

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DİYETE FARKLI MİKTARLARDA *Yucca schidigera*
TOZU KATILMASININ SIÇANLARDA PLAZMA
LEPTİN, İNSULİN VE TİROİD HORMONLARI İLE
BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELERE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Veteriner Hekim İsmail KÜÇÜKKURT

**VETERİNER BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Yılmaz DÜNDAR

Bu tez Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Komisyonu tarafından 06.VF.08 Proje numarası ile desteklenmiştir.

Tez No: 2007-004

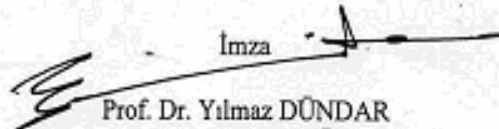
AFYONKARAHİSAR

2007

KABUL ve ONAY

Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Veteriner Biyokimya Doktora Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunması Tarihi:30 /05 / 2007

İmza 
Prof. Dr. Yılmaz DÖNDAR
Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi

İmza 
Prof. Dr. Nalan BAYŞU SÖZBİLİR
Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi

İmza 
Prof. Dr. Recep ASLAN
Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi

İmza 
Doç. Dr. Seyfullah HALILOĞLU
Selçuk Üniversitesi

İmza 
Yrd. Doç. Dr. Gülcan AVCI
Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi

Biyokimya Anabilim Dalı Doktora programı öğrencisi İsmail KÜÇÜKKURT'un "Diyyete Farklı Miktarlarda Yucca schidigera Tozu Katılmasının Sıçanlarda Plazma Leptin, İnsulin ve Tiroid Hormonları ile Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkilerinin Araştırılması" başlıklı tezi 06.05/2007 günü saat 16.00'de Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir

İmza 
Doç. Dr. Yavuz DEMİR
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bitkiler, “fitokimyasallar” olarak adlandırılan binlerce kimyasal madde içermektedir. Besin özelliği taşımayan bu maddelerle ilgili olarak sağlık alanında yapılan araştırmalar, gerek hastalıkların tedavisinde gerekse koruyucu hekimlikte fitokimyasalların önemli etkilerine dikkat çekmektedir. Tüm dünyada bilinen *Y. schidigera* bitkisi kuru maddesinde başta steroidal saponinler olmak üzere, fenolik maddeler, fiber, resveratrol ve stilbenler gibi bitkisel kimyasalları taşımakta, bünyelerindeki saponinler dikkate alınarak gıda endüstrisi ve hayvancılıkta yaygın olarak kullanılmaktadır. Saponin içerikli bitkilerin metabolik hormon düzeylerine etkisinin saptanması, metabolizma-hormon-fitokimyasal madde etkileşiminin daha iyi kavranmasına yol açabilecektir. Bu nedenle tez çalışmamız, düşük düzeylerde *Y. schidigera*'nın besinlere/rasyona katılmasının leptin, insulin ve tiroid hormon düzeylerine etkilerinin araştırılması amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Doktora eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, yetişmemde büyük emeği olan, çalışmalarımın yönlendirilmesi ve sürdürülmesinde her türlü desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, değerli Danışman Hocam Prof. Dr. Yılmaz DÜNDAR'a en içten saygı ve sonsuz teşekkürlerimi arz ederim.

Engin bilgi ve tecrübelerini bizlerle paylaşan ve yetişmemizde büyük emeği olan Değerli Hocam Prof. Dr. Nihat BAYŞU'ya ve Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Nalan BAYŞU SÖZBİLİR Hanımefendiye en içten saygı ve teşekkürlerimi arz ederim.

Doktora tez konumun planlanmasında ve yürütülmesinde yardım ve katkılarından dolayı Prof. Dr. Recep ASLAN ve Doç. Dr. Abdullah ERYAVUZ'a ve çalışmamın değişik aşamalarında desteğini gördüğüm tüm hocalarıma ve arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Doktora eğitimim boyunca manevi desteklerini ve hoşgörülerini benden esirgemeyen Sevgili Eşim Ülkü ve oğullarım Ali Emre ile Melih'e, özverileriyle bugünlere gelmemi sağlayan, başta aile büyüğümüz Sevgili Amcam İbrahim KÜÇÜKKURT'a, babama, anneme ve kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
KABUL VE ONAY	II
ÖNSÖZ	III
SİMGELER VE KISALTMALAR	VII
ŞEKİLLER	IX
TABLolar	X
GRAFİKLER	XI
RESİMLER	XII
ÖZET	XIII
SUMMARY	XV
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. <i>Yucca schidigera</i>	2
2.1.1. <i>Yucca schidigera</i> Bitkisinin İçerdiği Çeşitli Kimyasal Maddeler.....	2
2.1.1.1. Saponinler.....	3
2.1.1.1.1 Genel Özellikleri.....	3
2.1.1.1.2. Saponinlerin Sınıflandırılması.....	4
2.1.1.1.3. Saponinlerin Kimyasal Yapısı.....	5
2.1.1.1.4. Saponin Kaynakları.....	7
2.1.2. Saponin İçeren Bitkilerin Biyolojik Etkileri.....	9
2.1.2.1. Hücre Membranlarına Etkileri.....	9
2.1.2.2. Lipid Metabolizması Üzerine Etkileri.....	10
2.1.2.3. Antioksidan Etkileri.....	11
2.1.2.4. Antihipertansif Etkileri.....	12
2.1.2.5. Antikarsinojenik Etkileri.....	13
2.1.2.6. Mineraller Üzerine Etkileri.....	13
2.1.2.7. Endokrin Sistem ve Üreme Hormonları Üzerine Etkileri.....	14
2.1.3. <i>Yucca schidigera</i> 'nın Veteriner Hekimlik ve Hayvancılıkta Kullanımı.....	15
2.1.3.1. Çeşitli Bitkilerdeki Saponinlerin Rumen Fauna ve Florasına Etkileri.....	16
2.1.3.2. Kanatlılardaki Etkileri.....	17

2.2.	Leptin	18
2.2.1.	Leptin Reseptörleri	19
2.2.2.	Leptin Sentezini Etkileyen Faktörler	211
2.2.2.1.	Vücut Yağlarının Etkisi	22
2.2.2.2.	Yağ Dokusunun Etkisi	22
2.2.2.3.	Açlığın Etkisi	25
2.2.2.3.	Beslenmenin Etkisi	26
2.2.2.4.	Genetik ve Diğer Faktörlerin Etkisi	27
2.2.3.	Leptinin Endokrin ve Üreme Sistemine Etkisi	29
2.2.4.	Leptin ve Diğer Hormonlar Arasındaki İlişkiler	30
2.2.4.1.	İnsulin ve Leptin Arasındaki İlişki	30
2.2.4.2.	Tiroid Hormonları ve Leptin Arasındaki İlişki	31
2.2.4.3.	Büyüme Hormonu ve Leptin Arasındaki İlişki	32
2.2.4.4.	Diğer Hormonlar ve Leptin Arasındaki İlişkiler	32
3.	MATERYAL VE METOT	34
3.1.	Materyal	34
3.1.1.	Deney Hayvanı Materyali	34
3.1.2.	Analizlerde Kullanılan Cihaz ve Malzemeler	36
3.1.3.	Analizlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler	36
3.2.	Metot	37
3.2.1.	Kan Örneklerinin Alınması	37
3.2.2.	Leptin Tayini	37
3.2.2.	İnsulin Tayini	38
3.2.3.	Total T ₄ Tayini	39
3.2.4.	Serbest T ₄ Tayini	39
3.2.5.	Total T ₃ Tayini	40
3.2.6.	Serbest T ₃ Tayini	40
3.2.7.	Total Kolesterol, Glukoz, Trigliserid, HDL, LDL, Üre-N ve Total Protein Tayinleri	41
3.2.8.	Serum A Vitamini ve β- karotin Düzeyi Ölçümü	41
3.3.	İstatistik Analizler	42
4.	BULGULAR	43
4.1.	Hormonlar ve Biyokimyasal Parametrelerdeki Değişimler	43
4.1.	Plazma Leptin Düzeyleri	44
4.2.	Plazma İnsulin Düzeyleri	45

4.3.	Plazma Total T ₃ Düzeyleri	46
4.4.	Plazma Serbest T ₃ Düzeyleri	47
4.5.	Plazma Total T ₄ Düzeyleri	48
4.6.	Plazma Serbest T ₄ Düzeyleri	49
4.7.	Plazma Glikoz Düzeyleri.....	49
4.8.	Plazma Kolesterol, Trigliserit, HDL ve LDL Düzeyleri	51
4.9.	Plazma Üre-N Düzeyleri	53
4.10.	Plazma Protein Düzeyleri	54
4.11.	Serum A Vitamini Düzeyleri.....	55
4.12.	Serum β - karotin Düzeyleri	56
5.	TARTIŞMA	57
6.	SONUÇ	66
	KAYNAKLAR DİZİNİ	69

SİMGELER ve KISALTMALAR

ATP	:Adenozin 5'-trifosfat
BHT	:Bütıl Hidroksi Toluen
-CH ₃	:Metil grubu
-COOH	:Karboksil grubu
Cu	:Bakır
dl	:Desilitre
ELISA	:Enzim Linked İmmunosorbent Assay
FSH	:Folikül stimule edici hormon
g	:Gram
GH	:Büyüme Hormonu
GnRH	:Gonadotropin serbestleştirici hormon
HCl	:Hidroklorik asit
HDL	:Yüksek dansiteli protein
HMG-CoA	:3-hidroksi-3-metilglutaril-KoenzimA
HPG	:Hipotalamus-Pituiter-Gonadal
IGF-1	:İnsulin benzeri büyüme faktörü
kg	:Kilogram
KG	:Kontrol Grubu
L	:Litre
LDL	:Düşük dansiteli protein
LH	:Luteinleştirici hormon
µg	:Mikrogram
mg	:Miligram
mRNA	:Haberci ribonükleikasit
NaCl	:Sodyum klorür
NEFA	:Esterleşmemiş yağ asidi
ng	:Nanogram
nm	:Nano mol

VIII

NO	:Nitrik oksit
NPY	:Nöropeptit Y
OB-Ra	:Kısa form leptin reseptörü
OB-Rb	:Uzun form leptin reseptörü
-OH	:Hidroksil grubu
pg	:Pikogram
ST ₃	:Serbest triiyodotironin
ST ₄	:Serbest tiroksin
T ₃	:Triiyodotironin
T ₄	:Tiroksin
TNF- α	:Tümör nekroz faktör
TRH	:Tiropin releasing hormon
Triac	:Triiodotiroasetikasit
TT ₃	:Toplam triiyodotironin
TT ₄	:Toplam tiroksin
UCP	:Uncoupling proteinler
Üre-N	:Üre azotu
VKİ	:Vücut kitle indeksi
YS	: <i>Yucca schidigera</i>
Zn	:Çinko

ŞEKİLLER**Sayfa No**

Şekil 2.1. Steroidal ve Triterpenoidal Saponinlerin Yapısı	5
Şekil 2.2. Saponinlerin Kimyasal Yapısı	6
Şekil 2.3. Leptin Reseptörleri Uzun ve Kısa Form.....	20
Şekil 2.4. Yağ Dokudan Sentezlenen Leptinin Fizyolojik Etkileri.....	23
Şekil 2.5. Yağ Doku Fizyolojisi.....	24
Şekil 2.6. Leptin Hormonunun Açlıktaki Rolü.....	25
Şekil 2.7. Yem Tüketimi ve Leptin Hormonu Arasındaki İlişki.....	27

TABLÖLAR**Sayfa No**

Tablo 2.1. Bazı Bitkiler ve Saponin İçerikleri	8
Tablo 2.2. Bazı Steroidal Saponinler ve Kaynakları	9
Tablo 2.3. Serum Leptin Seviyelerini Artıran ve Azaltan Faktörler.....	21
Tablo 3.1. Araştırmada Kullanılan Standart Rat Yeminin Analiz Sonuçları ve Katkı Maddeleri.	35
Tablo 3.2. <i>Yucca schidigera</i> Tozuna Ait Teknik Bilgiler	35
Tablo 4.1. Bulguların Aritmetik Ortalama (\bar{X}), Standart Hata (SE) ve Anlamlılık Düzeyleri (P).....	43

GRAFİKLER**Sayfa No**

Grafik 4.1. Plazma Leptin Düzeyleri	44
Grafik 4.2. Plazma İnsulin Düzeyleri	45
Grafik 4.3. Plazma TT ₃ Düzeyleri	46
Grafik 4.4. Plazma ST ₃ Düzeyleri	47
Grafik 4.5. Plazma TT ₄ Düzeyleri	48
Grafik 4.6. Plazma ST ₄ Düzeyleri	49
Grafik 4.7. Plazma Glikoz Düzeyleri.....	50
Grafik 4.8. Plazma Kolesterol, Trigliserit, HDL ve LDL Düzeyleri	52
Grafik 4.9. Plazma Üre-N Düzeyleri	53
Grafik 4.10 Plazma Protein Düzeyleri.....	54
Grafik 4.11 Plazma A Vitamini Düzeyleri	55
Grafik 4.12 Plazma β- karotin Düzeyleri.....	56

RESİMLER

Sayfa No

Resim 2.1. *Yucca schidigera* Bitkisi 3

Özet

Diyete Farklı Miktarlarda *Yucca schidigera* Tozu Katılmasının Sıçanlarda Plazma Leptin, İnsulin ve Tiroid Hormonları ile Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkilerinin Araştırılması

Saponin içeren bitkilerin özellikle hipokolesterolemik, hipoglisemik, antiinflamatuvar ve antiprotozoal etkileri yıllardır araştırılıyor olmasına karşın, enerji metabolizmasında rol alan hormonlarla etkileşimlerini ele alan çalışmalar yok denecek kadar azdır. Bu tez, steroid saponin içeren *Yucca schidigera*'nın metabolik hormon düzeylerine ve bazı biyokimyasal parametrelere etkilerinin araştırılması amacıyla gerçekleştirilmiştir. Araştırmamız 15 adet 2-3 aylık erkek Sprague-Dawley sıçan içeren biri kontrol, ikisi deneme olmak üzere toplam 3 grupta yapılmıştır. Kontrol Grubu (KG) standart rat yemi ile; 100 ppm *Y. schidigera* grubu (100 ppm YS) standart rat yemi+100 ppm *Y. schidigera* tozu (Sarsaponin 30[®]) ve 200 ppm *Y. schidigera* grubu (200 ppm YS) standart rat yemi+200 ppm *Y. schidigera* tozu (Sarsaponin 30[®]) ilave edilmiş deneme rasyonuyla 30 gün boyunca *ad libitum* beslenmişlerdir.

Çalışmamızda plazma leptin seviyesi KG'na göre her iki deneme grubunda da önemli düzeyde artmıştır (p=0,000). 100 ppm YS *Y. schidigera* ilavesi plazma insulin düzeylerini hem, hem de 200 ppm YS ilave edilen grupta KG'na göre yükseltmiştir (p=0,007). 100 ppm YS tozu ilavesi uygulanan hayvanlardaki plazma ST₃ ve ST₄ değerleri dışında, her iki deneme grubunun tüm tiroid hormon göstergelerini KG'na göre TT₃ (p=0,015), ST₃ (p=0,021), TT₄ (p=0,022), ST₄ (p=0,019)'ü istatistiksel olarak azaltmıştır. Plazma glikoz düzeyleri deneme gruplarının ikisinde de istatistiksel önemde düşmüştür (p=0,029). *Y. schidigera* verilen gruplarda plazma total kolesterol (p=0,000), trigliserit (p=0,000) ve LDL (p=0,000) düzeyleri KG'na göre istatistiksel olarak düşük, plazma HDL (p=0,002) düzeyi ise, istatistiksel önemde yüksek bulunmuştur. Diyete 100 ppm YS ilavesi, 200 ppm YS ilavesine göre daha fazla kolesterol düşüşüne yol açmıştır. Öte yandan diyete 200 ppm YS ilavesi plazma trigliserit ve LDL düzeylerini 100 ppm YS verilmesine oranla istatistiksel olmamakla birlikte daha çok düşürmüştür. Bulgularımız *Y. schidigera* ilavesinin plazma HDL seviyelerini yükselttiğini göstermektedir. HDL artışı bildiren bu bulgu, HDL düzeyinin değişmediği ileri sürülen diğer çalışmalardan ayrılmaktadır. Plazma üre-N düzeyi deneme gruplarında KG'na göre

istatistiksel önemde düşük olarak saptanmıştır ($p=0,000$). Plazma total protein düzeyi *Y. schidigera* ilaveli gruplarda KG'na göre istatistiksel olmayan bir azalma göstermiş ($p=0,134$), yine bulgularımıza göre deneme gruplarında istatistiksel önemde olmamakla birlikte serum β -karotin düzeyi artarken ($p=0,366$), serum A vitamini seviyeleri düşmüştür ($p=0,693$).

Önemli düzeyde artan plazma leptin seviyelerinin *Y. schidigera*'nın ihtiva ettiği saponinler yanısıra fenolik maddeler, fiber, resveratrol ve stilbenler gibi fitokimyasallardan kaynaklanabileceği ve organizmada yağ doku artışına yol açabileceği düşünülmektedir. İnsulin artışı kan glikozunun karaciğerde glikojen, yağ dokuda ise, yağ asiti şeklinde depolanmasına yol açarak yemden yararlanmayı artırabileceği ve verim performansını yükselteceği; *Y. schidigera*'nın hipoglisemik ve hipokolesterolemik etkilerinin pet hayvanlarda diabetes mellitus oluşumunu baskılamada yararlı olabileceğini göstermektedir. Tez çalışmamızda *Y. schidigera*'lı gruplardaki artmış plazma HDL düzeyleri literatür açısından farklı bir referans niteliğindedir ve ateroskleroz ile diğer kardiyovasküler sorunlara karşı önemli bir destek oluşturabilir. Steroidal saponin içeriği ile dikkat çeken *Y. schidigera*, kolesterol ve amonyak bağlayıcı, üreaz aktivitesini önleyici ve azot metabolizmasını düzenleyici bir bitki olarak hayvanlarda verimin artırılmasına katkı sağlayabilir. Sıçanlarda diyeteye uyguladığımız *Y. schidigera*'nın hayvanlarda protein emilim ve sindirimini dikkate değer düzeyde azaltmamış olması ve serum β -karotin düzeylerini hafif de olsa artış yönünde etkilemesi antioksidan statü açısından olumlu karşılanabilir.

Sonuç olarak; elde edilen veriler, kronik sindirim bozukluklarının önlenmesi ile enerji metabolizması ve hormonal işleyişin düzenlenmesinde koruyucu hekimlik uygulamalarına katkı sağlayabilecektir. Ayrıca *Y. schidigera*'nın insanlar için yeni bir fitokimyasal besin desteği, hayvanlar için ise, yeni bir rasyon bileşeni olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Yucca schidigera*, Steroidal Saponin, Leptin, İnsulin, Tiroid Hormonları, Antioksidan, Fitokimyasal.

SUMMARY

Investigation of Effects of Various Quantities of *Yucca schidigera* Powder Added to Diets on Plasma Leptin, Insulin, Thyroid Hormones and Some Biochemical Parameters in Rats.

Although, hypocholesterolemic, hypoglycemic, anti-inflammatory, and antiprotozoal effects of saponin containing plants have been investigated largely, studies in their interactions with hormones playing a role in energy metabolism, are rare. The present thesis was carried out to investigate the effects of *Yucca schidigera*, which contains steroid saponin, on metabolic hormone levels and certain biochemical parameters. Our study was carried out on 15 Sprague-Dawley rats, aged 2-3-months-old divided into 3 groups as a control and 2 study groups. While control group (CG) was fed with standard rat diet; 100 ppm *Y. schidigera* group (100 ppm YS) was fed with standard rat diet + 100 ppm *Y. schidigera* powder (Sarsaponin 30[®]) whereas 200 ppm *Y. schidigera* group (200 ppm YS) was fed with standard rat diet + 200 ppm *Y. schidigera* powder (Sarsaponin 30[®]) for 30 days *ad libitum*.

In our study, plasma leptin level was elevated in both study groups compared to the CG group ($p=0.000$). Addition of *Y. schidigera* has elevated plasma insulin levels in both study groups compared to that of CG ($p=0.007$). Except the plasma ST_3 and ST_4 levels in animals fed on 100 ppm YS, all the thyroid hormone indicators in both study groups showed a statistically significant drop compared to CG (TT_3 ($p=0,015$), ST_3 ($p=0,021$), TT_4 ($p=0,022$) and ST_4 ($p=0,019$). Plasma glucose levels showed a statistically significant decrease in both study groups ($p=0,029$). While in groups fed with *Y. schidigera*; plasma total cholesterol ($p=0,000$), triglyceride ($p=0,000$) and LDL ($p=0,000$) levels were statistically lower than the CG group; plasma HDL ($p=0,002$) level was found to be statistically high. Hundred ppm addition to diet caused more drop in cholesterol level than that of 200 ppm YS addition. On the the other hand, 200 ppm YS has decreased the plasma triglyceride and LDL levels more than that of 100 ppm YS, albeit not at a significant amount. Our results show *Y. schidigera* added group as causing an increase in plasma HDL levels. This result reported a HDL elevation, which differs from other studies reported HDL as unchanged. Plasma urea nitrogen level was determined to be statistically low in study groups compared to the CG group ($p=0,000$). Plasma total protein level was decreased without statistically in study groups compared to the CG ($p=0,134$); again

not statistically significant, β -carotene level was increased ($p=0,366$) and serum vitamin A level was dropped ($p=0,693$).

The cause of the significant elevated plasma leptin levels are thought to be due to saponins, phenolic agents, fiber, resveratrol, and stilbenes. Because increase in insulin level cause blood glucose to be stored as glycogen in liver and as fatty acid in fat tissues and thus elevating the feed conversion ratio and productivity; hypoglycemic and hypocholesterolemic effects of *Y. schidigera* may be of use in suppressing the development of diabetes mellitus in pet animals. Elevated plasma HDL levels shown in our thesis present a different reference regarding the related literature and may indicate an important support against atherosclerosis and other cardiovascular problems. *Y. schidigera*, attracting attention for its steroidal saponin content, may contribute to development of yield performance through binding of cholesterol and ammoniac, inhibiting urease activity, and regulating nitrogen mechanism. Because *Y. schidigera* applied to the rations of the rats not reduced the protein absorption and digestion significantly, and slightly elevated the serum β -carotene levels, antioxidant status of it can be considered as positive effects.

In conclusion, obtained data may contribute to methods of preventive medicine in preventing digestive disorders and regulating energy metabolism and hormonal functions. Furthermore, while *Y. schidigera* is considered to be a new phytochemical nutrient for human being, it is also thought to be a new ration component for animals.

Key words: *Yucca schidigera*, Steroidal Saponin, Leptin, Insulin, Thyroid Hormones, Antioxidant, Phytochemicals.

1. GİRİŞ

Tarih boyunca bitkilerin çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Sanayileşme devrimi sonrasında kimyasal madde endüstrisinde görülen ilerlemeler tedavide, verimlilik artışında ve koruyucu hekimlikte bitkiler yerine sentetik ürünlerin kullanımını, yaygın ve ekonomik hale getirmiştir. Son yıllarda, bazı kimyasalların ekolojik denge, insan ve hayvan sağlığı ile bitkiler için risk oluşturduğu fark edilmiş, tüm dünyada çevre ve sağlığın korunması amacıyla bu tür kimyasal maddelerin kullanımı kısıtlanmıştır. Bu bağlamda hekimlik, gıda ve çevre alanlarında çalışan araştırmacıların pek çoğu dikkatlerini yeniden bitkisel kaynaklara yoğunlaştırmışlardır (1-3).

Son yıllarda, *Yucca schidigera* (*Y. schidigera*) gibi bazı bitkilerde bulunan yüksek miktarları toksik etkili olan, genellikle antinutrisyonel faktör olarak kabul edilen ve bir fitokimyasal olan saponinlerin (3,4), düşük dozlarda diyetlere ilave edilmesinin iyileştirici ve koruyucu etkileri üzerine yoğunlaşan araştırmalar; saponinlerin hipokolesterolemik, antikarsinojenik, antioksidan, antiinflamator, antimikrobiyel, antiprotozoal, antifungal ve antihipertansif etkileri olduğunu göstermiştir (5-9).

Saponin içerikli bitkilerin özellikle hipokolesterolemik, hipoglisemik, antiinflamator ve antiprotozoal etkilerine ilişkin literatürler yaygın olmasına karşın, leptin ve tiroid hormonları gibi enerji metabolizmasında rol alan hormonlarla etkileşimlerini ele alan çalışmalara rastlanılmamıştır. Saponin içerikli bitkilerin metabolik hormon düzeylerine etkisinin saptanması, metabolizma-hormon-fitokimyasal madde etkileşiminin daha iyi kavranmasına yol açabilecektir. Elde edilecek verilerin; kronik sindirim bozukluklarının önlenmesi ile enerji metabolizması ve hormonal işleyişin düzenlenmesinde koruyucu hekimlik alanına ve diyetle eklenecek farklı *Y. schidigera* düzeylerinin pet ve çiftlik hayvanlarının beslenmesinde ise, yeni modülasyonların geliştirilmesine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle tez çalışmamız, düşük düzeylerde *Y. schidigera*'nın besinlere/rasyona katılmasının leptin, insulin ve tiroid hormon düzeyleri ile bazı biyokimyasal parametrelere etkilerinin araştırılması amacıyla gerçekleştirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Yucca schidigera*

Agavaceae familyasından *Y. schidigera* Arizona ve Nevada çöllerinde yaygın olarak yetişen bir çöl bitkisidir. Bu bölgede bitkinin meyveleri yenmekte, yapraklarındaki yüksek saponin içeriği dolayısıyla sabun yapımında kullanılmakta ve yapraklarından elde edilen fiberden halat, şapka, saç fırçası gibi malzemeler üretilmektedir. Günümüzde ise, bilimsel veriler doğrultusunda kozmetikten fotoğrafçılığa, ilaç yapımından hayvancılığa kadar birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (10).

2.1.1. *Yucca schidigera* Bitkisinin İçerdiği Çeşitli Kimyasal Maddeler

Y. schidigera bitkisi dünyadaki en yaygın ticari steroidal saponin kaynaklarından ve yaklaşık %10 oranında saponin ihtiva etmektedir (11). Bugüne kadar spektral yöntemlerle sekiz farklı yapıda steroidal saponin izole edilmiştir. Bilinen beş farklı spirostanol glikozit yanında, üç farklı yapıda furostanol glikozit içerdiği saptanmış; bunların bitkiden izole edilen toplam saponinin %6.8'lik kısmını oluşturduğu bildirilmiştir. *Y. schidigera* bitkisinden saponin içeriği dışında resveratrol adı verilen *trans*-3,4',5-trihidroksstilben ile *trans*-3,3',5,5'-tetrahidroksi-4'-metoksistolben olarak bilinen iki farklı yapıda stilben izole edilmiştir. Ayrıca *Y. schidigera* yuccaols A, B, C, D, E ve yuccaone A olarak isimlendirilen altı farklı yapıda fenolik madde ihtiva etmektedir. Fenolik maddeler, resveratrol ile birlikte biyolojik aktivite göstermektedirler (11). Piacente ve ark. (12), çalışmalarında *Y. schidigera*'nın antioksidan aktivitesinde başta resveratrol olmak üzere fenollü bileşenlerin rolü olduğunu, Marzocco ve ark. (13) ise, NO ürünlerinin inhibisyonunun *Y. schidigera*'nın içerdiği fenollü bileşiklerden kaynaklandığını ileri sürmektedirler.



Resim 2.1. *Yucca schidigera* Bitkisi (197)

2.1.1.1. Saponinler

Saponinler; genellikle triterpenik veya steroidal bir aglikona sahip sulu çözeltileri çalkalandığında kalıcı köpük veren, alyuvarları hemoliz eden glikozitlerdir (4,14). Tanımda yer alan bu temel özelliklerin yanı sıra, kolesterin ile kompleks meydana getirmeleri, balıklar gibi soğuk kanlı hayvanlar üzerinde toksik etki göstermeleri, antifungal ve antibiyotik aktiviteye sahip olmaları tipik saponin özellikleri arasında sayılmaktadır (15, 16).

2.1.1.1.1 Genel Özellikleri

Saponinler doğada geniş bir yayılış göstermektedirler (14). Orta Asya'da yetişen 104 familyadan 1730 bitki türü üzerinde yapılan bir çalışmada 627 türde triterpenik ve 127 türde steroidal yapıda olmak üzere, incelenen bitkilerin %45'inde saponin tipi bileşiklerin varlığı bildirilmiştir (15). Önceleri saponinlerin sadece bitkilerde bulunduğu düşünülürken, bazı deniz hayvanlarında da bu tip bileşiklerin bulunduğu tespit edilmiştir. Echinodermata (derisidikenliler),

Holothuroidae (deniz kadayıfı), asteroitae (deniz yıldızı) familyalarına üye canlılardan da yapıcı farklı, fakat özellikleri bakımından saponin karakterinde bileşikler izole edilmiştir (17).

Bilim adamları tarafından genelde saponinlerin zararlı olduğu düşünülmesine rağmen, yapılan bir dizi araştırmada bunların hem yararlı hem de zararlı etkilerinin olabileceği kaydedilmektedir (18). Bitkiler saponinleri çevreden gelebilecek zararlı etkenlere karşı kendilerini savunmada kullanmaktadırlar. Saponinlerin böceklere karşı olan toksitesinin, bitkiyi böcek saldırılarına karşı koruduğunu göstermektedir (17).

2.1.1.1.2. Saponinlerin Sınıflandırılması

Saponinler, aglikonlarının yapılarına göre Şekil 2.2'de de görüldüğü gibi başlıca iki grup altında toplanırlar (14, 15).

- 1) Steroidal saponinler (27 karbonlu)
 - a) Spirostanol Saponinler
 - b) Furostanol Saponinler
 - c) Nuatigenin Saponinler
 - d) Polipodo Saponinler
- 2) Triterpenik Saponinler (30 karbonlu)
 - a) Monodesmozidikler
 - i) Nötral Saponinler
 - ii) Ester Saponinler
 - iii) Asidik saponinler
 - (1) Üronik asit Taşıyanlar
 - (2) Asit aglikonlu saponinler
 - (3) Aglikonu Asidik Olan ve Üronik Asit Taşıyan Saponinler
 - iv) Açıl Saponinler (Açilozitler)
 - b) Bisdezmodikler
 - i) Nötral Bisdezmodikler
 - ii) Asidik Bisdezmodikler

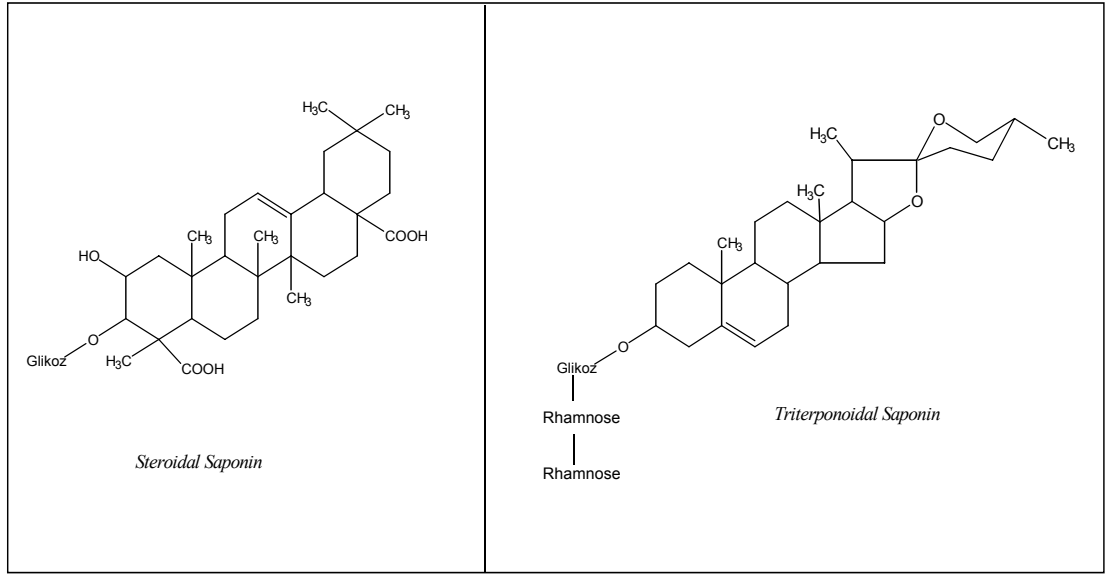
c) Hayvansal Saponinler

Gerek steroidal ve gerekse triterpenik tip saponinler taşıdıkları karbonhidrat zinciri sayısına göre iki grup altında toplanabilirler (19);

Monodezmozidik saponinler: Bir karbonhidrat zinciri taşırlar.

Bisdezmozidik saponinler: İki karbonhidrat zinciri taşırlar.

Monodezmozidik yapıda olanlar tipik saponin özellikleri gösterirken, bisdezmozidiklerin bu özellikleri hemen hemen yoktur.

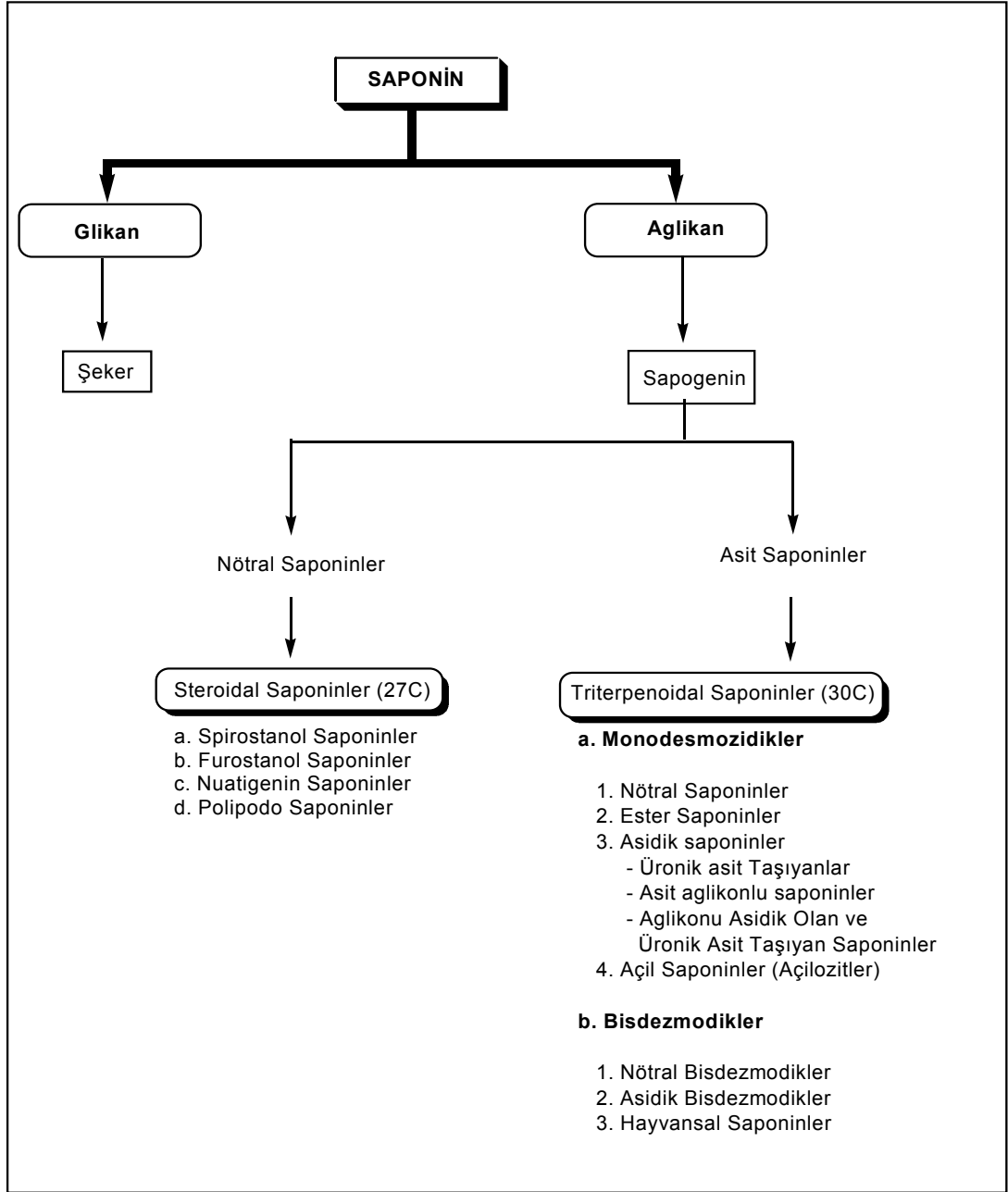


Şekil 2.1. Steroidal ve Triterpenoidal Saponinlerin Yapısı (19)

2.1.1.1.3. Saponinlerin Kimyasal Yapısı

Saponinler Şekil 2.1 ve 2.2’de de görüldüğü gibi yapısal olarak glikan ve aglikan (sapogenin) olmak üzere iki kısımdan oluşurlar ve aglikan kısmının yapısına göre steroidal veya triterpenoidal saponinler olarak sınıflandırılırlar. Saponinlerin, aglikan kısmında –OH, –COOH ve –CH₃ gibi çeşitli fonksiyonel gruplar bulunmaktadır (19). Bu bileşiklerin glikan kısmını ise, aglikan kısmında bulunan bir hidroksil veya bir karboksil grubuna veya her ikisine birden bağlanmış olan düz ya da dallanmış oligosakkaritler oluşturur. Saponinler, aglikan kısmında bulunan bu bağlanma bölgelerine bir şeker grubu bağlanmışsa *monodezmodize*, iki şeker grubu bağlanmışsa *bidezmozide*, üç şeker grubu bağlanmışsa *tridezmozide* olarak adlandırılmaktadır. Saponinlerin yapısında

yaygın olarak D-Glikoz, D-Galaktoz, D-Gliküronik asit, D-Riboz, D-Ksiloz, L-Arabinoz, L-Fruktoz ve L-Ramnoz'un yanı sıra 3-Metil Glikoz, Quinovoze ve Apioz gibi karbonhidratların da bulunabileceği bildirilmektedir (5, 18, 19, 20). Saponinlerin deterjan veya yüzey gerilimini düşürücü özellikleri hem suda hem de yağda çözünebilir bileşenlerinin olmasından kaynaklanmaktadır ve bu glikozitlere, sulu solüsyonlarda güçlü köpürme özelliği nedeni ile saponin ismi verilmiştir (4, 16).



Şekil 2.2. Saponinlerin Kimyasal Yapısı (19)

Aglıkan kısmının yapısındaki fonksiyonel gruplar ve glikan kısmını oluşturan şeker zincirlerinin kompozisyonu, dallanma özellikleri ve substitüsyon tipleri Şekil 2.2’de görüldüğü gibi farklı saponinlerin oluşumunu sağlar (19). Bugüne kadar 100’ün üzerinde steroidal ve daha fazla sayıda triterpenoidal saponin identifiye edilmiştir (5,19). Bir bitki birden fazla saponin tipi bulundurabilir (20). Büyük molekül ağırlıkları, yakın kimyasal yapıları ve birden fazlasının bir arada bulunmaları gibi sebepler saponinlerin saf olarak elde edilmelerini son derece zorlaştırmaktadır. Gravimetrik, spektrofotometrik, kromatografik ve kapillar elektroforez gibi metotlarla saponinlerin miktar ve yapıları belirlenebilmektedir (19, 21, 22).

2.1.1.1.4. Saponin Kaynakları

Yaklaşık 100 bitki familyasının yüksek oranda saponin içerdiği (19), acı lezzetleri nedeniyle ancak bir kısmının insan ve hayvanlar tarafından besin maddesi olarak kullanıldığı Tablo 2.1’ de de görülmektedir (23,193).

Steroidal saponinler triterpenik yapıdaki saponinlere göre doğada daha az bulunurlar. Yapı ve özellikleri bakımında dört grup altında toplanırlar ve doğada en çok spirostanol tipteki steroidal saponinlere rastlanmaktadır. Diğer büyük grup furostanoldür ve bu gruptan başka sadece bazı bitkilerde rastlanan nuatigenin ve polipodosaponin grupları bulunmaktadır (15).

Steroidal saponinler, seks hormonları, kortizon, diüretik steroidler, vitamin D ve kalp heterozitlerine benzer yapıları nedeniyle dikkat çeken maddelerdir. Bazıları bu bileşiklerin yarı sentezinde başlangıç maddesi olarak kullanılmaktadır. *Y. schidigera* bitkisinden elde edilen sarsapogenin kortikosteroidlerin sentezinde kullanılabilir. Sarsapogenin ve smilagenin *Y. schidigera* saponinlerinin büyük bir kısmını oluşturur ve yürütülen tarama programları sonucunda Tablo 2.2’de de izlendiği gibi *Dioscorea*, *Agave* ve *Yucca* türü bitkilerin zengin steroidal saponin kaynakları olduğu anlaşılmıştır (24).

Tablo 2.1. Bazı Bitkiler ve Saponin İçerikleri (23,193)

Bitki Türleri	Kuru Maddede Bulunan Saponin miktarı (g/kg)
Nohut (<i>Cicer arietinum</i> L.)	2,3-60
Soya Fasulyesi (<i>Glycine Max</i> L. Merrill)	43
Yonca (<i>Medicago sativa</i> L.)	56
Yonca Filizleri	87
Yeşil Fasulye (<i>P. Vulgaris</i>)	13
Maş Fasulyesi (<i>P. Mungo</i>)	0,5-5,7
Fıstık (<i>Arachis Hypogaena</i> L.)	6,3
Ispanak (<i>Spinacea oleracea</i> L.)	47
Mercimek (<i>Lens culinaris</i>)	3,7-4,6
Susam Tohumu (<i>Sesamun indicum</i> L.)	3,0
Yeşil Bezelye (<i>Pisum sativum</i> ssp.)	11
Kuşkonmaz (<i>Asparagus officinalis</i> L.)	15
Sarımsak (<i>Allium sativum</i> L.)	2,9
Yulaf (<i>Avena sativa</i> L.)	1,0
Pancar (<i>Beta vulgaris</i>)	58
Bakla (<i>Vicia faba</i>)	3,5

Dünyada yaygın ticari kullanım alanı bulmuş saponin içeriği yüksek bitkiler *Yucca schidigera* ve *Quillaja saponaria*'dir. *Yucca* saponinlerinde steroidal çekirdek bulunurken, *Quillaja* saponinleri triterpenoid çekirdek taşımakta; ayrıca *Yucca* saponinleri monodezmozidal, *Quillaja* saponinleri ise, bidezmozidal yapıdadır (16).

Yucca ve *Quillaja* saponinlerinin üretiminde çeşitli yöntemler uygulanmaktadır. *Yucca schidigera* bitkisinin gövdesi mekanik olarak parçalanıp kurutulduktan sonra %100 *Yucca* tozu veya parçalanmış materyalin mekanik sıkıştırılmasıyla elde edilen *Yucca* suyunun evaporasyonu ile *Yucca* ekstratı elde edilmektedir. *Quillaja* saponinleri ise, *Quillaja saponaria* ağacının kabukları büyük tanklarda kaynatıldıktan sonra kalan sıvı ekstrakta evaporasyon işlemi uygulanarak, yoğunlaştırılmasıyla oluşturulmaktadır (16).

Tablo 2.2. Bazı Steroidal Saponinler ve Kaynakları (24)

BAZI STEROİDAL SAPONİNLER ve KAYNAKLARI		
Diosgenin	<i>Dioscorea sylvatica</i>	G.Afrika
	<i>D.mexicana, D.composita</i>	Orta Amerika, Meksika
	<i>D.deltoidea, D.prazeri</i>	Hindistan
	<i>D.tokora</i>	Japonya
	<i>Trillium</i> türleri	Kuzey Amerika
	<i>Trigonella foenum-graecum</i>	Hindistan, Mısır, Fas
Hecogenin	<i>Agave sisalana</i>	Subtropik Amerika, Kenya
Sarsapogenin	<i>Yucca</i> türleri	Orta Amerika
	<i>Smilax</i> türleri	
Smilagenin	<i>Agave</i> türleri	Orta Amerika
	<i>Smilax</i> türleri	
Yuccagenin	<i>Yucca</i> türleri	Orta Amerika
	<i>Agave</i> türleri	

2.1.2. Saponin İçeren Bitkilerin Biyolojik Etkileri

2.1.2.1. Hücre Membranlarına Etkileri

Saponinlerin biyolojik etkilerinin önemli bir kısmı membranlar üzerindeki rollerine bağlanmaktadır. Saponinler hücre membranlarında por oluşturma yetenekleri nedeniyle çeşitli fizyolojik araştırmalarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar (25-28). Saponinlerin eritrosit membranları üzerinde litik bir role sahip oldukları ve uzun bir zamandır bu özellikleri ile tanındıkları bilinmektedir (4). Saponinlerin hemolitik aktivitesi, aglikonların membran sterollerine özellikle kolesterole affinite göstermelerinden kaynaklanır ve bu ilgi çözünmeyen kompleksler oluşturur (18). Hemolitik etkileri nedeniyle saponinlerin damar içi verilmeleri yerine oral uygulamaları önerilmektedir (20).

Kolesterolden zengin membranlarda permeabilizasyon için gerekli glikozitlerin miktarı kolesterolsüz membranlara göre daha düşüktür (29). Saponinlerden kaynaklanan lezyonların membran yüzeyindeki saponinler ve kolesterolün oluşturduğu misel benzeri yapılar olduğu düşünülmektedir. Saponin molekülleri kolesterolle birleşerek membranın dış yüzeyi hidrofobik kısımlarla çevrenir (18). Aynı zamanda Brain ve ark. (30), çift katlı lipid tabakasına aglikon yapısının bağlanmasının kolesterol varlığına bağlı olmadığını belirtmişlerdir. Oleanolik aglikonun 3. ve 28. karbonları glikozillendiğinde saponinler kolesterolsüz lipozomal membranlarda permeabilitenin değişmesine neden olmuştur (31). *Yucca* saponinleri bağırsak epitel hücrelerinin porlarını genişletmek suretiyle besin maddelerinin emilimini artırmakta, yine hücre geçirgenliğini etkileyerek bağırsak vizkozitesinde değişime yol açmaktadır (16).

2.1.2.2. Lipid Metabolizması Üzerine Etkileri

Hem yağda hem de suda çözünebilme özelliğine sahip olan saponinlerin yüzey gerilimini düşürücü etkiye ve deterjan özelliğine sahip olmaları nedeniyle, safra asitleri, yağ asitleri, digliseritler ve yağda eriyen vitaminleri içeren misellerin oluşumu da dahil olmak üzere sindirim sisteminde yağda çözünen maddelerin emulsifikasyonunu etkilediği bildirilmektedir (16). Yüzlerce safra asiti ve saponin molekülleri, hidrofobik çekirdek kısmı içe, hidrofilik karbonhidrat kısmı dışa gelecek şekilde kompleksler oluştururlar (32).

Saponin içeren bitkiler yedirilen hayvanlar veya saponin ekstraktı verilen insanlarda lipid metabolizması değişimleri gösterilmiş (33, 34); ratlarda (35), tavşanlarda (32), farelerde (36), piliçlerde (37), yumurtacı tavuklarda (9) ve insanlarda (38) saponinlerin serum kolesterol düzeyini azalttığı, bildirilmiştir. Whitehead ve ark. (39)'da saponinlerin, karaciğer lipid ve plazma trigliserit konsantrasyonunu azalttığını, ancak karaciğer kolesterol ve plazma yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) düzeyini ise etkilemediğini saptamışlardır. Yumurta tavuklarında *Yucca schottii* saponinlerinin yumurta sarısı kolesterolünü

etkilemediği bildirilmesine karşın (40), yonca ve *Y. schidigera* saponinlerinin yumurta kolesterolünü azalttığı tespit edilmiştir (41, 42).

Saponinlerin eksojen ve endojen hiperkolesterolemiyi önlemesi çeşitli mekanizmalarla açıklanmaktadır. Saponinler, bağırsak lumeninde kolesterolle kompleksler oluşturarak kolesterolün presipitasyonuna neden olmakta, kolesterol içeren misellerin büyüklük ve/veya stabilitesini etkileyerek mukoza hücrelerine girişini azaltmakta ve mukoza hücre membranındaki kolesterolü de etkilediği için membran transport fonksiyonunu bozmaktadırlar. Saponinler bu yollarla kolesterol emilimini azaltıp, safra asiti ve kolesterol, koprostanol, bitki sterolleri gibi nötral sterollerin fekal atılımını arttırmaktadırlar (20, 43, 44, 45). Ayrıca, saponinlerin bağırsak hücrelerinin dökülmesine yol açan membranolitik etkisi bağırsaklarda hücre membranlarıyla birlikte kolesterol kaybına sebep olmaktadır (31).

Ortamda saponinlerin bulunması, saponin-safra asitleri komplekslerinin oluşumu yanı sıra safra asitlerini selüloza bağlar, dolayısıyla yüksek molekül ağırlıklı miseller oluşmasına yol açmaktadır. Bu da safra asitlerinin reabsorbsiyonunu önleyerek safra asitlerinin atılımı ve buna bağlı olarak karaciğerde kolesterolün safra asitlerine dönüşümünün artmasına neden olmaktadır (31, 33, 44). Kolesterol emiliminin baskılanmasıyla yakın ilişkili olan hepatic kolesterol düzeyinin azalması karaciğerde HMG-CoA redüktaz aktivitesinin ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL) reseptör düzeyi artışına neden olmaktadır (44).

2.1.2.3. Antioksidan Etkileri

Dış orbitallerinde eşlenmemiş elektron bulunan kısa ömürlü reaktif atom ve moleküller serbest radikal olarak, radikaller ve reaksiyonlarını önlemeye çalışan enzimatik ve enzimsel olmayan maddeler ise antioksidan olarak tanımlanmaktadır (46). Antioksidanlar oksidatif zincir reaksiyonlarının başlamasını ve devam etmesini engelleyen lipidlerin oksidasyonunu durduran ya da baskılayan bileşiklerdir. Fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri redoks özelliklerinden

kaynaklanmaktadır. Bunlar serbest radikallerin, singlet ve triplet oksijenin nötrale edilmesinde veya peroksidazların dekompozisyonunda önemli rol oynarlar (47).

Y. schidigera ile in vitro olarak yapılan çalışmada fenolik bileşiklerin trombositlerdeki oksidatif stresi önlediği görülmektedir (48). Aslan ve ark. (9), yumurta tavuklarında yaptıkları çalışmada *Y. schidigera*'nın antioksidan aktiviteyi olumlu yönde etkilediğini ve bunun fenolik bileşikler yanı sıra diğer fitokimyasallardan ileri gelebileceğini bildirmektedirler. Enginar ve ark. (49), 4 hafta süreyle *Y. schidigera* ekstraktı verdikleri tavşanlara iyonize gamma radyasyon uygulamışlar ve oluşan oksidatif stresin *Y. schidigera* ile önlenebileceğini ileri sürmektedirler. Çay saponinleri ile ratlarda yapılan çalışmada ise antioksidan etkinin ksantin, ksantin oksidaz sistemi üzerinden çalıştığı saptanmıştır (50). Siyah ve yeşil çayın antioksidan etkileri de taşıdıkları polifenolik bileşiklere bağlanmaktadır (51). *Panax ginseng*'in metanollü ekstaktındaki saponinlerin de antioksidatif özelliklerinin bulunduğu saptanmıştır (52). Kim ve Park (38), insanlarda *Panax ginseng*'in metanollü ekstaktının 8 haftalık uygulama sonunda malondialdehid düzeylerini düşürüp, katalaz ve süperoksit dismutaz enzim aktivitelerini arttırdığını bildirmektedir.

2.1.2.4. Antihipertansif Etkileri

Çeşitli bitkilerden elde edilen saponin ekstraktlarının hipertansif ratlarda kalp atım sayısını ve arteriyel kan basıncını önemli düzeyde azalttığını göstermektedir (53-56); saponinlerin kan basıncını düşürücü bu etkisinin diüzeze yolaşması (53, 54), NO üretimini stimülasyonu (55, 56) ve anjiotensin converting enzimini inhibisyonu (57) ile oluşabileceği ileri sürülmektedir. Öztaşan ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada deneysel hipertansiyon oluşturulan ratlarda *Y. schidigera*'nın antihipertansif etki gösterdiğini, kalp atım sayısı ve arteriyel kan basıncını azalttığını bildirmektedirler (8). Diğer taraftan hipertansif ratlara 30 gün boyunca oral olarak 200 mg/kg dozda verilen *Heniaria glabra* saponinlerinin arteriyel basıncı azalttığı fakat kalp atım sayısını değiştirmediği bulunmuştur (53).

2.1.2.5. Antikarsinojenik Etkileri

Sitotoksik etkiye sahip olan sekonder safra asitleri, primer safra asitlerinin mikrobiyel metabolizması sonucu oluşmaktadır (16, 23). Örneğin primer safra asiti olan kolik asit, kalın bağırsakta mikrobiyel fermentasyonla deoksikolik asite çevrilmektedir (58). Saponinler, primer safra asitlerini bağlayarak sekonder safra asitlerinin oluşumunu engellediklerinden (34), kolon kanseri riskinin önlenmesinde önemli rol alabilirler (59). Farelerde yapılan bir araştırmada saponinler preneoplastik kolon lezyonlarının sayısını azaltmıştır (60). Yine farelerde yapılan bir başka araştırmada ise kırmızı ginsengten elde edilen ginsenoside-Rb2 ve ginsenoside-Rg3 saponinlerinin tümör metastazlarını inhibe edici etkileri olduğu bildirilmiştir (61). Ayrıca *Panax ginseng*'in metanollü ekstaktındaki saponinlerin sitotoksik ve sitostatik etkileri ile cilt kanserini önleyebileceği ileri sürülmektedir (52).

2.1.2.6. Mineraller Üzerine Etkileri

Gypsophila saponini ile beslenen ratlarda demir emiliminin azaldığı, femur çinko düzeyinin etkilenmediği tespit edilmiştir (35). Saponinlerle mineraller arasındaki bu etkileşimin saponinlerin büyümeyi baskılamada etkili bir özelliğe sahip olabileceğini göstermektedir (35, 45). Bununla birlikte rasyonlarına farklı oranlarda *Y. schidigera* tozu ilave edilen yumurtacı bıldırcınlarda serum kalsiyum düzeyinin yüksek olması, bu bitkinin sindirim kanalında mineral emilimini arttırıcı etkisi olabileceğine bağlanmıştır (62). Ayrıca yemin yağ içeriği ile saponin içeriği arasında bir etkileşim bulunduğu; bağırsak ortamında yağların bağlanmasıyla oluşan sindirilmeyen kalsiyum sabunlarını azaltarak bağırsakta mineral emilimini arttırabileceği bildirilmektedir (18).

Diğer yandan, saponinlerin mikroelementlerin emilimini engellediği ileri sürülmesine rağmen bu etki ve mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Diyetteki *Gypsophila* saponinlerinin bağırsaktaki demir emilimini bozarak karaciğerdeki demir miktarını azalttığı belirtilen bu çalışmada, *Lecur*

saponinlerinin ratlarda demir ve magnezyum atılımını artırdığı, domuzlarda ise plazma kalsiyum ve çinko düzeyini düşürdüğü bildirilmektedir (35). Bu etkinin saponinlerin çinko ve demir ile kompleks oluşturması ve bağırsak emilimini bozması sonucu olduğu düşünülmektedir. Sindirilmiş saponinler bağırsakta safra asitleri, kolesterol, mukozal hücrelerin membran sterolleri ile diyetdeki nutrisyonel ve antinutrisyonel faktörler ile güçlü bağlar kurmakta ve bunların etkilerini artırmakta ya da azaltmaktadır (63).

2.1.2.7. Endokrin Sistem ve Üreme Hormonları Üzerine Etkileri

Saponinlerin hayvan reproduksiyonu üzerine negatif etkileri uzun süredir bilinmektedir. Bu negatif etkileri abort yapıcı, antizigotik ve implantasyonu engelleyici özelliklerine bağlanmaktadır. Broom weed (*Gutierrezia sp.*) ve lechuguilla (*Agave lecheguilla*)'dan elde edilen veya farmakolojik olarak hazırlanmış olan saponinler tavşan, keçi ve ineklerde 2-3 mg/kg'dan yüksek dozlarda damar içi verildiği zaman abort, ölü doğum veya her ikisine de sebep olduğu bildirilmektedir. Çeşitli bitkilerden elde edilen saponinler farelerde steriliteye neden olmuştur (18). Anadolu'da yumruları kadınlar tarafından kısırlık tedavisinde kullanılan *Cyclamen coum var. Coum* ve *Cyclamen mirabile*'nin triterpenik saponinlerinin sıçanlarda antimikrobiyel ve uterokontraktif etkileri olduğu bildirilmektedir (64). Ayrıca *Mussaenda pubescens*'in bütanol ekstraktı ratlarda gebeliğin sonlanmasına yol açmıştır. Bu bitkinin ekstraktı Çin'in Fujian bölgesinde gebeliğin oluşmasını engellemek amaçlı kullanılmaktadır (65).

Saponinler hipofiz hücre kültüründen luteinleştirici hormon (LH) salınımını oldukça güçlü şekilde uyarırlar (66, 67). Dişi ratlara saponinden zengin ekstrakt verilmesi sonucunda uterus büyümesi uyarılır, LH salınımı azalır ve östrus siklusu bloke edilir (66). Ratlara steroid özelliği bulunan saponin enjekte edilmesi sonucunda östrojen üretiminin engellendiği ve diöstrusun uzadığı gözlenmiştir (68). Steroid saponinler direk olarak steroid sentezinden sorumlu olan geni durdurur ve ovaryum folliküllerinde FSH tarafından düzenlenen granulosa hücrelerinin çoğalmasını baskılar (68).

Saponinlerin insan spermi üzerine hem pozitif hem de negatif etkilerinin bulunduğu bildirilmektedir. Çalışmalarla bazı saponinlerin spermada motiliteyi ve ilerlemeyi artırdığı bazılarının ise sperma canlılığını engellediği tespit edilmiştir (69, 70). Saponinden zengin ekstratların cinsel yönden gelişmemiş ratlarda çiftleşme performansını artırdığı ancak cinsel olgunluğa erişen ratlarda etkisiz olduğu bildirilmektedir. Bu etkisini beyinde noradrenerjik ve dopaminerjik tonusu ayrıca oksitosin transmisyonunu artırarak gösterdiği vurgulanmaktadır (71).

Saponinlerin reproduktif fonksiyon üzerine in vivo etkileri steroid reseptörleri ile etkileşime girmeleri sonucu ortaya çıkabilir, çünkü steroidlerle saponinlerin kimyasal yapısı arasında benzerlik bulunmaktadır (72). Ginseng saponinleri insan miyometrium sitosollerinde östrojen ve progesteron bağlanma bölgeleri için östrojen ve progesteronlarla güçlü şekilde yarışmaktadır. Spirostenol steroid yapılı saponin olan digitonin progesteronun sığır luteal membrana bağlanmasını uyarır ve bu etkisi membran sterollerine bağlanmasıyla ortaya çıkar (73). Saponin reseptör kompleksi çekirdek içinde bulunabilir ve çoğalma özelliklerini etkileyebilir. Gisenoside Rg3 doza bağlı olarak androjen ve testosteronu daha güçlü etki gösteren dihidrotestesterona dönüşümünden sorumlu olan alfa redüktaz reseptörlerinin çoğalmasından sorumlu genin kodlanmasını engelleyici etki gösterir (74).

2.1.3. *Yucca schidigera*'nın Veteriner Hekimlik ve Hayvancılıkta Kullanımı

Yucca ekstraktı domuz ve kanatlı barınakları ile köpek, kedi ve tavşan yemlerinde amonyak ve kötü kokuyu kontrol etmek için kullanılmaktadır (16, 75, 76, 77). *Yucca* saponinlerinin amonyak bağlama kapasiteleri nedeniyle kanatlı barınaklarında püskürtme yoluyla kullanılmaktadır. Diyetlere ilave edilen saponinler emilmeden sindirim kanalından geçerler ve feçesle atılırlar. Saponinler dışkıdaki amonyağa ve bazı diğer uçucu maddelere bağlanır ve onların havaya geçişini azaltırlar (16). Saponinlerin bu özelliği nedeniyle köpek ve kedi

diyetlerine *Y. schidigera*'nın ekstratı katılarak dışkıdaki kötü koku azaltılabilmektedir (76). Antiprotozoal etkisi nedeniyle ishal ve kolitin önlenmesinde atlarda, ayrıca bakterilerin protein sentezi için rumen amonyağından daha uzun süre yararlanabilmesi amacıyla ruminantların diyetlerinde kullanılmaktadır (16).

2.1.3.1. Çeşitli Bitkilerdeki Saponinlerin Rumen Fauna ve Florasına Etkileri

İlk yapılan araştırmalarda yonca saponinlerinin rumen hareketlerini azalttığı ve bunun sonucunda köpüklü rumen içeriğinin geçişini engellediğı; ruktusu engelleyerek rumen gazlarının birikimine ve hayvanın ölümüne yol açtığı gözlenmiştir (20). Koyunlarda yapılan bir araştırmada (78), rumene düşük düzeylerde yoncadan ekstrakte edilen saponinlerin ilavesinin rumen protozoon konsantrasyonunu azalttığı gösterilmiştir. Daha sonra yapılan araştırmalarda da saponinlerin protozoonları öldürdüğü bu yüzden defaunasyon oluşturmak amacıyla ruminantlarda kullanılabilecekleri bildirilmektedir (79-82). Makkar ve ark. (83), in vitro olarak yaptıkları araştırmalarında; saponin içeren değışik bitkilerden ekstrakte ettikleri saponinlerin protozoon sayısını azalttığını, en fazla azaltmayı *Acacia* saponinlerinin yaptığını bunu *Quillaja* ve *Yucca* saponinlerinin takip ettiğini bildirmektedirler.

Rumendeki protozoonların sayısındaki azalmaya bağılı olarak protozoonlar tarafından bakteri sindirimi azaldığı için rumen amonyak konsantrasyonunun da azaldığı açıklanmıştır (16). Makkar ve Becker (84), *Quillaja* saponinlerinin uygulamadan 6 saat sonrasına kadar rumende değışmeden kalabildiğini, bu zaman periyodunun saponinlerin antiprotozoal aktivitesi için yeterli olabileceğini bildirmişlerdir. Bunun yanında saponinlerin rumende etkili oldukları konsantrasyonun (1.000-10.000 mg/L) yaygın olarak kullanılan yemlerde bulunan saponin konsantrasyonlarının (60-250 mg/Kg) çok üzerinde olduğu bildirilmiştir (85). Diğerk taraftan, rumen bakterilerinin saponinleri parçalayarak antiprotozoal etkilerini ortadan kaldıracabilecekleri ileri sürülmüş ve Etiyopya da yetişen

saponince zengin *Sesbania sesban* bitkisini yiyen Etiyopya'daki koyunların protozoon sayısı etkilenmezken İskoçya'daki koyunların protozoon sayısının azalması delil olarak sunulmuştur (86).

Saponinlerin rumen bakterileri üzerine etkisinin değişken olduğu bildirilmektedir. *Y. schidigera*'dan elde edilen steroidal saponinlerin sellülitik bakterileri ve mantarları inhibe ettikleri fakat amilolitik bakterilere etkisinin tür spesifik olduğu bildirilmiştir (87). Bir başka araştırmada Eryavuz ve Dehority (88), ise, *Y. schidigera*'nın ekstratı değişik düzeylerde koyun rasyonlarına katıldığında saponinlerin rumen protozoonları, selülitik ve toplam bakteri ile mantar sayısı üzerine etkisinin olmadığı bulunmuştur (88). Bununla birlikte bakterilerin, saponinlerin karbonhidrat yan zincirlerini kopararak saponinleri hidrolize ettikleri dolayısıyla saponin metabolizmasına adapte olabilecekleri de bildirilmektedir (84, 89). Rumen protozoalarının ise saponinlere adaptasyon veya detoksifikasyon yetenekleri bulunmamaktadır. Wallace ve ark. (90), *Yucca* ekstraktının Gram negatif bakterilerden daha fazla Gram pozitif bakterileri etkileyebileceklerini ve iyonofor grubu antibiyotikler gibi yararlı etkilerinin olabileceğini bildirmektedirler. Saponinlerin antibakteriyel etki mekanizmasının, membranolitik özellikleriyle ilişkili olduğu, bu nedenle bakterileri inhibe edici etkilerinin, bakteriye adsorbsiyonu ve bakteri popülasyonunun yoğunluğu ile bağlantılı olduğu bildirilmiştir. Ayrıca rumen bakterileri gibi karışık bakteri popülasyonu üzerine saponinlerin etkisinin belirlenmesi oldukça zordur (16).

2.1.3.2. Kanatlılardaki Etkileri

Rasyona %0.10 veya %0.15'in altındaki düzeylerde saponin ilavesinin piliçlerde büyümeyi etkilemediği, ancak bu düzeylerin üzerinde saponin ilavesinin büyümeyi baskıladığı bildirilmiştir (18). Jenkins ve Atwal (45)'da piliçlerde %0.9 triterpenoid saponinin canlı ağırlığı, yem tüketimini, yağların sindirilebilirliğini, vitamin A ve E'nin emilimini olumsuz etkilediğini, ancak steroid saponinlerin bu parametreler üzerine bir etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir. Yumurta tavuklarında ise %0.04'ün üzerinde saponin içeren rasyonların yumurta verimi ve

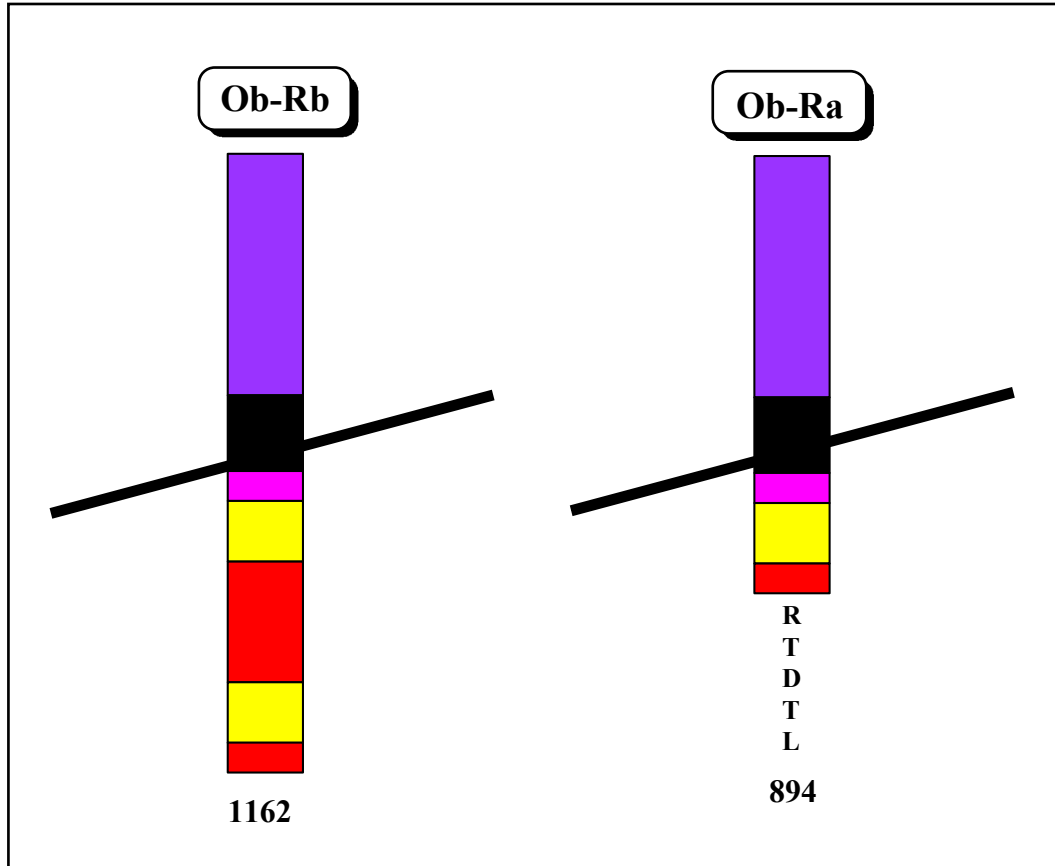
yem tüketimini azalttığı bildirilirken (40), %0.3 düzeyinde saponinin yumurta verimini önce azalttığı ancak saponin tüketiminin 10. gününden sonra yumurta veriminin tekrar artarak eski seviyesine ulaştığı bildirilmiştir (91). Heywang ve Thompson (92)'da yoncadan ekstrakte edilen %0.4 düzeyinde saponin veya 50.26 saponin içerecek şekilde %20 yonca unu içeren rasyonların yumurta verimini ve yem tüketimini baskıladığını ancak yumurta ağırlığını etkilemediğini kaydetmişlerdir. Whitehead ve ark. (39), 1 g/kg düzeyinin ise canlı ağırlık, yem tüketimi ve yumurta ağırlığını azalttığını bildirmişlerdir. Öte yandan Ishaaya ve ark. (93), soyadaki saponinlerin, yüksek konsantrasyonlarda dahi tavuklarda büyümeyi baskılayıcı etkisinin olmadığını, buna karşılık yoncadaki saponinlerin zararlı etkilerinin rasyondaki saponin konsantrasyonu ile doğru orantılı olduğunu bildirmişlerdir. Cheeke ve ark. (16), kazların %1, bıldırcın ve hindilerin %2.5, piliçlerin ise %5 ve üzerindeki düzeylerde yonca içeren rasyonları daha az tükettiklerini, yoncanın düşük veya yüksek düzeyde saponin içermesinin yonca tüketimine önemli bir etkisinin olmadığını, hatta hindilerin yüksek saponinli yoncayı düşük saponinli yoncaya tercih ettiklerini ileri sürmüşlerdir. Saponinlerin performans üzerine olumsuz etkisi, acı tadları nedeniyle yem tüketiminin azalmasına (94) veya saponinlerin vitamin, mineral, yağ gibi bazı esansiyel besin maddeleri ile çözünmeyen kompleksler oluşturmasına bağlanmıştır (45).

2.2. Leptin

Yunanca ince zayıf anlamına gelen “leptos” kelimesinden türetilen leptin, ilk kez 1994 yılında adiposit kökenli sinyal faktörü olarak tanımlanmıştır (95). Son yıllarda leptinin sentezi, salgılanması, reseptörleri ve etkileri üzerine yoğunlaşan çalışmalar leptinin iştah, enerji harcanmasının düzenlenmesi, besinlerin dokular ve vücut yapıları arasına dağılımı, bazı hormonlar ve reproduksiyon üzerinde etkili olduğunu göstermiştir (96-101).

2.2.1. Leptin Reseptörleri

Leptin geninin 1995 yılında klonlanmasından bir yıl sonra OB-Rb şeklinde kodlanan leptin reseptörünün tanımlanması, leptin araştırmalarında önemli bir aşama olarak kabul edilir (102). Leptinin metabolik etkilerinin çoğunu merkezi sinir sistemi ve periferik dokularda bulunan spesifik reseptörlerle etkileşerek gösterdiği anlaşılmıştır (103). Şekil 2.3’de de görüldüğü gibi uzun ve kısa olmak üzere iki ayrı formda leptin reseptörü izole edilmiştir (104). Uzun formdaki reseptörlerin (OB-Rb) yiyecek alımını ve enerji metabolizmasını düzenleyen hipotalamusta yerleştiği ve bu reseptörün birincil olarak leptin sinyalizasyonunda etkili olduğu kaydedilmektedir (102,103). Uzun leptin reseptörleri (OB-Rb); büyük bir ekstraselüler kısım, kısa bir hidrofobik transmembran kısım ve oldukça kısa bir intraselüler kısım olmak üzere üç farklı yapıdan oluşmaktadır (105,106). Kısa reseptör izoformunda ise reseptörün hidrofobik transmembran kısmı bulunmaz. Bu izoformun muhtemelen leptin reseptörünün çözülebilir şekli olduğu beynin koroid pleksus ile leptomeninks gibi alanlarında yoğun olarak bulunduğu kaydedilmiştir (107). Bu bölgelerde kan-serebrospinal sıvıdan leptin alınmasına bu reseptör formun destek olduğu sanılmaktadır (108).



Şekil 2.3. Leptin Reseptörleri Uzun ve Kısa Form (104)

İnsan, fare ve sıçan reseptörleri uzunluk bakımından birbirleri ile benzerdirler. Farelerdeki ekstrasellüler ve sitoplazmik segmentler insandaki reseptörler ile kıyaslandığında sırasıyla % 77 ve % 72 oranında benzerlik gösterir (109). Leptin reseptörleri koyunlarda hipotalamus, hipofiz ön lobu, yağ dokusu, meme bezi ve böbrek üstü bezinin medulla hücreleri gibi birkaç dokuda sentezlenmektedir. Uzun leptin reseptörleri normalde hipotalamik nöronlarda yüksek düzeyde, yağ doku ve damar endotelial hücreler gibi diğer hücre tiplerinde düşük düzeyde bulunmaktadır (110,111). Etçi ve sütçü ırk sığırlarda yapılan araştırmada ise, hipotalamustaki leptin reseptör mRNA düzeyleri bakımından ırklar arasında fark olmadığı tespit edilmiştir (100).

2.2.2. Leptin Sentezini Etkileyen Faktörler

Hayvanlarda leptin üretimi ve plazma leptin düzeyleri tür, ırk gibi genetik ve yaş, gebelik, laktasyon, beslenme alışkanlıkları gibi fizyolojik faktörler ile ısı, ışık gibi çevresel şartlara bağlı olarak değişebilmektedir (112-114). Serum leptin düzeylerine etkili çeşitli faktörleri içeren veriler Tablo 2.3.'de gösterilmiştir (115).

Leptin sentezini adipoz hücre büyüklüğü, sayısı ve vücut yağ kitlesi uzun sürede, beslenme düzeyi ve gün uzunluğu ise, orta sürede artırmaktadır. Saatler içinde gelişen kısa süreli değişimler ise, glikoz, esterleşmemiş yağ asitleri (NEFA), keton cisimleri ile insülin, büyüme hormonu (GH), kateşolaminler, glikokortikoidler gibi hormonlardan etkilenmektedir (113).

Tablo 2.3. Serum Leptin Seviyelerini Artıran ve Azaltan Faktörler (115)

Leptini Artıran Faktörler		Leptini Azaltan Faktörler	
Faktör	Model	Faktör	Model
Obezite	İnsanlar, kemiriciler	Androgenler	Yağ dokusu hücreleri
Aşırı beslenme	İnsanlar, kemiriciler	Açlık	İnsanlar
Böbrek fonksiyon bozuklukları	İnsanlar	β_3 -Adrenoseptör agonistleri	İnsanlar, kemiriciler, yağ dokusu hücreleri
İnsülin	Yağ dokusu, insanlar, ratlar, Ob/ob fare	Growth hormon	Zucker ratlar, rat, çocuk
Glukoz	Fare	Soğuk maruziyeti	İnsanlar, ratlar, insan yağ dokusu
Glukokortikoidler	Yağ dokusu, ratlar, insanlar	Ekzersiz- uzun süreli	İnsanlar, ratlar
TNF-a	Yağ dokusu, insanlar	Somatostatin	İnsanlar, ratlar
Östrojen	Yağ dokusu, insanlar, ratlar, domuz	Siklik AMP	Yağ dokusu hücreleri
Endotoksin	Hamster	Thiazolidinedions	Yağ dokusu hücreleri
Interleukin-1	İnsanlar, hamster	Sigara İçmek	İnsanlar
Alkol	İnsanlar	IGF-1	Ratlar
		Serbest yağ asitleri	Yağ dokusu hücreleri

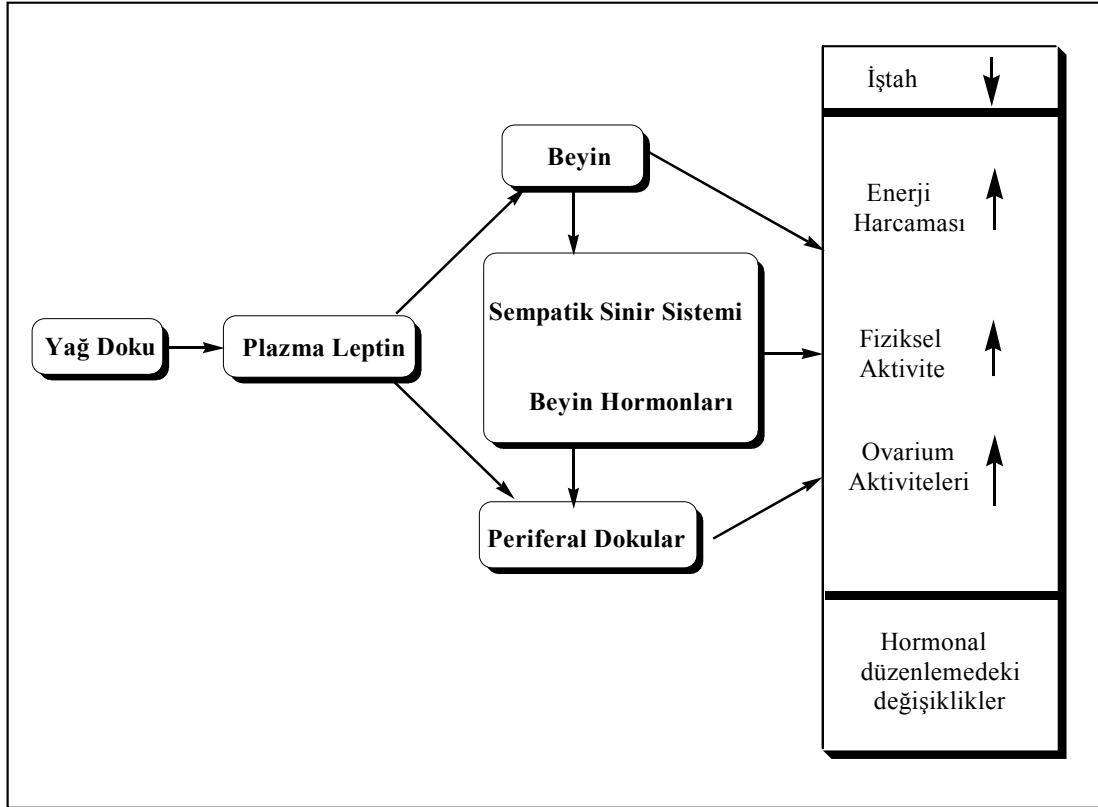
2.2.2.1. Vücut Yağlarının Etkisi

Vücudun karbonhidrat depolama kapasitesinin sınırlı olması nedeniyle fazla karbonhidrat vücutta yağa çevrilmektedir (116). Vücudun yağ depolama kapasitesi, adipoz doku depolarının genişleyebilme yeteneğinden dolayı büyüktür. Yağ, yağ dokusunda depo halinde bulunduğu gibi diğer doku hücrelerinde de bulunmaktadır. Yağ hücrelerinde hücre kitlesinin % 95'i trigliseritlerden oluşmaktadır (117). Bu hücrelerdeki yağ, vücudun gereksinim duyduğu her durumda çözünerek enerji sağlayan besinlere dönüşen ana depolardır. Doku hücreleri yağı ise nötral yağlar ve fosfolipidlerden kurulmuştur. Uzun süren açlıkta doku yağının nötral yağ kısmı tükenir, depo yağı ise yağ asitlerine parçalanarak okside edilmek üzere karaciğere gelir (118). Leptin mRNA düzeyleri vücut yağ dokusuyla oransal olarak ilişkilidir ve vücut yağ depolarının miktarıyla artmaktadır (119).

Vücuttaki yağ miktarının sabit tutulması leptinin önemli fonksiyonlarından biridir. Serum ve yağ dokusunda leptin seviyelerinin düşmesi beyinde enerji açığı bulunduğunu göstermektedir. Leptin ayrıca sempatik sinir sisteminin aktivitesini de artırır. Leptin iskelet kasları, karaciğer ve pankreasın beta hücrelerindeki hücre içi lipid düzeyini insülinle etkileşerek düşürmektedir (120).

2.2.2.2. Yağ Dokusunun Etkisi

Memelilerde beyaz yağ dokusu ve kahverengi yağ dokusu olmak üzere iki tip yağ dokusu bulunmaktadır. Yeni doğan yavrular boyun bölgesi ile kürek kemikleri arasında kahverengi yağ dokusu taşırlar. Erişkin memeli hayvanlarda beyaz yağ dokusu vücudun her yerinde bulunurken, kahverengi yağ dokusu çok azdır (117,118). Leptin esas olarak beyaz yağ dokusundan sentezlenip salgılanmakta, kahverengi yağ dokusunda ise, çok düşük miktarlarda bulunmaktadır (121).



Şekil 2.4. Yağ Dokudan Sentezlenen Leptinin Fizyolojik Etkileri (113)

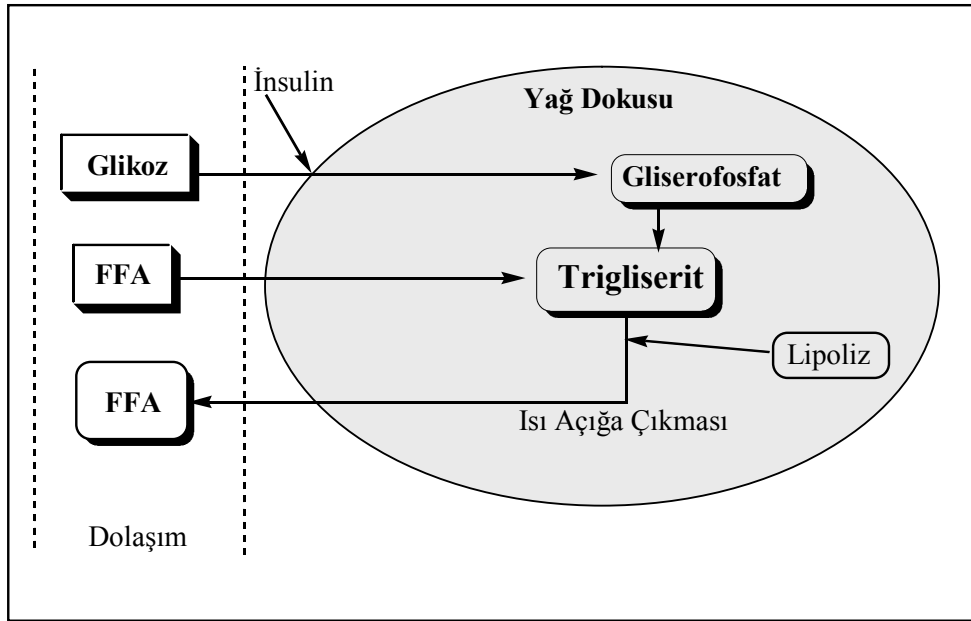
Vücutta enerji için yağ asidi oksidasyonuna ihtiyaç olduğu zaman, gerek kanda bulunan şilomikron lipidlerinin lipoprotein lipaz yoluyla parçalanması sonucu oluşan yağ asitleri, gerekse yağ depolarındaki nötral yağların yağ dokusu lipazının etkisiyle parçalanması sonucu oluşan yağ asitleri karaciğere ve kasa gelerek okside edilmektedirler (Şekil 2.6./2.7.) (100).

Büyük yağ hücrelerindeki leptin oranı küçük yağ hücrelerinden daha fazladır. Yine deri altı yağ dokusundan salgılanan leptin visseral yağ dokusundan daha fazladır (122). Sığırlarda subkuteneus, perirenal ve omental yağ doku arasında belirlenmiş farklılıklar olmamakla birlikte, bazı çalışmalarda leptin mRNA düzeyinin perirenal yağ dokuda yüksek, abdominal, subkuteneus ve inter muskular yağ dokuda orta düzeyde ve intramuskular yağ dokuda düşük düzeyde olduğu bildirilmiştir (123,124). Koyun ve keçilerde leptin mRNA düzeyi perirenal ve omental yağ dokuya göre subkuteneus yağ dokuda daha yüksek bulunmuştur (125). Değişik yağ dokularında leptin mRNA düzeylerinin farklı olması, insuline

duyarlılık bakımından yağ depoları arasındaki farklılığa (124) ya da yağ doku ölçüsündeki farklılığa (100) atfedilmektedir.

Üretimin ana bölgesi beyaz yağ doku olmasına rağmen, leptin ayrıca plasenta ve fetal dokular, meme bezi, mide, kas, overler ve kahverengi yağ dokudan da sentezlenmektedir (113,126). Kandaki leptin ya serbest ya da proteinlere bağlı olarak bulunur. Leptin aktivitesinden serbest formun sorumlu olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda obez bireylerde serumdaki leptin'in büyük kısmının serbest formda olduğu tespit edilmiş, bu nedenle obez kişilerde serbest leptin formu artışının tespit edilmesi, obezite gelişiminde asıl sorunun leptin eksikliği değil, leptin rezistansı olduğu hipotezini destekleyen kanıtlardan biri olarak kabul edilmiştir (127,128).

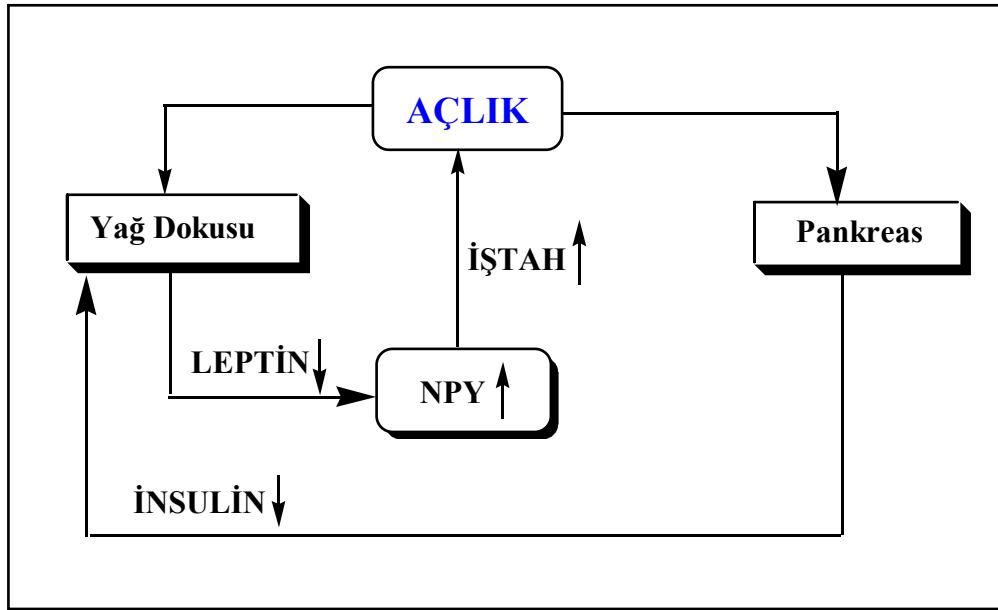
Leptinin sadece beyin ve periferal dokularda endokrin işaret olarak etki etmekle kalmadığı aynı zamanda, üretildiği dokularda otokrin / parakrin işaret olarak etki edebileceği ifade edilmektedir (113).



Şekil 2.5. Yağ Doku Fizyolojisi (100)

2.2.2.3. Açlığın Etkisi

Açlık, besin alma ihtiyacının kontrolü ile ilgili genel bir duyumdur. Geçmişte glikoz, yağ ve ısının açlık duyumunun uyarılma ve kontrolündeki önemli etkileri göz önünde bulundurularak glikostatik, lipostatik ve termostatik olmak üzere üç teori ileri sürülmüştür (129). Kennedy 1953 yılında, vücut yağ dokusu depolarının durumunu beyine bildirerek enerji alınımını ayarlayan, yağ dokusunda yapılan ve dolaşıma verilen bir faktörün var olduğunu ileri sürmüştür. Bu faktörün kemiricilerde 1994 yılında keşfedilen leptin hormonu olduğu ve vücut enerji homeostazisinin düzenlenmesi ile pek çok diğer fizyolojik fonksiyonlarda merkezi bir rol oynayabileceği ifade edilmiştir (95, 130).



Şekil 2.6. Leptin Hormonunun Açlıktaki Rolü (100)

Leptin hipotalamusta bulunan ve iştah merkezi olarak bilinen arkuat çekirdeklerdeki nöropeptit Y (NPY) salgılayan nöronları baskılayarak iştahı azaltmaktadır (131). Koyunlarda NPY'nin intravenöz enjeksiyonu yağ dokuda NPY reseptör mRNA ve leptin mRNA'yı artırmıştır. Periferel dokuların metabolizmasına NPY'nin etkileri bilinmemekle birlikte bu bulgu beyinde NPY sekresyonu üzerine leptinin negatif feedback halkasını yansıtmaktadır (113).

2.2.2.3. Beslenmenin Etkisi

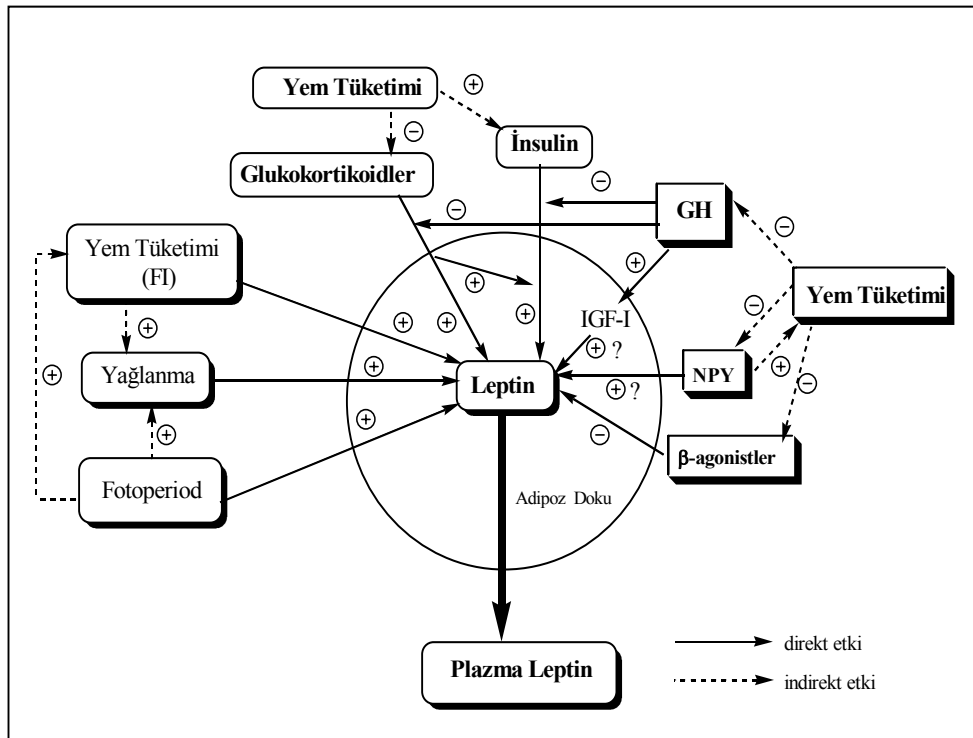
Leptin üretimi farklı yağ dokulardaki leptin reseptörleri ile çok iyi düzenlenmektedir. Örneğin, yetersiz beslenme yağ doku, plazma ve serebrospinal sıvı leptin düzeyini azaltmakta (108), buna karşın hipotalamusta ise, leptin reseptör sentezini artırmaktadır (132). Bu bulgular yetersiz beslenmede leptin düzeyindeki azalmanın, bireylerin ya da türlerin yaşamlarını sürdürebilmesi için, dolaşımdaki bazı spesifik dokuların leptin reseptör miktarlarını ya da duyarlılıklarını artırmalarıyla karşılayabileceklerini göstermektedir. Farklı dokuların endokrin ve metabolik cevaplarının koordinasyonu, bazen aynı dolaşım sinyaline zıt cevaplarla birlikte, hayvanların fizyolojik ve çevre şartlarında meydana gelen ani değişikliklere uyum sağlamalarına yarayan homeostatik mekanizmalarla sağlanmaktadır. Yağın vücutta depo edilmesi ile mobilizasyonu arasındaki döngü bu adaptasyonda önemli bir rol oynamaktadır. Gelişen açlık belirtisine karşı plazma leptin düzeyinin düşürülmesi, enerji rezervini garanti etmeye ve enerji harcanmasını önlemeye yönelik olabilir. Bununla birlikte, bu adaptif mekanizmalar leptin gen polimorfizmiyle sığırlarda, yağlı ve yağsız oluşlarıyla da koyunlarda genetik olarak farklılık göstermektedir. Bu durum, vücut yağ kitlesi arttığı zaman plazma leptin düzeyinde gözlenen yükselmenin, homeostatik düzenlemelerin genetik ya da beslenmenin baskın olduğu durumlarda leptin resistans oluşumu ile kaybolabileceğini ve besin maddelerinin bolca temin edildiği dönemlerde enerjinin depolanma kabiliyetinin bir avantaj olduğu gerçeğini yansıtabilir (113).

Leptin yağ depolanmasının düzenlenmesi yanında hayvanların iyi beslenememe durumlarına adaptasyonunda da önemli rol oynamaktadır (98). Bu nedenle yetersiz beslenen hayvanlarda plazma leptin düzeyindeki hızlı düşüş; yeniden beslenme davranışı ile glikokortikoid sekresyonunun uyarılması, tiroid aktivitesi, enerji harcaması ve protein sentezinin düşmesi ile reproduksiyonun kısıtlanmasında akut bir belirti olarak düşünülmektedir (133).

2.2.2.4. Genetik ve Diğer Faktörlerin Etkisi

Plazma leptin düzeyleri yaşa, cinsiyete ve vücut yağ düzeyine bağlı olarak değişmektedir (134). Memeliler gelişimlerini tamamlayıp yetişkin bireylerin ölçülerine ulaştıklarında, büyüme daha çok yağ dokusundaki artışla olmaktadır. Bu nedenle yetişkinler gençlere göre (135), dişiler erkeklere göre (98, 108), yağlı hayvanlar yağısızlara göre daha yüksek plazma leptin düzeyine sahiptirler (100,125).

Yaş, ağırlık ve vücuttaki yağ miktarı açısından benzer olan kadınlar ve erkekler leptin üretimi açısından kıyaslanırsa kadınların erkeklere oranla daha yüksek miktarlarda leptin ürettikleri gözlenmektedir. Bu sonuç, muhtemelen cinsiyete bağlı olarak farklılık gösteren yağ depolanmasına, yağ depolarının yerleşimine ve testesteronun leptin üzerindeki baskılayıcı etkisine bağlıdır (136).



Şekil 2.7. Yem Tüketimi ve Leptin Hormonu Arasındaki İlişki (113)

Leptinin gıda alımının düzenlenmesi, enerji tüketimi ve vücut ağırlığı üzerindeki fonksiyonları kemirgenler, insanlar ve kısmi olarak da koyunlar üzerinde birçok kez araştırılmıştır (121). Yapılan deneylerde günlük enjeksiyonlarla ob/ob farelere leptin verildiğinde enerji harcamasının arttığı, gıda alımının azalarak hayvanda belirgin bir kilo kaybının gözleendiği, glikoz intoleransının kaybolduğu ve diyabetlerinin düzeldiği saptanmıştır (137). Plazma leptin düzeyleri beslemeden sonra artmaktadır (138). Gebe olmayan koyunlarda yapılan bir araştırmada; plazma leptin düzeyinin iyi beslenenlere göre yetersiz beslenenlerde %50 azaldığı bulunmuştur (99). Gebe olmayan holstain ve charolais ırkı sığırlarda yapılan başka bir araştırmada, plazma leptin düzeyi iyi beslenenlere göre yetersiz beslenenlerden %25 daha düşük olduğu bulunmuştur. Vücut yağ kütlesi ve enerji tüketimi dikkate alındığında ırk farkının olmadığı gözlenmiştir (100). Son olarak sığırlarda yemleme öncesi plazma leptin düzeyi yetersiz beslenmeden sonra %35 azalmakta ve yeniden beslemeden sonra plazma glikozla pozitif ve plazma NEFA'yla negatif bir korrelasyonla birlikte %30 itibariyle bir sıçrama yapmaktadır (113).

Yağlı kuyruklu koyunların vücut enerji değişikliklerine dayanıklı oldukları kaydedilmektedir (101). Yeni doğan kuzulara leptin infüzyonu vücut ısısını artırmakta (139), ancak farklı ırktaki sığırlarda kas leptin reseptör mRNA düzeyiyle enerji harcanma düzeyi arasında önemli bir ilişki bulunmamaktadır (113). Plazma leptin düzeyleri keçilerde laktasyonun başı (4.02 ng/ml) ve ortasında (3.58 ng/ml) laktasyon sonuna göre (2.86 ng / ml) daha yüksek bulunmuştur (138).

Rasyonun içerdiği yem maddeleri, bileşimi ve partikül ölçüleri de plazma leptin sekresyonunu etkilemektedir (138,140). Rasyonun total kalorisi ve doymamış yağ içeriği yüksek olduğunda, plazma leptin düzeyi de artmaktadır (140). Çinko eksikliğinin plazma leptin düzeyinde azalmaya, çinko uygulamasının ise leptin salınımında bir artışa yol açtığı kaydedilmektedir (141, 142).

2.2.3. Leptinin Endokrin ve Üreme Sistemine Etkisi

Leptin hormonunun metabolik etkilerinin yanında üreme ile olan ilişkisi yoğun olarak araştırılmaktadır. Üreme sistemi ile olan ilişkilerini araştıran ilk çalışmalar leptin eksikliği olan obez C57BL/6J ob/ob farelerindeki çalışmalardır (143,144). Bu fareler seksüel olgunluğa erişemezler, infertilidirler ve gonadotropin hormon seviyeleri de düşüktür. Bu farelere leptin uygulanması; yem tüketiminde azalmaya, termogenesis ve fiziksel aktivite ile kan glikoz ve insulin düzeylerinde artışla birlikte steriliteyi de ortadan kaldırmaktadır (144). Burada leptinin ya da leptin reseptörlerinin olmaması hipogonadotropik hipogonadizm ile kendini göstermektedir (145). Süt ineklerinde infertilite önemli bir problemdir. Yapılan bir araştırmada (146), reproduktif siklus problemleri gösteren sığırların normal siklus gösterenlere göre daha düşük plazma leptin düzeylerine sahip oldukları gösterilmiştir. Aynı zamanda östrus siklusunda problem olan sığırların normal sığırlara göre daha yüksek süt verimlerine sahip oldukları bulunmuştur (146).

Memelilerde, üreme sisteminin işlevi çevredeki enerjinin kullanılabilirliğine bağlıdır. Enerji dengesinin akut değişikliklerinin hipotalamus-pituiter-gonadal (HPG) eksenini değiştirdiği bilinmektedir. Açlık ve kalori kısıtlamasının hipotalamik gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH) inhibisyonu yolu ile luteinize edici hormon (LH) salınımını baskıladığı gösterilmiştir. Bu durumun tersine, enerji depolamadaki aşırılık ve obezite ise üreme ekseninin doğru kontrolü ile etkileşime girmektedir (110).

Kritik bir vücut ağırlığına erişim ve adiposit miktarı pubertaya giriş için bir sinyaldir. Farelere uygulanan yüksek dozda leptin dişilerde puberta başlangıcını öne çekmiştir (103). Leptin; GnRH, LH, FSH salınımını uyararak hem erkek, hem de dişilerde pubertayı başlatan güçlü sinyaller oluşturmaktadır (114, 142). Pubertadan sonra leptin seviyesi dişilerde erkeklere göre daha yüksek bulunmaktadır. Leptinin hipotalamustaki üreme üzerine etkisini NPY aracılığıyla yapabileceği öne sürülmektedir (142). Düşük gıda alımı ve/veya aşırı enerji harcanması gibi koşullarda NPY seviyesi artarak seksüel matürasyonu ve üremeyi

inhibe eder. Ayrıca leptinin gonadotropin ve seks steroid sentezini ve sekresyonunu arttırdığı da saptanmıştır (147).

Dayı ve ark. (148), inek östrus döngüsünde serum ve foliküler sıvı leptin ile IGF-I değerlerinin değişimini inceledikleri araştırmalarında, sadece preovulatuvar foliküllerin folikül sıvısında leptin ve IGF-I konsantrasyonu arasında negatif ilişki bulmuşlardır. Leptin hormonunun, östrus siklusundaki foliküler fazda yumurta oluşumu ile ovulasyon üzerinde etkilerinin olabileceği ve leptin hormon profilinin östrus siklusunda fazla besleme ya da aç bırakma ile değişebileceği ifade edilmektedir (149). Kastre edilen ratlarda plazma leptin düzeyi önemli oranda artmaktadır (142).

2.2.4. Leptin ve Diğer Hormonlar Arasındaki İlişkiler

Leptin düzeyinin ana belirleyicisi vücut yağ kitlesi ve vücut kitle indeksi (VKİ) olsa da, bir çok faktör leptinin regülasyonunda rol almaktadır. İnsulin, glukokortikoidler ve prolaktin leptin sentezini stimüle ederken, NPY, tiroid hormonları, GH, somatostatin, serbest yağ asitleri, uzun süre soğuğa maruz kalma ve katekolaminler leptin üzerinde inhibitör etki gösterirler (150-153).

2.2.4.1. İnsulin ve Leptin Arasındaki İlişki

İnsulin enerji dengesinin en önemli düzenleyicisidir. Glikoz, serbest yağ asitleri ve amino asitlerin dokular tarafından kullanımını sağlar. Enerji dengesinin düzenlenmesinde leptin ve insulin arasında bir ilişki olması şaşırtıcı değildir ve insulinin leptin üretimi üzerinde etkisinin önemli olduğu bildirilmiştir (115).

Plazma insulin düzeyindeki artış aynı zamanda plazma leptin seviyesini arttırmakta ve insulin enjeksiyonu ile hem plazma leptin, hem de yağ doku leptin mRNA düzeyleri artmaktadır (154). Uzun süreli leptin uygulamalarının insulin ve glikojen sentezini artırdığı bildirilmektedir (155).

Gıda alımının azaldığı durumlarda leptinin dolaşımdaki insulin düzeylerini azalttığı kaydedilmektedir (156). Monogastrik türlerde açlıkta leptin mRNA'daki azalmanın, sempatik aktivitede artma ile insulin sekresyonundaki düşmeden kaynaklandığı ileri sürülmektedir (157). Sempatik sinir sistemi lipolizisin önemli düzenleyicilerinden oldukları için, leptin salınımının azalması β -reseptörlere kateşolaminlerin hızlı etkisi nedeniyle olmaktadır (158). Bu durum gebe olmayan ve iyi beslenen düvelerde β -adrenerjik etkiye sahip isoproterenolun plazma leptini üzerine inhibisyon etkisiyle gösterilmiştir (159).

2.2.4.2. Tiroid Hormonları ve Leptin Arasındaki İlişki

Tiroid hormonları hayvanların çoğunda metabolik hızı artırır. Tiroid hormonlarındaki artış, oksijenin yakılması, vücut ısısı, nabız, sistolik kan basıncı, lipolizis ve kilo kaybındaki artış ile ilgilidir (160).

Tiroid hormon uygulamaları adrenalinin lipolitik etkisini artırmaktadır. Adrenerjik sinirlerin bloke edilmesi, tiroid hormonlarının kalorijenik etkisini ortadan kaldırmaktadır (161). Yetersiz beslenme sığırlarda hem leptin hem de tiroksin (T_4) düzeylerini azaltmaktadır (98). Leptin düzeylerindeki azalma direkt ya da indirekt bir şekilde tiropin releasing hormon (TRH) salınımını baskılamak dolayısıyla T_4 üretim düzeyini azaltmak için beyinde bir işaret meydana gelmesine neden olabilmektedir (98). Triiodotiroasetik asit (Triac) ve T_3 uygulamaları ratların beyaz ve kahverengi yağ dokusundan leptin sentez ve salınımını inhibe etmektedir (162). Zabrocka ve ark. (163), ratlarda farklı dozlarda T_3 uygulamasının serum leptin düzeylerini ve beyaz yağ doku mRNA seviyelerini doza bağlı olarak azalttığını bildirmektedirler.

Tiroid hormonlarının termogenezisi artırarak enerji metabolizmasında düzenleyici rol oynadıkları da bilinmektedir. Termogenezisde en önemli faktörler "uncoupling" proteinler (UCP)'dir. UCP'ler mitokondrinin iç membranında bulunurlar ve protonların eşleşmesine engel olarak ATP sentezi yerine ısının açığa çıkmasını sağlarlar. Tiroid hormonları UCP2 ve UCP3 ekspresyonunu güçlü bir

şekilde uyarırlar ve böylece daha fazla ısının oluşmasını buna bağlı olarak daha fazla enerji harcanmasını sağlarlar. Leptin tiroid hormonlarının seviyesini ve sempatik sinir sisteminin aktivasyonunu arttırarak daha fazla UCP oluşmasını sağlar ve bu yolla termogenezisi artırır. Böylece obezite gelişiminin önlenmesinde iştahın azaltılması yanında çok önemli bir adım daha atılarak enerji harcanması da artırılmış olur (164).

2.2.4.3. Büyüme Hormonu ve Leptin Arasındaki İlişki

Gelişmekte olan koyun ve sığırlara büyüme hormonu uygulaması yağ dokuda mRNA'yı artırmış (165), aynı zamanda sığırlarda plazma insülin ve yağ doku IGF-I mRNA'da bir artışa yol açmıştır (141). Büyüme hormonunun leptin üretimi üzerine etkisinin feedback mekanizmasının bir parçası olabileceği düşünülmektedir. Çünkü *in vitro* leptinin koyun hipofiz bezinde büyüme hormonu sekresyonunu yapan hücrelerin, büyüme hormonu salgılatıcı hormon uyarımına karşı verdikleri cevabı düşürdüğü gözlenmiştir (141). Bununla birlikte *in vivo* leptin enjeksiyonu yetersiz beslenen koyunlarda plazma büyüme hormonu düzeyini artırmıştır (166). *In vivo* ve *in vitro* bulgular arasındaki farklılıklar *in vivo* GH ya da kortizolun etkileri gibi sayısız etkileşimden kaynaklanabilir. GH ya da NPY gibi hormon enjeksiyonları, leptin sentezini artırabilir. Bu durum, leptinin GH, NPY gibi hormonların periferal dolaşıma sekresyonunu azaltmak için beyindeki kendi reseptörlerini etkileyecek bir feedback mekanizmasını işaret etmektedir (166).

2.2.4.4. Diğer Hormonlar ve Leptin Arasındaki İlişkiler

Glikokortikoidler yağ doku leptin gen sentezini uyarmış ve ratların yağ dokusunda insulin ve glikokortikoidler için pozitif etkiler gözlenmiştir (167). İnsulin ve glikokortikoidler arasındaki kompleks ilişkiler insanlarda leptin üretiminin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (103).

Yetersiz beslenme plazma leptin düzeyini düşürürken, kortizol düzeyini artırır. Bu kortizol artışı açlıkta protein mobilizasyonu, glikoneogenesis gibi metabolik adaptasyonlara katkı sağlamakta ve yeniden beslenme davranışını uyarmaktadır. Beslenme daha sonra insülin sekresyonunu ve leptin sentezini arttırmaktadır. Kan leptin düzeyinin yükselmesi kanda insülin ve kortizol düzeylerini normal düzeylere indirmekte böylece homeostatik denge tekrar sağlanmaktadır. (113).

Ratlarda melatonin uygulamasının plazma leptin ve insülin ile intra-abdominal yağ dokusunu düşürdüğü gösterilmiştir (168). Bununla birlikte koyunlara melatonin uygulamasının plazma leptin düzeylerine etkisi gözlenmemiştir (97). Diğer taraftan, prolaktin enjeksiyonları rat plazma leptin düzeyini artırmıştır (153).

Son yıllarda leptinin enerji metabolizmasının düzenlenmesinde gastrointestinal sistem tarafından üretilen ghrelin hormonu ile birlikte santral sinir sistemindeki özel nöronları etkileyerek rol oynadığı ileri sürülmektedir. Ghrelinin, leptinin tersine iştah ve yağ miktarını artırıcı özelliklere sahip olduğu bildirilmektedir (169).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Deney Hayvanı Materyali

Araştırmada deneysel amaçlı 2-3 aylık 180-240 g ağırlığında 45 adet erkek Sprague-Dawley sıçan kullanıldı. Hayvanların seçiminde sağlıklı ve başka bir çalışmada kullanılmamış olmalarına özen gösterildi. Araştırma Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakóltesi biyokimya laboratuvarında; AKÜ, Hayvan Etik Kurulunun 050606 referans numaralı onayı doğrultusunda gerçekteştirildi. Sıçanlar Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinde barındırıldı.

Her bir grupta 15 adet sıçan bulunacak şekilde biri kontrol, ikisi deneme olmak üzere toplam 3 gruba ayrıldı. Gruplar birbirleriyle temas kuramayacak şekilde altı adet bölmeye her bir bölmede 7-8 adet sıçan olmak üzere yerleştirildi. Araştırmada kullanılacak kontrol ve deneme grubunu oluşturan hayvanlar araştırma süresince içeriği Tablo 3.1.'de verilen temel rasyonla *ad libitum* beslendiler. I. deneme grubunu oluşturan hayvanların diyetine içeriğine ait teknik bilgiler Tablo 3.2'de verilen 100 ppm *Yucca schidigera* tozu (Sarsaponin 30[®], Desertking), II. deneme grubunu oluşturan hayvanların diyetine 200 ppm *Yucca schidigera* tozu katıldı. Deney hayvanları 7 günlük diyete alıştırma dönemini takiben, 30 gün kendilerine tahsis edilen yemle beslendiler. Yemleme gün içinde saat 09:00 ile 19:00 da olmak üzere iki kez yapıldı. Sıçanlar deneme boyunca normal oda sıcaklığında ve 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık olacak şekilde barındırıldı.

Tablo 3.1. Araştırmada Kullanılan Standart Rat Yeminin Ham Besin Madde Analiz Sonuçları (194)

Kuru Madde (%)	88
Ham Protein (%)	23
Ham Selüloz (%)	7
Ham Kül (%)	8
HCl' de çözölmüş Kül (%)	2
NaCl (%)	1
Metabolize Olabilir Enerji (kcal/kg)	2600
Kalsiyum (En az, %)	1,0
Fosfor (En az, %)	0,9
Sodyum (En az, %)	0,5
Mangan (En az, mg/kg)	10
Çinko (En az, mg/kg)	4
Lizin (%)	1,0
Methionin (%)	0,3
Sistin (%)	0,1
Vitamin A (En az IU/kg)	400
Vitamin D3 (En az IU/kg)	300
Vitamin B2 (En az mg/kg)	5
Vitamin B12 (En az mg/kg)	20
Vitamin E (En az IU/kg)	30
Vitamin K3 (En az IU/kg)	1

Tablo 3.2. *Yucca schidigera* Tozuna Ait Teknik Bilgiler (195)

	<i>Yucca schidigera</i> Tozu
Üretici Firma	Desert King
Ticari İsim	Sarsaponin 30 [®]
Saponin içeriği (>%)	8 steroidal
Nem (%)	6
Kül (%)	4,94
Ham protein (%)	2,43
Ham Yağ (%)	0,81
Karbonhidrat (%)	61,11
Ham selüloz (%)	24,71

3.1.2. Analizlerde Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

Mikropleyt okuyucu (Multiscan Spectrum. Thermo Labssystem.),
 Spektrofotometre (Shimadzu. UV-1601),
 Soğutmalı santrifuj (Nüve. NF 1000 R.),
 Hassas Terazi (Precisa. 205 ASC. 0,0001 g'a duyarlı),
 Vorteks (Nüve. NM 110),
 pH Metre (WTW. pH 330),
 Manyetik Karıştırıcı (Nüve. HP 221),
 Shaker (Nüve. SC 350),
 Buz Dolabı/Derin Dondurucu (Siemens),
 Multi Kanallı Otomatik Pipet (Socorex),
 Ayarlanabilir Otomatik Pipetler 0,5-10 μ l, 10-100 μ l, 100-1000 μ l
 (Socorex),
 Lityum-Heparinli Tüp,
 Steril Polietilen Enjektör (5-10 cc.'lik),

3.1.3. Analizlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Rat Leptin ELISA kiti (Linco Reasearch, USA. Kat. No: #EZRL-83K),
 Rat İnsulin ELISA kiti (Linco Reasearch, USA. Kat. No: #EZRMI-13K),
 TT4 ELISA kiti (DSL, USA. Kat. No: 3200),
 ST4 ELISA kiti (DSL, USA. Kat. No: 40100),
 TT3 ELISA kiti (DSL, USA. Kat. No: 3100S),
 ST3 ELISA kiti (DSL, USA. Kat. No: 41100),
 Total protein kiti (Chema Diagnostica, Italy. Kat. No: TP500CH),
 Üre-N kiti (BioSystems, Spain. Kat. No: 11536),
 Kolesterol kiti (Chema Diagnostica, Italy. Kat. No: CTF400CH),
 Trigliserit kiti (Globe Diagnostic Kat. No: AD018AF),
 Glukoz kiti (Chema Diagnostica, Italy. Kat. No: GLF400CH),
 HDL kiti (Human, Germany. Kat. No: 1008401),
 LDL kiti (Human, Germany. Kat. No: 1009401),

n-Hekzan (Merck. 4368),
Absolut Etanol (Merck. 0986),
Bütül Hidroksi Toluen (BHT) (Sigma. B-1378).

3.2. Metot

3.2.1. Kan Örneklerinin Alınması

Bir aylık deneme süresi sonunda, bir gece öncesinden yem verilmeyen hayvanlar 10 mg/kg ksilazin ve 50 mg/kg Ketamin HCl enjeksiyonu ile anestezi altına alınmıştır. Daha sonra tekniğine uygun olarak göğüs kafesleri açılmıştır. Çalışır durumda iken kalpten 5ml'lik enjektörlerle heparinli ve heparinsiz tüplere ortalama 6-9 ml kan alınarak tüpler soğuk zincir altında zaman kaybetmeden laboratuara getirilmiştir.

Kan örneklerinin serum ve plazmaları 3000 rpm'de 10 dk. santrifüj edilerek ayrılmıştır. Plazmalar 1.5 ml'lik ependorf tüplere alınarak hormon analizleri yapılmaya kadar -30°C'de saklanmıştır. Plazma örneklerinde glikoz, total kolesterol, trigliserid, HDL, LDL, üre-N, total protein ile serumda A vitamini ve β - karotin analizleri aynı gün içinde yapılmıştır.

3.2.2. Leptin Tayini

Plazma leptin düzeyleri Enzim Linked İmmunosorbent Assay (ELISA) yöntemiyle Linco marka (Kat. No: #EZRL-83K) ticari rat leptin ELISA kiti kullanılarak ölçüldü.

Prensip:

Leptin kitinin çalışma prensibi sandwich ELISA tekniğine dayanır. Sırasıyla;

1. Micropleylerdeki oluşan kompleks sonucu hareketsiz kalan rat leptin antikoru ile numunedeki leptin bağlanır,
2. Sonra biyotinle işaretlenmiş antikolar yıkanarak saflaştırılmış leptine bağlanır,
3. Biyotinlenerek sabitlenmemiş antikoların ortamdan uzaklaştırılması ile diğer antikolara horseradish peroksidaz bağlanır,
4. Serbest enzim konjugatları yıkanarak uzaklaştırılır,
5. 3,3', 5,5' tetrametilbenzidin substratı ortamdaki horseradish peroksidaz aktivitesi ile immobilize antikor enzim konjugatı miktarını belirler.

Ürünlerde asitlenme şekillendikten sonra substratın enzimatik yıkımının derecesi, 450 ve 590 nm dalga boyundaki absorbans ölçümüyle tespit edilir. Ölçülen absorbans farkı, serumdaki leptin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. 0,2, 0,5, 1, 2, 5, 10, 20, ve 30 ng/ml rat leptin standartları kullanılarak çizilen standart eğri grafiğinden, çalışılan örneklerin leptin konsantrasyonları hesaplanır.

3.2.2. İnsulin Tayini

Çalışmada plazma insulin düzeyleri ELİSA yöntemiyle Linco marka (Kat. No: #EZRMI-13K) ticari insulin rat ELİSA kiti kullanılarak ölçüldü.

Prensip:

Bu yöntem sandwich ELISA tekniğine dayanır. Sırasıyla;

1. Monoklonal anti-rat insulin antikoları ile kaplı mikropleyt kuyucuklarına numunedeki insulin tutunur ve yakalanan insuline biyotinlenmiş poliklonal antikolar bağlanır,
2. Bağlı olmayan materyal yıkanarak uzaklaştırılır,
3. Biyotinlenerek sabitlenmemiş antikoların ortamdan uzaklaştırılması ile diğer antikolara horseradish peroksidaz bağlanır,
4. Serbest enzim konjugatları yıkanarak uzaklaştırılır,
5. 3,3', 5,5' tetrametilbenzidin substratı ortamdaki horseradish peroksidaz aktivitesi ile immobilize antikor enzim konjugatı miktarını belirler.

Asitlenme şekillendikten sonra substratın enzimatik yıkımının derecesi, 450 ve 590 nm dalga boyundaki absorbands ölçümüyle tespit edilir. Ölçülen absorbands farkı, plazma insulin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. 0,2, 0,5, 1, 2, 5 ve 10 rat insulin standartları ile çizilen standart eğri grafiğinden çalışılan örneklerin insulin konsantrasyonları hesaplanır.

3.2.3. Total T₄ Tayini

Bu tekniğin prensibi;

Antikora sınırlı bağlanma nedeniyle, işaretli antijen ile enzim işaretli antijen arasındaki yarışmalı reaksiyona dayanmaktadır. Antikora bağlanan enzim işaretli antijen miktarı, işaretli antijen miktarı ile ters orantılıdır. 405 nm'de okunan absorbandslar ile plazmadaki TT₄ miktarı ters orantılıdır.

Numunedeki TT₄ düzeyleri, 0,5, 1,5, 5,0, 15,0 ve 50,0 µg/dl TT₄ standartları ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi kullanılarak, µg/dl biriminde hesaplanmıştır.

3.2.4. Serbest T₄ Tayini

Bu tekniğin prensibi;

Antikor kaplı mikropleyt kuyucuklarına; numunedeki bilinmeyen ST₄ antijeni ve enzim ST₄ konjugatı ilave edildiğinde, bunların sınırlı anti- ST₄ antikora bağlanmak için yarışmalı bir reaksiyona girmesi, inkubasyon sonunda bağlı olmayan antijenlerin uzaklaştırılması ve uygun substrat varlığında oluşan renkli ürünün 450 nm'deki absorbandslarının okunması esasına dayanır.

Numunedeki ST₄ düzeyleri, 0.0, 0.3, 0.95, 2.1, 3.6 ve 7.0 ng/dl ST₄ standartları ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi kullanılarak, ng/dl biriminde hesaplanmıştır.

3.2.5. Total T₃ Tayini

Bu tekniğin prensibi;

Antikora sınırlı bağlanma nedeniyle, işaretli antijen ile enzim işaretli antijen arasındaki yarışmalı reaksiyona dayanmaktadır. Antikora bağlanan enzim işaretli antijen miktarı, işaretli antijen miktarı ile ters orantılıdır. 405 nm'de okunan absorbanslar ile serumdaki TT₃ miktarı ters orantılıdır.

Numunedeki TT₃ düzeyleri, 0.0, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 ve 7.0 µg/dl TT₃ standartları ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi kullanılarak, µg/dl biriminde hesaplanmıştır.

3.2.6. Serbest T₃ Tayini

Bu tekniğin prensibi;

Antikor kaplı mikropleyt kuyucuklarına; numunedeki bilinmeyen ST₃ antijeni ve enzim ST₃ konjugatı ilave edildiğinde, bunların sınırlı anti-ST₃ antikoruyla bağlanmak için yarışmalı bir reaksiyona girmesi, inkubasyon sonunda bağlı olmayan antijenlerin uzaklaştırılması ve uygun substrat varlığında oluşan renkli ürünün 450 nm'deki absorbanslarının okunması esasına dayanır.

Numunedeki ST₃ düzeyleri, 0.0, 1.5, 3.5, 7.0, 15.0 ve 20.0 pg/ml ST₃ standartları ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi kullanılarak, pg/ml biriminde hesaplanmıştır.

3.2.7. Total Kolesterol, Glukoz, Trigliserid, HDL, LDL, Üre-N ve Total Protein Tayinleri

Bu parametrelerin tümü, klasik yöntemlerle markası belirtilen ticari kitler kullanılarak, Shimadzu UV-1601 marka spektrofotometrede tayin edilmiştir.

3.2.8. Serum A Vitamini ve β - karotin Düzeyi Ölçümü

Serum A vitamini ve β - karotin düzeyleri Suzuki ve Katoh'un 1990 yılında geliştirdikleri yöntem kullanılarak ölçülmüştür (170).

Testin prensibi:

A vitamini'nin 325 nm ve β -karotin'in 453 nm dalga boylarında maksimum ışık absorpsiyonu esasına dayanır.

Kullanılan ayıraçlar:

Absolut etanol (%99,5): Distile su ile %95'lik etil alkol hazırlandı ve her ml'sinde 20 μ g olacak şekilde butil hidroksi toluen (BHT) ilave edildi.

n-Hekzan: Analiz saflığında kullanıldı.

Bütil hidroksi toluen (BHT)

Testin yapılışı:

Işık geçirmemesi için alüminyum folyo ile kaplanmış kapaklı bir santrifüj tüpüne 1 ml taze serum konuldu. Daha sonra üzerine sırasıyla 1 ml BHT'li etanol ve 3 ml n-hekzan ilave edildi. Tüp içeriği 10 dakika altüst edilerek karıştırıldı ve 2000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden sonra hekzan fazından 3 ml bir kuvartz spektrofotometre küvetine alınarak n-hekzana karşı sırasıyla A vitamini için 325 nm ve β - karotin için 453 nm dalga boyunda absorbanslar okundu.

Hesaplama:

Absorbanslar aşağıdaki formüllerde yerine konularak A vitamini ve β -karotin düzeyleri hesaplandı.

$$\beta\text{-karotin } (\mu\text{g/dl}) = \text{Absorbans (453 nm)} / 0,00258$$

$$\text{A vitamini } (\mu\text{g/dl}) = \text{Absorbans (325 nm)} - [\beta\text{-karotin konst.} \times 0,00017] / 0,00182$$

0,00258 = 1 $\mu\text{g/dl}$ konsantrasyondaki β -karotin standardının n-hekzan fazında 453 nm dalga boyundaki absorbansdır.

0,00017 = 1 $\mu\text{g/dl}$ konsantrasyondaki β -karotin standardının n-hekzan fazında 325 nm dalga boyundaki absorbansdır.

0,00182 = 1 $\mu\text{g/dl}$ konsantrasyondaki retinol standardının n-hekzan fazında 325 nm dalga boyundaki absorbansdır.

3.3. İstatistik Analizler

Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen veriler SPSS 13.0 istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir (196). Verilerin ortalamaları \pm standart hatalarıyla ifade edilmiştir. Elde edilen verilerin normallik testleri yapılmış ve gruplar arasındaki istatistiksel farkları saptamak için ANOVA testi, post-test olarak Duncan testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık için $P < 0,05$ değerini seşilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Hormonlar ve Biyokimyasal Parametrelerdeki Değişimler

Deneysel süreç sonunda hayvanlardaki leptin, insulin, tiroid hormonları, kan şekeri ve kan lipidleri ile ölçülen diğer parametrelere ait veriler Tablo 4.1.'de sunulmuştur.

Tablo 4.1. Bulguların Aritmetik Ortalama (\bar{x}), Standart Hata (SE) ve Anlamlılık Düzeyleri (P)

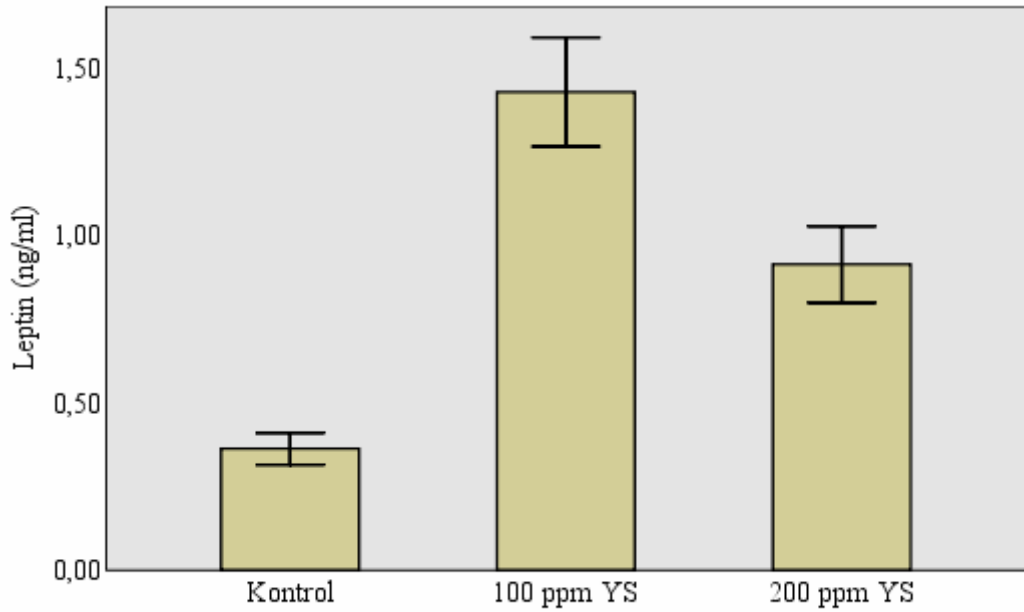
Parametre	Kontrol $\bar{x} \pm SE$	100 ppm. YS $\bar{x} \pm SE$	200 ppm. YS $\bar{x} \pm SE$	P
Leptin (ng/ml)	0,36 \pm 0,05 ^c	1,43 \pm 0,16 ^a	0,91 \pm 0,12 ^b	0,000
Insulin (ng/ml)	0,16 \pm 0,01 ^b	0,21 \pm 0,01 ^a	0,20 \pm 0,02 ^a	0,007
TT ₃ (µg/dl)	0,85 \pm 0,11 ^a	0,54 \pm 0,06 ^b	0,59 \pm 0,04 ^b	0,015
ST ₃ (pg/ml)	1,58 \pm 0,27 ^a	1,03 \pm 0,21 ^{ab}	0,69 \pm 0,15 ^b	0,021
TT ₄ (µg/dl)	7,59 \pm 0,56 ^a	5,91 \pm 0,38 ^b	5,90 \pm 0,46 ^b	0,022
ST ₄ (ng/ml)	2,83 \pm 0,19 ^a	2,40 \pm 0,15 ^{ab}	2,06 \pm 0,21 ^b	0,019
Glikoz (mg/dl)	122,34 \pm 8,73 ^a	102,39 \pm 4,68 ^b	99,85 \pm 4,09 ^b	0,029
Kolesterol (mg/dl)	77,26, \pm 3,43 ^a	55,20 \pm 2,10 ^c	64,00 \pm 2,05 ^b	0,000
Trigliserit (mg/dl)	95,16 \pm 7,33 ^a	74,65 \pm 4,74 ^b	60,77 \pm 3,64 ^b	0,000
HDL (mg/dl)	13,79 \pm 0,70 ^b	17,13 \pm 0,74 ^a	19,54 \pm 1,55 ^a	0,002
LDL (mg/dl)	58,51 \pm 3,12 ^a	40,80 \pm 1,06 ^b	37,60 \pm 1,51 ^b	0,000
Üre-N (mg/dl)	50,44 \pm 1,88 ^a	40,86 \pm 2,22 ^b	34,74 \pm 2,00 ^c	0,000
Protein (g/dl)	6,68 \pm 0,19	6,41 \pm 0,12	6,19 \pm 0,20	0,134
A vitamini (µg/L)	77,63 \pm 6,90	70,46 \pm 5,76	75,45 \pm 5,21	0,693
β- karotin (µg/L)	2,47 \pm 0,42	3,63 \pm 0,68	3,30 \pm 0,67	0,366

^{a,b,c}: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasında farklılık önemlidir.

4.1. Plazma Leptin Düzeyleri

Plazma leptin seviyesi, 100 ppm YS uygulanan grupta $1,43 \pm 0,16$ ng/ml, 200 ppm YS uygulanan grupta $0,91 \pm 0,12$ ng/ml ve Kontrol Grubu'nda $0,36 \pm 0,05$ ng/ml olarak bulunmuştur. Deneme gruplarındaki plazma leptin düzeyleri Kontrol Grubu'na göre artmıştır (Tablo 4.1 ve Grafik 4.1). Gruplar arasındaki leptin düzeyi farklılıkları istatistiksel olarak önemlidir ($p=0,000$).

Veriler, diyetle 100 ppm YS ilavesinin Kontrol Grubu plazma leptin seviyelerine göre yaklaşık 4 kat, 200 ppm YS katkısının ise, Kontrol Grubu'na göre 3 kata varan bir yükselmeye yol açtığını göstermektedir.

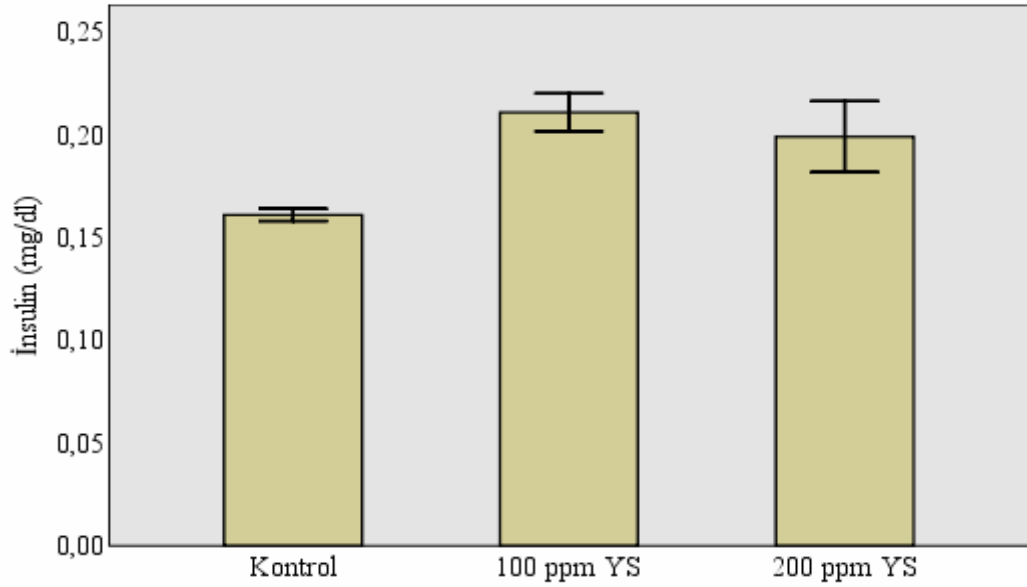


Grafik 4.1. Plazma Leptin Düzeyleri

4.2. Plazma İnsulin Düzeyleri

Çalışmamızda plazma insulin düzeyleri Kontrol Grubu'nda $0,16 \pm 0,01$ ng/ml, diyetlerine 100 ppm YS ilave edilen grupta $0,21 \pm 0,01$ ng/ml ve 200 ppm YS eklenen grupta $0,20 \pm 0,02$ ng/ml olarak ölçüldü. Plazma insulin düzeylerine ait veriler Tablo 4.1 ve Grafik 4.2'de verilmiştir. Tablo ve grafikte de görüldüğü üzere diyetlerine 100 ppm YS ve 200 ppm YS ilave edilen gruplarda Kontrol Grubu'na göre istatistiksel önemde artış kaydedilmiştir ($p=0,007$).

İnsulin düzeyleri *Y. schidigera* ilavesinden etkilenerak 100 ppm YS ve 200 ppm YS ilave edilen gruplarda Kontrol Grubu'na göre yükselmiştir. Ancak *Y. schidigera*'nın 100 ya da 200 ppm olarak belirlenen miktarlarının insulin düzeylerini anlamlı olarak değiştirmedığı görülmüştür.

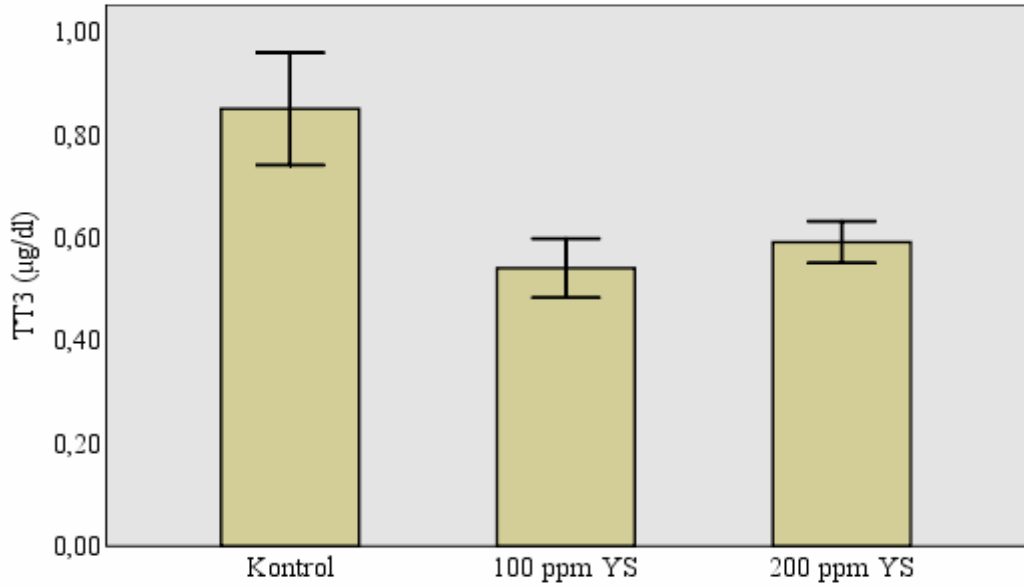


Grafik 4.2. Plazma İnsulin Düzeyleri

4.3. Plazma Total T₃ Düzeyleri

Tablo 4.1 ve Grafik 4.3’de görüldüğü gibi deneme gruplarındaki plazma TT₃ düzeyleri Kontrol Grubu’na göre daha düşük bulunmuştur. Kontrol Grubu’nda plazma TT₃ düzeyi $0,85 \pm 0,11$ µg/dl iken, diyetlerine 100 ppm YS ilave edilen grupta $0,54 \pm 0,06$ µg/dl ve 200 ppm YS ilave edilen grupta $0,59 \pm 0,04$ µg/dl’dir. Kontrol ve deneme grupları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p=0,015$).

100 ppm YS ve 200 ppm YS gruplarındaki plazma TT₃ değerleri arasında istatistiksel önemde bir fark olmadığı, 200 ppm YS ilavesinin plazma TT₃ düzeyleri üzerinde oluşan etkiyi azalttığı görülmektedir.

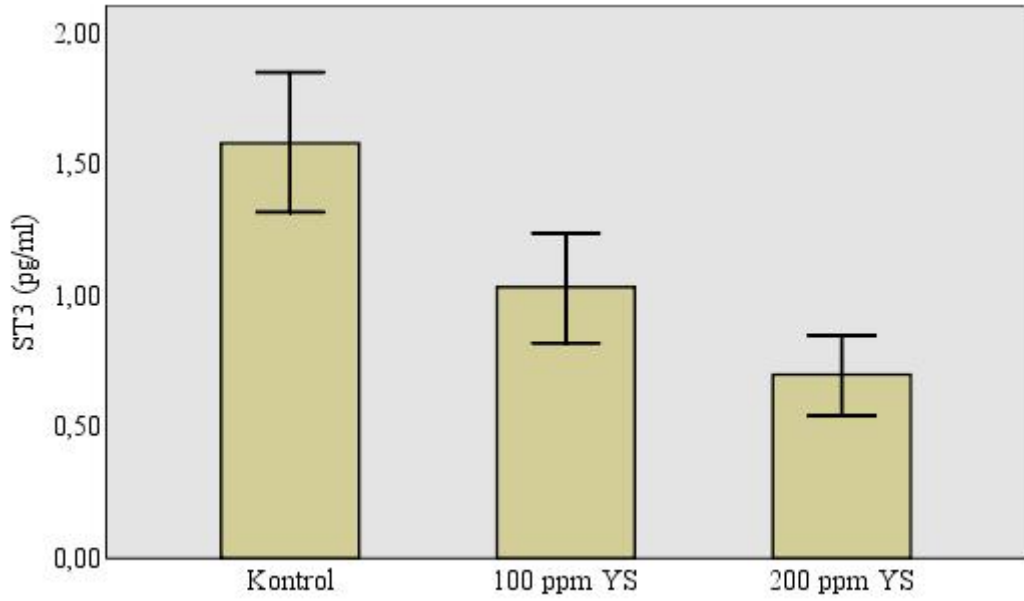


Grafik 4.3. Plazma TT₃ Düzeyleri

4.4. Plazma Serbest T₃ Düzeyleri

Tablo 4.1 ve Grafik 4.4’de görüldüğü üzere plazma ST₃ düzeyleri Kontrol Grubu’nda $1,58 \pm 0,27$ pg/ml, 100 ppm YS’lı grupta $1,03 \pm 0,21$ pg/ml ve 200 ppm YS’lı grupta $0,69 \pm 0,15$ pg/ml olarak bulundu. Plazma ST₃ düzeylerinin deneme gruplarında Kontrol Grubu’na göre daha düşük olduğu ve 200 ppm YS’lı grupta bu farkın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlendi ($p=0,021$).

Elde edilen bulgular, sığırcıların diyetine *Y. schidigera* ilavesindeki artışın, plazma ST₃ düzeylerini azalttığını göstermektedir.

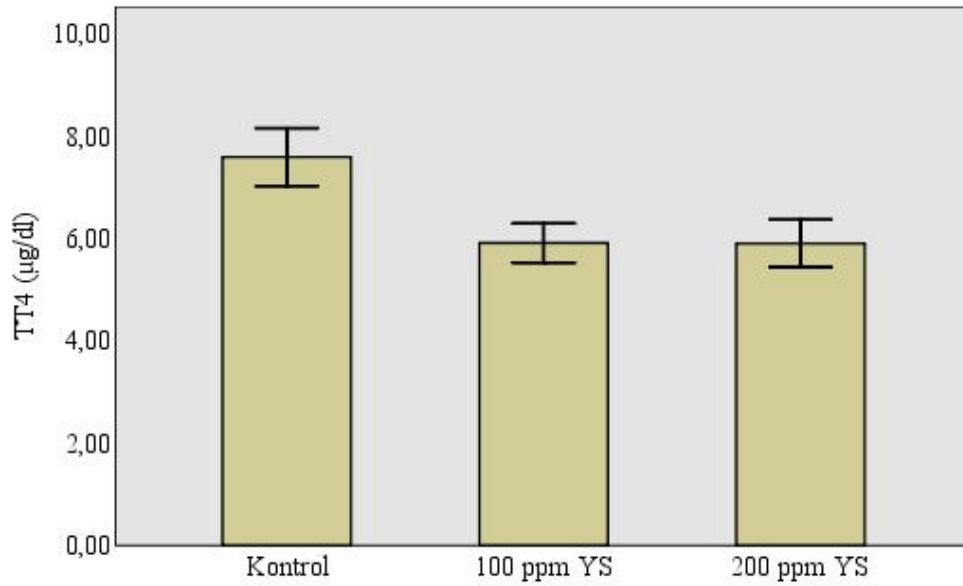


Grafik 4.4. Plazma ST₃ Düzeyleri

4.5. Plazma Total T₄ Düzeyleri

Kontrol, 100 ppm YS ve 200 ppm YS gruplarındaki plazma TT₄ düzeyleri görüldüğü gibi sırasıyla $7,59 \pm 0,56$, $5,91 \pm 0,38$ ve $5,90 \pm 0,46$ $\mu\text{g/dl}$ olarak tespit edildi (Tablo 4.1 ve Grafik 4.5). Farklı miktarlarda *Y. schidigera* uygulanan deneme gruplarında plazma TT₄ düzeyleri Kontrol Grubu'na göre azalmış izlenen fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p=0,022$).

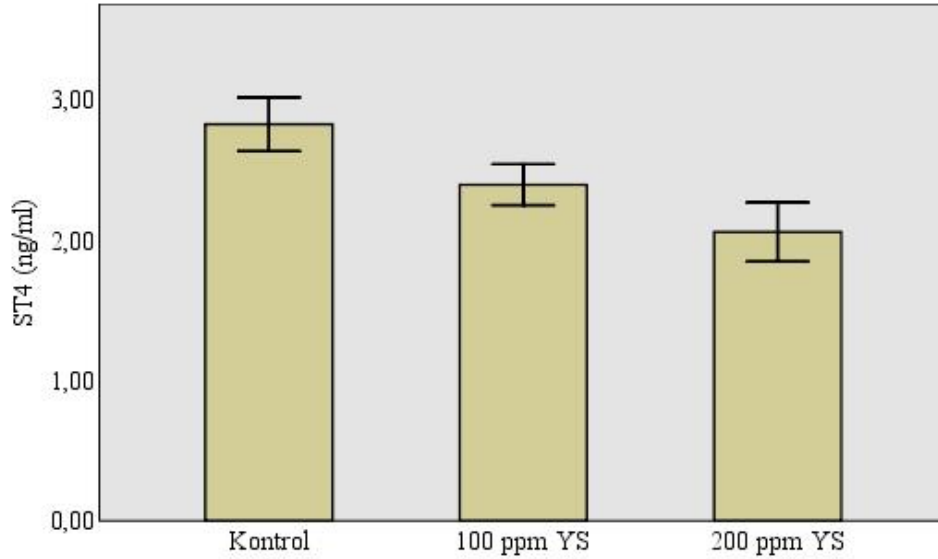
Veriler değerlendirildiğinde, plazma TT₄ düzeylerinin 100 ppm YS ve 200 ppm YS ilave edilen deney gruplarında Kontrol Grubu seviyelerine göre düşük olduğu ancak ilave edilen *Y. schidigera* miktarındaki farklılığın bu düşüşe yansımadağı anlaşılmıştır.



Grafik 4.5. Plazma TT₄ Düzeyleri

4.6. Plazma Serbest T₄ Düzeyleri

Kontrol Grubu'nda $2,83 \pm 0,19$ ng/ml olarak, 100 ppm YS ilave edilen grupta $2,40 \pm 0,15$ ng/ml ve 200 ppm YS ilave edilen grupta $2,06 \pm 0,21$ ng/ml olarak ölçülen plazma ST₄ düzeyleri Tablo 4.1 ve Grafik 4.6'da gösterilmiştir. Deneme gruplarında Kontrol Grubu'na göre daha düşük plazma ST₄ değerleri saptanmıştır. Kontrol Grubu ile diyetlerine 200 ppm YS ilave edilen grup arasında plazma ST₄ düzeyleri istatistiksel önemde farklı bulunmuştur ($p=0,019$), bu gruplar ile diyetlerine 100 ppm YS ilave edilen grup arasında izlenen farklılık ise, istatistiksel önem arzetmemiştir.

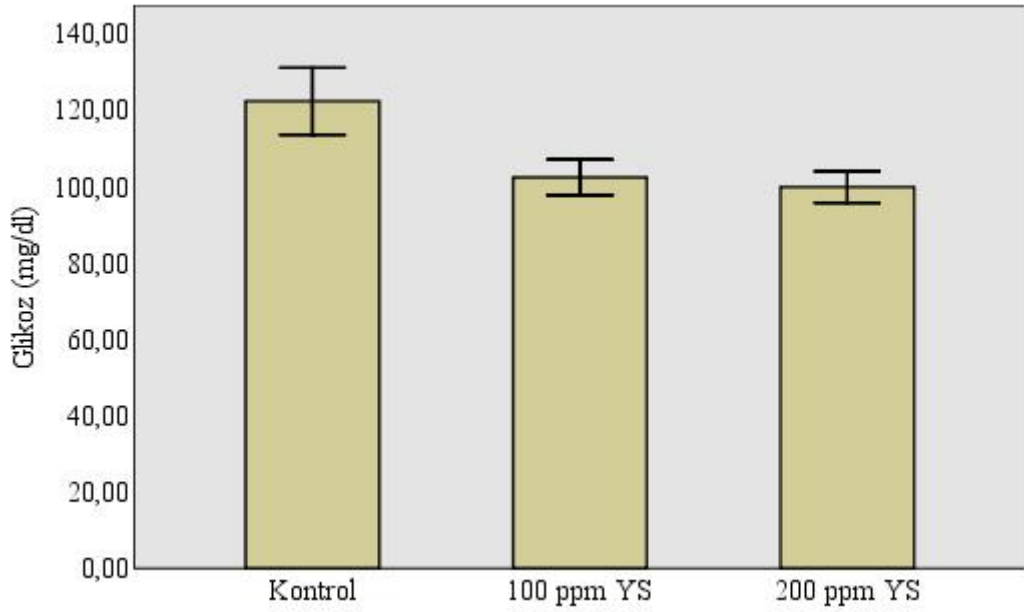


Grafik 4.6. Plazma ST₄ Düzeyleri

4.7. Plazma Glikoz Düzeyleri

Çalışmamızdaki en yüksek plazma glikoz düzeyi $122,34 \pm 8,73$ mg/dl, olarak Kontrol Grubu'na aittir. Tablo 4.1 ve Grafik 4.7'den de izleneceği üzere 100 ve 200 ppm YS gruplarında sırasıyla, $102,39 \pm 4,68$ mg/dl ve $99,85 \pm 4,09$ mg/dl plazma glikoz değerleri elde edilmiştir. Plazma glikoz düzeyinin deneme gruplarında Kontrol Grubu'na göre düşük olduğu istatistiksel olarak görülmüştür ($p=0,029$).

Deneme gruplarındaki veriler, diyeteye 100 ppm YS ya da 200 ppm YS ilave edilmesinin miktara bağlı önemli bir fark oluşturmadığını göstermektedir (Tablo 4.1).



Grafik 4.7. Plazma Glikoz Düzeyleri

4.8. Plazma Kolesterol, Trigliserit, HDL ve LDL Düzeyleri

Tez çalışmamızda lipid profilini belirlemek üzere plazma kolesterol, trigliserit, HDL ve LDL düzeyleri ölçülmüş, elde edilen veriler Tablo 4.1 ve Grafik 4.8’de gösterilmiştir.

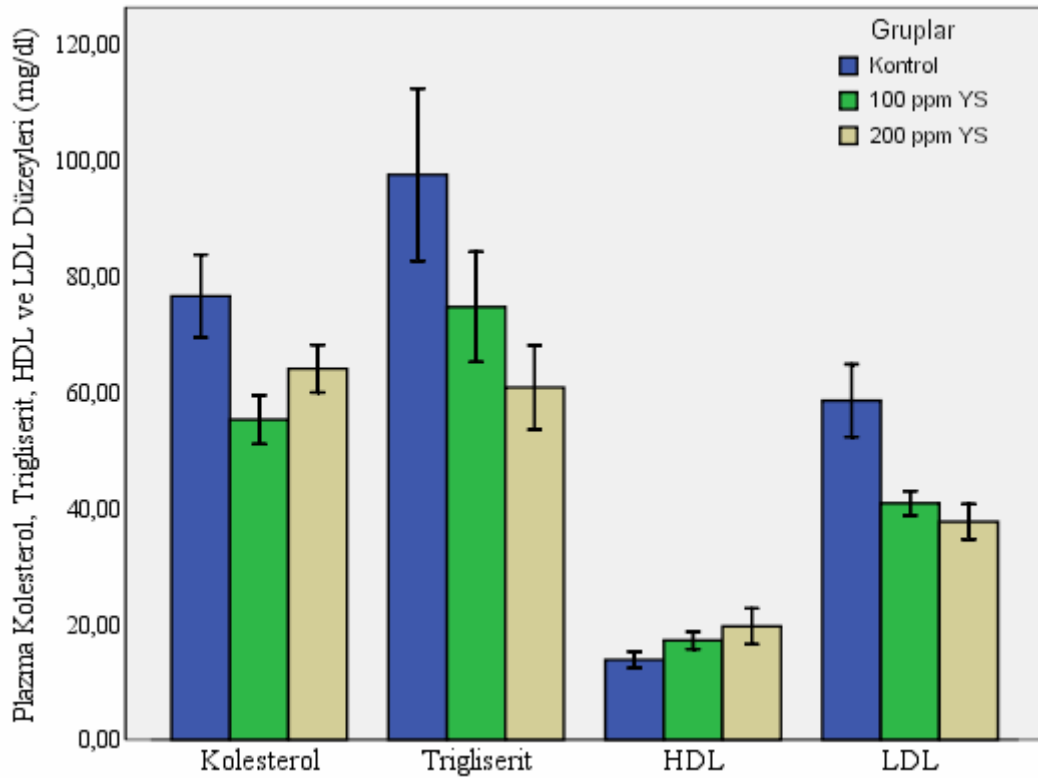
Plazma kolesterol düzeyi deneme gruplarında Kontrol Grubu’na göre daha düşük bulunmuştur. Kolesterol seviyesinin 100 ppm YS’lı grupta $55,20 \pm 2,10$ mg/dl, daha sonra sırasıyla 200 ppm YS’lı grupta $64,00 \pm 2,05$ mg/dl ve Kontrol Grubu’nda $77,26, \pm 3,43$ mg/dl ölçülmüştür. Plazma kolesterol düzeyleri bakımından Kontrol Grubu ile diyetle 100 ve 200 ppm YS ilave edilen gruplardaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($p=0,000$). Tablo 4.1 ve Grafik 4.8’de görüldüğü üzere 200 ppm YS ilave edilen grupta ölçülen değerler Kontrol Grubu değerlerine yaklaştığı ve plazma kolesterol düzeyinin *Y. schidigera* ilavesindeki artışa bağlı olmadığı anlaşılmaktadır.

Çalışmamızda elde edilen plazma trigliserit düzeyleri Tablo 4.1 ve Grafik 4.8’den de izlenebileceği gibi en yüksek değerden başlayarak Kontrol, 100 ppm YS ve 200 ppm YS gruplarında sırasıyla $95,16 \pm 7,33$; $74,65 \pm 4,74$ ve $60,77 \pm 3,64$ mg/dl olarak bulundu. Deneme gruplarındaki plazma trigliserit düzeyinin Kontrol Grubu’na göre daha düşük olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p=0,000$). 100 ppm YS grubu ile 200 ppm YS grubundaki değerler karşılaştırıldığında; diyetle 200 ppm YS ilavesinin plazma trigliserit düzeyini daha çok düşürdüğü ancak, 100 ppm YS ya da 200 ppm YS ilavesinin oluşturduğu miktara bağlı trigliserit azalmasının istatistiksel önemde olmadığı görülmektedir.

Kontrol Grubu plazma HDL seviyesi $13,79 \pm 0,70$ mg/dl; 100 ppm grubu plazma HDL düzeyi $17,13 \pm 0,74$ mg/dl ve 200 ppm grubu plazma HDL düzeyi $19,54 \pm 1,55$ mg/dl olarak bulundu. Plazma HDL miktarları Tablo 4.1 ve Grafik 4.8’de verilmiştir. Deneme gruplarında Kontrol Grubu’na göre daha izlenen artış istatistiksel olarak önemli düzeydedir ($p=0,002$). Artan *Y. schidigera* miktarının

plazma HDL seviyelerini yükselttiği, fakat 100 ppm YS'lı grup ile 200 ppm YS'lı gruptaki değerler arasındaki farkın anlamlı olmadığı belirlenmiştir.

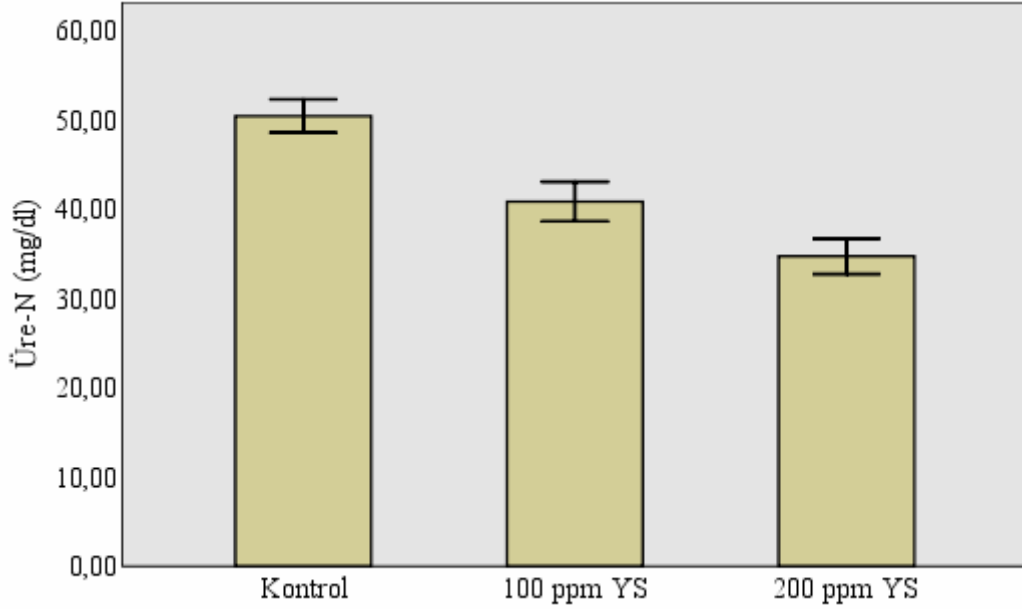
Çalışmamızda deneme gruplarında plazma LDL düzeyinin Tablo 4.1 ve Grafik 4.8'de de görüldüğü gibi Kontrol Grubu'na göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Kontrol Grubu'nda $58,51 \pm 3,12$ mg/dl, 100 ppm YS ilave edilen grupta $40,80 \pm 1,06$ mg/dl ve 200 ppm YS ilave edilen grupta $37,60 \pm 1,51$ mg/dl olduğu tespit edilmiştir. Kontrol ve deneme grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir ($p=0,000$). Elde edilen veriler, plazma LDL düzeylerinde *Y. schidigera* ilavesindeki artışın, 100 ve 200 ppm YS'lı gruplar arasında önemli bir fark oluşturmadığını göstermektedir.



Grafik 4.8. Plazma Kolesterol, Trigliserit, HDL ve LDL Düzeyleri

4.9. Plazma Üre-N Düzeyleri

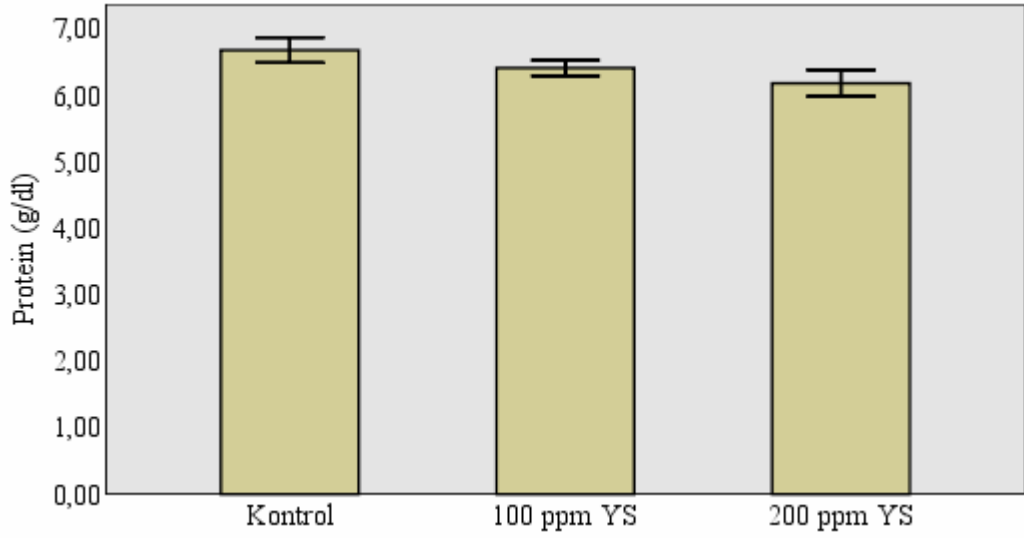
Yaptığımız çalışmada en düşük plazma üre-N düzeyleri $34,74 \pm 2,00$ mg/dl olarak 200 ppm YS ilave edilen grupta ölçüldü. Tablo 4.1 ve Grafik 4.9'da görüldüğü gibi, diyetlerine 100 ppm YS ilave edilen grupta plazma üre-N seviyesi $40,86 \pm 2,22$ mg/dl ve Kontrol Grubu'nda $50,44 \pm 1,88$ mg/dl olarak tespit edilmiştir. Plazma üre-N düzeyinin deneme gruplarında Kontrol Grubu'na göre istatistiksel önemde düşük olduğu görülmektedir ($p=0,000$). Deneme grupları arasında izlenen ve 200 ppm YS grubunda daha fazla görülen plazma üre-N miktarı düşüşü de istatistiksel olarak anlamlılık göstermektedir.



Grafik 4.9. Plazma Üre-N Düzeyleri

4.10. Plazma Protein Düzeyleri

Plazma protein düzeyleri Kontrol Grubu'nda $6,68 \pm 0,19$ g/dl, 100 ppm YS'lı grupta $6,41 \pm 0,12$ g/dl ve 200 ppm YS'lı grupta $6,19 \pm 0,20$ g/dl olarak bulundu. Tablo 4.1 ve Grafik 4.10'da görüldüğü gibi plazma protein düzeyinin deneme gruplarında Kontrol Grubu'na göre daha düşük olduğu fakat bu farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlendi. ($p=0,134$).

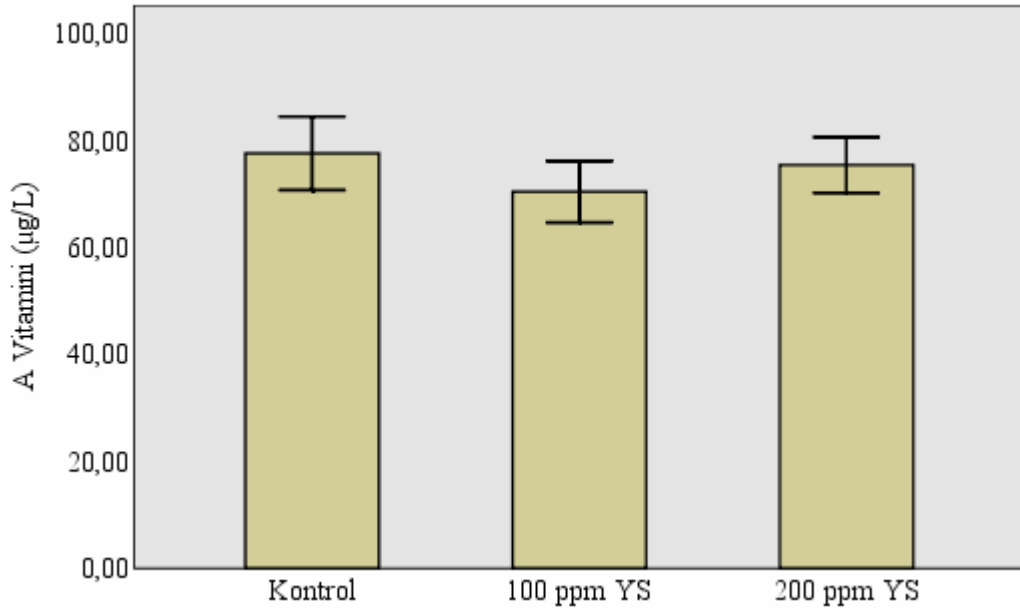


Grafik 4.10. Plazma Protein Düzeyleri

4.11. Serum A Vitamini Düzeyleri

Serum A vitamini düzeyleri Kontrol, 100 ppm YS ve 200 ppm YS gruplarında sırasıyla $77,63 \pm 6,90$, $70,46 \pm 5,76$ ve $75,45 \pm 5,21$ $\mu\text{g/L}$ olduğu tespit edilmiştir. Tablo 4.1 ve Grafik 4.11'den de izlenebileceği gibi Kontrol Grubu ile diyetlerine 100 ppm YS ve 200 ppm YS ilave edilen gruplarda birbirine oldukça yakın serum A vitamini değerleri elde edilmiştir.

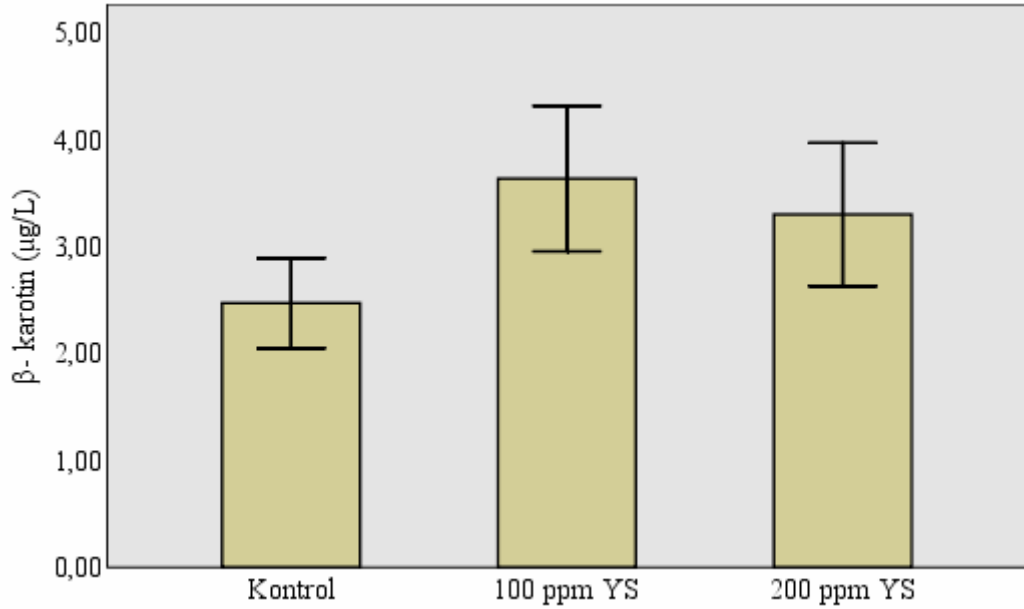
Veriler incelendiğinde, serum A vitamini düzeyinin deneme gruplarında Kontrol Grubu'na göre daha düşük olduğu ve farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmektedir ($p=0,693$).



Grafik 4.11. Plazma A Vitamini Düzeyleri

4.12. Serum β - karotin Düzeyleri

Çalışmamızda ölçülen ve Tablo 4.1 ve Grafik 4.12’de verilen serum β -karotin düzeyleri Kontrol Grubu’nda $2,47 \pm 0,42 \mu\text{g/L}$, 100 ppm YS’lı grupta $3,63 \pm 0,68 \mu\text{g/L}$ ve 200 ppm YS’lı grupta $3,30 \pm 0,67 \mu\text{g/L}$ olarak bulunmuştur. Serum β - karotin düzeyinin Kontrol Grubu’na göre 100 ppm YS’lı ve 200 ppm YS’lı gruplarda daha yüksek olduğu ancak gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı saptanmıştır ($p=0,366$).



Grafik 4.12. Plazma β - karotin Düzeyleri

5. TARTIŞMA

Bitkiler, “fitokimyasallar” olarak adlandırılan binlerce kimyasal madde içermektedir. Besin özelliği taşımayan bu maddelerle ilgili olarak sağlık alanında yapılan araştırmalar, gerek hastalıkların tedavisinde gerekse koruyucu hekimlikte fitokimyasalların önemli etkilerine dikkat çekmektedir (3). Eterik yağlar, kapsaisinler, tanenli maddeler, mineraller, glikozitler, alkaloidler, saponinler, flavonoidler ve vitaminler gibi genel gruplar altındaki binlerce fitokimyasal maddenin etkileri artan bir yoğunlukta çalışılmakta ve tartışılmaktadır (3,18,171). Tüm dünyada bilinen *Y. schidigera* bitkisi kuru maddesinde başta steroidal saponinler olmak üzere, fenolik maddeler, fiber, resveratrol ve stilbenler gibi bitkisel kimyasalları taşımakta, bünyelerindeki saponinler dikkate alınarak endüstri ve hayvancılıkta yaygın olarak kullanılmaktadır (11-16). Saponin içerikli bitkilerin daha çok sindirim kanalında, alınan besin maddelerinin emilimini azaltarak etkili oldukları ve metabolizmayı bu yolla değiştirebildikleri çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir (5-9). Saponin içerikli bitkilerin özellikle hipokolesterolemik, hipoglisemik, antiinflamatuvar ve antiprotozoal etkilerine ilişkin literatürler yaygındır (14,16,18). Ancak çalışmamızda araştırdığımız leptin ve tiroid hormonları gibi enerji metabolizmasında rol alan hormonlarla etkileşimlerini ele alan çalışmalara rastlanılmamıştır. Bu çalışmada iki deneme grubuna farklı miktarlarda verilen *Y. schidigera*'nın Tablo 4.1 ve Grafik 4.1’de de görüldüğü gibi plazma leptin seviyesini önemli düzeyde artırdığı bulunmuştur. Diyete katılan 100 ppm YS, Kontrol Grubu plazma leptin seviyelerine göre yaklaşık 4 kat, 200 ppm YS ise, Kontrol Grubu’na göre 3 kata varan bir yükselmeye yol açmıştır. Kim ve ark. (172), ratları 8 hafta süreyle yağlı diyet ile besleyip daha sonra *Y. schidigera* gibi bir steroidal saponin kaynağı kabul edilen Kırmızı Kore Ginsengindeki steroidal saponinleri saflaştırarak, 3 hafta süreyle 200 mg/kg/gün dozunda intraperitoneal uygulamışlardır. Çalışma sonunda plazma leptin düzeylerinin saponin verilen hayvanlarda önemli seviyede azaldığı görülmüş, bu tablonun saponinlerin canlı ağırlık kaybına yol açması ve vücut yağ kitlesini azaltmasından kaynaklanmış olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Tez çalışmasından elde ettiğimiz bulgular Kim ve ark. (172)’nin sonuçlarından

farklıdır. Çalışmamızda Kim ve ark. (172)'nin araştırma sonuçlarının aksine plazma leptin düzeyinde artış izlenmiş, bu farklılığın uygulamamızın oral olmasından ya da verilen saponin miktarından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Diğer yandan bu bulgulara ulaşılmasında *Y. schidigera*'nın ihtiva ettiği fenolik bileşikler de etkili olabilir. Lee ve ark. (173), flavanoidlerden zengin Persimmon yaprağı tozunu 6 hafta süreyle yağlı diyet uyguladıkları ratların diyetine %5 oranında ilave ederek yaptıkları çalışmada lipid profilinin etkilendiğini ve plazma leptin düzeylerinin arttığını bildirmektedirler. Yağ dokudan salgılanan leptin hormonu, karbonhidrat ve lipid metabolizması, kardiyovasküler fonksiyonlar, reproduksiyon ve immun sistemin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (115). Leptinin ayrıca iştah ve enerji harcanmasının düzenlenmesi ile hormonlar üzerine etkileri bulunmaktadır (98,113,115). Bu literatürler doğrultusunda lipid metabolizmasını etkileyen bitkilerin enerji metabolizması dolayısıyla leptin üzerinde de etkili olabileceği düşünülmektedir. Dolaylı da olsa bulgularımızla uyumlu sonuçlara ulaştıkları görülen çalışmalarında, Lee ve ark. (173), Persimmon yaprağı tozunun leptini artırıcı, kan lipidlerini ise düşürücü etkilerinin bitkideki flavanoidler, zengin fiber ve fenolik bileşiklerden kaynaklanabileceğini ileri sürmektedirler. Çalışmamızda kullanılan *Y. schidigera* bitkisi de saponin içeriği yanında fenolik maddeler, fiber, resveratrol ve stilbenler gibi fitokimyasalları da içermektedir (11-16).

Çalışmamızda sıçanlara verilen 100 ppm ve 200 ppm *Y. schidigera* tozu Tablo 2.2'de görüldüğü gibi yaklaşık %8 oranında steroidal saponin içermekte ve diyetle verildiğinde alınan saponinlerin çok azı emilmektedir (6,16). Bu nedenle Kim ve ark. (172)'nin intraperitoneal uyguladıkları 200 mg/kg steroidal saponin miktarı yaptığımız çalışmaya göre oldukça yüksek olup, bu miktar saponinlerin olumsuz etkilerinin görülmesine yol açmış olabilir. *Gypsophila paniculata*'dan elde edilen saponinlerin ratlarda LD₅₀ değerleri intravenöz 1,9 mg/kg ve oral verildiğinde 50 mg/kg olarak belirlenmiştir. *Yucca mohavensis*'den elde edilen saponinlerin 2,16 g/kg ilave edildiği diyetle 12 haftalık sürede beslenen ratların, bu miktardaki saponinleri çok iyi tolere ettikleri bildirilmiştir (193). Diğer yandan saponinlerin damar içi verilmesinin hemolitik etkileri olduğundan oral

uygulamaları önerilmektedir (20). Steroid saponin enjekte edilen ratlarda östrojen üretiminin engellendiği ve diöstrus süresinin uzadığının ileri sürülmesi (68) de enjeksiyon yöntemini tartışılır kılmaktadır.

Çalışmamızda plazma insulin düzeyleri Tablo 4.1 ve Grafik 4.2’de de görüldüğü gibi *Y. schidigera* ilavesinden etkilenerek hem 100 ppm YS hem de 200 ppm YS ilave edilen grupta Kontrol Grubu’na göre yükselmiştir. Ancak *Y. schidigera*’nın 100 ya da 200 ppm verilmesi bu iki grup arasındaki insulin düzeylerini anlamlı olarak değiştirmemiştir. Elde ettiğimiz bulgular, Duffy ve ark. (174)’nın ratlarda yaptıkları çalışmayla uyumludur. Duffy ve ark. (174), *Y. schidigera*’yı bütanollü, bütanolsüz ve tek başına 200 mg/kg dozda ratların diyetine ilave etmişler, tek başına *Y. schidigera* ile bütanolsüz *Y. schidigera* uygulanan gruplarda serum insulin düzeyinin önemli düzeyde arttığını, bütanollü grupta ise, değişmediğini bildirmişlerdir. Margetic ve ark. (115)’nin yaptıkları derleme insanlarda ve ratlarda yapılan birçok çalışmanın hiperinsulinemi durumunda plazma leptin seviyelerini artırdığını göstermektedir. Patel ve ark. (175), diabetik ratlarda plazma leptin düzeylerinin azaldığını, fakat insulin uygulamasının plazma leptin seviyesini artırarak etki yaptığını bildirmektedirler. İnsulin artışı kandaki glikozun karaciğerde glikojen, yağ dokuda ise, yağ asiti şeklinde depolandığını göstermektedir (117). Yağ doku artışı aynı zamanda leptin hormonunun kandaki düzeyini de artırmaktadır (115,175).

Bulgularımız, diyete *Y. schidigera* tozu ilavesinin tiroid hormonları üzerinde etkili olduğunu ve plazma TT₃, ST₃, TT₄, ST₄ düzeylerinin deneme gruplarında Kontrol Grubu’na göre daha düşük olduğunu göstermektedir (Tablo 4.1 ve Grafikler 4.3-4.6). 200 ppm YS uygulanan grupta görülen tiroid hormonları azlığının istatistiksel önemde olduğu, 100 ppm YS uygulanan grupta ise, plazma TT₃ ve TT₄ düzeylerindeki değişimin Kontrol Grubu’na göre istatistiksel önemde azaldığı, plazma ST₃ ve ST₄ değerlerinde anlamlı bir fark oluşmadığı saptanmıştır. Bitkiler ve çeşitli fitokimyasal maddelerin tiroid hormonları üzerindeki etkileri araştırılmaktadır. Bu noktada özellikle saponinler ve tiroid hormonları üzerine odaklanmış bir çalışmaya rastlayamamamıza rağmen flavonoidlerin doğal ve

sentetik olarak kullanılmasının kısa ve uzun sürede plazma T₃ ve T₄ düzeylerinde azalmaya sebep olduğuna ilişkin veriler bulunmaktadır (176). Fain ve ark.(177), hipotiroidli ratlara T₃ uygulayarak yaptıkları çalışmada 8. saatte leptin mRNA seviyesinin %40 azaldığını saptamışlar, artan tiroid düzeylerinin leptin seviyesini azaltabileceğini ileri sürmüşlerdir. Zabrocka ve ark. (163), farklı miktarda T₃ verdikleri ratlarda serum leptin düzeylerinin ve leptin sentezi göstergesi olarak kabul edilen beyaz yağ doku mRNA seviyelerinin azaldığını göstermişlerdir. Yapılan bazı çalışmalar ise, tiroid hormonları ve leptin arasında bir korelasyon olmadığını bildirmektedir (110). Leptinle tiroid hormonları arasında negatif korelasyon olduğunu bildiren çalışmalar göz önüne alındığında tez çalışmasında elde ettiğimiz tiroid seviyesi düşüşleri leptin ve insulindeki artışa bağlı olabilir. Cu, Zn, vitamin A, B₂, B₃, B₆ ve vitamin C yetersizliklerinde T₄'ün sentezi azalmaktadır (178). Ayrıca triterpenoid yapıli saponinlerin, henüz mekanizması tam açıklanmış olmasa da, mikroelementlerin emilimini azaltabileceği bildirilmiştir (18). Cu, Zn, vitamin A, B₂, B₃, B₆ ve vitamin C yetersizliklerinde T₄'ün sentezinin azaldığı düşünüldüğünde artan leptin ve azalan tiroid düzeyleri bu kanıyı kuvvetlendirmektedir. Flavanoidlerin güçlü guatrojenik fitokimyasallar olduğu bilinmesine karşın (179), saponinlerin bu tip etkilerine yönelik çalışmaya rastlanmamaktadır.

Çalışmamızda plazma glikoz düzeyleri Tablo 4.1 ve Grafik 4.7'de görüldüğü gibi deneme gruplarının her ikisinde de Kontrol Grubu'na göre istatistiksel önemde düşmüştür. Deneme grubu verileri, diyetle 100 ppm ve 200 ppm ilave edilen *Y. schidigera* miktarına bağlı olarak önemli bir farkın oluşmadığını göstermektedir. Saponin içeren bitkilerin plazma glikoz (180,181) düzeylerini düşürdüğü yönündeki bildirimlere uygun olarak yaptığımız çalışmada da plazma glikoz düzeyleri diyetle *Y. schidigera* tozu katılmasıyla azalmaktadır. Plazma glikoz düzeylerindeki bu azalma, saponin içeren bazı bitkiler ile yapılan araştırmalarda; pankreastan insulin sekresyonunun artmasına, karaciğerdeki glikoz üretiminin azalmasına ve dokularda glikoz kullanımının artmasına bağlanmıştır (181). Matsuda ve ark. (182), saponin içeren *Fenugreek* ekstraktıyla ratlarda yaptığı çalışmada glikozdaki azalmayı insuline bağlı olmaksızın, gastro-

intestinal kanalda glikoz emiliminin engellenmesiyle açıklamışlardır. Aslan ve ark. (9), yumurta tavuklarında 8 hafta süreyle rasyona 100, 150 ve 200 ppm *Y. schidigera* ilavesinin plazma glikoz seviyelerini önemli düzeyde azalttığını ve saponinlerin bağırsaklardaki glikoz emilimini engellemek suretiyle etki edebileceğini ileri sürmüşlerdir. Duffy ve ark. (174), tek başına *Y. schidigera* ve bütanolsüz *Y. schidigera* grubunda insulinin artmasına rağmen bu artışın glikoz düzeylerini etkilemediğini bildirmektedirler. Yaptığımız çalışmada insülin düzeylerinin *Y. schidigera* uygulanan gruplarda artmış olması, glikozun hücre içine girmesini hızlandırarak plazma glikoz düzeylerini düşürmüş olabileceğini akla getirmektedir.

Y. schidigera gibi saponin içeren bitkiler lipid metabolizması ve kan glikoz düzeylerini düşürmektedir (28,29). Saponinlerin bu etkilerinin düşük miktarlarda alındıklarında ortaya çıktığı, özellikle sindirim kanalında normal lipid ve glikoz emilim düzeyini değiştirdikleri düşünülmektedir (9). Çalışmamızda *Y. schidigera* verilen deneme gruplarında plazma total kolesterol, trigliserit ve LDL düzeyleri Tablo 4.1 ve Grafik 4.8’de de görüldüğü gibi Kontrol Grubu’ndan düşük, plazma HDL düzeyi ise, yükselmiş olarak bulunmuştur. Veriler detaylı incelendiğinde, 200 ppm YS ilave edilen sıçanlardaki plazma kolesterol düzeyi düşük olmasına rağmen; 100 ppm YS verilen sıçanlardaki kolesterol düzeylerine göre Kontrol Grubu’na daha yakındır. *Y. schidigera* miktarının artırılması kolesterolün düşmesi ile ters orantılı görünmektedir. Öte yandan diyete 200 ppm YS ilavesi plazma trigliserit düzeyini 100 ppm YS verilmesine oranla istatistiksel olmamakla birlikte daha çok düşürmüştür. Plazma LDL seviyeleri açısından da 100 ppm ya da 200 ppm *Y. schidigera* ilavesi gruplar arasında önemli bir fark oluşturmamıştır. Plazma total kolesterol, trigliserit ve LDL düzeylerinin *Y. schidigera* ilavesinden etkilenecek azaldıkları pek çok çalışmada gösterilmiştir. Ancak *Y. schidigera*’nın plazma HDL düzeylerini olumlu etkileyerek artırdığına ilişkin verilere rastlanmamaktadır. Bu bağlamda tez çalışmamızdaki elde edilen HDL düzeylerindeki istatistiksel önemde olan artış farklı bir referans olabilecek niteliktedir. Artan *Y. schidigera* miktarının plazma HDL seviyelerini yükselttiği,

fakat 100 ppm YS'lı grup ile 200 ppm YS'lı gruptaki değerler arasındaki farkın anlamlı olmadığı belirlenmiştir.

Saponin içeren bitkilerin yedirildiği hayvanlar veya saponin ekstraktı verilen insanlarda yapılan çalışmalarda lipid metabolizması değişimleri gösterilmiş; ratlarda (34, 35), tavşanlarda (32), farelerde (36), piliçlerde (37), yumurtacı tavuklarda (9) ve insanlarda (38) saponinlerin serum kolesterol düzeyini azalttığı, bildirilmiştir. Whitehead ve ark, (39)'da saponinlerin, karaciğer lipid ve plazma trigliserit konsantrasyonunu azalttığını, ancak karaciğer kolesterol ve plazma HDL düzeyini ise etkilemediğini saptamışlardır. Çalışmamızda plazma HDL düzeylerinin *Y. schidigera* verilen sıçanlarda arttığı ancak bu artışın saponinlerden mi yoksa fenolik bileşikler ve resveratrolün dominant etkisinden mi kaynaklandığı bilinmemektedir.

Bitkilerde bulunan çeşitli saponinler, bağırsak lumeninde kolesterolle kompleksler oluşturarak kolesterolün presipitasyonuna neden olmakla ayrıca, kolesterol misellerinin büyüklük ve stabilitesini etkileyerek mukoza hücrelerine girişini azaltmakta bu yolla eksojen ve endojen hiperkolesterolemiyi önleyebilmektedirler (18). Tez çalışmamız, saponin içeren bitkilerin plazma kolesterol düzeylerini düşürdüğünü gösteren çalışmalar doğrultusunda bulgularla sonuçlanmıştır. Bitkilerde bulunan saponinler kolesterole bağlanarak sindirim kanalından emilmelerini engellemekte, bu yolla kan kolesterol düzeyinin düşürülmesini sağlamaktadır (32,34,36). Han ve ark. (183), yağlı diyet ile besledikleri ratlarda *Platycodi radix* saponinlerinin pankreatik lipazı inhibe ederek, yağların incebağırsakta absorpsiyonunu engellediğini; hepatik trigliserit miktarını ve total kolesterolü azalttığını bildirmişlerdir. Zhao ve ark. (184) yağlı diyet ile besledikleri ratlara dört hafta besledikten *Platycodi radix* saponinlerini 35 ve 70 mg/kg/gün uygulamışlar, çalışma sonucunda, sonucunda doza bağlı olarak serum kolesterol, trigliserit ve LDL düzeylerinin azaldığını, HDL düzeyinin ise değişmediğini göstermişlerdir. Yine yağlı diyet ile beslenen ancak bu kez çay saponinlerinin verildiği bir başka çalışmada ratlarda pankreatik lipaz enziminin baskılandığı, plazma trigliserit düzeyi ve yağ dokusu miktarının azaldığı

gösterilmiştir (185). İnsanlarda *Panax ginseng* ekstraktının lipid metabolizmasına etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada 8 haftalık uygulamanın serum total kolesterol, trigliserit ve LDL düzeylerini istatistiksel önemde azalttığı, HDL düzeylerini ise artırdığı rapor edilmiştir. Lipid metabolizması değişimleri *Panax ginseng* ekstraktındaki saponinlere bağlanmıştır (38). Sarımsakta bulunan steroid saponinlerle yapılan bir diğer çalışmada ise, ratlara sarımsağın sulu ve etanollü ekstraktları çeşitli dozlarda verilerek plazma lipid düzeyleri araştırılmış, tüm gruplarda plazma total kolesterol ve LDL düzeylerinin azaldığı, HDL düzeylerinde ise istatistiksel olmasada arttığı bildirilmiştir (186). Steroidal saponin içeren *Y. schidigera* kullanılarak yaptığımız çalışmamızdaki plazma lipid profili steroidal saponin içeren farklı bitkilerin kullanıldığı çalışmalar ve *Y. schidigera* ile yapılan çalışmaların bulguları ile benzeşmekte ancak çalışmamızda diğer çalışma sonuçlarından farklı olarak HDL düzeyi istatistiksel olarak artmış bulunmuştur.

Plazma üre-N düzeyi vücuttaki azotlu maddelerin metabolizma düzeyini göstermesi açısından önemli bir göstergedir. Bu alanda yapılan araştırmaların hemen tamamı *Y. schidigera*'nın üre-N düzeyini azalttığı yönündedir (187-189). Çalışmamızda, deneme gruplarındaki plazma üre-N düzeyi Tablo 4.1 ve Grafik 4.9'da görüldüğü gibi Kontrol Grubu'na göre istatistiksel önemde düşük bulunmuştur. Her iki deneme grubu arasındaki plazma üre-N miktarı değişimi istatistiksel olarak anlamlılık göstermektedir. Duffy ve ark. (174), ratların diyetine tek başına, bütanollü ve bütanolsüz 200 mg/kg *Y. schidigera* ilave ettikleri çalışmalarında, tüm gruplarda serum üre düzeylerinin azaldığını; Killeen ve ark. (190) ise, aynı dozda tek başına *Y. schidigera* ile bütanolsüz gruptaki sıçanlarda serum üre ve amonyak düzeylerinin azaldığını, doğal olarak idrar üre düzeylerinin arttığını, fakat bütanollü grupta herhangi bir etkinin oluşmadığını ileri sürmüşlerdir. Tez çalışmamızla paralellik arz eden bu bulgular *Y. schidigera*'nın amonyak veya ürenin bağırsaklardan atılımından çok, üreaz enzimi inhibisyonu yoluyla karaciğerde üre sentezinin azaltılmasına veya üre klirensinin artmasına yönelik bir mekanizmayı akla getirmektedir. Bu bulgulara göre taşıdığı steroidal saponinler nedeniyle *Y. schidigera*, kolesterol ve amonyak bağlayıcı, üreaz

aktivitesini önleyici ve azot metabolizmasını düzenleyici bir bitki olarak tüm çiftlik hayvanlarında verimi ve ürün kalitesini artırmak amacıyla yemlere katılabilir niteliktedir. Bu kanaat pek çok çalışmayla paydaştır (174,190,191).

Plazma total protein seviyeleri gebelik, protein sentezi bozukluğu, kronik karaciğer hastalığı ve intestinal sindirim bozukluğunda düşmekte, dehidrasyonda ise görsel olarak artmaktadır (193). Yaptığımız çalışmada deneme gruplarında plazma total protein düzeyi Tablo 4.1 ve Grafik 4.10'da görüldüğü gibi Kontrol Grubu'na göre düşük olarak bulunmuş, ancak bu farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir. Ratlarda saponin içeren bitkiler kullanılarak plazma total protein seviyelerinin araştırıldığı çalışmalar dikkat çekmemesine rağmen, ruminantlarda saponinlerin protein sindirimi üzerine etkilerine yönelik çok sayıda araştırma bulunmaktadır (18). Bu bağlamda, *Y. schidigera* ekstraktının ruminantlarda amonyak düzeyini azalttığı, mikrobiyal protein sentezini artırdığı ve ruminant beslenmesinde olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir (189).

Saponin içeren bitkilerin monogastrik türlerde proteinlerin sindirilebilirliğini azalttığı ve bunun muhtemelen sindirilemeyen saponin-protein komplekslerinden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (192). Yaptığımız tez çalışmasında elde ettiğimiz plazma total protein değerleri ratlar için verilen referans değer aralığındadır. Verilen *Y. schidigera* miktarları plazma total protein seviyeleri üzerine istatistiksel önemde etki oluşturmamıştır. Bu veriler monogastrik hayvanlarda rasyona belirtilen düzeylerde eklenecek *Y. schidigera*'nın protein emilim ve sindirimini olumsuz etkilemeyeceğini düşündürmektedir.

Serum A vitamini düzeyinin Tablo 4.1 ve Grafik 4.11'de görüldüğü gibi, Kontrol Grubu ile diyetlerine 100 ppm YS ve 200 ppm YS ilave edilen gruplarda serum A vitamini değerlerinin istatistiksel olarak değişim göstermediği bulunmuştur. Serum β -karotin düzeyi ise, 100 ppm YS'lı ve 200 ppm YS'lı gruplarda Kontrol Grubu'na göre daha yüksek ancak, gruplar arasındaki fark Tablo 4.1 ve Grafik 4.12'de de görüldüğü gibi istatistiksel önemde değildir. A

vitamini kavramı retinol, retinoik asit ve retinal gibi biyolojik aktif moleküllerin tümü için kullanılır. Retinol uzun zincirli yağ asitleriyle oluşturduğu retinil ester formunda hayvansal dokularda, β -karotin ise, hemen hemen tüm bitkisel kaynaklarda bulunur. β -karotin incebağırsakta parçalanır ve iki molekül retinol oluşur. Diyetle bulunan retinol esterleri incebağırsak mukozasında hidroliz edilir, retinol ve serbest yağ asitleri oluşur. Esterler ve β -karotinlerin kırılması ve indirgenmesi sonucu oluşan retinol, incebağırsak mukoza hücrelerinde uzun zincirli yağ asitleriyle tekrar esterleştirilir ve şilomikronların bir bileşeni olarak lenfatik sisteme verilir. Şilomikronlardaki retinol esterleri karaciğer tarafından alınır ve depolanırlar. Bu bakımdan serum A vitamini düzeyleri karaciğerdeki depolar vasıtasıyla korunur (198).

Çalışmamızdaki birbirine yakın serum A vitamini seviyeleri, A vitamininin depolanmasından kaynaklanabilir. Jenkins ve Atwal (45), piliçlere verilen yemle %0.9 triterpenoid saponinin hayvanlarda canlı ağırlığı, yem tüketimini, yağların sindirilebilirliğini, A ve E vitamini emilimini olumsuz etkilediğini, steroid saponinlerin ise bir etkisinin görülmediğini bildirmişlerdir. Bu çalışma ile benzer biçimde tezimizde A vitamini ve β -karotin düzeyleri üzerinde *Y. schidigera* ilavesinin etkili olmadığı görülmüş ancak, β -karotin düzeylerinin istatistiksel olmasa da deneme gruplarında Kontrol Grubu'na göre artmış olması dikkat çekici bir sonuç olarak görülmüştür. β -karotin bir antioksidandır ve düşük oksijen konsantrasyonlarında etkili olmaktadır. Diyetlerinde bol miktarda β -karotin bulunması insanlarda akciğer ve deri kanseri ile kalp hastalığı görülme sıklığını azaltmaktadır. β -karotinin koruyucu etkisi antioksidan özelliğinden veya bağışıklık fonksiyonunu artırması gibi başka etkilerden dolayı olabilir (198). Diyete *Y. schidigera* ilavesinin serum β -karotin düzeylerini hafif de olsa artış yönünde etkilemesi antioksidan statü açısından olumlu kabul edilebilir.

6. SONUÇ

Y. schidigera'nın 100 ve 200 ppm'lik miktarlarının 30 gün boyunca rasyona katılarak verilmesinin plazma leptin, insulin, tiroid hormonları, kan şekeri, kan lipidleri, üre-N ve total protein ile serum A vitamini ve β -karotin üzerine etkisinin araştırıldığı tez çalışmasında:

- Farklı miktarlarda verilen *Y. schidigera*'nın plazma leptin seviyesini her iki grupta da önemli düzeyde artırdığı bulunmuştur. Diyete katılan 100 ppm YS plazma leptin seviyelerini Kontrol Grubu'na göre yaklaşık 4 kat, 200 ppm YS ise, 3 kat yükseltmiştir. Önemli düzeyde artan plazma leptin seviyelerinin *Y. schidigera*'nın ihtiva ettiği saponinler yanısıra fenolik maddeler, fiber, resveratrol ve stilbenler gibi fitokimyasallardan kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Ne *Y. schidigera* ile leptin hormonu düzeyleri ne de saponinler, fenolik maddeler, fiber, resveratrol ve stilbenler gibi maddelerin leptinle ilişkilerinin araştırıldığı literatürlere rastlanmamış olması dikkat çekicidir. Bu nedenle bu ilişkileri sorgulayacak çalışmalara gereksinim vardır.

- *Y. schidigera* ilavesi plazma insulin düzeylerini hem 100 ppm YS, hem de 200 ppm YS ilave edilen grupta Kontrol Grubu'na göre yükseltmiştir. Ancak *Y. schidigera*'nın 100 ya da 200 ppm verilmesi bu artışta anlamlı değişimlere yol açmamıştır. İnsulin artışının kandaki glikozun karaciğerde glikojen, yağ dokuda ise, yağ asiti şeklinde depolanmasına yol açarak yemden yararlanmayı artırabileceği ve verim performansını yükselteceği düşünülmektedir.

- Bulgularımıza göre diyete *Y. schidigera* tozu ilavesi tiroid hormonlarının düzeylerini deneme gruplarında Kontrol Grubu'na göre azaltmıştır. Flavanoidlerin güçlü guatrojenik fitokimyasallar olduğu bilinmesine karşın, saponinlerin bu tip etkilerine yönelik çalışmaya rastlanmaması, elde edilen sonuçlarda saponinlerden çok *Y. schidigera*'nın içeriğindeki diğer fitokimyasalların etkili olduğunu göstermektedir. *Y. schidigera* uygulamasıyla oluşan düşüş sonrasındaki tiroid düzeylerinin sıçanlarda referans değer aralığında olup olmadığına ilişkin bir literatür dayanağına ulaşılamamıştır. Ancak diğer hayvanlardaki referans düzeyleri dikkate alındığında azalmış tiroid düzeylerinin hayvanlarda hipotiroidi

riski oluşturmayaacağı kanaatindeyiz. Bu vesileyle kemirgenlerle ilgili olarak tiroid hormon aralığının belirleneceği çalışmalara gereksinim olduğu görülmektedir.

- Plazma glikoz düzeyleri deneme gruplarının her ikisinde de Kontrol Grubu'na göre istatistiksel önemde düşmüştür. Yine diyetle 100 ppm ve 200 ppm *Y. schidigera* ilavesi arasında önemli bir farkın oluşmadığı görülmektedir. İnsulin düzeylerinin *Y. schidigera* uygulanan gruplarda artmış olması, glikozun hücre içine girmesini hızlandırarak plazma glikoz düzeylerini azaltacak döngüyü netleştirmektedir. *Y. schidigera*'nın hipoglisemik ve hipokolesterolemik etkilerinin pet hayvanlarda diabetes mellitus'un oluşumuna karşı koruyucu etkili olabileceği, çiftlik hayvanlarında ise, glikozun kullanılabilirliğinin artması ile bu hayvanlara ait verim parametrelerine olumlu etkilerinin olabileceğini göstermektedir.

- Çalışmamızda *Y. schidigera* verilen deneme gruplarında plazma total kolesterol, trigliserit ve LDL düzeyleri Kontrol Grubu'ndan düşük, plazma HDL düzeyi ise, yükselmiş olarak bulunmuştur. *Y. schidigera* miktarı ile kolesterolde izlenen düşüş ters orantılı görünmektedir. Tez çalışmamızda elde edilen plazma HDL düzeylerindeki istatistiksel önemde olan artış farklı bir referans olabilecek niteliktedir. Zira daha önce *Y. schidigera* ve diğer steroidal saponin kaynağı bitkilerle yapılan çalışmalar plazma HDL düzeyinin değişmediğine ilişkin veriler bildirmektedirler. Bu noktada *Y. schidigera*'nın plazma HDL artışı sağlayabileceğine yönelik araştırmalar yapılarak LDL/HDL oranlarının düzenlenmesinde rolünün olup olmadığına ait kanıların oluşturulması ateroskleroz ve diğer kardiyovasküler sorunlara karşı önemli bir destek oluşturabilir.

- Kontrol Grubu'na göre istatistiksel düzeyde azalmış üre-N seviyeleri önemlidir. *Y. schidigera* miktarı artırılan grupta plazma üre-N azalması daha fazladır. Bu bulgu *Y. schidigera*'nın amonyak ve ürenin bağırsaklardan atılımından çok, üreaz enzimi inhibisyonu yoluyla karaciğerde üre sentezini azaltmasına veya üre klirensini artırmasına yönelik bir mekanizmayı akla getirmektedir. *Y. schidigera*'nın kolesterol ve amonyak bağlayarak, üreaz aktivitesini önleyici ve bu yolla azot metabolizmasını düzenleyici özelliği hayvanlarda verim ve ürün kalitesini artırıcı bir faktör olabilir. Ayrıca ruminantlarda amonyak metan gazı siklusunu, diğer hayvanlarda amonyağın irrite

edici ve istenmeyen koku verici etkilerinin baskılanması ile çevre ve hayvan sağlığının korunmasında bir yem katkı maddesi olarak kullanılması önerilebilir.

- Tez çalışmamızda deneme gruplarında plazma total protein düzeyi Kontrol Grubu'na göre istatistiksel bir değişim göstermemiştir. Bu veriler sıçanlarda diyeteye uyguladığımız *Y. schidigera*'nın protein emilim ve sindirimini olumsuz etkilemeyeceğini göstermesi açısından önemli kabul edilmiştir.

- Çalışmamızda deneme gruplarında serum β -karotin düzeyi hafif artarken, serum A vitamini seviyeleri az da olsa düşmüş ancak her iki değişimde istatistiki önemde olmamıştır. Diyeteye *Y. schidigera* ilavesinin serum β -karotin düzeylerini hafif de olsa artış yönünde etkilemesi antioksidan statü açısından olumlu kabul edilebilir.

Sonuç olarak deney hayvanı olarak sıçanların kullanıldığı çalışmamızdan elde edilen veriler koruyucu hekimlik uygulamalarında, kronik sindirim bozukluklarının önlenmesi ile enerji metabolizması ve hormonal işleyişin düzenlenmesine katkı sağlayabilecektir. Ayrıca *Y. schidigera*'nın insanlar için yeni bir fitokimyasal besin desteği, hayvanlar için ise, yeni bir rasyon bileşeni olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

1. Zinciroğlu. M., Karadaş. F., Sarıca. ř. (1998). Etlik piliç karma yemlerinde enzim ve antibiyotiklerin birlikte kullanılmalarının performans üzerine etkileri. V. Ulusal Nükleer Tarım ve Hay. Kong. 20-22 Ekim 1998. 159-169. KONYA.
2. Teferedegne. T. (2000). New perspective on the use of tropical plants to improve ruminant nutrition. Proceed.Nutr.Soc., 59: 209-214.
3. Dündar Y. (2001). Fitokimyasallar ve sağlıklı yaşam. Kocatepe Tıp Dergisi.2:131-138.
4. Kaya S. (1995). “Diğer Bitkisel Zehirler”. Veteriner Klinik Toksikoloji. Ed., Sezai Kaya, Medisan Yayınevi, ANKARA. S: 158-173.
5. Mahato S.B., Sarkar S.K., Poddar G. (1988). Triterpenoid saponins. Phytochemistry. 27 (10) : 3037-3067.
6. Vegamania L. (1995). Scientists tout the healt benefits of saponin. Science News. 148 (9): 392.
7. Ono R., Yamaguchi. (1999). Anabolic effect of soybean saponin on bone component in the femoral tissues of rats. J. Healt. Sci. 45 (5):251-255.
8. Öztaşan N., Eryavuz A., Bülbül A., Avcı G., Küçükkurt İ., Fidan A.F. (2004). Deneysel hipertansiyon oluşturulmuş sıçanlarda kalp atım sayısı ve ortalama kan basıncı üzerine *yucca schidigera* ekstraktının etkisi. 30. Ulusal Fiziyooloji Kongresi, KONYA. Sözlü bildiri.
9. Aslan, R.; Dündar, Y.; Eryavuz, A.; Bülbül, A.; Küçükkurt, İ.; Fidan, A.F.; Akıncı, Z. (2005). “Effects of Different Dietary Levels of *Yucca Shidigera* powder (deodorase) added to diets on performance, some hemotological and biochemical blood parameters and total antioxidant capacity of laying hens.” Revue Méd. Vét. 156 (6): 350-355.
10. Anonim. <http://www.fs.fed.us/database/feis/plants/tree/yucsch/all.html>. Erişim tarihi: 29/12/2006.
11. Piacente S., Pizza C., Oleszek W. (2005). Saponins and phenolics of *Yucca schidigera* Roezl: Chemistry and bioactivity. Phytochemistry Reviews. 4 (2-3) 177-190.

12. Piacente S., Montoro P., Oleszek W., Pizza C. (2004). *Yucca schidigera* Bark: Phenolic constituents and antioxidant activity. *J. Nat. Prod.*, 67 (5); 882 -885.
13. Marzoccoa S., Piacente S., Pizza C., Oleszek W., et. al. (2004). Inhibition of inducible nitric oxide synthase expression by yuccaol C from *Yucca schidigera* roezl. *Life Sciences* 75; 1491–1501.
14. Sparg S.G., Light M.E., Staden J.van. (2004). “Biological activities and distribution of plant saponins.” *Journal of Ethnopharmacology*. 94: 219-243.
15. Yeşilada E. (1995). Heterozitler ve Saponinler. Ders notları. Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognazi Anabilim Dalı. S:4-20.
16. Cheeke P.R. (1999). Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition. *Proceeding of the American Society of Animal Science*. 1-10.
17. Sen S., Makkar H.P.S., Becker K. (1998). Alfalfa saponins and their implication in animal nutrition. *J.Agric.Food.Chem.* 46:131-140.
18. Francis G., Kerem Z., Makkar H.P.S., Becker K. (2002). The biological action of saponins in animal systems. *Br.J.Nutr.* 88:587-605.
19. Oleszek W. (2002). Chromatographic determination of plant saponins. *J. Chromatography A*. 967:147-162.
20. Milgate J., Roberts D.C.K. (1995). The nutritional and biological significance of saponins. *Nutr. Research*. 15 (8):1223-1249.
21. Rao D., Bories G. (1987). Simple gas chromatographic method for the determination of madicagenic in alfalfa (*Medica sativa*). *J.Chromatography*. 410:169-175.
22. Guo M., Song F., Bai Y., Liu Z. (2002). Rapid analysis of a triterpenoid mixture from plant extracts by electrospray ionization multistage tandem mass spectrometry (ESI-MS). *Analytical Sci.* 18:481-484.
23. Fenwick D.E., Oakenfull D. (1983). Saponin content of food plants and some prepared foods. *J. Sci. Food Agric.* 34:186-191.
24. Başer K.H.C. (1995). Steroidal ilaçlara tarihsel bir bakış. *TAB Bülteni*.11: 9-14.

25. El Izzi A., Benie T., Thioulant M.L., Le Men-Oliver L., Duval J. (1992). Stimulation of LH release from cultured pituitary cells by saponins of *Petersianthus macrocarpus*: a permeabilising effect. *Planta Medica*. 58: 229-233.
26. Choi S., Jung S.Y., Kim C.H., Kim H.S., Rhim H., Kim S.C., Nah S.Y. (2001). Effect of Ginsenoides on voltage-dependent Ca²⁺ channel subtypes in bovine chromaffin cells. *Journal of Ethnopharmacology*. 74:75-81.
27. Menin L., Panchickina M., Keriell C., Olivares J., Braun U., Seppert E.K., Saks V.A. (2001). Macrocompartmentation of total creatine in cardiomyocytes revisited. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 220:149-59.
28. Plock A., Sokolowska-Kohler W., Presber W. (2001). Application of flow cytometry and microscopical methods to characterize the effect of herbal drugs on *Leishmania spp.* *Experimental Parasitology*. 97:141-153.
29. Gögelein H., Hüby A.(1984). Interaction of saponin and digitonin with black lipid membranes and lipid monolayers. *Biochimica et Biophys. Acta*. 773:32-38.
30. Brain K., Hadgraft J., Al-Shatalebi M. (1990). Membrane modification in activity of plant molluscicides. *Planta Medica*. 56:663.
31. Hu M., Konoki K., Tachibana K. (1996). Cholesterol-independent membrane disruption caused by triterpenoid saponins. *Biochimica et Biophysica Acta - Lipid Metabolism*. 1299:252-258.
32. Morehouse L.A., Bangerter F.W., et. al. (1999). Comparison of synthetic saponin cholesterol absorption inhibitors in rabbits; evidence for a non-stoichiometric, intestinal mechanism of action. *J. Lipid Research*. 40:464-74.
33. Rao D., Kendall C.W. (1986). Dietary saponins and serum lipids. *Fd. Chem. Toxic*: 24 (5):441.
34. Sidhu G.S., Oakenfull D.G. (1986). A mechanism for the hypocholesterolaemic activity of saponins. *Br. J. Nutr.* 55:643-649.
35. Southon S., Johnson I.T., Gee J.M., Price K.R. (1988). The effect of gypsophila saponins in the diet on mineral status and plasma cholesterol concentration in the rat. *Br. J. Nutr.* 59:49-55.

36. Avcı G., Küpeli E., Eryavuz A., Yesilada E., Küçükkurt İ. (2006). Antihypercholesterolaemic and antioxidant activity assessment of some plants used as remedy in Turkish folk medicine. *J.of Ethnophar.*107: 418-23.
37. Morgan B., Heald M., Brooks s.g., Tee J.L., Gren J. (1972). The interactions between dietary saponin, cholesterol and related sterols in the chick. *Poultry Sci.* 51(2):677-682.
38. Kim S.H., Park K.S. (2003). "Effects of *Panax ginseng* extract on lipid metabolism in humans." *Pharmacological Research.* 48: 511-513.
39. Whitehead C.C., McNab J.M., Griffin H.D. (1981). The effects of low dietary concentrations of saponin on liver lipid accumulation and performance in laying hens. *Br. Poult. Sci.* 22 (3):282-288.
40. Sim J.S., Kitts W. D., Bragg D.B. (1984). Effect of dietary saponin on egg cholesterol level on laying hen performance. *Can. J. Anim. Sci.* 64:977-984.
41. Kutlu H.R., Görgülü M., Ünsal İ. (2001). Effects of dietary *Yucca schidigera* powder on performance and egg cholesterol content of laying hens. *Appl. Anim. Res.* 20:49-56.
42. Güçlü K.B., İşcan K.M., Uyanık F., Eren M., Ağca A.C. (2004). Effects of alfalfa meal added to diet of laying quail on performance egg quality and some serum parameters. *Arch. Anim. Nutr.* 58:225-263.
43. Malinow M.R., Connor W.E., McLaughlin P., Stafford C., Lin D.S., Livigston A.L., Kohler G.O., Mc Nulty W.P. (1981). Cholesterol and bile acid balance in *Macaca fascicularis*. Effect of alfalfa saponins. *J. Clin. Invest.* 67 (1):156-162.
44. Harwood H.J., Chandler C.E., et. al. (1993). Pharmacological consequences of cholesterol absorption inhibition: alteration in cholesterol metabolism and reduction in plasma cholesterol concentration induced by the synthetic saponin B-tigogenin cellobioside (CP-88818;Tiqueside). *J. Lipid Res.* 34: 377-395.
45. Jenkins K.J., Atwal A.S. (1994). Effect of dietary saponins on fecal bile acids and neutral sterols, and availability of vitamins A and E in the chick. *J. Nutr. Biochem.* 5:134-137.

46. Dündar Y., Aslan R. (2000). Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar. T.C. A.K.Ü. Yayın no: 29. Uyum Ajans Ankara, 1. Basım. S: 4-6.
47. Javanmardi J., Stushnoff C., Locke E., Vivanco J.M. (2003). Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food Chemistry*. 83:547-550.
48. Olas B., Wachowicz B., Stochmal A., Oleszek W. (2003). Inhibition of Oxidative Stress in Blood Platelets by Different Phenolics From *Yucca schidigera* Roezl. *Bark. Basic Nutrition Investigation*.19:633-640.
49. Enginar H., Avcı G., Eryavuz A., Kaya E., Küçükkurt İ., Fidan A.F. (2006). Effect of *Y. schidigera* extract on lipid peroxidation and antioxidant activity in rabbits expose gamma radiation. *Revue Méd. Vét.* 157 (8-9): 415-19.
50. Sur P., Chaudhuri T., et al. (2001). Antiinflammatory and antioxidant property of saponins of tea. *Biol Pharm Bull.* 24(3):209-213.
51. Serafini M., Ghiselli A., Ferro-Luzzi A. (2000). In vivo antioxidant effect of green and black tea in man. *Clin Chim Acta.* 301(1-2):41-53.
52. Keum Y.S., Park K.K., Lee J.M., Chuna K.S., Park J.H., Lee S.K., Kwon H., Surh Y.J. (2000). Antioxidant and anti-tumor promoting activities of the methanol extract of heat-processed ginseng. *Cancer Letters.* 150: 41-48.
53. Rhiouani, H., Settaf, A., Lyoussi, B., Cherrah, Y., Lacaille-Dubois, M. A., Hassar, M. (1999). Effects of saponins from *Herniaria glabra* on blood pressure and renal function in spontaneously hypertensive rats. *Therapie.* 54, 735-739.
54. Zaoui, A., Cherrah, Y., Lacaille-Dubois, M. A., Settaf, A., Amarouch, H., Hassar, M. (2000) Diuretic and hypotensive effects of *Nigella sativa* in the spontaneously hypertensive rat. *Therapie.* 55: 379-382.
55. Jeon B. H., Kim C. S., Kim H. S., Park J. B., Nam K. Y., Chang S. J. (2000). Effect of Korean red ginseng on blood pressure and nitric oxide production. *Acta Pharmacol Sin.* 21: 1095-1100.
56. Jeon B. H., Kim C. S., Park K. S., Lee J. W., Park J. B., Kim K. J., Kim S. H., Chang S. J., Nam K. Y. (2000). Effect of Korea red ginseng on the blood pressure in conscious hypertensive rats. *Gen Pharmacol.* 35: 135-141.

57. Dongma, A. B., Kamanyi, A., Franck, U., Wagner, H. (2002). Vasodilating properties of extracts from the leaves of *Musanga cecropioides* (R. Brown). *Phytother Res.* 16: S6-S9.
58. Tennant B.C. (1997). Hepatic Function. Koneko J.J., Harvey J.W., Bruss M.L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals.* San Diego; Academic Pres. p. 327-352.
59. Lacaille-Dubois M.A., Wagner H. (1997). A review of the biological and pharmacological activities of saponin. *Phytomedicine*, July. 2:363-386.
60. Koratkar R, Rao AV. (1997). Effect of soya bean saponins on azoxymethane-induced preneoplastic lesions in the colon of mice. *Nutr Cancer.*27(2):206-209.
61. Mochizuki M., Yoo Y.C., Matsuzawa K., et al. (1995). Inhibitory effect of tumor metastasis in mice by saponins, ginsenoside-Rb2, 20(R)- and 20(S)-ginsenoside-Rg3, of red ginseng. *Biol.Pharm.Bull.* 18(9):1197-1202.
62. Erdoğan, Z., Erdoğan, S., Kaya, Ş. (2001). Yucca ekstraktının Bildircinlarda Besi Performansı ile Bazı Biyokimyasal ve Hematolojik Parametreleri Üzerine Etkisi. *A.Ü. Veteriner Fak. Derg.* 48 (3):231-236.
63. Güçlü K.B. (2003). Bildircin rasyonlarına katılan Yucca ekstraktının yumurta verimi ve yumurta kalitesi ile bazı kan parametrelerine etkisi. *Türk J. Vet. Anim. Sci.* 27:567-574.
64. Çalış İ., Yürüker A., Şatana M.E., Tanker N., Alaçam R., Demirdamar R., Sticher O. (1996). *Cyclamen coum* ve *C. mirabile*'den elde edilen saponozitler ve antimikrobiyal, uterokontraktif etkileri. XI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı. A.Ü. Eczacılık Fak. 22-24 Mayıs 1996 Ankara. S:26-41.
65. Quin G.W., Xu R.S. (1998). Recent advances in bioactive natural products from Chinese medical plants. *Medical Research Reviews.* 18:375-382.
66. El Izzi A., Duval J., Delaude C. (1989). Effet d'une serie de saponinines extites de vegetaux de L'Afrique tropicale sur la liberation d'hormone luteinisante par les cellules hypophysaires en culture (Effect of a series of saponin extracts from African plants on the release of luteinizing hormone

- by hypophysial cells in culture). Bulletin de la Societe Royale des sciences de Liege. 58:53-56.
67. Benie T., El-Izzi A., Tahiri C., Duval J., Thieulant M.L.T.I. (1990). *Combretodendron africanum* bark extract as an antifertility agent. I:Estrogenic effects in vivo and LH release by cultured gonadotrope cells. Journal of Ethnopharmacology. 29:13-23.
 68. Tamura K., Honda H., Mimaki Y., Sashida Y., Kogo H. (1997). Inhibitory effects of a new steroidal saponin, OSW-1, on ovarian function in rats. British Journal of Pharmacology. 121:1796-1802.
 69. Dorsaz A.C., Hostettmann M., Hostettmann K. (1988). Molluscicidal saponins from *Sesbania sesban*. Planta Medica. 54:225-227.
 70. Chen J.C., Xu M.X., Chen L.D., Chen Y.N., Chiu T.H. (1998). Effect of *Panax notoginseng* saponins on sperm motility and progression in vitro. Phytomedicine. 5:289-292.
 71. Arletti R., Benelli a., Cavazzuti E., Scarpetta G., Bertolini A. (1999). Stimulating property of *Turnera diffusa* and *Pfaffia paniculata* extracts on the sexual behavior of male rats. Psychopharmacology. 143:15-19.
 72. Punnonen R., Lukola A. (1980). Oestrogen-like effect of ginseng. British Medical Journal. 281:1110.
 73. Menzies G.S., Howland K., Rae M.T., Bramley T.A. (1999). Stimulation of specific binding of [3H]-progesterone to bovine luteal cell-surface membranes: specificity of digitonin. Molecular and Cellular Endocrinology. 153:57-59.
 74. Liu W.K., Xu S.X., Che C.T. (2000). Anti-proliferative effect of ginseng saponins on human prostate cancer cell line. Life Sciences. 67:1297-1306.
 75. Hussain I., Ismail M., Cheeke P.R. (1996). Effects of feeding *Yucca schidigera* extract in diets varying in crude protein and urea contents on growth performance and cecum and blood urea and ammonia concentrations of rabbits Animal Feed Science and Technology. 62:121-129.
 76. Lowe JA, Kershaw SJ, Taylor AJ, Linforth RS. (1997). The effect of *Yucca schidigera* extract on canine and feline faecal volatiles occurring concurrently with faecal aroma amelioration. Res.Vet.Sci. 63(1):67-71.

77. Colina J.J., Lewis A.J., Miller P.S., Fischer R.L. (2001). Dietary manipulation to reduce aerial ammonia concentrations in nursery pig facilities. *J. Anim Sci.* 79(12): 3096-3103.
78. Lu C.D., Jorgensen N.A. (1987). Alfalfa saponins affect site and extent of nutrient digestion in ruminants. *J.Nutr.* 117:919-927.
79. Diaz A., Avendan O.M., Escobar A. (1994). Evaluation of *Spinadus saponaria* as a defaunating agent and its effects on different ruminal digestion parameters. *Livestock Research in Rural Development.* 5:1-10.
80. Teferedegne B., McIntosh F., Osuji P.O., Odenyo A., Wallace R.J., Newbold C.J.(1999). Influence of foliage from different accessions of the sub-tropical leguminous tree, *Sesbania sesban* on ruminal protozoa in Ethiopian and Scottish sheep. *Anim.Feed.Sci.Techol.* 78:11-20.
81. Hristov A.N., McAllister T.A., Van Herk F.H., Cheng K.J., Newbold C.J., Cheeke P.R. (1999). Effect of *Yucca schidigera* on ruminal fermentation and nutrient digestion in heifers. *J.Anim.Sci.* 77:2554-2563.
82. Eryavuz A. (2003). Saponinler ve ruminantlarda Rumen protozoon sayısının azaltılmasında bunların kullanılması. *Hayvancılık Araştırma Dergisi.*
83. Makkar H.P.S., Sen S., Blümmel M., Becker K. (1998). Effects of fractions containing saponins from *Yucca schidigera*, *Quillaja saponaria* and *Acacia auriculiformis* on Rumen fermentation. *J.agric.Food.Chem.* 46:4324-4328.
84. Makkar H.P.S., Becker K. (1997). Degradation of quillaja saponin by mixed culture of rumen microbes. *Lett. Appl. Microbiol.* 25:243-245.
85. Killeen G.F., Madigan C.A., Connolly C.R., et. al. (1998). Antimicrobial saponins of *Yucca schidigera* and the implications of their in vitro properties for their in vivo impact. *J. Agric. Food Chem.* 46:3178-3186.
86. Odenyo A.A., Osuji P.O., Karanfil O. (1997). Effect of multipurpose tree (MPT) supplements on ruminal ciliate protozoa. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 67:169-180.
87. Wang Y., McAllister T.A., Yanke L.J., Cheeke P.R. (2000). Effect of steroidal saponin from *Yucca schidigera* extract on ruminal microbes. *J. App. Microbiol.* 88 (5).887-897.

88. Eryavuz A., Dehority B.A. (2004). Effect of *Yucca schidigera* extract on the concentration of rumen microorganisms in sheep. Anim. Feed. Sci. Technol. 117: 215-222.
89. Wang Y., McAllister T.A., Newbold C.J., Rode L.M., Cheeke P.R., Cheng K.J. (1998). Effects of *Yucca schidigera* extract on fermentation and degradation of steroidal saponins in the Rumen stimulation technique (RUSITEC). Anim. Feed. Sci. Technol. 74:143-153.
90. Wallace R.C., Arthaud L., Newbold C.J. (1994). Influence of *Yucca schidigera* extract on ruminal ammonia concentrations and ruminal microorganisms. Appl. Environ. Microbiol. 60:1762-1767.
91. Anderson J.O. (1957). Effect of alfalfa saponin on the performance of chicks and laying hens. Poultry Sci., 36:873-876.
92. Heywang B.W., Thompson C.R. (1959). Effect of alfalfa saponin on laying chickens. Poultry Sci. 38:968-971. In; Francis G., Kerem Z., Makkar H.P.S., Becker K. (2002). The biological action of saponins in animal systems. Br. J. Nutr. 88:587-605.
93. Ishaaya I., Birk Y., Bondi A., Tencer Y. (1969). Soyabean saponins; Studies of their effect on birds, mammals, and cold blooded organisms. J. Sci. Food Agric. 20:433-436.
94. Ergün A., Tuncer Ş.D., Çolpan İ., Yalçın S., Yıldız G., Küçükersan M.K., Küçükersan S., Şehu A. (2002). Yemler, Yem Hijyeni ve Teknolojisi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Ankara, p. 324.
95. Zhang Y., Proenca R., Maffei M., Barone M., Leopold L., Friedman J.M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature (Lond.), 372; 425-432.
96. Bocquier F., Bommet M., Faulconnier Y., Guerre-Millo M., Martin P., Chilliard Y. (1998). Effects of photoperiod and feeding level on perirenal adipose tissue metabolic activity and leptin synthesis in the ovariectomized ewe. Reprod Nutr Develop; 38:489-498.
97. Delavaud C., Daveau A., Tourret M., Malpoux B., Chilliard Y. (2002). Absence of plasma leptin or metabolite variation after subcutaneous

- melatonin release in adult ewe. . Proceedings of the British Society of Animal Science, 3.
98. Delavaud C., Ferlay A., Faulconnier Y., Bocquier F., Kann G., Chilliard Y. (2002). Plasma leptin concentration in adult cattle: Effects of breed, adiposity, feeding level, and meal intake. *J. Anim. Sci.*, 80; 1317-1328.
 99. Morrison C.D., Daniel J.A., Holmberg B.J., Djiana J., Raver N., Gertler A., Keisler D.H. (2001). Central infusion of leptin into well-fed and undernourished ewe lambs: effects of feed intake and serum concentrations of growth hormone and luteinizing hormone. *J. Endocrinol.*, 168; 317-324.
 100. Ren M.Q., Wegner J., Bellmann O., Brockmann G.A., Schneider, F., Teuscher, F., Ender, K. (2002). Comparing mRNA levels of genes encoding leptin, leptin receptor, and lipoprotein lipase between dairy and beef cattle. *Dom. Anim. Endocrinol.*, 23; 371-381.
 101. Towhidi A., Rostami F., Khazali H., Ahadi A.H. (2002). The effect of energy intake level, body condition score, and leptin on ovulation rate in fat-tailed ewes. *Proceedings of the British Society of Animal Science*, 80.
 102. Tartaglia L. A., M. Demski X. Weng N. Et. al. (1995). Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* 83:1263-1271.
 103. Houseknecht K.L., Baile C.A., Matteri R.L., Spurlock M.E. (1998). The biology of leptin: a review. *J. Anim. Sci.*, 76; 1405-1420.
 104. Wallace A.M. (2000). Measurement of leptin and leptin binding in the human circulation. *Ann Clin. Biochem.* 37 (3): 244-52.
 105. Fei H., H. J. Okano C. Li G. H. Lee C. Zhao R. Darnell J. Friedman. M. (1997). Anatomic localization of alternatively spliced leptin receptors (Ob-R) in mouse brain and other tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.A.* 94 (13):7001-7005.
 106. Mercer J. G., Moar K. M., Findlay P. A., Hoggard N., Adam. C. L. (1998). Association of leptin receptor (OB-Rb), NPY and GLP-1 gene expression in the ovine and murine brainstem. *Regul. Pept.* 75-76: 271-278.
 107. Lee G. H., Proenca, J. M., Montez K. M., Carroll J. G., Darvishzadeh J. I., Lee J., Friedman. M. (1996). Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature* 379 (6566): 632-635.

108. Blache D., Tellam RL, Chagas LM, Blackberry MA, Vercoe PE, Martin GB. (2000). Level of nutrition affects leptin concentrations in plasma cerebrospinal fluid in sheep. *J. Endocrinol*; 165: 625-637.
109. Chen H, Charlat O, Tartaglia LA, et al. (1996). Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell*; 84: 491-495.
110. Friedman J.M., Halaas, J.L. (1998). Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*, 395; 763-770.
111. Kielar D., Clark J.S., Ciechanowicz A., Kurzawski G., Sulikowski T., Naruszewicz M. (1998). Leptin receptor isoforms expressed in human adipose tissue. *Metabolism*. 47; 844-847.
112. Andrews J.F. (1998). Leptin: energy regulation and beyond to a hormone with pan-physiological function. *Proc Nutr Soc*; 57:409-411.
113. Chilliard Y., Bonnet M., Delavaud C., Faulconniera Y., Leroux C., Djianec J., Bocquierd F. (2001). Leptin in ruminants. Gene expression in adipose tissue and mammary gland, and regulation of plasma concentration. *Domestic Animal Endocrinology*. 21; 271-295.
114. Williams G.L., Amstalden M., Garcia M.R., Stanko R.L., Nizielski S.E., Morrison C.D., Keisler D.H. (2002). Leptin and its role in the central regulation of reproduction in cattle. *Dom.Anim.Endocrinol*. 23; 339-349.
115. Margetic S., Gazzola C., Pegg G.G., Hill R.A. (2002). Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. *International J. of Obesity*. 26; 1407-33.
116. Kim S. and Moustaid-Moussa N. (2000). Secretory, endocrine and autocrine / paracrine function of the adipocyte. *J. Nutr*. 130(12): 3110-3115.
117. Kalaycıoğlu L., Serpek B., Nizamlıoğlu M., Başpınar N., Tiftik A.M. (1998). *Biyokimya. Konya Selçuk Üniversitesi Yayın Ünitesi. Konya*.
118. Noyan A. (1993). *Yaşam ve Hekimlikte Fizyoloji. Sekizinci Baskı. Meteksan Yayın Evi*.
119. Ehrhardt R., Sleptis R., Siegal-Willot J., van Amburgh M.E., Bell A.W., Boisclair Y.R. (2000). Development of a specific radioimmunoassay to measure physiological changes of circulating leptin in cattle and sheep. *J.Endocrinol*. 166; 519-528.

120. Klaus S. (2004). Adipose tissue as a regulator of energy balance. *Curr Drug Targets*;5: 241-50.
121. Auwerx J. and Staels B. Leptin. *Lancet*, 1998, 351:737-741.
122. Cancellato R., Tounian A., Poitou Ch., Clement K. (2004). Adiposity signals, genetic and body weight regulation in humans. *Diabetes Metab*;30:215-27.
123. Ji S., Willis G.M., Scott R.R., Spurlock M.E. (1998). Partial cloning and expression of the bovine leptin gene. *Anim Biotechnol*; 9:1-14.
124. Kim H., Chi Y., Chung K., Kim K., Choi Y., Baik M. (2000). Differential response of obese gene expression from fasting in bovine adipose tissues. *Biosci Biotechnol Biochem*; 64: 2240-2242.
125. Kumar B., Francis S.M., Suttie J.M., Thompson M.P. (1998). Expression of obese mRNA in genetically lean and fat selection lines of shepp. *Comp Biochem Physiol Part B*;120:543-548.
126. Ahima R.S., Flier J.S. (2000). Leptin. *Annu.Rev.Physiol.*, 62; 413-437.
127. Sinha M.K., Opentanova I., Ohannesian J.P., Kolaczynski J.W., Heiman M.L., Hale J. (1996). Evidence of free and bound leptin in human circulation. *J Clin Invest*; 98:1277–1282.
128. Brabant G., Horn R., Mayr M., Wurster U., Schnabel D., Heidenreich F. (2000). Free and protein bound leptin are distinct and independently controlled factors in energy regulation. *Diabetologia*. 43; 438-442.
129. Bölükbaşı F.(1989). Fiziyojji ders kitabı (Vücut ısısı ve sindirim), Cilt 1. A.Ü. Vet. Fak. Yayınları. A. Ü. Basımevi, Ankara, s:215-221.
130. Maffei M., Halas J., Ravussin E., et al. (1995). Leptin Levels in Human and Rodent: Measurement of Plasma Leptin and Ob RNA in Obese and Weight Reduced Subjects. *Nature Medicine*, 1:1155-1161.
131. Yılmaz B. (1999). Hormonlar ve üreme fiziyojji. 1. Basım. Feryal Matbaacılık. 312.
132. Dyer C. J., Simmons J.M., Matteri R.L., Keisler D.H. (1997). Leptin receptor mRNA is expressed in ewe anterior pituitary and adipose tissues and is differentially expressed in hypothalamic regions of well-fed and feed-restricted ewes. *Domest. Anim. Endocrinol*.14:119-128.

133. Casanueva F.F., Diaguez C.(1999). Neuroendocrine regulation and actions of leptin. *Front Neuroendocrinol*; 20:317-363.
134. Williams G.L., Amstalden M., et al. (2002). Leptin and its role in the central regulation of reproduction in cattle. *Domest. Anim. Endocrinol.* 23;339–349.
135. Sansinanea A.S., Cerone S.I., Zonco I., Garcia C., Auza N. (2001). Serum leptin levels in cattle with different nutritional conditions. *Nutr. Res.* 21; 1045-1052.
136. Swain J.E., Dunn R.L., McConnell D., Gonzalez-Martinez J., Smith G.D. (2004). Direct effects of leptin on mouse reproductive function: Regulation of follicular, oocyte and embryo development. *Biol Reprod.* 71:1446-52.
137. Kim K.H. (1996). Scientists sprint to understand fat-busting protein leptin. *Purdue News.* 11.
138. Rosi F., Rapetti L. (2002). Influence of a nonforage diet on plasma leptin in dairy goats throughout lactation. . *Proceedings of the British Society of Animal Science*, 97.
139. Mostyn A., Dastoor E.J., Stephenson T., Webb R., Symonds M.E. (2000). Effect of acute leptin administration on thermoregulation in day old lambs during non-rapid eye movement sleep. *Proc.Nutr.Soc.* 59:13A.
140. Yildiz S., Blache D., Celebi F., Kaya I., Saatci M., Cenesiz M., Guven B. (2003). Effects of short-term high carbohydrate or fat intakes on leptin, growth hormone and luteinizing hormone secretions in prepubertal fat-tailed Tuj lambs. *Reprod. Dom. Anim.* 38: 182-186.
141. Houseknecht K.L., Portocarrero C.P., Ji S., Lemenager R., Spurlock M.E. (2000). Growth hormone regulates leptin gene expression in bovine adipose IGF-1 expression. *J Endocrinol*;164: 51-57.
142. Öztürk A., Baltacı A.K., Moğulkoç R., Öztekin E., Üstün A. (2003). Kastrasyon ve çinko eksikliğinin ratlarda plazma leptin düzeylerine etkisi. *Genel Tıp Derg.* 13 (2, EK): 64-65.
143. Barash I.A., Cheung C.C., Weigle D.S., et al. (1996) Leptin is a metabolic signal to the reproductive system. *Endocrinology*, 137; 3144-3147.

144. Chehab F.F., Mounzih K., Lu R., Lim M.E. (1997). Early onset of reproductive function in normal female mice treated with leptin. *Science*; 275: 88-90.
145. Gündüz B. (2003). Leptin ve üreme sistemi. *Genel Tıp Derg.*, 13 (2, EK).
146. Mann G.E. and Blache D. (2002). Relationship between plasma leptin concentration and reproductive function in dairy cows. *Proceedings of the British Society of Animal Science*, 2.
147. Kiess W. and Blum W.F. (1997). Leptin, puberty and reproductive function: lessons from animal studies and observations in humans. *Eur J Endoc.*138:26-29.
148. Dayı A., Bediz C.Ş., Yılmaz O., Musal B., Çömlekçi A., Celiloğlu M., Çımrın D., Erci T. (2003). İnek östrus döngüsünde serum ve foliküler sıvı leptin IGF-1 değerlerinin değişimi. *Genel Tıp Derg.*, 13 (2, EK); 72-73.
149. Schneider J.E., Zhou D., Blum R.M. (2000). Leptin and metabolic control of reproduction. *Horm. Behav.* 37 (4): 306-326.
150. Sliker L.J., Sloop K.W., Surface P.L., Kriauciunas A., LaQuier F., Manetta J., Bue-Valleskey J., Stephens T.W. (1996). Regulation of expression of ob mRNA and protein by glucocorticoids and cAMP. *J Biol Chem.*271: 5301-4.
151. Florkowski C.M., Collier G.R., Zimmet P.Z., Livesey J.H., Espiner E.A., Donald R.A. (1996). Low-dose growth hormone replacement lowers plasma leptin and fat stores without affecting body mass index in adults with growth hormone deficiency. *Clin Endocrinol.* 45: 769- 73.
152. Escobar-Morreale H.F., Escobar del Rey F., Morreale de Escobar G. (1997). Thyroid hormones influence serum leptin concentrations in the rat. *Endocrinology.*138: 4485- 8.
153. Gualillo O., Lago F., García M., Menéndez C., Señarís R., Casanueva F.F., Diéguez C. (1999). Prolactin stimulates leptin secretion by rat white adipose tissue. *Endocrinology*; 140: 5149- 53.
154. Saladin R., De Vos P., Guerre-Millo M., Leturque A., Girard J., Staels B., Auwerx J. (1995). Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration. *Nature.* 377: 527 – 529.

155. Haris R.B. (1998). Acute and chronic effects of leptin on glucose utilization in lean mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 245 (2): 502-9
156. Emilsson V., Liu Y., Cawthorne M.A., Morton N.M. (1997). Devenport M. Expression and functional leptin receptor mRNA in pancreatic islets and direct inhibitory action of leptin on insulin secretion. *Diabetes*; 46: 313–316.
157. Trayhurn P., Duncan J. S., Rayner D. V. (1995). Research communication acute cold-induced suppression of ob (obese) gene expression in white adipose tissue of mice: Mediation by the sympathetic system. *Biochem. J.* 311: 729–33.
158. Kauter K., Ball M., Kearney P., Tellam R., McFarlane J.R. (2000). Adrenaline, insulin and glucagon do not have acute effects on plasma leptin levels in sheep: development and characterisation of an ovine leptin ELISA. *J. Endocrinol*;166:127-135.
159. Yanagihara N., Utsunomiya K., et al. (2000). Characterization and functional role of leptin receptor in bovine adrenal medullary cells. *Biochem. Pharmac.* 59:1141-45.
160. Ersoy E.ve Bayşu N. (1986). *Biyokimya. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları No: 408. Ders Kitabı. S: 553-559.*
161. Yaman K. (1996). *Fizyoloji. Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı Yayın No:83. 2. Baskı.*
162. Medina-Gomez G., Rosa-Maria C., Maria-Jesus O. (2004). T3 and Triac inhibit leptin secretion and expression in brown and white rat adipocytes. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1682; 38– 47.
163. Zabrocka L., Klimek J., Swierczynski J. (2006). Evidence that triiodothyronine decreases rat serum leptin concentration by down-regulation of leptin gene expression in white adipose tissue. *Life Science.* 79: 1114-1120.
164. Aslan K., Serdar Z., Tokullugil A. (2004). Multifonksiyonel Hormon: Leptin. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi.* 30 (2) 113-118.
165. Roh S., Clarke I.J., Xu R., Goding J.W., Loneragan K., Chen C. (1998). The in vitro effect of leptin on basal and growth hormone-releasing hormone-

- stimulated growth hormone secretion from the ovine pituitary gland. *Neuroendocrinology*;68(6):361-364.
166. Nagatani S., Zeng Y., Keisler D.H., Foster D.L., Jaffe C.A. (2000). Leptin regulates pulsatile luteinizing hormone and growth hormone secretion in the shepp. *Endocrinology*;141:3965-3975.
 167. Bornstein S.R., Uhlmann K., Haidan A., Ehrhart-Bornstein M., Scherbaum W.A.(1997). Evidence for a novel peripheral action of leptin as a metabolic signal to the adrenal gland. *Diabetes*;46:1235-1238.
 168. Wolden-Hanson T., Mitton D.R., McCants R.L., Yellon S.M., Wilkinson C.W., Matsumoto A.M., Rasmussen D.D. (2000). Daily metatonin administration to middle-aged male rats suppresses body weight, intraabdominal adiposity, and plasma leptin and insulin independent of food intake and total body fat. *Endocrinology*. 141: 487-497.
 169. Yiş U., Öztürk Y., Büyükgebiz B. (2005). Ghrelin: enerji metabolizmasının düzenlenmesinde yeni bir hormon. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*; 48: 196-201.
 170. Suzuki J.P., Katoh N.A. (1990). A simple and cheap method for measuring serum vitamin A in cattle using only spectrophotometer. *Jpn. J. Vet. Sci.* 52: 1281-1283.
 171. Özer Z., Tursun N. ve Önen H. (2004). *Yabancı Otlarla Sağlıklı Yaşam*, 5. Baskı, 4 Renk Yayın Tanıtım Matbaacılık, Ankara. İSBN: 975-8205-08-0
 172. Kim J.H., Hahm D. H., Yang D. C., Kim J. H., Lee H. J., Shim I. (2005). Effect of crude saponin of korean red ginseng on high-fat diet-induced obesity in the rat. *J.Pharmacol. Sci.* 97: 124 – 131.
 173. Lee J.S., Lee M.K., Ha T.Y., Bok S.H., Park H.M., Jeong K..S., Woo M.N., Do G.-M., Yeo J.-Y., Choi M.-S. (2006). Supplementation of whole persimmon leaf improves lipid profiles and suppresses body weight gain in rats fed high-fat diet. *Food and Chemical Toxicology*. 44: 1875–1883.
 174. Duffy C.F., Killeen G.F., Connolly C.D., Power R.F. (2001). Effects of dietary supplementation with *Yucca schidigera* Roezl ex Ortgies and its saponin and non-saponin fractions on rat metabolism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49 (7): 3408-3413.

175. Patel B.K., Koenig J.I., Kaplan L.M. and Hooi S.C. (1998). Increase in plasma leptin and Lep mRNA concentrations by food intake is dependent on insulin. *Metabolism*. 47: 603–607.
176. Van der Heidi D., Kastelijm J., Schröder-van der Elst J.P. (2003). Flavonoids and thyroid disease. *BioFactors*. 19: 113-119.
177. Fain J.N., Coronel E.C., Beauchamp M.J.B.S. (1997). Expression of leptin and β_2 -adrenergic receptors in rat adipose tissue in altered thyroid states. *Biochem J*. 322: 145-150.
178. Kelly G. (2000). Peripheral metabolism of thyroid hormones: A Review. *Alternative Medicine Review*, 5, (4), 306-333.
179. Ferreira A.C.F., Lisboa P.C., Oliveira K.J., Lima L.P., Barros I.A., Carvalho D.P. (2002). Inhibition of thyroid type 1 deiodinase activity by flavonoids. *Food and Chemical Toxicology*. 40: 913–917.
180. Lee K.T., Sohn I.C., Kim D.H., Choi J.W., Kwon S.H., Park H.J. (2000). Hypoglycemic and hypolipidemic effects of tectorigenin and kaikasaponin III in the streptozotocin-induced diabetic rat and their antioxidant activity *in vitro*. *Arch. Pharm. Res.* 23,(5): 461-466.
181. Al-Achi A. (2005). Herbs that affect blood glucose levels. *Women's Health in Primary Care*. 8 (7): 325-330.
182. Matsuda H., Li Y.H., Murakami T., Yamahara J., Yoshikawa M. (1999). Structure-related inhibitory activity of oleanolic acid glycosides on gastric emptying in mice. *Bioorg. Med. Chem.* 7,(2) 323-327.
183. Han L-K., Zheng Y.N., et al. (2002). Saponins from *Platycodi radix* ameliorate high fat diet-induced obesity in mice. *J.Nutr.* 132: 2241-2245.
184. Zhao H.L., Sim J-S., et al. (2005). Antiobese and hypolipidemic effects of platycodin saponins in diet-induced obese rats: evidences for lipase inhibition and calorie intake restriction. *International Journal of Obesity*. 1-8.
185. Han L-K., Kimura Y., et al. (2001). Anti-obesity effects in rodents of dietary teasaponin, a lipase inhibitor. *International Journal of Obesity*. 25: 1459-64.
186. Matsuura H. (2001). Saponins in garlic as modifiers of the risk of cardiovascular disease. *J.Nutr.* 131: 1000-1005.

187. Preston R.L., Bartle S.J., May T., Goodall S.R. (1987). Influence of Sarsaponin on growth feed and nitrogen utilisation in growing male rats fed diets with added urea or protein. *J Anim Sci.* 65: 481-487.
188. Balog J.M., Anthony N.B., Wall C.W., Walker R.D., Rath N.C., Hu W.E. (1994). Effect of a urease inhibitor and ceiling fans on ascites in broilers. 2. Blood variables, ascites scores and body and organ weights. *Poultry Sci.* 73: 810-816.
189. Hussain I., Cheeke P.R. (1995). Effect of dietary *Yucca schidigera* extract on rumen and blood profiles of steers fed concentrate -or roughage- based diets. *Anim Feed Sci Technol.* 51: 231-242.
190. Killeen G.F., Connolly C.R., Walsh G.A., Duffy C.F., Headon D.R., Power R.F. (1998). The effects of dietary supplementation with *Yucca schidigera* extract or fractions thereof on nitrogen metabolism and gastrointestinal fermentation processes in the rat. *J Sci Food Agric.* 76: 91-99.
191. Kutlu H.R. (1999). *Yucca schidigera* Ekstratı ve Kanatlı Beslenmesindeki Önemi. Yem Sanayi Semineri. 03 Haziran 1999 İstanbul. S:1-13.
192. Shimoyamada M., Ikedo S., Ootsubo R., Watanabe K., (1998). Effects of soybean saponins on chymotryptic hydrolyses of soybean proteins. *J. Agric. Food Chem.* 46: 4793-4797.
193. Cheeke P.R. (1995). *Toxicants of Plant Origin. Volume II Glycosides.* CRC pres, Inc. Boca Ratoon, Florida. S: 97-132.
194. Bil-Yem. (2006). Standart Rat Yemi Prospektusu. Ankara.
195. Desert King International. (2006). Product Information. <http://www.desertking.com/>
196. Özdamar K. (2003). SPSS ile Biyoistatistik. 5. Baskı. Kaan Kitap Evi. Eskişehir.
197. Photograph copyright © Lee Dittmann. (2005). Habit, detail from prior image. www.mojavenp.org/160a3a70.jpg
198. Murray R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A. ve Rodwell V.W. (1993). Harper'ın Biyokimyası. Çevirenler: G. Menteş ve B. Ersöz, Barış Kitabevi, İstanbul.

