Current opinion in lipidology*. **2016** Jun;27(3):249-56.
17. **Fong LG, Young SG, Beigneux AP, Bensadoun A, Oberer M, Jiang H,** ve ark. GPIHBP1 and Plasma Triglyceride Metabolism. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. **2016** Jul;27(7):455-69.
18. Peterfy M. Lipase maturation factor 1: a lipase chaperone involved in lipid metabolism. *Biochimica et biophysica acta*. **2012** May;1821(5):790-4.
19. **Tiwari S, Siddiqi SA.** Intracellular trafficking and secretion of VLDL. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. **2012** May;32(5):1079-86.
20. **Hooper AJ, Burnett JR, Watts GF.** Contemporary aspects of the biology and therapeutic regulation of the microsomal triglyceride transfer protein. *Circulation research*. **2015** Jan 2;116(1):193-205.
21. **Goldstein JL, Brown MS.** A century of cholesterol and coronaries: from plaques to genes to statins. *Cell*. **2015** Mar 26;161(1):161-72
22. **Wolska A, Dunbar RL, Freeman LA, Ueda M, Amar MJ, Sviridov DO,** ve ark. Apolipoprotein C-II: New findings related to genetics, biochemistry, and role in triglyceride metabolism. *Atherosclerosis*. **2017** Dec;267:49-60. PubMed PMID: 29100061. Pubmed Central PMCID: 5705268.
23. **Mahley RW.** Apolipoprotein E: from cardiovascular disease to neurodegenerative disorders. *Journal of molecular medicine*. **2016** Jul;94(7):739-46. PubMed PMID: 27277824. Pubmed Central PMCID: 4921111
24. **Goldstein JL, Brown MS.** The LDL receptor. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. **2009** Apr;29(4):431-8. PubMed PMID: 19299327. Pubmed Central PMCID: 2740366.
25. **Goldstein JL, DeBose-Boyd RA, Brown MS.** Protein sensors for membrane sterols. *Cell*. **2006** Jan 13;124(1):35-46. PubMed PMID: 16413480.
26. Annual Review of Biochemistry 46: 897, 1977))
27. **Olivecrona G.** Role of lipoprotein lipase in lipid metabolism. *Current opinion in lipidology*. **2016** Jun;27(3):233-41. PubMed PMID: 27031275.
28. **Kobayashi J, Miyashita K, Nakajima K, Mabuchi H.** Hepatic Lipase: a Comprehensive View of its Role on Plasma Lipid and Lipoprotein Metabolism. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*. **2015**;22(10):1001-11. PubMed PMID: 26194979.
29. **Ossoli A, Simonelli S, Vitali C, Franceschini G, Calabresi L.** Role of LCAT in Atherosclerosis. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*. **2016**;23(2):119-27. PubMed PMID: 26607351.

30. **Abumrad NA, Davidson NO.** Role of the gut in lipid homeostasis. *Physiol Rev.* **2012** Jul;92(3):1061-85. PubMed PMID: 22811425. Pubmed Central PMCID: 3589762.
31. **D'Aquila T, Hung YH, Carreiro A, Buhman KK.** Recent discoveries on absorption of dietary fat: Presence, synthesis, and metabolism of cytoplasmic lipid droplets within enterocytes. *Biochimica et biophysica acta.* **2016** Aug;1861(8 Pt A):730-47. PubMed PMID: 27108063. Pubmed Central PMCID: 5503208.
32. **Hussain MM.** Intestinal lipid absorption and lipoprotein formation. *Current opinion in lipidology.* **2014** Jun;25(3):200-6. PubMed PMID: 24751933. Pubmed Central PMCID: 4265799.
33. **Kindel T, Lee DM, Tso P.** The mechanism of the formation and secretion of chylomicrons. *Atherosclerosis Supplements.* **2010** Jun;11(1):11-6. PubMed PMID: 20493784.
34. **Tiwari S, Siddiqi SA.** Intracellular trafficking and secretion of VLDL. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology.* **2012** May;32(5):1079-86. PubMed PMID: 22517366. Pubmed Central PMCID: 3334296.
35. **Hooper AJ, Burnett JR, Watts GF.** Contemporary aspects of the biology and therapeutic regulation of the microsomal triglyceride transfer protein. *Circulation research.* **2015** Jan 2;116(1):193-205. PubMed PMID: 25552696.
36. **Dallinga-Thie GM, Franssen R, Mooij HL, Visser ME, Hassing HC, Peelman F,** et al. The metabolism of triglyceride-rich lipoproteins revisited: new players, new insight. *Atherosclerosis.* **2010** Jul;211(1):1-8. PubMed PMID: 20117784. Pubmed Central PMCID: 3924774.
37. **Goldstein JL, Brown MS.** A century of cholesterol and coronaries: from plaques to genes to statins. *Cell.* **2015** Mar 26;161(1):161-72. PubMed PMID: 25815993. Pubmed Central PMCID: 4525717.
38. **Horton JD, Cohen JC, Hobbs HH.** Molecular biology of PCSK9: its role in LDL metabolism. *Trends in biochemical sciences.* **2007** Feb;32(2):71-7. PubMed PMID: 17215125. Pubmed Central PMCID: 2711871.
39. **Zhang L, Reue K, Fong LG, Young SG, Tontonoz P.** Feedback regulation of cholesterol uptake by the LXR/DLR axis. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology.* **2012** Nov;32(11):2541-6. PubMed PMID: 22936343. Pubmed Central PMCID: 4280256.
40. **Brown MS, Radhakrishnan A, Goldstein JL.** Retrospective on Cholesterol Homeostasis: The Central Role of Scap. *Annual review of biochemistry.* **2017** Aug 25. PubMed PMID: 28841344. Zhao Y, Van Berkel TJ, Van Eck M. Relative roles of various efflux pathways in net cholesterol efflux from macrophage foam cells in atherosclerotic lesions. *Current opinion in lipidology.* **2010** Oct;21(5):441-53. PubMed PMID: 20683325.
41. **Lee-Rueckert M, Escola-Gil JC, Kovanen PT.** HDL functionality in reverse cholesterol transport-Challenges in translating data emerging from mouse models to human disease. *Biochimica et biophysica acta.* **2016** Jul;1861(7):566-83. PubMed PMID: 26968096.
42. **Tall AR.** Cholesterol efflux pathways and other potential mechanisms involved in the athero-protective effect of high density lipoproteins. *Journal of internal medicine.* **2008** Mar;263(3):256-73. PubMed PMID: 18271871.

43. **Siddiqi HK, Kiss D, Rader D.** HDL-cholesterol and cardiovascular disease: rethinking our approach. *Current opinion in cardiology.* **2015** Sep;30(5):536-42. PubMed PMID: 26192490.
44. **Witztum J. L., Berliner J. A.** Oxidized phospholipids and isoprostanes in atherosclerosis. *Curr. Opin. Lipidol.* 9, (1998). 441–448. 10.1097/00041433-199810000-00008
45. **Leopold J. A., Loscalzo J**Oxidative risk for atherothrombotic cardiovascular disease. *Free Radic. Biol. Med.* . **2009.** 47, 1673–1706. 10.1016/j.freeradbiomed.2009.09.009
46. **Sinha K., Das J., Pal P. B., Sil P. C.** Oxidative stress: the mitochondria-dependent and mitochondria-independent pathways of apoptosis. *Arch. Toxicol.* **2013.** 87, 1157–1180. 10.1007/s00204-013-1034-4
47. **Santos C. X., Anilkumar N., Zhang M., Brewer A. C., Shah A. M.** **2011** Redox signaling in cardiac myocytes. *Free Radic. Biol. Med.* 50, 777–793. 10.1016/j.freeradbiomed.2011.01.003
48. **Galkina E., Ley K.** Leukocyte influx in atherosclerosis. *Curr. Drug Targets* **2007**, 1239–1248. 10.2174/138945007783220650
49. **Chen Z, Peto R, Collins R,** ve ark. Serum cholesterol concentration and coronary heart disease in population with low cholesterol concentrations. *BMJ* **1991**; 303: 276-82
50. **Shepherd J, Blauw GJ, Murphy MB,** ve ark. Pravastatin in elderly individuals at risk- of vascular disease (PROSPER): A randomised controlled trial. *Lancet* 2002; 360: 1623-3
51. **Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA,** ve ark. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and recurrent events trial investigators. *N Engl J Med* **1996**; 335: 1001-9.
52. **Serruys PW, de Feyter P, Macaya C,** ve ark. Fluvastatin for prevention of cardiac events following successful first percutaneous coronary intervention: A randomized controlled trial. *JAMA* **2002**; 287: 3215-22
53. **Schoonjans K, Sataels B, Auwerx J.** Role of the peroxisome proliferator activated receptor (PPAR) in mediating effects of fibrates and fatty acids on gene expression. *J Lipid Res* 1996; 37: 907-25
54. **Staels B, Dallongeville J, Auwerx J,** et al. Mechanism of action of fibrates on lipid and lipoprotein metabolism. *Circulation* **1998**; 98: 2088-93.
55. **Simánek V, Kren V, Ulrichová J, Vicar J, Cvak L.** Silymarin: What is in the name.. An appeal for a change of editorial policy. *Hepatology* **2000**; 32: 442-444
56. **Gazák R, Walterová D, Kren V.** Silybin and silymarin—new and emerging applications in medicine. *Curr Med Chem* **2007**; 14: 315-338
57. **Lee JI, Narayan M, Barrett JS.** Analysis and comparison of active constituents in commercial standardized silymarin extracts by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* **2007**; 845: 95-103
58. **Kim NC, Graf TN, Sparacino CM, Wani MC, Wall ME.** Complete isolation and characterization of silybins and isosilybins from milk thistle (*Silybum marianum*). *Org Biomol Chem* **2003**; 1: 1684-1689
59. **Han YH, Lou HX, Ren DM, Sun LR, Ma B, Ji M.** Stereoselective metabolism of silybin diastereoisomers in the glucuronidation process. *J Pharm Biomed Anal* 2004; 34: 1071-1078

60. **Tang N, Wu D, Lu Y, Chen J, Zhang B, Wu W.** A comparative study on the stability of silybin and **Comelli MC, Mengs U, Schneider C, Prosdocimi M.** Toward the definition of the mechanism of action of silymarin: activities related to cellular protection from toxic damage induced by chemotherapy. *Integr Cancer Ther* **2007**; 6: 120-129
61. **Brantley SJ, Oberlies NH, Kroll DJ, Paine MF.** Two flavonolignans from milk thistle (*Silybum marianum*) inhibit CYP2C9-mediated warfarin metabolism at clinically achievable concentrations. *J Pharmacol Exp Ther* **2010**; 332: 1081-1087
62. **Kren V., Gebhardt R.:** Antioxidant Properties And Inhibitory Effects On Cholesterol Biosynthesis Of Silibinin And Glycosylated Derivatives Thereof In Cultured Hepatocytes. *Proc. 2nd Int. Congr. Phytomedicine, Munich, 1996*, SI-31.
63. **Montanini I., Castigli F., Arienti G., Porcellati G.:** The Effect Of Silybin On Liver Phospholipid Synthesis In The Rat In Vivo. *Farmacol. Ed. Sci.* 32:141-146,**1977**.
64. **Castigli E, Montanini I, Roberti R., Porcellati G.:** The Activity Of Silybin On Phospholipid Metabolism Of Normal And Fatty Liver In Vivo. *Pharmacol. Res. Commun.* 9: 59—69,**1977**.
65. **Corazzi L., Arienti G., Tocchi L., Montanini I., Porcellati G.:** The Effect Of Silybin On Lipid Synthesis In Ethanol-Intoxicated Rat Hepatocytes In Primary Culture. *Farmacol. Ed. Sci.* 37:123-132,**1982**.
66. **Schriewer H., Weinhold F.:** The Influence Of Silybin From *Silybum marianum* (L.) Gaertn. On In Vitro Phosphatidyl Choline Biosynthesis In Rat Livers. *Arzneimittelforsch* 29: 791-792,**1979**
67. **Vengerovski A.I., Chuchalin V.S., Morokova Ea, Prishchep T.P., Saratkov A.S.:** Liver-Protective Action Of Silibinine In Experimental Cc14 Poisoning. *Farmakol Toksikol.* 50: 67-69,**1987**.
68. **Mourelle M., Franco M.T.:** Erythrocyte Defects Precede The Onset Of Ccu-Induced Liver Cirrhosis. Protection By Silymarin. *Life Sci.* 48:1083-1090, **1991**.
69. **Petronelli A., Roda E., Briganti M., Morselli-Labate A.M., Barbara L.:** Effect Of The Administration Of Silymarin On Serum Lipid Levels. *Clin. Ter.* 99: 471-482,**1981**.
70. **Pathasarathy S., Young S.G., Witztum J.L., Pittman R.C., Steinberg D.:** Probucol Inhibits Oxidative Modification Of Low Density Lipoprotein. *J. Clin. Invest.* 77: 641-644,**1986**.
71. **Yoshida T., Yoshida K., Sakane N., Umekawa T., Kondo M.:** Probucol Prevents The Progression Of Fatty Liver In Msg Obese Mice. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* 103:119-122,**1995**.
72. **Steinberg D., Pathasarathy S., Carew T.E., Khoo J.C., Witztum J.L.:** Modifications Of Low-Density Lipoprotein That Increase Atherogenicity. *N. Engl. J. Med.* 320: 915-924,**1989**.
73. **Letteron P., Labbe G., Degott C., Berson A., Fromenty B., Delaforge M., Larrey D., Pessayre D.:** Mechanism For The Protective Effects Of Silymarin Against Carbon Tetrachloride-Induced Lipid Peroxidation And Hepatotoxicity In Mice. Evidence That Silymarin Acts Both As An Inhibitor Of Metabolic Activation And As A Chain-Breaking Antioxidant. *Biochem. Pharmacol.* 39: 2027-2034,**1990**.

74. **Mira L., Silva M., Manso C.F.:** Scavenging Of Reactive Oxygen Species By Silibinin Dihemisuccinate. *Biochem. Pharmacol.* 48: 753-759, **1994**
75. **Valenzuela A., Aspillaga M., Vial S., Guerra R.:** Selectivity Of Silymarin On The Increase Of The Glutathione Content In Different Tissues Of The Rat. *Planta Med.* 55: 420-422, **1989**
76. **Petronelli A., Roda E., Briganti M., Morselli-Labate A.M., Barbara L.:** Effect Of The Administration Of Silymarin On Serum Lipid Levels. *Clin. Ter.* 99: 471-482, **1981**
77. **Lang I., Deak G., Muzes G., Pronai L., Feher J.:** Effect Of The Natural Bioflavonoid Antioxidant Silymarin On Superoxide Dismutase (Sod) Activity And Expression In Vitro. *Biotechnol. Ther.* 4: 263-270, **1993**
78. **Coffey M.D., Cole Ra., Colles S.M., Chisolm G.M.:** In vitro cell injury by oxidized low density lipoprotein involves lipid hydroperoxide-induced formation of alkoxy, lipid, and peroxy radicals. /. *Clin. Invest.* 96:1866-1873, **1995**.
79. **Shah A., Daugherty A., O Sullivan F., Schonfeld F., Hemecke J.W.:** Beta-carotene inhibits atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits. *J. Clin. Invest.* 96: 2075 -2082, **1995**
80. **Pathasarathy S., Young S.G., Witztum J.L., Pittman R.C., STEINBERG D.:** Probucol inhibits oxidative modification of low density lipoprotein. /. *Clin. Invest.* 77: 641-644, **1986**.
81. **Barnhart R.L., Busch S.J., Jackson R.L.:** Concentration-dependent antioxidant activity of probucol in low density lipoproteins in vitro: probucol degradation precedes lipoprotein oxidation. /. *Lipid Res.* 30:1703-1710, **1989**
82. **Whalley C.V., Rankin S.M., Hoult J.R., Jessup W., Leake D.S.:** Flavonoids Inhibit The Oxidative Modification Of Low Density Lipoprotein By Macrophages. *Biochem. Pharmacol* 39:1743-1750, **1990**

## ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Hatay'da doğdu. 2009 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü kazandı ve 2014 yılında mezun oldu. 2016 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı.